



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ - ΕΡΓΑΣΙΑ

*«Μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος.
Γενετική προδιάθεση και αλληλεπίδραση με
διατροφική πρόσληψη»*

Ζόγκζα-Φραντζεσκάκη Ευσταθία
A.M.:21008



ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δεδούσης Γεώργιος
ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: Δεδούσης Γεώργιος
Καλιώρα Ανδριάνα
Τσίγκος Κωνσταντίνος

**«Μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος.
Γενετική προδιάθεση και αλληλεπίδραση με
διατροφική πρόσληψη»**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα, αρχικά, να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον καθηγητή μου κύριο Δεδούση Γεώργιο, για την απόλυτη υποστήριξη και εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη την διάρκεια της πραγματοποίησης της παρούσας πτυχιακής μελέτη.

Αναμφισβήτητα, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην διδακτορική φοιτήτρια του τμήματος Καλαφάτη Ιωάννα-Παναγιώτα για την άψογη συνεργασία καθώς και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε σε ότι και αν χρειάστηκα.

Κλείνοντας, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την υπομονή και την ειλικρινή υποστήριξη τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
1. ΟΡΙΣΜΟΣ	8
2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	9
3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....	14
4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	23
4.1 Κλινική εικόνα.....	23
4.2 Εργαστηριακά ευρήματα	23
4.3 Απεικονιστικός έλεγχος.....	24
4.4 Περιπτώσεις αποκλεισμού.....	28
5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ	29
6. ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	35
6.1 Πρωτογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου	35
6.2 Δευτερογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου	37
7. ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ - ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΕΣ	41
7.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου:	41
7.2 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	42
8. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	46
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	49
ΣΚΟΠΟΣ.....	49
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	49
Συλλογή δείγματος	49
Κριτήρια επιλογής δείγματος	50
Διαδικασίες αξιολόγησης δείγματος	50
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	60
1. Χαρακτηριστικά του δείγματος και αλληλεπιδράσεις αυτών με την εμφάνιση NAFLD.....	60
2. Αλληλεπιδράσεις γονιδίων και διατροφικών συνηθειών στην εμφάνιση NAFLD	
67	
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	74
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.....	78

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease (μη αλκοολική λιπώδη νόσος του ήπατος)

NASH: Non-alcoholic steatohepatitis (μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα)

ALT: alanine aminotransferase (αμινοτρανσφεράση της αλανίνης)

AST: aspartate aminotransferase (αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού οξέος)

γ-GT: gamma-glutamyl transferase (γ-γλουτάμυλοτρανσπεπτιδάση)

TGL: triglycerides (τριγλυκερίδια ή τριάκυλογλυκερόλες)

ΣΔΙΙ: σακχαρώδης διαβήτης τύπου ΙΙ

PNPLA3: patatin-like phospholipase domain-containing protein 3

ΔΜΣ: Δείκτης μάζας Σώματος (kg/m^2)

ΠΜ: Περιφέρεια Μέσης

ΠΙ: Περιφέρεια Ισχύων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) ορίζεται η παρουσία λίπους στο ήπαρ (ηπατική στεάτωση) είτε στην απεικόνιση αυτού, είτε στην ιστολογία του, εφόσον έχουν αποκλειστεί δευτεροβάθμιες αιτίες συσσώρευσης λίπους στο ήπαρ (π.χ. σημαντική κατανάλωση αλκοόλ, λήψη φαρμάκων και άλλες ιατρικές συνθήκες). Η NAFLD κατηγοριοποιείται περαιτέρω σε λιπώδες ήπαρ μη αλκοολικής αιτιολογίας (NAFL) και μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH). Επιπλέον, η NAFLD έχει εξελιχθεί ως μία από τις πιο συχνές αιτίες χρόνιας ηπατικής νόσου παγκοσμίως, προκαλώντας αξιοσημείωτη θνησιμότητα και θνητότητα όταν οδηγεί σε προχωρημένη ίνωση και κίρρωση και είναι πλέον ένας κύριος λόγος για μεταμόσχευση ήπατος ασθενών τελικού σταδίου⁽³⁾. Η νόσος συνδέεται με θέματα δημόσιας υγείας, καθώς σχετίζεται άμεσα με σακχαρώδη διαβήτη και παχυσαρκία⁽³⁾ και έτσι εκτιμάται ότι αυξάνεται ο επιπολασμός της.

ΣΚΟΠΟΣ:

Σκοπός της ερευνητικής αυτής διαδικασίας είναι η αξιολόγηση και εκτίμηση του ρόλου της γενετικής προδιάθεσης (γονιδιακό προφίλ) και των περιβαλλοντικών παραγόντων (διατροφή, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα, βιοτικό επίπεδο) στον κίνδυνο εμφάνισης της NAFLD, καθώς και η διερεύνηση της ύπαρξης αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων ως προς την ανάπτυξη της. Μέρος αυτής της έρευνας αποτελεί και η παρούσα πτυχιακή εργασία, της οποίας ο σκοπός είναι η διερεύνηση του ποσοστού συσχέτισης της ποικιλομορφίας του γονιδίου PNPLA3 με την ηπατική εναπόθεση λίπους ή/και την εμφάνιση άλλων φαινοτύπων NAFLD σε ελληνικό δείγμα. Εξετάστηκαν, επίσης, αλληλεπιδράσεις γονιδίων και διατροφής.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:

Για την πραγματοποίηση της μελέτης συμμετείχαν 460 άτομα, άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 20-65 ετών. Στο σύνολο του δείγματος, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία για γενετική ανάλυση καθώς και για βιοχημική και αιματολογική ανάλυση, υπερηχογράφημα άνω κοιλίας για διάγνωση της νόσου (0=απουσία, 1/2/3-παρουσία), διαχωρισμός των ασθενών ανάλογα με το βαθμό λιπώδους διήθησης (1-χαμηλή, 2-μεσαία, 3-υψηλή), καταγραφή δημογραφικών χαρακτηριστικών, λήψη ατομικού και οικογενειακού ιστορικού υγείας, ανθρωπομετρία, εκτίμηση αρτηριακής πίεσης και καρδιακής συχνότητας, αξιολόγηση διατροφικής πρόσληψης και επιπέδου φυσικής δραστηριότητας.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

Το δείγμα αποτελείται από 375 άτομα, 39,6% άνδρες με μέσο όρο ηλικίας $45,9 \pm 12,1$ χρόνια. Τα άτομα του δείγματος, με γονότυπο που περιέχει G αλληλόμορφο, αποτελούν το 46,8% του δείγματος και σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με υψηλότερες τιμές ALT, AST και επίπεδα σιδήρου ($p < 0,05$). Η κατανάλωση ψαριών ήταν στατιστικά σημαντικά διαφορετική μεταξύ των τριών επιπέδων της NAFLD ($p = 0,015$). Οι γυναίκες με γονότυπο που περιείχε G αλληλόμορφο και ανέφεραν υψηλή, αλλά όχι μέτρια, πρόσληψη ψαριών ($> 2,3$ μερίδες / εβδομάδα), είχαν χαμηλότερη πιθανότητα να αναπτύξουν τη νόσο σε σύγκριση με γυναίκες ίδιου γονότυπου που ανέφεραν χαμηλή πρόσληψη ψαριών ($< 0,5$ μερίδες / εβδομάδα) ($\text{beta} = -1,203$, $p\text{-value} = 0,024$). Επιπλέον, οι γυναίκες με ομόζυγο ως προς C γονότυπο που ανέφεραν μέτρια κατανάλωση ψαριών, παρουσίασαν χαμηλότερη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου από τις γυναίκες με ίδιο γονότυπο, οι οποίες όμως ανέφεραν χαμηλή κατανάλωση ψαριών ($\text{beta} = -1,597$, $p\text{-value} = 0,002$), ενώ η υψηλή πρόσληψη ψαριών δεν είχε περαιτέρω ευεργετική επίδραση ($p = 0,061$). Οι άνδρες, από την άλλη, ανεξάρτητα από τον γονότυπο που έφεραν, δεν είχαν κανένα όφελος από την κατανάλωση ψαριών

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:

Η εργασία αυτή κατέληξε σε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση, μεταξύ της γονοτυπικής έκφρασης του PNPLA3 πολυμορφισμού στο κάθε φύλο, συνδυασμένης με την κατανάλωση ψαριών, και την εξέλιξη της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος (NAFLD). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν υποδεικνύουν μια πιθανή εξατομικευμένη προληπτική στρατηγική για την αντιμετώπιση της NAFLD, ανάλογα με το φύλο και το γενετικό υπόβαθρο.

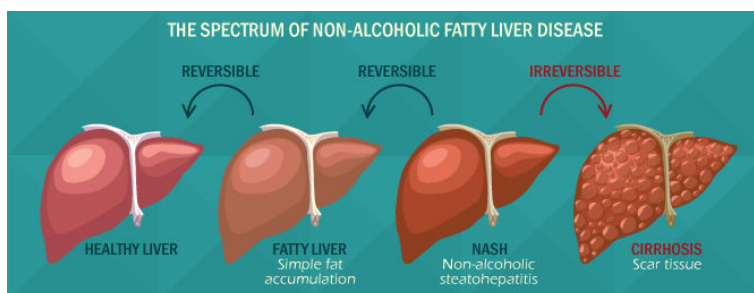
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΟΡΙΣΜΟΣ

Ως μη αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος (Non Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) ορίζεται η παρουσία συσσωρευμένου ηπατικού λίπους σε περισσότερο από το 5% των ηπατοκυττάρων, απουσία σημαντικής πρόσληψης αλκοόλ (20g την ημέρα για άντρες και 10g την ημέρα για γυναίκες), ιογενούς λοίμωξης ή άλλης ειδικής αιτιολογίας για νόσο του ήπατος ⁽¹⁾.

Η μεταβολική στεάτωση ή μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος (NAFLD) είναι η πιο κοινή αιτία της χρόνιας ηπατικής βλάβης στις δυτικές χώρες. Ιστολογικές ενδείξεις ηπατικής στεάτωσης και φλεγμονής συνοδεύει ηπατοκυτταρικού τραυματισμού με ή χωρίς ίνωση ⁽²⁾, που υποδηλώνουν παρουσία μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας (NASH), είναι παρούσες στο 20-30% των περιπτώσεων. Ενώ η στεάτωση από μόνη της έχει μια καλοήγη πορεία, η στεατοηπατίτιδα μπορεί να σχετίζεται με ίνωση, η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση, ηπατική ανεπάρκεια και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ⁽³⁾.

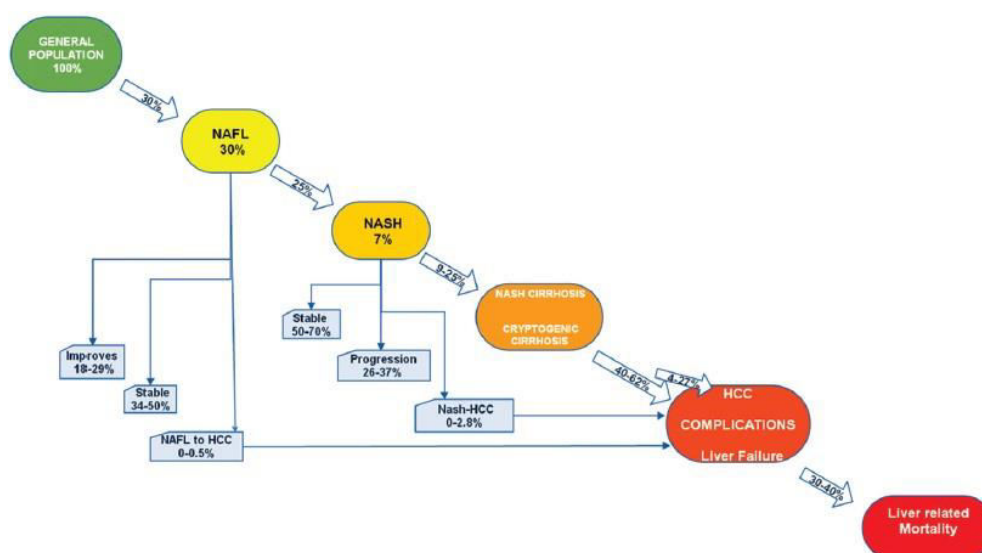
Η NAFLD είναι στενά συνδεδεμένη με το μεταβολικό σύνδρομο, ο επιπολασμός του οποίου φτάνει το 50-90% σε παχύσαρκους ασθενείς. Η ηπατική νόσος είναι η τρίτη συνηθέστερη αιτία θνησιμότητας σε ασθενείς με NAFLD. Όταν συνδέεται με άλλες αιτίες της ηπατικής νόσου, όπως η κατανάλωση αλκοόλ ή ύπαρξη ηπατίτιδας C, η μεταβολική στεάτωση μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εξέλιξη της νόσου ⁽²⁾.



Εικόνα1: Φάσμα μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης ήπατος (NAFLD)

2.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος είναι σήμερα μία από τις συχνότερες αιτίες χρόνιας ηπατοπάθειας παγκοσμίως, η συχνότερη σε κάποιες χώρες, ιδιαίτερα σε πληθυσμούς με υψηλό ποσοστό παχυσαρκίας. Η νόσος προκαλεί αξιοσημείωτη θνησιμότητα και θνητότητα όταν οδηγεί σε προχωρημένη ίνωση και κίρρωση και είναι πλέον ένας κύριος λόγος για μεταμόσχευση ήπατος ασθενών τελικού σταδίου ⁽³⁾. Συνδέεται με θέματα δημόσιας υγείας καθώς σχετίζεται άμεσα με σακχαρώδη διαβήτη και παχυσαρκία ⁽³⁾ και εκτιμάται ότι αυξάνει το άμεσο και έμμεσο 5ετές κόστος υγείας κατά 26%⁽³⁾.



Εικόνα 2: Στατιστικά στοιχεία NAFLD σε γενικό πληθυσμό

Οι ασθενείς στην πλειονότητά τους είναι ασυμπτωματικοί ή/και με ελάχιστα συμπτώματα και η νόσος αποκαλύπτεται τυχαία σε κάποιο βιοχημικό ή απεικονιστικό έλεγχο ρουτίνας ⁽⁴⁾. Επομένως, λόγω και της διαγνωστικής δυσχέρειας (έλλειψη ορολογικού δείκτη, απουσία βιοψίας ήπατος), καθίστανται δύσκολες οι επιδημιολογικές μελέτες της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος.

Με βάση απεικονιστικές κυρίως μεθόδους, όπως το υπερηχογράφημα, ο επιπολασμός της λιπώδους διήθησης στο γενικό πληθυσμό αναφέρεται στις διάφορες χώρες από 9% μέχρι 30%, ενώ ο επιπολασμός της μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας, για τη διάγνωση της οποίας απαιτείται βιοψία ήπατος, υπολογίζεται μεταξύ 2% και 7% του γενικού πληθυσμού. Η μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα εξελίσσεται σε κίρρωση σε ποσοστά 15% με 20%, ενώ τότε δεν είναι σπάνια και η ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου.

Ο επιπολασμός της νόσου, ωστόσο έχει μελετηθεί και περαιτέρω κατά περιοχές. Στην Ευρώπη και τη Μέση Ανατολή κυμαίνεται από 20% έως 30% ⁽⁵⁻⁸⁾. Σύμφωνα με τις μελέτες Dallas Heart Study και Dionysos το 30% των ενηλίκων στις ΗΠΑ και 25% στην Ιταλία έχουν NAFLD. Σε αυτές τις μελέτες, 79% και 55% των ασθενών με NAFLD είχαν φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφεράσης, δείχνοντας ότι τα ηπατικά ένζυμα δεν είναι αντιπροσωπευτικοί δείκτες της NAFLD στο γενικό πληθυσμό⁽⁸⁾. Τα άτομα ισπανικής προέλευσης, κυρίως από την Αμερική, φαίνεται να παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD. Σύμφωνα με τα δεδομένα που συλλέχθηκαν σε μελέτη προ 3ετίας, ο επιπολασμός της NAFLD ποικίλλει σε διάφορες περιοχές της Ασίας. Συγκεκριμένα, στην Ιαπωνία εμφανίζεται 9-30%, στην Κίνα 5-4%, στη Βόρεια Κορέα ~18%, στη Ινδονησία ~30%, στη Μαλαισία και τη Σιγκαπούρη 17% ⁽⁹⁻¹¹⁾. Στην ινδική υποήπειρο, η εμφάνιση της NAFLD σε αστικούς πληθυσμούς κυμαίνεται από 16% έως 32%, ενώ στις αγροτικές συνοικίες της Ινδία, όπου οι περισσότεροι άνθρωποι ακολουθούν παραδοσιακή διατροφή και τρόπο ζωής, ο επιπολασμός είναι χαμηλότερος (~ 9%) (Πίνακας 2). Όσον αφορά τον επιπολασμό της νόσου στην Αφρική, σε γενικές γραμμές, υπάρχει μια έλλειψη στοιχείων. Μια μελέτη, ωστόσο, που πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμό της Νιγηρίας υπολόγισε τον επιπολασμό να είναι ~ 9%. Στη Λατινική Αμερική ο επιπολασμός της NAFLD κυμαίνεται από 17% έως 33%. Τέλος, ο επιπολασμός της NAFLD στην Αυστραλία εκτιμάται να είναι παρόμοιος με αυτόν της Ευρώπης, δηλαδή 20-30%.

Πίνακας 1: Ο επιπολασμός της NAFLD σε περιοχές του κόσμου

Region	Population studied	Prevalence of NAFLD in these populations (%)
USA	Pediatric population	13–14
	General population	27–34
	Morbid obesity	75–92
	European-Americans	33
	Hispanic-Americans	45
	African-Americans	24
Europe	Pediatric population	2.6–10
	General population	20–30
Western countries	General population	20–40
	Obesity or diabetes	75
	Morbid obesity	90–95
Worldwide	Obese population	40–90
Middle East	General population	20–30
Far East	General population	15
Pakistan	General population	18

Πίνακας 2: Διαφορές Δυτικού/Ανατολικού πληθυσμού ως προς την NAFLD

Χαρακτηριστικά	Ανατολή	Δύση
Επιπολασμός	10% - 20%	20% - 30%
Διαφορές επιπολασμού σε αγροτικές και αστικές περιοχές	Ναι	Όχι
Επιπολασμός παχυσαρκίας	Χαμηλός αλλά αναπτυσσόμενος	Υψηλός
Επιπολασμός στον ΣΔΙΙ	Υψηλότερο ποσοστό	Χαμηλότερο ποσοστό
NAFLD σε ασθενείς φυσιολογικού βάρους	Υψηλότερο ποσοστό	Χαμηλότερο ποσοστό

Ο κυριότερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη NAFLD είναι η παχυσαρκία, πιθανώς μέσω ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη. Σε ασθενείς με παχυσαρκία 3^{ου} βαθμού ($BMI >35 \text{ Kg/m}^2$), ο επιπολασμός της απλής στεάτωσης φθάνει το 76%, της στεατοηπατίτιδας το 23% και της κίρρωσης το 6% στον γενικό πληθυσμό. Γενικότερα, οι ασθενείς με NAFLD στη Δύση έχουν υψηλότερο ΔΜΣ από τους αντίστοιχους ασθενείς στην Ανατολή, αλλά χαμηλότερα ποσοστά υπέρβαρου και

παχύσαρκου πληθυσμού. Αυτό υποδεικνύει ότι οι Ασιάτες που εμφανίζουν NAFLD έχουν μειωμένο ΔΜΣ, γεγονός που αναθεωρεί τη διάγνωση παχυσαρκίας μέσω του ΔΜΣ για την Ασία (Πίνακας 3). Επιπλέον, οι Ασιάτες φαίνεται να έχουν μια ξεχωριστή γενετική ή περιβαλλοντική ευαισθησία στην NAFLD σε σχέση με τους Δυτικούς ⁽¹²⁾. Δεδομένα από Ιαπωνία δείχνουν ότι μόνο το 15-20% των προσβληθέντων ασθενών είναι παχύσαρκοι, ενώ τα στοιχεία από την Ινδία δείχνουν ότι πολλοί ασθενείς με NAFLD μπορεί να μην έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη, όταν μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας HOMA-IR. Στην ιταλική μελέτη Dionysos, ο επιπολασμός της NAFLD βρέθηκε σε ποσοστά 94%, 67% και 24,5% αντίστοιχα σε παχύσαρκα, υπέρβαρα και φυσιολογικού βάρους άτομα ⁽¹³⁾, φανερώνοντας σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ύπαρξης υπερβάλλοντος σωματικού βάρους και ανάπτυξης της NAFLD.

Πίνακας 3: Διαφορές του Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI)

Κατηγορία	Δύση (kg/m ²)	Ανατολή (kg/m ²)
Φυσιολογικό	18,5 – 24,5	18,5 – 22,9
Υπέρβαρο	25 – 29,9	23 – 24,9
Παχύσαρκο	≥30	≥25

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης της NAFLD. Με μελέτες στον γενικό πληθυσμό φάνηκε ότι σε διαβητικούς ασθενείς, η ηπατική στεάτωση ανευρίσκεται σε ποσοστό 40%-70%. Σε προοπτική μελέτη 100 ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η συχνότητα εμφάνισης της νόσου ήταν 49% ⁽¹⁴⁾. Η Ασία, παρά τα μειωμένα ποσοστά των υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων, εμφανίζει σημαντικά 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 ⁽¹⁵⁾.

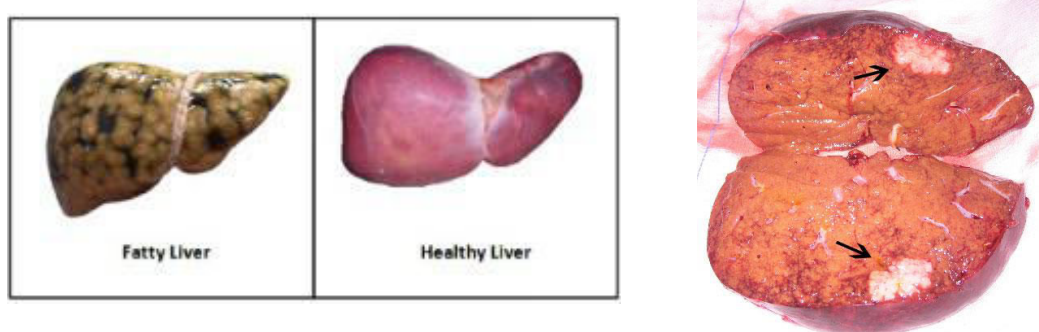
Η NAFLD σχετίζεται με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη αλλά και με τα άλλα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου,

δηλαδή την δυσλιπιδαιμία και την 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 ⁽¹⁶⁾.

Στη χώρα μας το 2004 διεξήχθη από την Ελληνική Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος, σε συνεργασία με το Ελληνικό Ίδρυμα Γαστρεντερολογίας και Διατροφής, μεγάλη επιδημιολογική μελέτη καταγραφής του επιπολασμού της NAFLD στο γενικό αιμοδοτικό πληθυσμό. Στην έρευνα συμμετείχαν συνολικά 3.063 άτομα από 5 αιμοδοτικά κέντρα, τα οποία, μετά από αποκλεισμό κατανάλωσης αλκοόλ και των ιογενών ηπατιτίδων Β και C, εμφάνισαν παθολογικά ηπατικά ένζυμα σε ποσοστό 17,6% ⁽¹⁷⁾. Η πολυκεντρική αυτή μελέτη κατάφερε να αναδείξει σημαντική 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 ⁽¹⁸⁾.

3.ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Πρώτο βήμα για την ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης στη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος αποτελεί η εναπόθεση και συσσώρευση λιπιδίων στο ήπαρ με τη μορφή των τριγλυκεριδίων ⁽¹⁹⁻²²⁾. Η πρωταρχική αυτή διαταραχή αφορά σε κυτταρικό επίπεδο όλα τα στάδια μεταβολισμού των λιπιδίων και ενισχύεται από την ενδογενή συστηματική και περιφερική (ηπατική) αντίσταση στην ινσουλίνη ⁽²³⁻²⁵⁾.

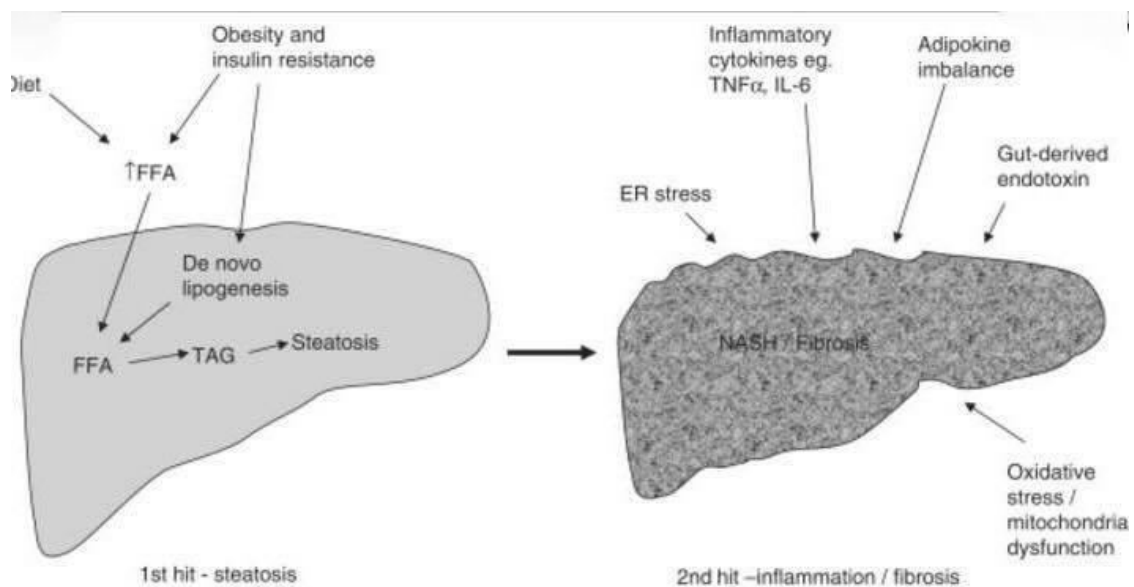


Εικόνες 3-4: Εναπόθεση λίπους στο ήπαρ

Προτεινόμενα μοντέλα παθογένεσης της νόσου

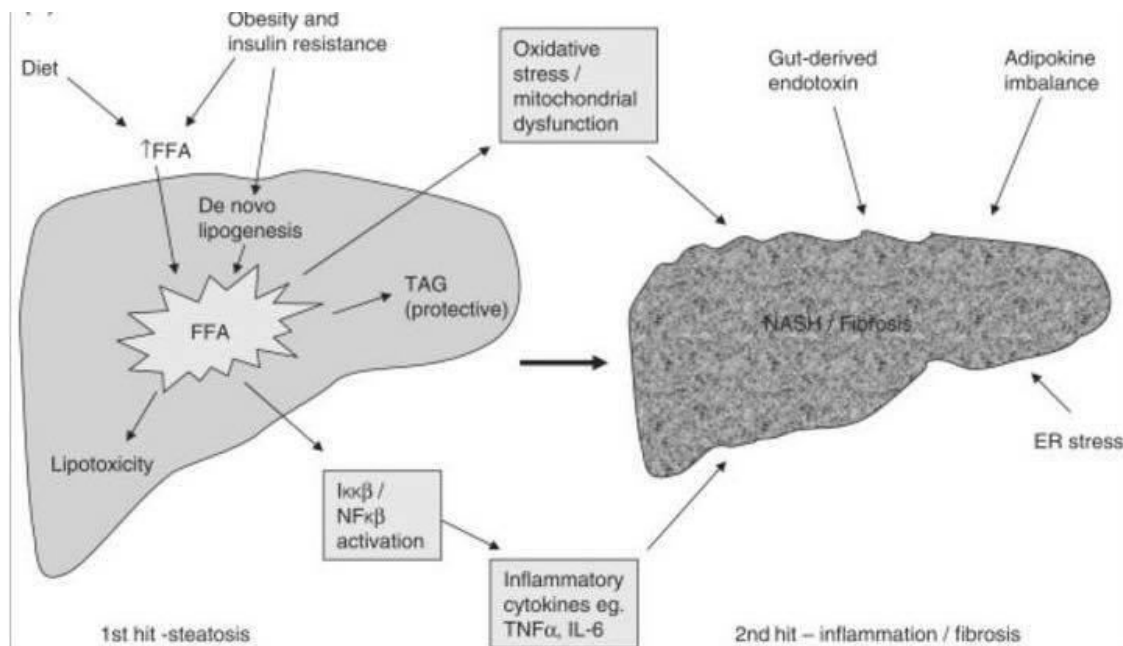
- **Υπόθεση δύο χτυπημάτων:** Πρώτη και σημαντικότερη προσβολή για το ήπαρ αποτελεί η αντίσταση στην ινσουλίνη. Η δυσλειτουργία αυτή οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα λιπαρών οξέων που έχουν ως αποτέλεσμα τη λιπώδη διήθηση του ήπατος, και η οποία προοδευτικά προκαλεί απόπτωση (ή κυτταρικό θάνατο) των ηπατοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, εναποτίθεται ποσότητα λίπους στην επιφάνεια του ήπατος με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Πιθανές πηγές του λίπους που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης αποτελούν τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα του πλάσματος από τον λιπώδη ιστό, τα νεοσχηματισμένα λιπαρά οξέα που προκύπτουν από την *de novo*

λιπογένεση στο ήπαρ και τα λιπαρά οξέα της διατροφής. Από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος προέρχεται περίπου το 60-80% των ηπατικών τριγλυκεριδίων, από την de novo λιπογένεση στο ήπαρ προκύπτει το 25%, ενώ από τη διατροφή μόλις το 15% αυτών. Επομένως, η στεάτωση αποτελεί το πρώτο χτύπημα, το οποίο καθιστά το ήπαρ ευάλωτο σε βλάβη διαμεσολαβούμενη από το δεύτερο χτύπημα που περιλαμβάνει την δράση φλεγμονώδων κυττοκινών, αδιποκινών, οξειδωτικού στρες και την μιτοχονδριακή δυσλειτουργία οδηγώντας τελικά σε στεατοηπατίτιδα και ίνωση. Η παρουσία υψηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες μειώνει την ικανότητα των ώριμων ηπατοκυττάρων να πολλαπλασιάζονται, οδηγώντας σε μειωμένη ενδογενή αναγέννηση του ήπατος ⁽²⁶⁾.



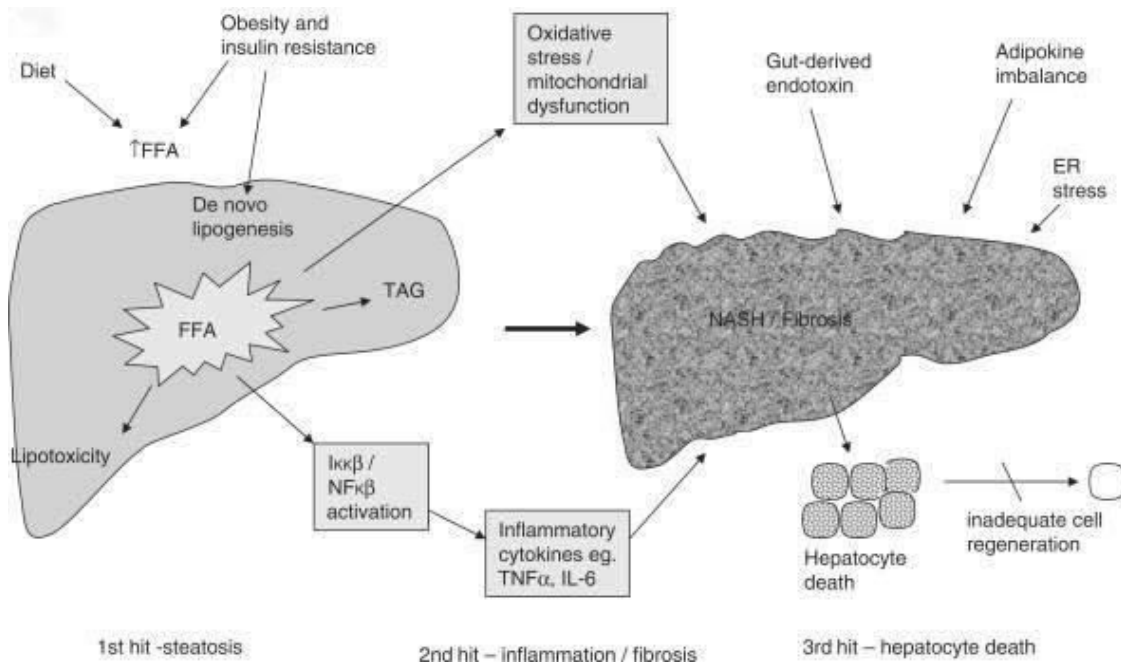
Εικόνα 5: Η υπόθεση των 2 χτυπημάτων. Η στεάτωση αποτελεί το πρώτο χτύπημα.

- **Τροποποιημένη υπόθεση 2 χτυπημάτων:** Στην παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση, υπάρχει αυξημένη ροή ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ. Αυτά είτε οξειδώνονται είτε εστεροποιούνται με την γλυκερόλη προς σχηματισμό τριγλυκεριδίων, οδηγώντας σε ηπατική συσσώρευση λίπους. Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μπορούν άμεσα να προκαλέσουν τοξικότητα, αυξάνοντας το οξειδωτικό στρες και ενεργοποιώντας φλεγμονώδεις διαδικασίες. Επομένως, η ηπατική συσσώρευση τριγλυκεριδίων ίσως αποτελεί προστατευτικό μηχανισμό, ο οποίος προλαμβάνει τις τοξικές επιδράσεις των μη εστεροποιημένων ελεύθερων λιπαρών οξέων ⁽²⁶⁾.



Εικόνα 6: Η τροποποιημένη υπόθεση των 2 χτυπημάτων. Η συσσώρευση τριγλυκεριδίων υπό την μορφή της στεάτωσης, αντί να είναι επιβλαβής, μπορεί να δρα προστατευτικά προλαμβάνοντας την προκαλούμενη από ελεύθερα λιπαρά οξέα φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες.

- **Υπόθεση 3 χτυπημάτων:** Το οξειδωτικό στρες μειώνει την ικανότητα των ώριμων ηπατοκυττάρων να πολλαπλασιάζονται, οδηγώντας στην χρήση άλλων μονοπατιών για την ηπατική αναγέννηση, τα ενδιάμεσα ηπατοκύτταρα. Αυτά είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε χολαγγειοκύτταρα και ηπατοκύτταρα και να συνεισφέρουν στην αναγέννηση του ήπατος. Έχει προταθεί πως η ανικανότητα για χολαγγειακή απάντηση, όπως εμφανίζεται σε ασθενείς με μεταμόσχευση λόγω NASH και απονευρωμένο ήπαρ μπορεί να είναι υπεύθυνη για πιο προοδευτική πορεία της ηπατικής βλάβης. Επομένως, ο διαταραγμένος πολλαπλασιασμός των προγονικών ηπατοκυττάρων αποτελεί το προτεινόμενο τρίτο χτύπημα στην παθογένεση της NAFLD ⁽²⁶⁾.



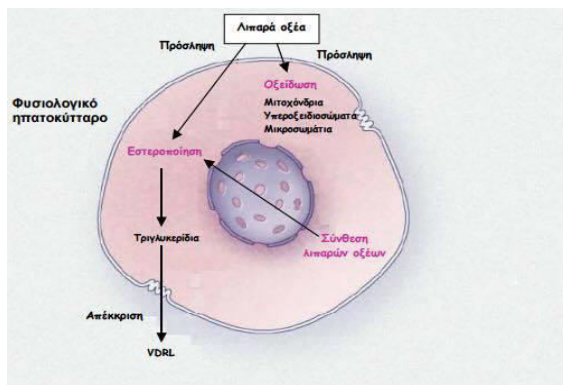
Εικόνα 7: Η υπόθεση των 3 χτυπημάτων. Ο διαταραγμένος πολλαπλασιασμός των προγονικών ηπατοκυττάρων αποτελεί το προτεινόμενο τρίτο χτύπημα στην παθογένεση της NAFLD.

Η μη αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος (NAFLD) είναι μια νόσος με παθοφυσιολογία όχι πλήρως διευκρινισμένη. Ακόμη και αν η ινσουλινοαντίσταση αποτελεί κεντρικό παθογενετικό μηχανισμό, μεγάλος αριθμός άλλων παραγόντων εμπλέκεται τόσο στην συσσώρευση λίπους στο ήπαρ όσο και στην εξέλιξη της ηπατικής στεάτωσης σε μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH), οι οποίοι θα αναλυθούν στη συνέχεια.

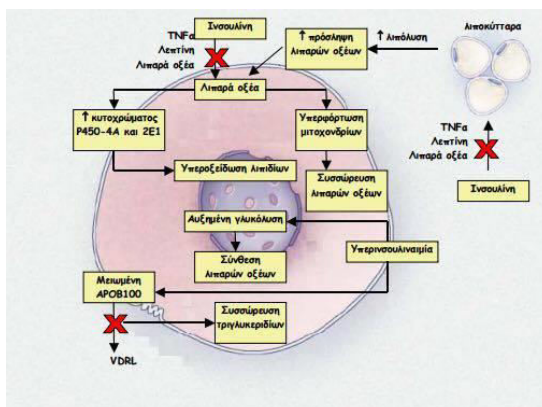
Ινσουλινοαντίσταση

Ινσουλινοαντίσταση (*Insulin resistance* (IR)) ορίζεται μια κατάσταση, κατά την οποία το ανθρώπινο σώμα δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει σωστά την ινσουλίνη που παράγει σε συγκεκριμένους ιστούς-στόχο, όπως ο σκελετικός μυς, το ήπαρ και ο λιπώδης ιστός. Οι ασθενείς με διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη (IGT) εμφανίζουν αξιοσημείωτη ινσουλινοαντίσταση στο μυϊκό ιστό αλλά μόνο ήπια ηπατική ινσουλινοαντίσταση. Οι ασθενείς με διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (IFG) εμφανίζουν σοβαρή ηπατική ινσουλινοαντίσταση αλλά φυσιολογική ή σχεδόν φυσιολογική μυϊκή ινσουλινοευαισθησία. Σύμφωνα με μελέτες, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην ινσουλινοαντίσταση και την υπερβολική συσσώρευση λίπους στον μη λιπώδη ιστό, συγκεκριμένα στο μυ και το ήπαρ. Ωστόσο, παραμένει αβέβαιο εάν η ινσουλινοαντίσταση προκαλεί την υπερβολική συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, ή η αύξηση στα τριγλυκερίδια από μόνη της ή μέσω των μεταβολικών διαμεσολαβητών της αποτελεί τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα ανάπτυξης ηπατικής ή συστηματικής ινσουλινοαντίστασης. Υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης πλάσματος και λιπαρών οξέων μπορεί να προωθήσουν την ηπατική πρόσληψη και σύνθεση λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων καθώς και να επηρεάσουν την β' οξειδωση. Αποτέλεσμα είναι η συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και η ηπατική στεάτωση. Η ινσουλινοαντίσταση είναι επίσης ικανή να προωθήσει την εξέλιξη από ηπατική στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα και ίνωση. Κλινικές μελέτες δείχνουν πως η IR είναι συνδεδεμένη με το επίπεδο της ίνωσης σε ασθενείς με NAFLD ⁽²⁷⁾. Τρεις συνεχόμενες ημέρες κατανάλωσης δίαιτας υψηλής σε λίπος προκαλούν ηπατική συσσώρευση λίπους και ηπατική ινσουλινοαντίσταση ⁽²⁷⁾.

Η μειωμένη κάθαρση ινσουλίνης έχει προταθεί ως εναλλακτικό μονοπάτι για την υπερινσουλιναιμία στο ήπαρ. Αυτό συμβαίνει σε προχωρημένη ηπατική νόσο, και αποτελεί την κύρια αίτια για την υπερινσουλιναιμία στην κίρρωση. Το πρώτο όργανο το οποίο υφίσταται κάθαρση κατά την έκκριση της ινσουλίνης είναι το ήπαρ όπου ένα σημαντικό ποσοστό ινσουλίνης (40-80%) καθαιρείται μέσω του υποδοχέα της. Η ηπατική ινσουλिनοευαισθησία και η συνολική κάθαρση της ινσουλίνης μετρήθηκαν άμεσα μέσω της μεθόδου EHC (Euglycemic hyperinsulinemic clamp) και το λίπος στο ήπαρ εκτιμήθηκε μέσω MRS (Magnetic Resonance Spectroscopy) σε μια ομάδα μη διαβητικών ασθενών. Το ηπατικό λίπος συσχετιζόταν σημαντικά με διαταραγμένη κάθαρση ινσουλίνης και ηπατική ινσουλινοευαισθησία. Ωστόσο, το μέγεθος συνεισφοράς της ηπατικής συσσώρευσης λίπους και της διαταραγμένης κάθαρσης γλυκόζης στην υπερινσουλιναιμία δεν είναι πλήρως διευκρινισμένο ⁽²⁷⁾.



Εικόνα 8: Μεταβολισμός λιπαρών οξέων στο φυσιολογικό ηπατοκύτταρο



Εικόνα 9: Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί ανάπτυξης ηπατικής στεάτωσης σε έδαφος αντίστασης στην ινσουλίνη

Κυταροκίνες λιπώδους ιστού

Η αυξημένη λιπώδης μάζα συγκεντρώνει μεγάλο ενδιαφέρον με πρόσφατη αναγνώριση του λιποκυττάρου ως ενδοκρινές όργανο, ικανό να εκκρίνει ποικιλία από βιοενεργά πεπτίδια που ασκούν πολλαπλές επιδράσεις τόσο σε τοπικό όσο και σε συστηματικό επίπεδο. Οι αδιποκίνες εμπλέκονται στην παθογένεση της NAFLD/NASH μέσω της μεταβολικής, προφλεγμονώδους και αντιφλεγμονώδους δραστηριότητας τους ⁽²⁸⁾. Ο ακριβής τους ρόλος ωστόσο παραμένει υπό έρευνα.

Αδιπονεκτίνη: Η αδιπονεκτίνη είναι μια άφθονη αδιποκίνη του λιπώδους ιστού με αντιφλεγμονώδη δράση και ικανότητα για αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας ⁽²⁹⁾. Στο ήπαρ, αποτρέπει την συσσώρευση λίπους αυξάνοντας την β οξείδωση των λιπαρών οξέων και μειώνοντας τα de novo ελεύθερα λιπαρά οξέα στα ηπατοκύτταρα. Τα επίπεδα της είναι μειωμένα στην παχυσαρκία και στις συσχετιζόμενες με αυτή επιπλοκές. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν αναγνωρίσει τα χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την NAFLD και την ηπατική δυσλειτουργία ⁽²⁹⁾. Σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό, τα επίπεδα της είναι χαμηλότερα κατά περισσότερο από 50% στους ασθενείς με NASH. Η έκφραση της μειώνεται κατά 20-40% κατά την εξέλιξη από απλή στεάτωση σε NASH. Σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η συγκέντρωση αδιπονεκτίνης στο πλάσμα σχετίζεται αντίστροφα με το ηπατικό λίπος ⁽²⁹⁾.

Λεπτίνη: Η λεπτίνη θεωρείται μια ανορεξιογόνος ορμόνη, αν και τα επίπεδα της είναι υψηλά στην παχυσαρκία ως αποτέλεσμα αντίστασης στην δράση της. Η λεπτίνη συνεισφέρει στην ανάπτυξη της ινσουλινοαντίστασης και επομένως στην στεάτωση. Σε σχέση με το ηπατικό τραύμα, η λεπτίνη έχει προφλεγμονώδη ρόλο και θεωρείται σημαντικός διαμεσολαβητής την ηπατικής ίνωσης ⁽³⁰⁾. Σε περιπτώσεις όπου η NAFLD σχετίζεται με την παχυσαρκία, τα επίπεδα ορού της λεπτίνης αυξάνονται και το ήπαρ αντιστέκεται στις αντιστεαωτικές επιδράσεις της ⁽²⁹⁾.

TNF-α: Ο TNF-α είναι μια προφλεγμονώδης αδιποκίνη που ευνοεί την στεάτωση έχοντας εξίσου έναν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη της

ηπατικής στεάτωσης και ακολούθως της NASH ⁽²⁹⁾. Ανεβασμένα επίπεδα TNF-α σχετίζονται με την παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους ⁽³⁰⁾. Τα επίπεδα του και η ηπατική έκφραση του 1 υποδοχέα του είναι αυξημένα στην NASH ⁽²⁹⁾.

IL-6: Η IL-6 είναι μια κυτοκίνη που εκκρίνεται από λιποκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Έχει ηπατοπροστατευτική δράση στο λιπώδες ήπαρ, καταστέλλοντας το οξειδωτικό στρες και αποτρέποντας την μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Αυτό είναι αποτέλεσμα της σύντομης έκθεσης στην IL-6 καθώς η μακράς διάρκειας έκθεση σε αυτή την κυτοκίνη μπορεί να κάνει το ήπαρ ευάλωτο στο τραύμα και στον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Τα επίπεδα ορού της IL-6 βρέθηκαν να είναι σημαντικά υψηλά σε ασθενείς με NAFLD σε σχέση με υγιείς. Παραμένει υπό διερεύνηση εάν τα υψηλά επίπεδα IL-6 στο χρόνια ηπατικό τραύμα συνεισφέρουν στην φλεγμονή ή αντιπροσωπεύουν μια αντιφλεγμονώδη απάντηση ⁽³⁰⁾.

Ρεξιστίνη: Η ρεξιστίνη είναι μια αδιποκίνη που ανακαλύφθηκε πρόσφατα και εκκρίνεται από τον λιπώδη ιστό και τα μακροφάγα. Ένας αριθμός μελετών με πειραματόζωα προτείνει πως ο κύριος ιστός-στόχος της ρεξιστίνης είναι το ήπαρ, προκαλώντας ηπατική ινσουλινοαντίσταση με επιπρόσθετες επιδράσεις στους σκελετικούς μυς και τον λιπώδη ιστό.

Στον σκελετικό μυ, φαίνεται να μειώνει την πρόσληψη και τον μεταβολισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων, συνεισφέροντας στην ινσουλινοαντίσταση. Η ρεξιστίνη δεν έχει επαρκώς μελετηθεί στην NASH και περισσότερα δεδομένα χρειάζονται για την διεξαγωγή σίγουρων συμπερασμάτων ⁽³⁰⁾.

Οξειδωτικό στρες

Στο φυσιολογικό ήπαρ η β' οξείδωση πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια, αλλά στο λιπώδες ήπαρ επεκτείνεται και κυριαρχεί ως αποτέλεσμα αυξημένου φορτίου ελεύθερων λιπαρών οξέων, αυξάνοντας έτσι τις ραδιενεργές ελεύθερες ρίζες. Αυτές προκαλούν οξειδωτικό στρες με επακόλουθη ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοπατιών και μιτοχονδριακή βλάβη. Δομικές μιτοχονδριακές ανωμαλίες και μείωση στην δραστηριότητα της αναπνευστικής μιτοχονδριακής αλυσίδας έχει

παρατηρηθεί σε μελέτες ασθενών με NASH. Σε ασθενείς με NASH εμφανίζεται αυξημένη έκφραση και δραστηριότητα του κυτοχρώματος P450 2E1 (CYP2E1) που αποτελεί πιθανή πηγή ελεύθερων ριζών ⁽³¹⁾.

Βακτηριακή Υπερανάπτυξη

Όλο και περισσότερες ενδείξεις υποστηρίζουν τον ρόλο της βακτηριακής υπερανάπτυξης στην παθογένεση της NASH. Αποτέλεσμα της είναι η παραγωγή αιθανόλης και η απελευθέρωση βακτηριακών λιποπολυσακχαριτών, τα οποία ενεργοποιούν την παραγωγή του TNF-α στα κύτταρα Kupffer και επομένως προκαλούν ηπατική φλεγμονή. Βακτηριακή υπερανάπτυξη στο λεπτό έντερο και αυξημένη εντερική διαπερατότητα είναι πιο συχνή σε ασθενείς με NASH όταν συγκρίνονται με υγιή άτομα. Αυτό μπορεί να εξηγεί την εμφάνιση της NASH και της ηπατικής ίνωσης ως επιπλοκές της εντερικής παράκαμψης. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται περαιτέρω από μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους που δείχνουν ότι η μεταβολή της εντερικής μικροχλωρίδας λόγω αντιβιοτικών και προβιοτικών μπορεί να οδηγήσει σε ηπατική φλεγμονή ⁽³¹⁾.

4.ΔΙΑΓΝΩΣΗ

4.1 Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα ασθενών με NAFLD, περιγράφεται ως εξής ⁽³²⁾:

1. Ηπατική στεάτωση σύμφωνα με την απεικόνιση ή την ιστολογία
2. Απουσία σημαντικής κατανάλωσης αλκοόλ (20g την ημέρα για άντρες και 10g την ημέρα για γυναίκες)
3. Απουσία ανταγωνιστικών αιτιολογιών για την ηπατική στεάτωση ούτε για τη χρόνια ηπατική νόσο

Η πλειοψηφία των ασθενών που έχουν διαγνωστεί με NAFLD είναι ασυμπτωματικοί. Ωστόσο, όταν εμφανίζουν συμπτώματα, αυτά είναι συνήθως άλγος του δεξιού υποχονδρίου, δηλαδή του δεξιού άνω τεταρτημορίου της κοιλιακής χώρας ή/και δυσφορία. Κατά την εξέταση, η ηπατομεγαλία είναι το πιο κοινό φυσικό εύρημα. Υπάρχουν φυσικά και άλλα κλινικά συμπτώματα και ευρήματα τα οποία δεν παρουσιάζουν εξειδίκευση στη νόσο και αυτά είναι η γενική κακουχία, η κοιλιακή δυσφορία, η ναυτία, και άλλα μη ειδικά συμπτώματα που αναφέρονται στον γαστρεντερικό σωλήνα. Η κοιλιοκάκη θα πρέπει να έχει αποκλειστεί σε άτομα με σοβαρή υποψία για τη νόσο ⁽³²⁾.

4.2 Εργαστηριακά ευρήματα

Η αύξηση των ηπατικών ενζύμων αποτελεί την πιο κοινή και συχνά μοναδική εργαστηριακή διαταραχή, χωρίς να αποκλείονται και άλλες εργαστηριακές διαταραχές σε προχωρημένες μορφές NAFLD(22,23). Τα επίπεδα των AST και ALT στο 50% των ατόμων με NAFLD είναι συνήθως <200U/L. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι στο 70% των νοσούντων από NAFLD τα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων βρίσκονται σε φυσιολογικά όρια και έτσι δεν μπορούν να συνεισφέρουν στη διάγνωση της νόσου. Ο λόγος ALT/AST είναι συνήθως >1 και οι ενζυμικές συγκεντρώσεις δεν σχετίζονται με την ιστολογία της νόσου ⁽³⁴⁾. Ωστόσο, η συγκέντρωση του AST μπορεί να είναι υψηλότερη από την συγκέντρωση του ALT στην κίρρωση. Επομένως σε ασθενείς με NAFLD,

αύξηση στην συγκέντρωση του AST και αντιστροφή του λόγου ALT/AST είναι ένα δυνητικά άσχημο προγνωστικό στοιχείο ⁽³³⁾. Επίσης, μια βελτίωση στα ηπατικά ένζυμα με το πέρασμα του χρόνου αντανακλά πολλές φορές υποβάθμιση της κατάστασης και όχι ευνοϊκή εξέλιξη. Αυτό εξηγείται γιατί κατά την εξελισσόμενη ηπατική ίνωση προκαλείται απώλεια ηπατοκυττάρων, κάτι που οδηγεί σε μείωση της ικανότητας του ήπατος για απελευθέρωση ενζύμων στην κυκλοφορία ⁽³⁴⁾. Τα επίπεδα της γ-γλουταμυλοτρανσπεπτιδάσης (γGT) και της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) είναι συνήθως 2-3 φορές υψηλότερα από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια στο 50% των νοσούντων ^(35,36). Η ALP υφίσταται ήπια αύξηση στο 38-70% των περιπτώσεων, με μέγιστη τιμή που δεν ξεπερνά το διπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου, αλλά σπάνια αυξάνεται μεμονωμένα [19]. Από τον υπόλοιπο εργαστηριακό έλεγχο τα επίπεδα χολερυθρίνης και λευκωμάτων πλάσματος συνήθως είναι φυσιολογικά, ενώ τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και ουρικού οξέος πλάσματος είναι συχνά αυξημένα ^(35,36). Αύξηση παρουσιάζει, επίσης, η Φερριτίνη στο 50% των ατόμων με NAFLD ^(35,36).

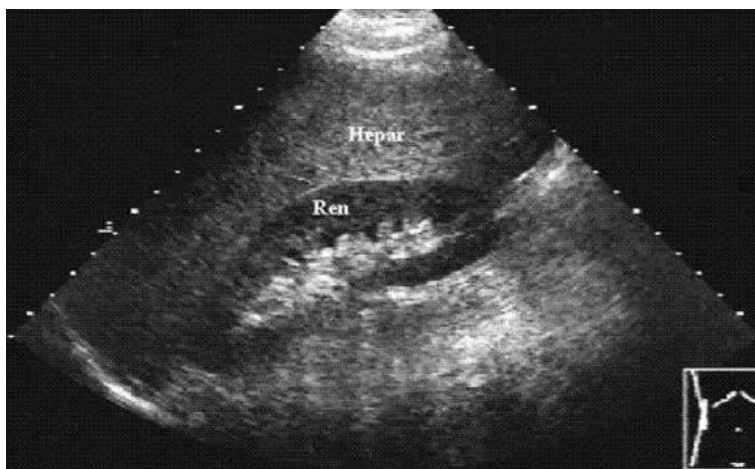
Τα εργαστηριακά ευρήματα συχνά διαφέρουν ανάμεσα σε άτομα με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος (NAFLD) και με αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος (AFLD) (Πίνακας 4.1). Η AFLD σχετίζεται με λόγο ALT/AST<1 ενώ η NAFLD με λόγο ALT/AST>1. Η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ συχνά οδηγεί σε αύξηση της HDL χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων κάτι που δεν συνάδει με την ινσουλινοαντίσταση και την NAFLD. Ένας αριθμός ατόμων τείνει να εμφανίζει μεικτά χαρακτηριστικά, λόγω συνδυασμού παχυσαρκίας και υπέρμετρης κατανάλωσης αλκοόλ ⁽³³⁾.

4.3 Απεικονιστικός έλεγχος

Οι συνηθέστεροι μέθοδοι για την εκτίμηση της νόσου και οι κυριότερες ενδείξεις τους είναι οι εξής:

- Το υπερηχογράφημα αντιπροσωπεύει μια μη επεμβατική, ανέξοδη και ευρέως διαθέσιμη μέθοδο, χρήσιμη για την ανίχνευση της ηπατικής στεάτωσης με ευαισθησία 60-94% και ειδικότητα 66-95% ⁽³⁸⁾. Η μέθοδος αυτή οδηγεί σε μια υποκειμενική εκτίμηση της λιπώδους

διήθησης, με ένα σύστημα βαθμολόγησης με τρία ή περισσότερα επίπεδα (ήπια, μέτρια και σοβαρή). Χαρακτηριστικά, παρατηρείται αύξηση της ηπατικής ηχογένειας (bright liver). Η μέθοδος του υπερηχογραφήματος χαρακτηρίζεται από χαμηλή ευαισθησία για την ήπια στεάτωση, αδυναμία να διαφοροποιήσει ήπια ίνωση από στεάτωση και να ποσοτικοποιήσει με ακρίβεια τη λιπώδη διήθηση⁽³⁸⁾, εξάρτηση από το χειριστή του υπερηχογραφικού μηχανήματος με ποσοστό συμφωνίας μεταξύ αυτών στο 72%⁽³⁹⁾, καθώς και από περιορισμένη εφαρμοσιμότητα στους παχύσαρκους ασθενείς και σε εκείνους με περίσσεια αερίου στο έντερο.



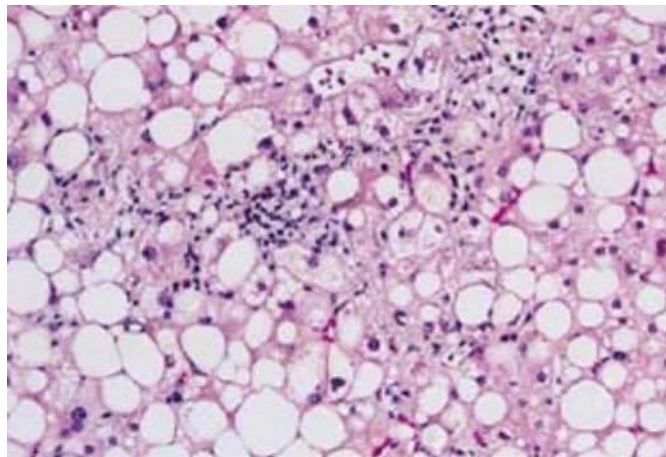
Εικόνα 10 : Υπερηχοϊκή απεικόνιση λιπώδους ήπατος ασθενούς με μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα

- Η αξονική τομογραφία (CT), χαρακτηρίζεται από μια καλή διαγνωστική απόδοση στην ποιοτική διάγνωση του μεγαλύτερου βαθμού ηπατικής στεάτωσης ($> 30\%$) με ευαισθησία 82% και ειδικότητα 100%. Η μέθοδος, λοιπόν, αυτή μπορεί να πιστοποιήσει την ύπαρξη λιπώδους διήθησης του ήπατος αλλά και την εναπόθεση σιδήρου στο ηπατικό παρέγχυμα και προσφέρει πληροφορίες σχετικά με το κίρρωτικό ήπαρ⁽³⁷⁾. Πιο συγκεκριμένα, το λιπώδες ήπαρ μπορεί να διαγνωστεί με CT, εάν η εξασθένηση του ήπατος είναι τουλάχιστον 10 HU μικρότερη από εκείνη του σπλήνα, ή εάν η εξασθένηση του ήπατος είναι $< 40\text{HU}$. Σε περιπτώσεις λιπώδους ήπατος υψηλού βαθμού, η εικόνα των ενδοηπατικών αγγείων εμφανίζεται σημαντικά εξασθενημένη σε σχέση με το λιπώδες ήπαρ. Από την άλλη η εξασθενημένη εικόνα του σπλήνα σε σχέση με το λιπώδες ήπαρ δεν είναι τόσο αξιόπιστη για τη διάγνωση λιπώδους ήπατος. Επιπλέον, η

CT σχετίζεται με έκθεση ακτινοβολίας, η οποία περιορίζει τη χρήση της σε διαμήκη μελέτες και σε παιδιά.

- Η μαγνητική τομογραφία (MRI), ακόμη και αν αντιπροσωπεύει την πιο αξιόπιστη μέθοδο ανίχνευσης της ηπατικής στεάτωσης και επιτρέπει την ποσοτικοποίηση της, αποτελεί μία ακριβή διαγνωστική εξέταση και έτσι δεν είναι ευρέως διαθέσιμη. Εμφανίζει καλή συσχέτιση με την ιστολογική εξέταση, με 100% ευαισθησία και 92.3% ειδικότητα ⁽⁴¹⁾. Οι μεταβολές στην ηπατική εναπόθεση λίπους αξιολογούνται με διαφορετικές χημικές μετατοπίσεις μεταξύ του λίπους και του νερού που ανιχνεύονται από την MRI. Η MRI είναι σε θέση να ανιχνεύσει ηπατική στεάτωση επιπέδου < 3% ⁽⁴²⁾.
- Η βιοψία ήπατος αποτελεί μέχρι και σήμερα την αναντικατάστατη μέθοδο εκλογής (“gold standard”) για τη διάγνωση και την ποσοτική αξιολόγηση της NAFLD και της NASH. Είναι η μοναδική μέθοδος που μπορεί να οδηγήσει σε διάκριση μεταξύ απλής στεάτωσης και στεατοηπατίτιδας, να ελέγξει την εξέλιξη τους και να αποκλείσει άλλες αιτίες ηπατικής στεάτωσης παρέχοντας την δυνατότητα για μια ορθή διάγνωση. Με την ιστολογική εξέταση αξιολογούνται 4 κύριοι παράγοντες: η στεάτωση, η φλεγμονή, η αεροσφαιροειδής εκφύλιση των ηπατοκυττάρων και η ηπατική ίνωση ^(43,44). Η στεάτωση, δηλαδή η παρουσία λιποσταγονιδίων εντός των ηπατοκυττάρων ανιχνεύεται εύκολα με τις συνηθισμένες χρώσεις. Διακρίνεται σε μεγαλοκενοτοπιώδη στεάτωση (συνηθέστερη) με την παρουσία ευδιάκριτου μεγάλου ενδοκυττάριου κυστιδίου λίπους που προκαλεί έκκεντρη μετατόπιση του πυρήνα, σε μικροκενοτοπιώδη με την εμφάνιση μικρότερων κυστιδίων λίπους που δίνουν εικόνα αφρωδών ηπατοκυττάρων χωρίς μετατόπιση του πυρήνα ή μικτή μικρο- και μεγαλοκενοτοπιώδη μορφή. Η ποσοτικοποίηση της ηπατικής στεάτωσης διακρίνεται, ανάλογα με το ποσοστό των ηπατοκυττάρων που παρουσιάζουν εικόνα στεάτωσης, σε ήπια (5-33% των ηπατοκυττάρων), μέτρια (33-66% των ηπατοκυττάρων) και σοβαρού βαθμού (>66% των ηπατοκυττάρων). Δεδομένου, όμως, του επεμβατικού χαρακτήρα της και του υψηλού κόστους της, είναι φανεροί οι περιορισμοί στη χρήση της, ιδιαίτερα δε, εάν λάβουμε υπ’ όψη τους μεγάλους αριθμούς πληθυσμού που επηρεάζονται από αυτή τη νόσο. Η παρουσία παχυσαρκίας ή ΣΔΙΙ, αρτηριακής υπέρτασης,

υψηλών επιπέδων ALT, τριγλυκεριδίων πλάσματος και λόγου AST/ALT>1, δικαιολογούν την πραγματοποίηση βιοψίας ήπατος, καθώς και στις ομάδες αυτές των ασθενών, έχουν υψηλή προγνωστική σημασία ^(45,46). Ιστολογικά σε αυτές τις ομάδες ασθενών, διαπιστώνεται ίνωση στο 66% και κίρρωση στο 25%. Η βιοψία του ήπατος πλεονεκτεί έναντι των απεικονιστικών μεθόδων, καθώς διαθέτει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, με μοναδικό μειονέκτημα ότι είναι επεμβατική μέθοδος ^(45,46).



Εικόνα 11: Μεγαλοκενοτοπιώδης στεάτωση και ήπια λοβιακή φλεγμονή ασθενούς με ήπια μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα

Επιπλέον, κάποιοι από τους δείκτες εκτίμησης της νόσου είναι οι εξής:

- ✓ Δείκτης NAS (NAFLD Activity Score): προκύπτει από το άθροισμα της ημιποσοτικής εκτίμησης της στεάτωσης (0 - 3), της λοβιδιακής φλεγμονής (0 - 3) και της αεροσφαιροειδούς εκφύλισης (0 - 2), ωστόσο δεν τυγχάνει ευρείας αποδοχής ⁽⁴⁷⁾.
- ✓ Διάφοροι δείκτες ηπατικής ίνωσης: έχουν κατά καιρούς προταθεί αρκετοί, με την ελαστογραφία (Fibroscan) να είναι ο πιο αξιόπιστος και χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο και για την αρχική εκτίμηση αλλά και για την παρακολούθηση της εξέλιξης της ίνωσης ⁽⁴⁷⁾.

4.4 Περιπτώσεις αποκλεισμού

Στον αλγόριθμο διάγνωσης της NAFLD, πρέπει να συμπεριληφθεί ο αποκλεισμός της χρόνιας ηπατίτιδας B και C, της νόσου του Wilson και της ανεπάρκειας α1-αντιθρυψίνης, ενώ ιδιαίτερη σημασία χρειάζεται να δοθεί στην προσεκτική λήψη ιατρικού ιστορικού, δεδομένου ότι αρκετά φάρμακα (π.χ. ταμοξιφαίνη, μεθοτρεξάτη, αμιοδαρόνη) μπορούν να προκαλέσουν ηπατική στεάτωση.

Ιδιαίτερα θα πρέπει να τονισθεί η στενή σχέση μεταξύ HCV λοίμωξης και στεάτωσης, που παρατηρείται σε αυξημένη συχνότητα (55%) σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (20-30%). Αρκετά επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξη παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδη διαβήτη (21%-50%). Θα πρέπει να αναφερθεί ότι επιτυχής αντιική θεραπεία φαίνεται να επαναφέρει την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε άτομα με χρόνια HCV λοίμωξη. Επομένως, η εξέταση των ασθενών με NAFLD πρέπει να κατευθύνεται και προς τον αποκλεισμό της HCV λοίμωξης⁽⁴⁸⁾.

5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ

Οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων οι κληρονομήσιμες διαταραχές σχετίζονται με την ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης, είναι η διαταραχή της ηπατικής μεταφοράς των τριγλυκεριδίων (αβηταλιποπρωτεϊναιμία, οικογενής υποβηταλιποπρωτεϊναιμία), η γενική συστηματική ελάττωση του μεταβολισμού των λιπιδίων (κιτρουλλιναιμία τύπου 2, οικογενείς λιποδυστροφίες, σύνδρομο Chananin-Dorfman, ασθένεια Wilson), η διαταραχή της οξειδωσης των λιπαρών οξέων και η ανισορροπία στα μονοπάτια σηματοδότησης της ινσουλίνης (συσχετιζόμενη με τη θέση του υποδοχέα ηπατική ινσουλινοαντίσταση)⁽⁴⁹⁾.

Πολυμορφισμοί γονιδίων

Διάφοροι πολυμορφισμοί σε γονίδια που σχετίζονται με τον μεταβολισμό του λίπους, το οξειδωτικό στρες, την ινσουλινοαντίσταση και την ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι πιθανόν ότι επηρεάζουν την τάση για ανάπτυξη της NAFLD, παρουσία άλλων παθογενετικών παραγόντων κινδύνου. Οι απλοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single nucleotide polymorphisms-SNPs) του γενετικού υλικού μπορεί να οδηγήσουν σε διαφοροποιημένη έκφραση ενός συγκεκριμένου γονιδίου ή σε διαφοροποιημένη λειτουργία μιας εκφραζόμενης πρωτεΐνης⁽⁴⁹⁾.

Γονίδιο PNPLA3

Η NAFLD θεωρείται μια πολύπλοκη ασθένεια, η οποία εμφανίζεται όταν τα περιβάλλοντα ερεθίσματα ενεργούν πάνω σε ένα ευαίσθητο πολυγονιδιακό προφίλ που αποτελείται από πολλαπλούς ανεξάρτητους τροποποιητές. Οι πρόσφατες εξελίξεις στην έρευνα περιλαμβάνουν την αναγνώριση του PNPLA3 γονιδίου ως τροποποιητή της έκβασης της νόσου σε όλο το φάσμα αυτής, από στεάτωση σε προχωρημένη ίνωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.

Το γονίδιο PNPLA3 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, άγνωστης λειτουργίας,

που ανήκει σε μια οικογένεια πρωτεϊνών με δραστηριότητα ακετυλοϋδρολάσης. Η έκφραση του υπόκειται σε μεταβολικό έλεγχο στο λιπώδη ιστό και το ήπαρ ⁽⁵⁰⁾. Σε μελέτη, που πραγματοποιήθηκε ανάλυση για την ταυτοποίηση πολυμορφισμών που σχετίζονται με την NAFLD, φάνηκε ότι μόνο ένας πολυμορφισμός συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με το ηπατικό λίπος, ο rs738409 του γονιδίου PNPLA3. Πρόκειται για αντικατάσταση κυτοσίνης (C) από γουανίνη (G) που μεταλλάσσει το κωδικόνιο 148 από ισολευκίνη σε μεθειονίνη. Η συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού και του ηπατικού λίπους παρέμεινε στατιστικά σημαντική, έπειτα από προσαρμογή ως προς το ΔΜΣ, την ύπαρξη διαβήτη και την κατανάλωση οινόπνευματος, και ήταν εμφανής και στις 3 ομάδες. Η συχνότητα παρουσίας του πολυμορφισμού ήταν ανάλογη με την συχνότητα εμφάνισης της νόσου ⁽⁵⁰⁾.

Επιπλέον, διερευνήθηκε η σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού και της ένδειξης για ηπατική φλεγμονή, μέσω εκτίμησης των ηπατικών ενζύμων και παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στα επίπεδα ορού της ALT. Πιθανόν, λοιπόν, ο πολυμορφισμός αυτού του γονιδίου να οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία για ηπατικό τραύμα. Καμία συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ του πολυμορφισμού και του ΔΜΣ, του λιπιδαιμικού και του γλυκαιμικού προφίλ. Άρα, λοιπόν, ο πολυμορφισμός δεν επηρεάζει μεταβολικά χαρακτηριστικά, αλλά κατέχει ένα ρόλο σε διαδοχικά στάδια αποικοδόμησης των τριγλυκεριδίων, αποτρέποντας την αποικοδόμηση τους και προωθώντας την ηπατική στεάτωση. Τέλος, σύμφωνα με την μελέτη «Raine», βρέθηκε μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και του ΔΜΣ, προτείνοντας πως η επίδραση του αυξάνεται όταν συνυπάρχει παχυσαρκία ⁽⁵⁰⁾.

Πίνακας 4: Συχνότητες αλληλόμορφων του γονιδίου PNPLA3 (rs738409) σε διάφορα έθνη

Population	Allele			Genotype Frequency (%)		
	N	Frequency	p-value	CC	CG	GG
Filipino	36	0.17	-	72	22	6
Italian	179	0.18	NS	66	31	3
Han Chinese	553	0.34	0.0355	42	47	11
Japanese	578	0.44	0.0015	30	52	18
White	328	0.27	NS	55	36	9
Hispanic	30	0.5	0.0042	30	40	30
Black	38	0.13	NS	74	26	0
German	162	0.19	NS	64	34	2

Γονίδια PPP1R3B, GCKR και LYPLAL1

Σε μεταανάλυση 4 μελετών GWAS (μελέτη «Amish», «Family Heart», «Framingham Heart» και «Ages») για την διερεύνηση συσχέτισης μεταξύ της ηπατικής στεάτωσης όπως αυτή ανιχνεύεται με αξονική τομογραφία (CT) και 2.4 εκατομμυρίων SNPs σε 7.176 άτομα ταυτοποιήθηκαν πολυμορφισμοί που σχετίζονταν στατιστικά σημαντικά με τη νόσο. Πρόκειται για πολυμορφισμούς πάνω ή κοντά στα γονίδια PNPLA3 (rs738409), NCAN (rs2228603) και PPP1R3B (rs4240624).

Τα γονίδια GCKR και PPP1R3B εμπλέκονται στον μεταβολισμό της γλυκόζης. Συγκεκριμένα, το γονίδιο GCKR κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη ρυθμιστή της γλυκοκινάσης η οποία αναστέλλοντας την γλυκοκινάση, ρυθμίζει την αποθήκευση και την αποικοδόμηση της γλυκόζης και παρέχει υπόστρωμα για την *de novo* λιπογένεση⁽⁵¹⁾. Το γονίδιο PPP1R3B κωδικοποιεί την πρωτεϊνική φωσφατάση 1 η οποία είναι ρυθμιστής της αποικοδόμησης του γλυκογόνου⁽⁵²⁾. Τέλος, το γονίδιο LYPLAL1 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με δράση λιπάσης στα μικρότερα υποστρώματα⁽⁵³⁾. Σε συνέχεια αυτής της μεταανάλυσης, έγινε γονοτύπηση αυτών των πολυμορφισμών και άλλων που έχουν συσχετιστεί με την νόσο σε 592 ασθενείς και 1405 υγιείς. Παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στην ιστολογικά διαγνωσμένη NAFLD και πολυμορφισμούς πάνω ή κοντά στα παραπάνω γονίδια. Οι πολυμορφισμοί στα γονίδια των PNPLA3 και LYPLAL1 δεν επηρεάζουν τα μεταβολικά χαρακτηριστικά, αλλά προτάθηκε πως κατέχουν ένα ρόλο σε διαδοχικά στάδια αποικοδόμησης των τριγλυκεριδίων αποτρέποντας την αποικοδόμηση τους και έτσι αυξάνοντας την ηπατική στεάτωση. Πιθανώς, οι επιδράσεις τους ασκούνται στο ήπαρ με τρόπο που δεν αντανακλάται στα εργαστηριακά ευρήματα. Από την άλλη, οι πολυμορφισμοί στα γονίδια NCAN, PPP1R3B και GCKR επηρεάζουν και τα μεταβολικά χαρακτηριστικά⁽⁵⁴⁾.

Γονίδια GC και LCP-1

Στην μελέτη «Raine», πραγματοποιήθηκε GWAS ανάλυση για την ανεύρεση συσχέτισης μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και ανάπτυξης της NAFLD. Το ηπατικό λίπος εκτιμήθηκε με υπερηχογράφημα (US) σε

928 εφήβους. Έπειτα από προσαρμογή ως προς το φύλο και την παχυσαρκία, δυο πολυμορφισμοί σε γονίδια που εκφράζονται στο ήπαρ συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά με την NAFLD. Πρόκειται για τον πολυμορφισμό rs222054 του γονιδίου GC και τον πολυμορφισμό rs7324845 του γονιδίου LCP-1 ⁽⁵⁵⁾. Το γονίδιο GC κωδικοποιεί την πρωτεΐνη δέσμευσης της βιταμίνης D η οποία αποτελεί την κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς της⁽⁵⁶⁾ ενώ το γονίδιο LCP-1 κωδικοποιεί την λεμφοκυτταρική κυτοσολική πρωτεΐνη 1, μια πρωτεΐνη σύνδεσης της ακτίνης που συμμετέχει στην ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων ⁽⁵⁷⁾.

Σχετικά με το γονίδιο GC, η παρουσία τουλάχιστον ενός αλληλόμορφου κινδύνου συσχετίστηκε με 2.54 φορές υψηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη της NAFLD σε σύγκριση με την παρουσία δυο αλληλόμορφων άγριου τύπου. Η συχνότητα της NAFLD αυξήθηκε από 9.7% σε ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο άγριου τύπου, σε 16.8% σε ετεροζυγώτες και σε 21.4% σε ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο κινδύνου. Η σοβαρότητα της νόσου αυξανόταν σημαντικά με κάθε αλληλόμορφο κινδύνου. Τα επίπεδα της βιταμίνης D στους ασθενείς με NAFLD είναι χαμηλά σε σύγκριση με τους υγιείς και σχετίζονται με την ιστολογική σοβαρότητα της νόσου ⁽⁶²⁾. Χαμηλή συγκέντρωση βιταμίνης D μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένο ενδοκυτταρικό ασβέστιο στα λιποκύτταρα και προώθηση της λιπογένεσης ⁽⁵⁹⁾. Είναι πιθανό ο πολυμορφισμός rs222054 του γονιδίου GC να επηρεάζει τα επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό και με αυτόν τον τρόπο να σχετίζεται με την NAFLD ⁽⁵⁵⁾.

Σχετικά με το γονίδιο LCP-1, ο πολυμορφισμός αυτός πρόσφατα συσχετίστηκε με προκαλούμενη από χημειοθεραπεία υπερτριγλυκεριδαμία, προτείνοντας πως ίσως κατέχει κάποιο ρόλο στον μεταβολισμό του λίπους ⁽⁶⁰⁾. Στην μελέτη «Raine», η παρουσία τουλάχιστον ενός αλληλόμορφου κινδύνου συσχετίστηκε με 3.29 φορές υψηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη της NAFLD σε σύγκριση με την παρουσία δυο αλληλόμορφων άγριου τύπου. Η συχνότητα της NAFLD αυξήθηκε από 11.2% σε ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο άγριου τύπου, σε 21.4% σε ετεροζυγώτες και σε 28.6% σε ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο κινδύνου. Υπήρξε συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των αλληλόμορφων κινδύνου και της μέτριας προς σοβαρής ηπατικής στεάτωσης. Επίσης, εκτιμήθηκε η ηπατική έκφραση του mRNA του

γονιδίου LCP-1 και φάνηκε πως ήταν σημαντικά αυξημένη (κατά 300%) στους ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς ⁽⁶¹⁾.

Γονίδιο APOC3

Υψηλά επίπεδα της απολιπορωτεΐνης C3 (APOC3) αναστέλλουν την λιποπρωτεϊνική λιπάση και την κάθαρση των τριγλυκεριδίων, οδηγώντας σε αυξημένα τριγλυκερίδια νηστείας αλλά και μεταγευματικά τριγλυκερίδια λόγω αύξησης στα υπολείμματα των χυλομικρών ⁽⁶²⁾. Τα υπολείμματα προσλαμβάνονται από το ήπαρ, οδηγώντας στην NAFLD και την ηπατική ινσουλिनoαντίσταση. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο της απολιπορωτεΐνης C3, όπως ο rs2854117 και ο rs2854116 αυξάνουν τον κίνδυνο για NAFLD μέσω αυτού του μηχανισμού ⁽⁴⁹⁾. Σε μια μελέτη με υγιείς άνδρες ελέγχθηκε η παρουσία αυτών των πολυμορφισμών. Οι φέροντες το αλληλόμορφο κινδύνου είχαν 30% αύξηση στην συγκέντρωση της απολιπορωτεΐνης C3 και 60% αύξηση στα τριγλυκερίδια νηστείας σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο άγριου τύπου. Η NAFLD ήταν παρούσα στο 38% των ατόμων που έφεραν το αλληλόμορφο κινδύνου και σε κανέναν από τους ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο άγριου τύπου ⁽⁶²⁾.

Γονίδιο ATP7B

Η νόσος του Wilson είναι μια διαταραχή που χαρακτηρίζεται από υπερβολική εναπόθεση του χαλκού στους ιστούς. Η ασθένεια αυτή προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο ATP7B που κωδικοποιεί την ΑΤΡάση μεταφοράς του χαλκού ⁽⁶³⁾. Αυτή η μετάλλαξη εμποδίζει τη μεταφορά χαλκού στο σύστημα Golgi και τη σύνδεση του χαλκού με την αποσερουλοπλασμίνη. Ο χαλκός, έτσι, δεν μπορεί να εκκρίνεται στη χολή και συσσωρεύεται σε μια ποικιλία ιστών, συμπεριλαμβανομένων των ηπατοκυττάρων. Στο ήπαρ, η περίσσεια του χαλκού εξασθενεί τη μιτοχονδριακή λειτουργία και τη β-οξειδωσης των λιπαρών οξέων, οδηγώντας σε συσσώρευση λιπαρών οξέων και τελικά σε στεάτωση ⁽⁶⁴⁾. Μελέτη που πραγματοποιήθηκε είχε σκοπό τη συσχέτιση του ρόλου του γονιδίου PNPLA3 και της ηπατικής περιεκτικότητας σε χαλκό για την ανάπτυξη στεάτωση σε ασθενείς με ασθένεια Wilson. Συγκεκριμένα,

ελήφθη βιοψία ήπατος και έγινε γονοτύπηση του PNPLA3 σε 98 Καυκάσιους ασθενείς με ασθένεια Wilson. Το 28,6% των ασθενών παρουσίασε μέτρια/σοβαρή στεάτωση (> 33% των ηπατοκυττάρων), ενώ το 46,9% εμφάνισαν κίρρωση. Ωστόσο, δημιουργείται η αμφιβολία αν όντως σχετίζεται η συσσώρευση χαλκού στο ήπαρ με την εμφάνιση NAFLD ή η ύπαρξη του γονιδίου PNPLA3 είναι αυτή που οδηγεί σε στεάτωση και η περιεκτικότητα σε χαλκό δεν είχε ουσιαστικά αντίκτυπο στην NAFLD ⁽⁶⁴⁾.

Γονίδιο MTTP

Η αβηταλιποπρωτεΐναιμία (ABL) είναι μια γενετική διαταραχή, η οποία κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και προκαλείται από μια μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη μεταφοράς μικροσωμικών τριγλυκεριδίων (MTTP). Η πρωτεΐνη αυτή βρίσκεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και μεταφέρει τα τριγλυκερίδια στην απολιποπρωτεΐνη B-100 (apoB100) στα ηπατοκυττάρων και στην απολιποπρωτεΐνη B-48 (apoB48) στα εντεροκυτταρα. Η μετάλλαξη στο γονίδιο MTTP αποτρέπει την σύνδεση των apoB100 και apoB48 με τα τριγλυκερίδια προκειμένου να σχηματιστούν λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) και χυλομικρά, αντιστοίχως. Η απουσία λειτουργικών χυλομικρών αναστέλλει την απορρόφηση των λιπιδίων στο έντερο, οδηγεί σε υπερλιπιδαιμία, λόγω δυσαπορρόφησης του λίπους, και σε νευρολογικές διαταραχές. Η απουσία των VLDL έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση των τριγλυκεριδίων εντός των ηπατοκυττάρων και οδηγεί σε σημαντική στεάτωση ⁽⁶⁵⁾.

6. ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

6.1 Πρωτογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου

➤ *Παχυσαρκία*

Η παχυσαρκία (είτε κεντρικού τύπου είτε σε όλο το σώμα) αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση NAFLD, καθώς 25-85% των παχύσαρκων ατόμων παρουσιάζει NAFLD ⁽⁴⁰⁾. Συγκεκριμένα, περίπου 3 στα 4 παχύσαρκα άτομα έχουν μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος, ποσοστό που μπορεί να φτάσει και στο 90% στα άτομα με παθολογική ή αλλιώς νοσογόνο παχυσαρκία. Μεγάλη σημασία δίνεται στην ύπαρξη κεντρικής παχυσαρκίας, που αντανακλάται στην ύπαρξη αυξημένου ενδοπεριτοναϊκού (ή σπλαχνικού) λίπους και αριθμητικά ποσοτικοποιείται με το μέγεθος του λόγου περιμέτρου μέσης προς περίμετρο γλουτών. Η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο για NAFLD καθώς επιτρέπει στα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα οποία προκαλούν φλεγμονή στα ηπατοκύτταρα να περάσουν κατευθείαν στην πυλαία κυκλοφορία μέσω του συσσωρευμένου σπλαχνικού λίπους ⁽⁶⁶⁾.

➤ *Ινσουλινοαντίσταση*

Η ινσουλινοαντίσταση είναι ίσως ο βασικότερος παράγοντας εμφάνισης της NAFLD ⁽⁶⁶⁾, επομένως υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην ινσουλινοαντίσταση και την υπερβολική συσσώρευση λίπους στον μη λιπώδη ιστό, συγκεκριμένα στο μυ και το ήπαρ. Ο επιπολασμός της NAFLD είναι αυξημένος σε άτομα με διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και διαγνωσθέντες διαβητικούς τύπου II κατά 43% και 63% αντίστοιχα ⁽⁶⁷⁾. Επομένως, τα άτομα με διαβήτη τύπου II παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD και πιθανή εξέλιξη σε ίνωση και κίρρωση ⁽⁶⁸⁾. Τέλος, έχει παρατηρηθεί η ύπαρξη NAFLD σε άτομα με ινσουλινοαντίσταση τα οποία δεν είναι παχύσαρκα ⁽⁶⁹⁾.

➤ **Μεταβολικό Σύνδρομο**

Το μεταβολικό σύνδρομο φαίνεται πως πυροδοτεί την διαδικασία της στεάτωσης, διαμορφώνοντας μια καλοήγη κατάσταση της NAFLD. Η στεάτωση ξεκινά όταν οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί του ήπατος διαταράσσονται και δεν επιτρέπουν στο πλεονάζον λίπος να εγκαταλείψει τα ηπατοκύτταρα ή να μεταβολιστεί επαρκώς ^(70,71). Τα σύγχρονα δεδομένα υποστηρίζουν πως η κατάσταση μεταπίπτει στην κακοήγη μορφή της μετά από χρόνια συσσώρευση τοξικών λιπών, ή την παρουσία λιποτοξικότητας ⁽⁷⁰⁾.

Πίνακας 5: Διαγνωστικά κριτήρια μεταβολικού συνδρόμου⁵¹

Παράγοντας κινδύνου	Παθολογικές τιμές
Περίμετρος Μέσης	
Άνδρες	<102cm
Γυναίκες	<88cm
Γλυκόζη ορού νηστείας	>110mg/dL
Τριγλυκερίδια ορού	>150mg/dL ή υπό φαρμακευτική αγωγή
HDL-Χοληστερόλη	
Άνδρες	<40mg/dL
Γυναίκες	<50mg/dL
Αρτηριακή Πίεση	>130/>85mmHg ή υπό φαρμακευτική αγωγή

- Η **δυσλιπιδαιμία** συσχετίζεται και ανεξάρτητα αλλά και ως μέρος του μεταβολικού συνδρόμου με την NAFLD ⁽⁷³⁾. Εμφανίζεται ακόμη και απουσία υπερβάλλοντος σπλαχνικού λίπους ⁽⁷²⁾. Όταν τα δύο συνυπάρχουν η δυσλιπιδαιμία είναι ισχυρά αθηρογόνος, με χαμηλά επίπεδα HDL χοληστερόλης και υψηλά επίπεδα LDL καθώς και οξειδωμένης LDL χοληστερόλης ⁽⁷³⁾.
- Υπάρχει ξεκάθαρη συσχέτιση ανάμεσα στην **υπέρταση** και την NAFLD. Μέρος της συσχέτισης αποδίδεται στο μεταβολικό σύνδρομο, ωστόσο παραμένει μετά από προσαρμογή για κλινικούς

παράγοντες κινδύνου. Η αιτιολογική σχέση δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί ⁽⁷⁴⁾. Η υπέρταση υπάρχει σε ευρύ ηλικιακό φάσμα των ενηλίκων ανεξάρτητα από το βάρος τους, φαίνεται όμως πως μετά την ηλικία των 55 ο επιπολασμός της αυξάνει σημαντικά ⁽⁷⁵⁾.

6.2 Δευτερογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου

➤ *Σύνδρομο Weber-Christian*

Το Σύνδρομο Weber-Christian είναι μια οζώδης, μη πυογόνος μορφή υποδερματίτιδας (φλεγμονή του υποδόριου λίπους που βρίσκεται κάτω από την στοιβάδα του δέρματος) που σχετίζεται με μη φυσιολογικό μεταβολισμό του λίπους ⁽⁷⁶⁾. Τυπικά συμπτώματα των ασθενών είναι ο πυρετός, οι αρθραλγίες, οι μυαλγίες, οι δερματικές βλάβες και τα επώδυνα υποδόρια οζίδια στα άκρα. Το ήπαρ σε ασθενείς με σύνδρομο Weber-Christian, χαρακτηρίζεται από μακροσταγονιδιακή στεάτωση, στεατοηπατίτιδα, σωμάτια Mallory-Denk, διήθηση πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων καθώς και από περιφλεβική και περικυτταρική ίνωση. Αυτά τα ιστολογικά ευρήματα σε συνδυασμό με απουσία συστηματικής κατανάλωσης αλκοόλ συχνά ταυτίζονται με ύπαρξη ηπατικής στεάτωσης και NASH. Η αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη και ανοσοκατασταλτικά σχήματα έχουν φέρει περιορισμένη επιτυχία.

➤ *Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS)*

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών περιγράφεται από την ύπαρξη ωοθηκών που περιέχουν πολλές μικρές κύστες, οι οποίες συνήθως δεν ξεπερνούν τα 8 χιλιοστά σε μέγεθος, και εντοπίζονται, τις πιο πολλές φορές, ακριβώς κάτω από την επιφάνεια της ωοθήκης. Οι μικρές αυτές κύστες είναι ωοθυλάκια που περιέχουν ωάρια, λόγω όμως ορμονικών διαταραχών, τα ωοθυλάκια αυτά δεν έχουν αναπτυχθεί πλήρως και παρουσιάζουν στασιμότητα στη πορεία εξέλιξης τους. Οι πολυκυστικές ωοθήκες είναι συχνές στις γυναίκες και απαντώνται περίπου στο 20-30% των γυναικών. Η νόσος των πολυκυστικών ωοθηκών συσχετίζεται με αντίσταση στην ινσουλίνη ⁽⁷⁷⁾. Σε αναδρομική μελέτη 70 γυναικών με PCOS, βρέθηκαν υψηλά επίπεδα του ηπατικού ενζύμου ALT στο 30%

του δείγματος, το οποίο εμφάνιζε παράλληλα και σημαντικά υψηλότερο BMI, περιφέρεια μέσης, τριγλυκερίδια πλάσματος, λόγο ολικής χοληστερόλης προς HDL και αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε μελέτη ασθενών με PCOS διαγνώστηκε NAFLD στο 41.5% με απεικονιστικές μεθόδους, ενώ οι ασθενείς αυτοί είχαν υψηλότερη αντίσταση στην ινσουλίνη και μεγαλύτερη περίμετρο μέσης από τους ασθενείς με φυσιολογική απεικόνιση ήπατος ⁽⁷⁸⁾. Σε άλλη μελέτη ασθενών, νεαρής ηλικίας και φυσιολογικού σωματικού βάρους, με PCOS και αντίσταση στην ινσουλίνη δεν βρέθηκε αυξημένη επίπτωση NAFLD. Τα παραπάνω ευρήματα καταδεικνύουν την πιθανή σημασία της παχυσαρκίας, της ηλικίας και της ινσουλινοαντίστασης στην εξέλιξη του PCOS, χωρίς να επιβεβαιώνεται το PCOS ως ξεχωριστός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση NAFLD ⁽⁷⁹⁾.

➤ **Ολική Παρεντερική Διατροφή (ΟΠΔ)**

Η ΟΠΔ αναφέρεται στην ενδοφλέβια χορήγηση των θερμίδων ή / και της γλυκόζης σε ασθενείς οι οποίοι δεν δύνανται να αξιοποιήσουν την εντερική ή την από του στόματος σίτιση. Μακροχρόνια ΟΠΔ οδηγεί στην εξάντληση της καρνιτίνης, μιας ένωσης που είναι απαραίτητη για τη μεταφορά των ελεύθερων λιπαρών οξέων από το ηπατικό κυτταρόπλασμα στα μιτοχόνδρια για β-οξειδωση αυτών ⁽⁶⁴⁾. Η κυτταροπλασματική συγκέντρωση της χολίνης, ένα κρίσιμο θρεπτικό συστατικό για την έκκριση λιποπρωτεϊνών, μειώνει επίσης, την αποθήκευση λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα. Η διάρκεια της χορήγησης ΟΠΔ συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της ηπατικής βλάβης και σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε ηπατική νόσο τελικού σταδίου. Η διακοπή της ΟΠΔ θα πρέπει να εξετάζεται σε ασθενείς οι οποίοι αναπτύσσουν μη φυσιολογικές εξετάσεις ηπατικής λειτουργίας ⁽⁶⁴⁾.

➤ **Βαριατρική Χειρουργική-Απότομη απώλεια βάρους**

Το γαστρικό by-pass είναι η πιο κοινή βαριατρική εγχείριση σε άτομα με θνησιγενή παχυσαρκία, όμως οι συνέπειες από την απότομη απώλεια βάρους που προκαλείται δεν είναι ξεκάθαρες. Η πιθανότητα διαταραχής των ηπατικών ενζύμων ύστερα από μία τέτοια χειρουργική επέμβαση έχει φανεί ότι φτάνει το 40%, ενώ το 6% πιθανά να εμφανίσει

στεατοηπατίτιδα. Η παράκαμψη που δημιουργείται, οδηγεί στην καταστροφή των λιποκυττάρων και σε μια μεγάλη αύξηση στα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων, τα οποία λαμβάνονται από το ήπαρ. Οι επιπλοκές αυτές έρχονται σε αντίθεση με την υπόθεση ότι η γρήγορη απώλεια βάρους, μέσω του γαστρικού by-pass θα πρέπει να εξομαλύνει τις μεταβολικές παραμέτρους, τις εργαστηριακές ενδείξεις της ηπατικής λειτουργίας, την έκφραση παραγόντων που εμπλέκονται στην εξέλιξη της ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης ⁽⁸⁰⁾.

➤ *Υποξία- άπνοια ύπνου*

Χαρακτηρίζεται από διαλείπουσα διακοπή της αναπνοής κατά τη διάρκεια του ύπνου μέσω απόφραξης των αεραγωγών των πνευμόνων. Είναι μια συχνή κατάσταση που συνδέεται με την παχυσαρκία και ο επιπολασμός της στο γενικό πληθυσμό είναι 2-4%, ενώ στους παχύσαρκους 35-45%. Έχει παρατηρηθεί μεγαλύτερος επιπολασμός και σοβαρότητα της NASH σε άτομα με σοβαρή OSA , επομένως η διαλείπουσα υποξία ίσως παίζει ρόλο στην παθογένεια της NASH και επιπλέον, η προώθηση της αντίστασης στην ινσουλίνη κυρίως, είναι αυτή που εμπλέκεται στο μηχανισμό της παθογένεσης ⁽⁶⁷⁾.

➤ *Φαρμακευτική αγωγή*

HAART

Μετά την ανάπτυξη των αντιρετροϊκών θεραπειών για τη θεραπεία της νόσου του HIV, το ποσοστό θνησιμότητας εξαιτίας του AIDS μειώθηκε, ενώ παράλληλα αυξήθηκε το ποσοστό εμφάνισης ηπατικής νόσου στους ασθενείς αυτούς. Με τη βοήθεια του υπερήχου, έχουν παρατηρηθεί στοιχεία στεάτωσης στο 31% των ασθενών με λοίμωξη HIV. Η θεραπεία των ασθενών με HIV με τη χρήση νουκλεοσιδικών αναστολέων ανάστροφης μεταγραφάσης, όπως η διδανοσίνη, φυαλουριδίνη και ζιδοβουδίνη μπορεί να προκαλέσει στεάτωση στα μικρά αγγεία. Η διαχείριση αυτής της κατάστασης απαιτεί την εξέταση της ανάγκης για την αντιρετροϊκή θεραπεία, τη σοβαρότητα της ηπατικής νόσου, καθώς και τις διαθέσιμες εναλλακτικές θεραπείες που μειώνουν τον κίνδυνο της ηπατικής βλάβης, διατηρώντας παράλληλα καταστολή του ιού ⁽⁸¹⁾.

Ταμοξιφαίνη

Η ταμοξιφαίνη (TMX) συνδέεται με την ανάπτυξη στεάτωσης και φλεγμονής, ενώ παύση της TMX συνδέεται γενικά με παλινδρόμηση της NASH⁽⁸²⁾. Ο επιπολασμός της NASH σε ασθενείς που λαμβάνουν TMX είναι υψηλότερος σε άτομα με συνήθεις παράγοντες κινδύνου για NASH συμπεριλαμβανομένου του μεταβολικού συνδρόμου και της παχυσαρκίας.

Μεθοτρεξάτη

Η βιβλιογραφία περιέχει πολλές αναφορές των ασθενών με ψωρίαση που έλαβαν θεραπεία με μεθοτρεξάτη (MTX) και ανέπτυξαν κίρρωση του ήπατος. Η παχυσαρκία και ο διαβήτης αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για την τοξικότητα της μεθοτρεξάτης. Οι ιστολογικές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα περιλαμβάνουν στεάτωση, εκφυλισμό και νέκρωση των ηπατοκυττάρων. Το όφελος της θεραπείας με MTX πρέπει να σταθμίζεται έναντι της πιθανότητας επιδείνωσης της ηπατικής νόσου σε ασθενείς που αναπτύσσουν αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών κατά τη διάρκεια της θεραπείας⁽⁸³⁾.

Κορτικοστεροειδή

Τα κορτικοστεροειδή είναι στεροειδείς ορμόνες που παράγονται από το φλοιό των επινεφριδίων και επηρεάζουν την κυτταρική αλλαγή μέσω σύνδεσης σε υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών μέσα στα κύτταρα. Τα κορτικοστεροειδή προκαλούν στεάτωση μέσω αναστολής της μιτοχονδριακής β-οξειδωσης και των ενζύμων της β-υπεροξειδωσης λιπιδίων, που οδηγεί στην συσσώρευση των λιπιδίων εντός ηπατοκυττάρων. Τα κορτικοστεροειδή συμβάλλουν, επίσης, στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη που οδηγεί στην λιπογένεση στο ήπαρ. Επομένως, η χρήση κορτικοστεροειδών σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για την NAFLD θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή⁽⁸⁴⁾.

7. ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ - ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΕΣ

Υπάρχει ένα σύνολο προσωπικών παραγόντων, οι οποίοι επηρεάζουν σημαντικά τις συμπεριφορές και τους παράγοντες κινδύνου που οδηγούν στην εμφάνιση της NAFLD. Αρχικά, ο βαθμός και τα επίπεδα ενημέρωσης και αφύπνισης των πληθυσμών σχετικά με τα διατροφικά πρότυπα και τις συστάσεις φαίνεται να επηρεάζουν αρκετά τις διατροφικές συμπεριφορές αυτών, και κατ' επέκταση τον τρόπο ζωής τους. Η ψυχολογική υγεία και σταθερότητα, από την άλλη, δεν παίζουν λιγότερο σημαντικό ρόλο. Η αυτοεκτίμηση και αυτοπεποίθηση του ατόμου παρουσιάζει σίγουρα αμφίδρομη σχέση με την επιλογή ενός υγιεινού τρόπου ζωής και θρέψης ⁽⁸⁵⁾, καθώς δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις που παχύσαρκα/υπέρβαρα άτομα χρησιμοποιούν το φαγητό ως μέσο αντιμετώπισης καταστάσεων stress, κατάθλιψης ή ακόμα και ανίας ⁽⁸⁶⁾.

7.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου:

➤ *Ηλικία*

Η ηλικία φαίνεται ότι είναι έμμεσος παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση NAFLD καθώς δεν σχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου αυτής καθεαυτής, αλλά με την εμφάνιση συμπτωμάτων που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση NAFLD (όπως πχ. υπέρταση, σακχαρώδης. διαβήτης, αλλά και μειωμένη φυσική δραστηριότητα) ^(87,88). Ωστόσο, οι περισσότερες περιπτώσεις παρουσιάζονται μεταξύ 40-60 ετών ^(89,90). αλλά η νόσος περιγράφεται και στον παιδικό πληθυσμό με επιπολασμό 2,6-9,6%, αυξανόμενου έως και 38% στα παχύσαρκα παιδιά ^(46,47,87).

➤ Φύλο

Σε παλαιότερες επιδημιολογικές μελέτες υπήρχε σαφής υπεροχή του γυναικείου φύλου που ξεπερνούσε τα 2/3 των περιπτώσεων, ωστόσο σύγχρονα επιδημιολογικά δεδομένα παρουσιάζουν το αντίθετο. Το φύλο φαίνεται ότι επηρεάζει την εμφάνιση της νόσου, με τους άντρες να έχουν αυξημένες πιθανότητες για εμφάνιση αυτής. Η διαφορά οφείλεται στην διαφορετική κατανομή του λίπους μεταξύ των 2 φύλων, σε σπλαχνικό και υποδόριο, με το αρσενικό φύλο να έχει αυξημένα ποσοστά σπλαχνικού σε σχέση με το θηλυκό ⁽⁹¹⁾

➤ Εθνικότητα

Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου διαφέρει ανάλογα με την εθνικότητα (45% στους Ισπανόφωνους, 33% στους Λευκούς και 24% στους Αφρικανούς). Η διαφορά αυτή παραμένει έπειτα ακόμη και από προσαρμογή ως προς την παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση και μάλλον σχετίζεται με εθνικές διαφορές ως προς τον μεταβολισμό του λίπους ⁽⁹²⁾. Ρόλο φαίνεται να παίζει και η διαφορά διαιτητικών συνηθειών καθώς και άσκησης. Σε συμφωνία με αυτά τα δεδομένα, η μελέτη «IRAS Family» ανέδειξε υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης της NAFLD σε Ισπανόφωνους (24%) από ότι σε Αφρικανούς (10%). Αυτό δεν ήταν δυνατόν να εξηγηθεί από διαφορετική συχνότητα στους παράγοντες κινδύνου της νόσου, προτείνοντας πως αυτοί έχουν ηπιότερη επίδραση στους Αφρικανούς από ότι στους Ισπανόφωνους, κάτι που ίσως οφείλεται σε γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου που δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί ⁽⁹³⁾.

7.2 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

➤ Διατροφή

Η διατροφή κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της NAFLD και την εξέλιξη της από απλή στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα. Η επίδραση τόσο των μακροθρεπτικών και των μικροθρεπτικών συστατικών όσο και ομάδων τροφίμων και συγκεκριμένων τροφίμων στην ανάπτυξη της NAFLD παρουσιάζει επιστημονικό ενδιαφέρον ⁽⁹⁴⁾. Η υιοθέτηση

ανθυγιεινού διατροφικού προτύπου, το οποίο περιλαμβάνει αυξημένη κατανάλωση πρόσθετων σακχάρων και αναψυκτικών, συστηματική κατανάλωση fast food, μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, αυξημένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος και μειωμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών, σχετίζεται με βεβαιότητα με αύξηση σωματικού βάρους, πιθανή παχυσαρκία, επομένως και με πιθανή εμφάνιση ηπατικής στεάτωσης.

Λίπος:

Σε μια μελέτη χορήγησης λίπους σε ασθενείς με NASH και υγιείς, οι ασθενείς είχαν αυξημένη ηπατική πρόσληψη τριγλυκεριδίων κατά την μεταγευματική περίοδο και μειωμένη ηπατική έκκριση VLDL σε σύγκριση με τους υγιείς, κατάσταση που προωθεί την ηπατική στεάτωση ⁽⁹⁵⁾. Πολλαπλές μελέτες σε πειραματόζωα δείχνουν πως μια διατροφή πλούσια σε λίπος προωθεί την ηπατική στεάτωση ⁽⁹⁶⁻⁹⁸⁾. Η συσσώρευση κορεσμένων λιπαρών οξέων στο ήπαρ λόγω μιας διατροφής πλούσιας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα αυξάνει τους δείκτες που σχετίζονται με το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και την ηπατική δυσλειτουργία ⁽⁹⁹⁾. Το γεγονός αυτό παράλληλα με την συσχέτιση της κατανάλωσης κορεσμένων λιπαρών οξέων με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο προτείνει πως αυτά κατέχουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη της NAFLD ⁽¹⁰⁴⁾. Όσον αφορά τα trans-λιπαρά οξέα, σε μια μελέτη, ποντίκια που τρέφονταν με αυτά χαρακτηρίζονταν από διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη και ηπατικό τραύμα λόγω υψηλότερης ηπατικής λιπογένεσης σε σύγκριση με ποντίκια που τρέφονταν είτε με μονοακόρεστα είτε με κορεσμένα λιπαρά οξέα ⁽¹⁰¹⁾.

Υδατάνθρακες:

Ο ρόλος των υδατανθράκων στην ανάπτυξη της NAFLD διερευνήθηκε σε μια μελέτη με θνησιγόνα παχύσαρκους ασθενείς, το 90% των οποίων έπασχε από τη νόσο. Υψηλή κατανάλωση υδατανθράκων όπως εκτιμήθηκε από ανάκληση εικοσιτετραώρου (πάνω από το 54% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης) συσχετίστηκε με σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα για φλεγμονή. Ωστόσο, δεν έγινε διαχωρισμός ανάμεσα στους σύνθετους και τους απλούς υδατάνθρακες ⁽¹⁰²⁾. Επίσης, σε μια μελέτη όπου αξιολογήθηκαν οι διατροφικές συνήθειες σε ασθενείς με NASH και υγιείς με ερωτηματολόγιο, βρέθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα

στην ποσότητα υδατανθράκων και φυτικών ινών και του λόγου μειωμένη γλουταθειόνη πλάσματος/οξειδωμένη γλουταθειόνη ⁽¹⁰³⁾.

Πρωτεΐνες :

Υπάρχουν λίγα δεδομένα για την επίδραση της ποσότητας και της ποιότητας των πρωτεϊνών στην ανάπτυξη της NAFLD [116]. Η κατανάλωση πρωτεϊνών συσχετίστηκε με τη νόσο σε μια μελέτη με 349 άτομα όπου οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν με ημιποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Η κατανάλωση πρωτεΐνης ταξινομήθηκε σε 6 κατηγορίες ανάλογα με την πηγή της. Συγκεκριμένα σε πρωτεΐνη από κρέας πλούσιο σε λίπος, από άπαχο κρέας, από ψάρι, από ψάρι πλούσιο σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, από πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα και από άπαχα γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι ασθενείς με NAFLD κατανάλωναν κατά 27% περισσότερο πρωτεΐνη προερχόμενη από όλες τις πηγές σε σύγκριση με τους υγιείς. Στην ίδια μελέτη, έπειτα από προσαρμογή ως προς την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ και την ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη, η κατανάλωση πρωτεΐνης η οποία προερχόταν από όλες τις πηγές συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για NAFLD ενώ η κατανάλωση πρωτεΐνης από ψάρια πλούσια σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είχε μια τάση να μειώνει τον κίνδυνο για την νόσο ⁽¹⁰⁵⁾.

Βιταμίνη Ε και C:

Η χαμηλή πρόσληψη των αντιοξειδωτικών βιταμινών Ε και C σε συνδυασμό με αυξημένη υπεροξείδωση λίπους και οξειδωτικό στρες μπορεί να συνεισφέρει στο ηπατοκυτταρικό τραύμα, την φλεγμονή και την ίνωση σε ασθενείς με NASH ⁽⁹⁵⁻¹⁰⁶⁾.

➤ **Κάπνισμα**

Αυτό που παρατηρείται στην ενήλικη ζωή είναι ότι οι καπνιστές διστάζουν να διακόψουν το κάπνισμα υπό τον φόβο πρόσληψης βάρους ⁽¹⁰⁷⁾. Το κάπνισμα ίσως επιταχύνει την εξέλιξη της NAFLD μέσω της επίδρασής του στην αντίσταση στην ινσουλίνη, αλλά και της συσχέτισής του με την υποξία, το οξειδωτικό stress και την αύξηση των επιπέδων TNF-α και άλλων προφλεγμονωδών κυττοκινών. Επιπλέον, ο κίνδυνος για ίνωση αυξάνεται με την παρουσία ταυτόχρονα και διαβήτη και με την αύξηση της ηλικίας ^(67,108,109).

➤ *Σωματική αδράνεια*

Οι προσωπικοί παράγοντες που φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποχή από τη φυσική δραστηριότητα είναι η έλλειψη χρόνου, το αίσθημα κούρασης, η αποστροφή προς την άσκηση, η έλλειψη κινήτρων και αυτοκινητοποίησης, η χαμηλή αυτοεκτίμηση, ο φόβος πιθανού τραυματισμού και η χαμηλή αυτοαποτελεσματικότητα ⁽¹¹⁰⁾. Η προστατευτική επίδραση της φυσικής δραστηριότητας στα καρδιαγγειακά και μεταβολικά νοσήματα είναι καλά καθορισμένη. Ωστόσο, ο ρόλος και η σημασία της στην NAFLD χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Αρκετές μελέτες δείχνουν μια αντίστροφη σχέση μεταξύ του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας και της καρδιοαναπνευστικής ευρωστίας και τη πιθανότητα για εμφάνιση της NAFLD ⁽¹¹¹⁾. Σε μια μελέτη, ήταν εμφανής αντίστροφη η σχέση μεταξύ του επιπέδου φυσικής κατάστασης και της συχνότητας της NAFLD ανεξάρτητα από το ΔΜΣ ⁽¹¹²⁾. Ωστόσο, σε άλλη μελέτη, το περιεχόμενο ηπατικό λίπος ήταν χαμηλότερο στα δραστήρια άτομα έπειτα από προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ ⁽¹¹³⁾. Απουσία οποιασδήποτε αλλαγής στο σωματικό βάρος ή στην σύσταση του σώματος, η φυσική δραστηριότητα μπορεί να προωθεί την ινσουλινοευαισθησία και την ομοιοστάση της γλυκόζης. Ενεργοποιεί τον υποδοχέα της ινσουλίνης στον μυϊκό ιστό και επομένως αυξάνει την μεταφορά γλυκόζης και ινσουλίνης στους μυς. Επίσης, επιδρά θετικά στον μεταβολισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων προωθώντας την οξείδωση του λίπους. Η ηπατική συγκέντρωση λίπους μειώνεται έπειτα από αύξηση της φυσικής δραστηριότητας και η πρόσληψη ελεύθερων λιπαρών οξέων από το ήπαρ είναι χαμηλότερη σε άτομα που ασκούνται σε σύγκριση με αυτά που δεν ασκούνται ⁽¹¹¹⁾. Σε μελέτη αξιολόγησης μονοζυγωτικών διδύμων με διαφορετικά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας και φυσική κατάσταση, ο δραστήριος δίδυμος χαρακτηριζόταν από μειωμένη ηπατική πρόσληψη λιπαρών οξέων ⁽⁶⁹⁾.

8. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της NAFLD αποτελείται από θεραπευτικές πρακτικές των επιμέρους παραγόντων κινδύνου της νόσου, κυρίως του ΣΔΠ και της υπερλιπιδαιμίας που ευθύνονται για την εμφάνιση και την εξέλιξή της. Επιπλέον, η αντιμετώπιση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, αποτελεί βασική θεραπευτική αντιμετώπιση σε όλους τους ασθενείς με NAFLD.

Η αλλαγή του τρόπου ζωής, όμως, αποτελεί την πιο δραστική μέθοδο για την θεραπεία της NAFLD. Πιο συγκεκριμένα, η ρύθμιση του σωματικού βάρους σε φυσιολογικά επίπεδα, η ένταξη φυσικής δραστηριότητας στην καθημερινότητα, καθώς και η ισορροπημένη διατροφική πρόσληψη φαίνεται να αποτελούν συστατικά μιας καλής υγείας, επομένως και συστατικά θεραπείας από την νόσο. Σε μελέτη, δηλαδή, φάνηκε πως ανεξάρτητα από το που θα εστιάσει η αλλαγή του τρόπου ζωής, αυτή θα βελτιώσει σημαντικά την ηπατική ιστολογία ⁽¹¹⁵⁾. Ωστόσο, σε περίπτωση που η αποτελεσματικότητα της αλλαγής του τρόπου ζωής δεν είναι ικανοποιητική, μετά από περίοδο 6 μηνών, ενδείκνυται η φαρμακοθεραπεία. Επιπλέον, η αποφυγή κατανάλωσης αλκοόλ δρα προστατευτικά, ιδίως σε ασθενείς που έχουν αναπτύξει ίνωση. Η αλλαγή του τρόπου ζωής που συνίσταται περιγράφεται στις παραγράφους που ακολουθούν.

Απώλεια βάρους

Συνίσταται μείωση του αρχικού σωματικού βάρους 5-10% με ολιγοθερμιδικό διατροφικό πρόγραμμα που να περιέχει φυτικές ίνες, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, που βελτιώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη, καθώς και πλήθος βιταμινών, όπως η βιταμίνη C. Η απότομη απώλεια βάρους, όπως και οι μακρές περίοδοι νηστείας, αυξάνουν τα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων, επομένως και θα πρέπει να αποφεύγονται σαν τακτικές. Ούτως ή άλλως, η σταδιακή απώλεια βάρους έχει συσχετισθεί με βελτίωση της ηπατικής λειτουργίας ⁽¹¹⁶⁾.

Φυσική Δραστηριότητα

Αερόβια άσκηση μέτριας έντασης 3-5 φορές/εβδομάδα έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τις βιοχημικές και ιστολογικές αλλοιώσεις του ήπατος ^(117,118).

- Οι ενήλικες ηλικίας 18-64 ετών πρέπει να κάνουν τουλάχιστον 150 λεπτά μέτριας έντασης αεροβική φυσική δραστηριότητα την εβδομάδα ή τουλάχιστον 75 λεπτά έντονης αεροβικής φυσικής δραστηριότητας την εβδομάδα ή συνδυασμό των δυο.
- Η αεροβική δραστηριότητα πρέπει να διεξάγεται σε περιόδους άνω των 10 λεπτών.
- Για επιπρόσθετα οφέλη υγείας, οι ενήλικες μπορούν να αυξήσουν τη μέτριας έντασης φυσική δραστηριότητα σε 300 λεπτά την εβδομάδα ή 150 λεπτά έντονης φυσικής δραστηριότητας την εβδομάδα ή συνδυασμό των δυο.
- Οι δραστηριότητες μυϊκής ενδυνάμωσης πρέπει να περιλαμβάνουν μεγάλες μυϊκές ομάδες, 2 ή περισσότερες μέρες την εβδομάδα.

Σύσταση Διατροφής

Ένα ισορροπημένο, οριοθετημένο και εξατομικευμένο διατροφικό πρόγραμμα επιτρέπει την απώλεια βάρους και τη βελτίωση της κλινικής εικόνας της NAFLD. Σύμφωνα με διατροφικές συστάσεις για τους ασθενείς με NAFLD, οι υδατάνθρακες θα πρέπει να καταλαμβάνουν το 40-50% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης, εκ των οποίων σημαντικά αυξημένη θα πρέπει να είναι η ποσότητα των σύνθετων υδατανθράκων και των φυτικών ινών. Η πρόσληψη λίπους θα πρέπει να καταλαμβάνει <30% των ημερήσιων θερμίδων. Είναι σημαντικό να αυξηθεί η κατανάλωση των τροφίμων πλούσιων σε μονο- και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Τέλος, η πρωτεΐνη θα πρέπει να αποτελεί το 15-20% της συνολικής ενέργειας ⁽¹¹⁶⁾.

Πιο συγκεκριμένα, τα προϊόντα διατροφής που συνιστώνται σε ασθενείς με NAFLD πρέπει να είναι χαμηλά σε κορεσμένα λιπαρά οξέα ⁽¹¹⁹⁻¹²¹⁾. Το κρέας θα πρέπει να είναι χαμηλό σε λιπαρά γι' αυτό και προτιμάται η κατανάλωση λευκού κρέατος και περιστασιακά κόκκινου. Όσον αφορά το μαγείρεμα, τα τρόφιμα καλό θα είναι να μαγειρεύονται στον ατμό ή στο φούρνο, χωρίς προσθήκη πηγής λίπους. Το τηγάνισμα θα πρέπει να

αποφεύγεται, καθώς και η κατανάλωση των fast foods. Κάποιοι ξηροί καρποί, όπως τα καρύδια που είναι πλούσια σε α-λινολενικό οξύ, συνίστανται για τους ασθενείς με NAFLD. Η κατανάλωση 30gr καρύδια την ημέρα προκαλεί μείωση στα ολικά επίπεδα χοληστερόλης και LDL⁽¹²²⁾. Η διατροφή θα πρέπει, επίσης, να είναι πλούσια σε φρούτα και λαχανικά, τα οποία είναι καλές πηγές αντιοξειδωτικών βιταμινών. Σε γενικές γραμμές, επομένως, μία προσεγμένη διατροφική συμπεριφορά, με ισορροπημένα γεύματα, ποσότητες και ποικιλία δρα προστατευτικά σε ασθενείς με NAFLD.

Φαρμακευτικά σκευάσματα

Από τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την παχυσαρκία, η ορλιστάτη (αναστολέας λιποπρωτεϊνικής λιπάσης) βρέθηκε ότι δρα ευεργετικά στους ασθενείς με NAFLD, βελτιώνοντας τα επίπεδα τρανσαμινασών και μειώνοντας τη στεάτωση και τη φλεγμονή. Από την άλλη, ρύθμιση του ΣΔΠ και επίτευξη ευγλυκαιμίας στα άτομα αυτά με την παρέμβαση είτε αντιδιαβητικών δισκίων είτε ινσουλίνης θα είχε ευεργετικό ρόλο στην αντιμετώπιση της νόσου. Η χορήγηση ηπατοτοξικών φαρμάκων (π.χ. αμιοδαρόνη, ταμοξιφένη κ.α.), αντιθέτως, δεν συνίσταται. Όσον αφορά την θεραπευτική αντιμετώπιση της NAFLD με τη βοήθεια αντιβιοτικών, η χορήγηση από του στόματος μετρονιζαδόλης έχει βρεθεί ότι αποστρέφει τη στεάτωση⁽¹²³⁾, ενώ τα προβιοτικά (έχει φανεί ότι μειώνουν τις κυτταροκίνες και μεταβάλλουν τη χλωρίδα του πεπτικού σωλήνα με ευνοϊκά αποτελέσματα για την NAFLD⁽¹²⁴⁾.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων ως προς την ανάπτυξη της NAFLD σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού. Στη συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία, θα μελετηθεί η συσχέτιση της ποικιλομορφίας του γονιδίου PNPLA3 με την ηπατική εναπόθεση λίπους, καθώς και η αλληλεπίδραση αυτού με την κατανάλωση ψαριών ως προς την εξέλιξη της νόσου.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Συλλογή δείγματος

Η συγκεκριμένη μελέτη, με τίτλο «Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, γενετική προδιάθεση αυτής και αλληλεπίδραση με την διατροφή», αποτέλεσε μια οργανωμένη και άψογα συντονισμένη ερευνητική δραστηριότητα, η οποία διεξήχθη με τη συνεργασία του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (ΓΝΑ) Λαϊκό Νοσοκομείο. Στο σύνολο της έρευνας, συμμετείχαν 459 εθελοντές, οι οποίοι με ενυπόγραφη βεβαίωση δήλωναν τη συγκατάθεσή τους για τη συμμετοχή σε όλα τα απαιτούμενα στάδια της έρευνας. Η έγκριση για την πραγματοποίηση της μελέτης, λήφθηκε από την επιτροπή έρευνας του Επιστημονικού Συμβουλίου του ΓΝΑ Λαϊκό Νοσοκομείο και από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Κριτήρια επιλογής δείγματος

Οι εθελοντές, προκειμένου να συμμετέχουν στην έρευνα, έπρεπε να πληρούν κάποια κριτήρια:

- Ηλικία: 18-65 ετών
- Να μην καταναλώνουν συστηματικά ποσότητες αλκοόλ (>20γρ/ημέρα για τις γυναίκες και >30γρ/ημέρα για τους άντρες)
- Να μην έχουν διαγνωσθεί με Ηπατίτιδα Β, C, με κάποια αυτοάνοση ηπατική νόσο, με σύνδρομο πολυκυστικών, με ασθένεια Wilson, με αιμοχρωμάτωση

Διαδικασίες αξιολόγησης δείγματος

Οι εθελοντές, συναντούσαν, κατόπιν συνεννόησης, το ερευνητικό προσωπικό στα εργαστήρια του Διαβητολογικού τμήματος της Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής (ΑΠΠΚ) του ΓΝΑ Λαϊκό Νοσοκομείο. Εκεί, ενημερώνονταν για τις διαδικασίες που θα ακολουθούσαν.

1.Δημογραφικά χαρακτηριστικά – Ατομικό/Οικογενειακό ιστορικό

Οι πληροφορίες για τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος, καθώς και για το οικογενειακό και ατομικό ιστορικό υγείας, λήφθηκαν στην αρχή της συνάντησης, με τη μορφή συνέντευξης από κάποιο μέλος του ερευνητικού προσωπικού προς τον εθελοντή.

Κατά τη λήψη του ατομικού ιστορικού, λαμβάνονταν από τον εθελοντή πληροφορίες σχετικά με καπνιστικές συνήθειες, εάν είχε, με φαρμακευτικές αγωγές, εάν ακολουθούσε, αλλά και με ιατρικές παθήσεις, εάν είχε διαγνωσθεί στο παρελθόν ή και στην περίοδο της εθελοντικής συμμετοχής. Κάποιες από αυτές ήταν σακχαρώδης διαβήτης, δυσλιπιδαιμία, ηπατίτιδα, πολυκυστικές ωοθήκες, νόσος Wilson, νεοπλασίες κ.α. Επιπλέον, μέσω ερωτήσεων, γινόταν περιγραφή του

κοινωνικοοικονομικού επιπέδου στο οποίο κατατασσόταν ο εκάστοτε εθελοντής.

Όσον αφορά το οικογενειακό ιστορικό, έγινε συλλογή πληροφοριών για ένα πλήθος ασθενειών οι κυριότερες από τις οποίες ήταν η λιπώδη διήθηση του ήπατος, η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία, τα καρδιαγγειακά νοσήματα και η υπέρταση και σε περίπτωση που οι γονείς των ατόμων είχαν καταλήξει, σημειωνόταν η αιτία και η ηλικία.

2. Φυσική Δραστηριότητα

Τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας των εθελοντών του δείγματος αξιολογήθηκαν από ένα έγκυρο και ορθά μελετημένο ερωτηματολόγιο εκτίμησης της φυσικής δραστηριότητας, το HAPAQ (Harokopio Physical Activity Questionnaire). Το ερωτηματολόγιο αυτό διαθέτει 3 ενότητες (φυσική δραστηριότητα στην εργασία, το σπίτι και την ψυχαγωγία) και αναφέρεται σε δραστηριότητες που αφορούν ακριβώς την εβδομάδα που προηγήθηκε της αξιολόγησης.

3. Ανθρωπομετρία

Η ανθρωπομετρία περιελάμβανε την μέτρηση της περιφέρειας μέσης και της περιφέρειας ισχίου, την λήψη του βάρους και την εκτίμηση της σύστασης του σώματος (λιπώδους μάζας, μυϊκής μάζας κτλ), ενώ το ύψος ήταν αυτοδηλούμενο.

Η μέτρηση της περιφέρειας μέσης πραγματοποιήθηκε με την χρήση μιας μη εκτατής ταινίας με ανατομικό σημείο την πιο στενή περιοχή της μέσης, δηλαδή μεταξύ της τελευταίας πλευράς και πάνω από το επίπεδο του ομφαλού. Σε περίπτωση παχύσαρκων ατόμων, η μέτρηση πραγματοποιούνταν κατά προσέγγιση στην περιοχή του ομφαλού εξασφαλίζοντας την σωστή τοποθέτηση της ταινίας. Ο εθελοντής στεκόταν όρθιος με την κοιλιά χαλαρή, τα πόδια ενωμένα και τα χέρια στο πλάι. Η ταινία τοποθετούνταν σε παράλληλο επίπεδο και η μέτρηση λάμβανε χώρα στο τέλος μιας φυσιολογικής εκπνοής.

Όσον αφορά την μέτρηση της περιφέρειας ισχίου, χρησιμοποιήθηκε μια μη εκτατή ταινία με ανατομικό σημείο που εξασφάλιζε πως μετράται η μέγιστη περιφέρεια ισχίου. Ο εθελοντής στεκόταν όρθιος και ο εξεταστής βρισκόταν στο πλάι ώστε να εξασφαλίσει την παράλληλη με το δάπεδο τοποθέτηση της ταινίας.

Η εκτίμηση της σύστασης του σώματος και η μέτρηση του βάρους πραγματοποιήθηκαν με την συσκευή BC-418 (Body composition analyzer BC-418, Japan). Πρόκειται για ένα μηχάνημα που εκτιμά το ποσοστό σωματικού λίπους, την λιπώδη, την άλιπη και την μυϊκή μάζα του σώματος με βάση δεδομένα της μεθόδου DXA μέσω βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA). Η BIA εκτιμά αυτές τις παραμέτρους μετρώντας 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. Μέσω της χρήσης 8 ηλεκτροδίων η συσκευή TANITA BC418 κάνει δυνατή την εκτίμηση διαφορετικής σύστασης σώματος για τα άκρα και την κοιλιά. Αποτελεί ένα απλό, γρήγορο και μη επεμβατικό μέσο εκτίμησης της σύστασης σώματος. Ωστόσο, η αντίσταση του σώματος μπορεί να ποικίλει λόγω αλλαγών στην ποσότητα και την κατανομή του σωματικού νερού (60% του σωματικού βάρους) και αλλαγών στην θερμοκρασία του. Για αυτό τον λόγο πρέπει να εξασφαλίζονται ομοιόμορφες συνθήκες κατά την μέτρηση. Η αντίσταση του σώματος μπορεί να μεταβάλλεται μέσα στην ημέρα. Στην παρούσα μελέτη, για να μειωθεί το σφάλμα που προκύπτει από αυτή την διακύμανση, η μέτρηση πραγματοποιήθηκε :

- 3 ώρες ή περισσότερο μετά την αφύπνιση (το άτομο απέφυγε οποιαδήποτε έντονη σωματική δραστηριότητα μέχρι την μέτρηση)
- 3 ώρες ή περισσότερο μετά το τελευταίο γεύμα
- 12 ώρες ή περισσότερο μετά από έντονη σωματική δραστηριότητα
- μετά από διούρηση

4. Αρτηριακή Πίεση – Καρδιακή Συχνότητα

Η εκτίμηση της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής συχνότητας του εκάστοτε εθελοντή πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό πιεσόμετρο μπράτσου. Λαμβάνονταν δυο μετρήσεις και την τελική τιμή αποτελούσε ο μέσος όρος των δυο μετρήσεων. Σε περιπτώσεις μεγάλης απόκλισης μεταξύ των δύο μετρήσεων, πραγματοποιούνταν και τρίτη.

5. Διατροφική Πρόσληψη

Για την εκτίμηση των μακροχρόνιων διατροφικών συνηθειών των ατόμων του δείγματος, χρησιμοποιήθηκε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ). Το ερωτηματολόγιο περιελάμβανε 172 τρόφιμα. Ο εθελοντής, μέσα από συνέντευξη από μέλος της ερευνητικής ομάδας, κλήθηκε να περιγράψει τις διατροφικές του συνήθειες. Με αυτόν τον τρόπο σημειώθηκαν η συχνότητα και η ποσότητα κατανάλωσης από κάθε τρόφιμο, συγκρίνοντας τις καταναλισκόμενες ποσότητες του εθελοντή με προτεινόμενες (π.χ. εικόνες μερίδων) του ερωτηματολογίου. Από την επεξεργασία του ερωτηματολογίου προέκυψαν δεδομένα σε σχέση με την κατανάλωση ομάδων τροφίμων.

6. Αιμοληψία

Οι εθελοντές θα έπρεπε να έχουν ακολουθήσει 12ωρη νηστεία προκειμένου να πραγματοποιηθεί αιμοληψία. Παθολόγος λάμβανε ποσότητα αίματος τόση, ώστε να γίνει στη συνέχεια γενική και βιοχημική ανάλυση αίματος, καθώς και γενετική ανάλυση και προσδιορισμός.

Γενική και βιοχημική ανάλυση

Ύστερα από την αιμοληψία, το αίμα που παραλαμβάνόταν από τον εθελοντή, τοποθετούνταν σε φιαλίδια προκειμένου να αναλυθεί περεταίρω. Με την σημαντική βοήθεια των βιοχημικών εργαστηρίων του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο), μπορούσαμε να έχουμε αποτελέσματα προς αξιολόγηση των επιπέδων διάφορων παραμέτρων όπως ο σίδηρος, η φερριτίνη, η ινσουλίνη, η γλυκόζη, η

HDL και LDL χοληστερόλη, τα TGL, τα ηπατικά ένζυμα ALT, AST, γ-GT, το ουρικό οξύ, η HbA1c κ.α.

Επιπλέον, στο τέλος αυτής της διαδικασίας, πραγματοποιούσαμε απομόνωση πλάσματος και ορού αίματος (αποθήκευση και χρησιμοποίηση σε περίπτωση σφάλματος ή σε επιπλέον βιοχημικές εξετάσεις), καθώς και απομόνωση των λευκών αιμοσφαιρίων (προσδιορισμός γονιδιώματος), ύστερα από φυγοκέντρηση των δειγμάτων αίματος (3000rpm, 10 λεπτά, 4 °C) και τα αποθηκεύαμε στην κατάψυξη σε (-80 °C).

Γενετική ανάλυση

Η γενετική ανάλυση του αίματος των εθελοντών θα περιγραφεί στα επόμενα στάδια:

A. Απομόνωση λευκών αιμοσφαιρίων

Όπως προαναφέρθηκε, η απομόνωση των λευκών αιμοσφαιρίων πραγματοποιείται ύστερα από φυγοκέντρηση (3000rpm, 10 λεπτά, 4 °C). Με τη βοήθεια πιπέτας απομακρύνουμε το υπερκείμενο (πλάσμα) και μεταφέραμε ποσότητα από την ενδιάμεση στοιβάδα που περιέχει τα λευκά αιμοσφαίρια σε φιαλίδια erpendorf. Τα αποθηκεύσαμε σε κατάψυξη στους -80 °C.

B. Απομόνωση γενετικού υλικού

Η απομόνωση του γενετικού υλικού πραγματοποιήθηκε από λευκά αιμοσφαίρια περιφερικού αίματος με τη χρήση του αντιδραστηρίου iPrepTMPurelinkTMgDNA Blood Kit της Invitrogen σε αυτοματοποιημένο extractor iPrepTMPurification Instrument. Το απομονωμένο γενετικό υλικό αποθηκεύτηκε στους -20°C με σκοπό την μελλοντική ανάλυση του γονιδιώματος.

Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος επιτρέπει την γρήγορη και αυτοματοποιημένη απομόνωση gDNA από ανθρώπινο αίμα (ολικό αίμα, διαλύματα λευκών αιμοσφαιρίων). Η έκλουση του gDNA βασίζεται στην χρήση των μαγνητικών μικροσφαιριδίων Dynabeads MyOne™SILANE. Το καθαρό gDNA που εκλούεται είναι κατάλληλο για εφαρμογές όπως η PCR, η γονοτύπηση και η ανάλυση του γονιδιώματος.

Το αυτοματοποιημένο σύστημα εκχύλισης DNA iPrep™Purification Instrument είναι ένα ρομποτικό σύστημα έκλουσης νουκλεϊκών οξέων. Χάρη στην ενσωματωμένη μαγνητική μονάδα και με την χρήση τεχνολογίας μαγνητικών μικροσφαιριδίων παρέχει την δυνατότητα εκχύλισης 13 δειγμάτων ταυτόχρονα. Τα μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOne™SILANE είναι μαγνητικά σφαιρίδια (1μm) διοξειδίου του πυριτίου (SiO₂) στην επιφάνεια των οποίων προσροφύεται ειδικά το DNA. Η χρήση της τεχνολογίας των μικροσφαιριδίων για την έκλουση του gDNA έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή μεθόδων όπως η φυγοκέντρωση ή η χρήση αντλίας κενού. Το προγραμματισμένο πρωτόκολλο της μεθόδου που βρίσκεται στην κάρτα iPrep™Card:gDNA blood είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο των παραμέτρων της μεθόδου όπως ο όγκος των αντιδραστηρίων, τα βήματα ανάμειξης τους και τους χρόνους επώασης.

Τεχνολογία μαγνητικών μικροσφαιριδίων

Η τεχνολογία των μαγνητικών μικροσφαιριδίων, παρέχει μια επιφάνεια εναλλασσόμενου φορτίου που εξαρτάται από το PH του περιβάλλοντος διαλύματος και διευκολύνει τον διαχωρισμό του DNA. Σε συνθήκες χαμηλού PH, τα σφαιρίδια έχουν θετικό φορτίο που προσδένεται στο αρνητικά φορτισμένο DNA. Οι πρωτεΐνες και τα κυτταρικά υπολείμματα δε προσδένονται και δε ξεπλένονται με τα υδατικά διαλύματα έκπλυσης. Προκειμένου να παραληφθεί το DNA, το φορτίο στην επιφάνεια των σφαιριδίων εξουδετερώνεται αυξάνοντας το PH στο 8.5 με την χρήση ενός διαλύματος έκπλυσης χαμηλής αλατότητας.

Αναλυτική πορεία

- ✓ Λύση των κυτταρικών μεμβρανών των λευκών αιμοσφαιρίων με το διάλυμα Lysis
- ✓ Αποικοδόμηση των πρωτεϊνών με χρήση του ενζύμου Πρωτεϊνάση K
- ✓ Ανάμειξη του διαλύματος αυτού με τα μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOneTMSILANE, τα οποία δεσμεύουν το DNA
- ✓ Μαγνητικός διαχωρισμός των μικροσφαιριδίων με το δεσμευμένο DNA από το υπόλοιπο διάλυμα
- ✓ Έκλουση των μικροσφαιριδίων με τα διαλύματα πλύσης (Wash buffers) για απομάκρυνση των προσμίξεων
- ✓ Εκχύλιση του gDNA στο διάλυμα εκχύλισης.

Γ. Φωτομέτρηση DNA

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του DNA γίνεται με φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο, βάσει ιδιότητάς του να απορροφά ακτινοβολία μήκους 260nm. Συγκεκριμένα, το δείγμα DNA αραιώνεται 1:100 ddH₂O και στη συνέχεια γίνεται μέτρηση της οπτικής απορρόφησης σε μήκη κύματος 260nm και 280nm με τη χρήση κυψελίδων χαλαζία με διαδρομή φωτός 1cm. Με τον λόγο OD260/OD280 γίνεται εκτίμηση της καθαρότητας του DNA. Τιμές λόγου μεταξύ 1.7 και 1.9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA. Τιμές μικρότερες από 1.7 φανερώνουν πρόσμιξη με φαινόλη ή πρωτεΐνες, ενώ μεγαλύτερες από 1.9 φανερώνουν πρόσμιξη με RNA.

Δ. Ανάλυση του γονιδιώματος

Η γονοτύπηση είναι ένα από τα τελευταία πειραματικά στάδια, το οποίο χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του γονότυπου των άγνωστων δειγμάτων. Με αυτό τον πειραματικό τρόπο, ένας νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) μπορεί να διαχωριστεί από το γονιδίωμα και να απομονωθεί.

Έστω, πολυμορφισμός με αλληλόμορφα Α και Β, τότε η διαδικασία της γονοτύπησης καθορίζει αν τα άγνωστα δείγματα είναι:

- Ομοζυγώτες (δείγματα, που έχουν μόνο αλληλόμορφο Α)
- Ομοζυγώτες (δείγματα, που έχουν μόνο αλληλόμορφο Β)
- Ετεροζυγώτες (δείγματα, που έχουν τόσο αλληλόμορφο Α και το αλληλόμορφο Β)

Το καθαρό απομονωμένο γενετικό υλικό προορίζεται για σάρωση του γονιδιώματος με τη μέθοδο Real-Time PCR. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (Real Time PCR) είναι μία παραλλαγή της κλασικής PCR με τη διαφορά να έγκειται στην παρακολούθηση της αύξησης των PCR προϊόντων κατά τη διάρκεια της αντίδρασης (real time) σε οθόνη υπολογιστή. Επιπλέον, δίνει τη δυνατότητα της ειδικής σήμανσης των προϊόντων PCR με φθορόχρωμα, προσαρμοσμένο σε ανιχνευτές ειδικούς για την αλληλουχία-στόχο. Με τον τρόπο αυτό, όταν ο ανιχνευτής ή εκκινητής συνδεθεί με την αλληλουχία-στόχο (PCR προϊόν), αποσυνδέεται ο αδρανοποιητής από το φθορόχρωμα, το οποίο εκπέμπει σήμα.

Η τεχνολογία της γονοτύπησης που χρησιμοποιήθηκε είναι η μεθοδολογία Taqman. Η μεθοδολογία Taqman αποτελεί έναν τρόπο ελέγχου της προόδου του θερμικού κυκλοποιητή πραγματικού χρόνου (real-time PCR). Πιο συγκεκριμένα, αυτή χρησιμοποιεί έναν διπλά-μαρκαρισμένο ανιχνευτή, ο οποίος περιέχει ένα φλουοροφόρο μόριο στο 5' άκρο και ένα μόριο απόσβεσης στο 3' άκρο του. Ο ανιχνευτής Taqman υβριδίζεται στο πρότυπο DNA μεταξύ των εκκινητών και όταν είναι υβριδισμένος δε φθορίζει, διότι τα δύο μόρια στα άκρα του, βρίσκονται κοντά. Αντίθετα, όταν το μόριο δότης απομακρυνθεί από το μόριο απόσβεσης κατά τη διάρκεια της αντίδρασης PCR και την 5'-3' εξωνουκλεοτιδική δράση της Taq DNA πολυμεράσης, φθορίζει έντονα. Η ένταση του φθορισμού είναι ανάλογη του προϊόντος της PCR που παράγεται και έτσι επιτυγχάνεται η ποσοτικοποίηση της αντίδρασης.

7. Διάγνωση της νόσου

Ο διαχωρισμός του δείγματος σε άτομα που πάσχουν από μη αλκοολική λιπώδη διήθηση του ήπατος ή όχι, πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του υπερηχογραφήματος από Ακτινολόγο. Τα κριτήρια που οδηγούσαν σε διάγνωση της νόσου ήταν η διάχυτη ηχογένεια του ήπατος, η αυξημένη ηχογένεια ήπατος σε σύγκριση με αυτή των νεφρών και η ασαφοποίηση των αγγειακών τοιχωμάτων. Στη συνέχεια, βαθμολογούνταν το επίπεδο σοβαρότητας της λιπώδους διήθησης σε κάθε εθελοντή, όπως φαίνεται παρακάτω:

Πίνακας 6: Κατάταξη ως προς τον βαθμό λιπώδους διήθησης

Κατηγορίες Ηπατικής Στεάτωσης	Κριτήρια
Βαθμός 0 ή Απουσία	φυσιολογική ηχογένεια
Βαθμός 1 ή Ήπια	ελαφρά αυξημένη ηχογένεια με φυσιολογική απεικόνιση διαφράγματος και αγγείων
Βαθμός 2 ή Μέτρια	μέτρια αύξηση ηχογένειας με ελαφρά διαταραχή απεικόνισης διαφράγματος και αγγείων
Βαθμός 3 ή Σοβαρή	μεγάλη αύξηση ηχογένειας με περιορισμένη απεικόνιση τοιχώματος αγγείων και διαφράγματος

8. Στατιστική Ανάλυση

Η ανάλυση των περιγραφικών και διατροφικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 19.0. Οι συνέχεις 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 την σύγκριση των ποιοτικών μεταβλητών εφαρμόστηκε ο έλεγχος χ^2 του Pearson, ενώ για την

σύγκριση των κανονικών ποσοτικών μεταβλητών, ο έλεγχος t test του student και η ανάλυση διακύμανσης ANOVA. Η σύγκριση των μη κανονικών συνεχών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο Man-Whitney U test και το κριτήριο Kruskal-Wallis. Για τις συνέχεις μεταβλητές, έγινε αποκλεισμός των μέγιστων και ελάχιστων τιμών (± 3 τυπική απόκλιση). Ο έλεγχος των συσχετίσεων πραγματοποιήθηκε με μοντέλα πολλαπλής λογαριθμικής παλινδρόμησης από τα οποία προέκυψαν οι σχετικοί λόγοι για κάθε εξεταζόμενη μεταβλητή. Η στατιστική σημαντικότητα σε όλους τους ελέγχους εκτιμήθηκε σε επίπεδο $p=0.05$.

Η ανάλυση των γενετικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος Plink 1.07 και το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας σε αυτές τις αναλύσεις διορθώθηκε κατά Bonferroni και εκτιμήθηκε στο $p=0.05/14=0.004$ για τις αναλύσεις που περιλαμβάνουν όλα τα SNPs και στο $p=0.05/2=0.025$ για εκείνες που περιλαμβάνουν 2 SNPs.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο συνολικός αριθμός του δείγματος της μελέτης είναι 459 άτομα. Εξ αυτών, 83 δείγματα αποκλείστηκαν από τη μελέτη λόγω υπερκατανάλωσης αλκοόλ ή παρουσίας κάποιων από τους παράγοντες κινδύνου.

1. Χαρακτηριστικά του δείγματος και αλληλεπιδράσεις αυτών με την εμφάνιση NAFLD

Περιγραφικά χαρακτηριστικά

Στον Πίνακα 7, παρουσιάζονται περιγραφικά χαρακτηριστικά των 376 ατόμων, τα οποία έχουν διαχωριστεί σε Υγιείς (Βαθμός 0), ασθενείς Ήπιας ηπατικής στεάτωσης (Βαθμός 1) και ασθενείς Μέτριας/Σοβαρής ηπατικής στεάτωσης (Βαθμός 2,3).

Πίνακας 7: Περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος ως προς τη νόσο, ανά επίπεδο λιπώδους διήθησης

	Φυσιολογική (N=96)	Ήπια (N=158)	Μέτρια/ Έντονη (N=122)	P-value
Δημογραφικά χαρακτηριστικά				
Ηλικία (έτη)	38.5±11.9	46.5±11.3	51.02±10.02	<0.001
Φύλο (% άρρεν)	40.6	36.1	43.4	0.446
Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά				
ΔΜΣ (kg/m ²)	23.9±2.9	25.9±3.8	31±4.2	<0.001
ΠΜ/ΠΗ	0.79±0.08	0.84±0.09	0.92±0.08	<0.001
% Λιπώδους μάζας	23.4±8.5	28.6±8.3	34.7±9.1	<0.001

<i>Βιοχημικά Χαρακτηριστικά</i>				
Σίδηρος (μg/dL)	104.9±37.8	99.1±35	104.2±37.1	0.420
Φερριτίνη (ng/mL)	76.7±60.3	80±72.3	114.2±88.5	<0.001
CRP(mg/L)	2.96±3.14	3.06±1.95	4.06±3.53	<0.001
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL)	65.4±34.4	74.26±28.5	86.8±27.7	<0.001
Ολ. Χοληστερόλη (mg/dL)	144.8±83.1	178.7±71.6	195.3±61.8	<0.001
HDL(mg/dL)	45±28.9	50.3±23	48±18.6	0.211
LDL (mg/dL)	82.4±56.8	110.4±52.9	120.4±46.7	<0.001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	52.4±39.3	77.5±48	115.8±57.6	<0.001
AST/SGOT (U/L)	16.6±9.7	17.6±7.8	21.5±9.1	<0.001
ALT/SGPT (U/L)	16.6±12	18.3±10.8	26.8±13.1	<0.001
γGT(U/L)	13.2±11.7	16.1±12.5	24.8±16.6	<0.001
AST/ALT	0.84±0.51	0.93±0.44	0.77±0.32	<0.001
HbA1c (%)	2.75±2.6	3.22±2.61	3.96±2.61	0.003
PAL	1.42±0.22	1.39±0.24		>0.05
Κάθετος διάμετρος ήπατος (cm)	15.01±1.35	15.09±1.31	16.57±1.72	<0.001

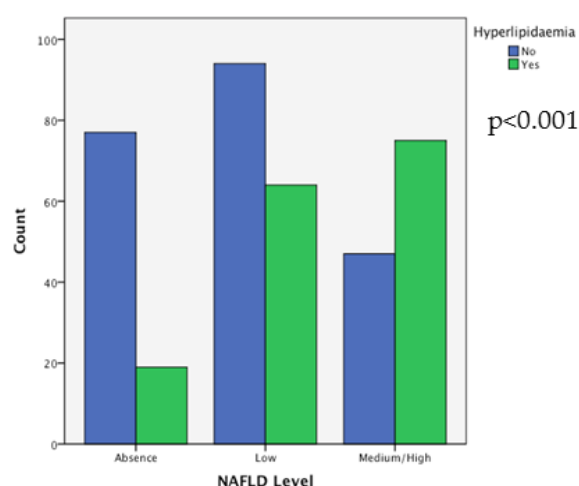
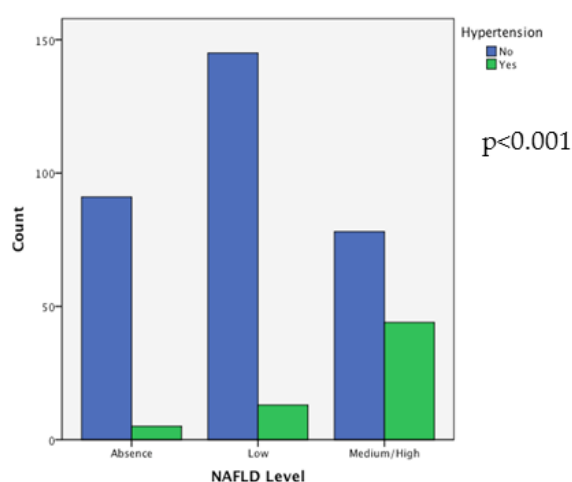
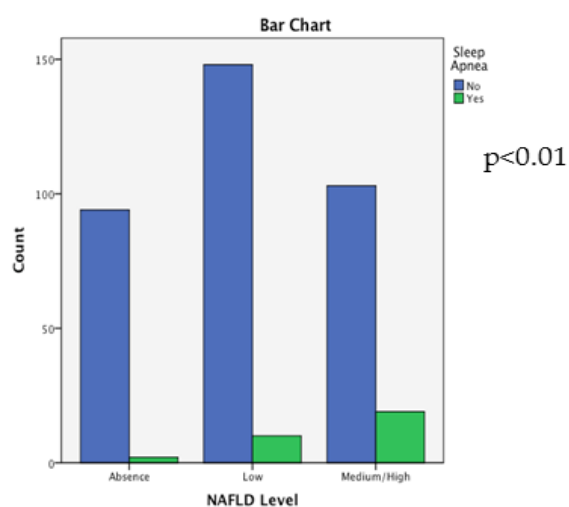
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι δύο ομάδες ατόμων με NAFLD και οι υγιείς δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς το φύλο ($p=0.446$). Αντίθετα, η ηλικία διαφέρει στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με NAFLD και τους υγιείς ($p<0.001$), με τους ασθενείς μέτριας/έντονης ηπατικής στεάτωσης να χαρακτηρίζονται από υψηλότερη

κατά μέσο όρο ηλικία (51.02 ± 10.02) και τους ασθενείς ήπιας στεάτωσης να ακολουθούν (46.5 ± 11.3) .

Όσον αφορά τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά του δείγματος, οι ασθενείς μέτριας/έντονης ηπατικής στεάτωσης εμφανίζουν τον μεγαλύτερο ΔΜΣ, λόγο ΠΜ/ΠΙ καθώς και % λιπώδους μάζας ($p < 0.001$) σε σύγκριση τόσο με του ασθενείς ήπιας ηπατικής στεάτωσης, όσο και με τους απολύτως υγιείς που εμφανίζουν τις μικρότερες τιμές. Ο ΔΜΣ των βρίσκεται στις απαρχές του υπέρβαρου (25.9 ± 3.8) και της παχυσαρκίας (31 ± 4.2) αντίστοιχα για τις δύο ομάδες ασθενών, ενώ ο ΔΜΣ των υγιών στο ενδιάμεσο του φυσιολογικού (23.9 ± 2.9). Ως προς τον λόγο ΠΜ/ΠΙ, οι ασθενείς εμφανίζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές από τους υγιείς. Στατιστικά σημαντική διαφορά υπάρχει και ως προς το ποσοστό λιπώδους μάζας, με τους ασθενείς να εμφανίζουν μεγαλύτερο ποσοστό λίπους σε σχέση με τους υγιείς (34.7 ± 9.1 και 28.6 ± 8.3 έναντι 23.4 ± 8.5)

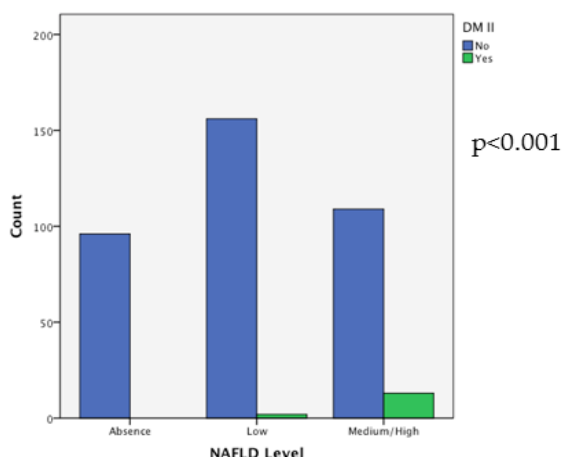
Ως προς τα βιοχημικά τους χαρακτηριστικά, οι ομάδες των ασθενών εμφανίζουν μεγαλύτερα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, LDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο αίμα, ενώ τα ευρήματα της HDL χοληστερόλης δεν αποτελούν στατιστικά σημαντικές ενδείξεις ($p = 0.211$). Επίσης, τα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων είναι υψηλότερα στις ομάδες των ασθενών σε σύγκριση με τους υγιείς και ο λόγος AST/ALT, ο οποίος αποτελεί προγνωστικό δείκτη για τη NAFLD, είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερος στους ασθενείς συγκριτικά με τους υγιείς ($p < 0.001$). Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσιάζονται, επίσης, και όσον αφορά άλλα βιοχημικά χαρακτηριστικά, όπως αυτά φαίνονται στον Πίνακα 6. Αντιθέτως, οι τρεις ομάδες δε διαφέρουν ως προς τα επίπεδα σιδήρου στο αίμα και ως προς το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας (PAL) ($p > 0.05$).

Διαγραμματική απεικόνιση



Στα διαγράμματα που βρίσκονται αριστερά, φαίνονται οι διαφορές στις συχνότητες εμφάνισης μεταβολικών διαταραχών μεταξύ ασθενών, οι οποίοι έχουν κατηγοριοποιηθεί σε δύο ομάδες, και υγιών. Η υπνική άπνοια, η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τη νόσο ($p < 0.05$), ενώ στο δείγμα μας το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών στις γυναίκες δε σχετίζεται με τη νόσο ($p > 0.05$).

Συγκεκριμένα, και στα τέσσερα διαγράμματα, στα οποία έχει γίνει κατανομή των παραγόντων κινδύνου στα τρία επίπεδα της NAFLD, γίνεται εμφανής η αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης του κάθε παράγοντα όσο αυξάνεται και το επίπεδο λιπώδους διήθησης.



Διατροφικές συμπεριφορές

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 8), παρουσιάζονται οι διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού του δείγματος ανάλογα με τον βαθμό λιπώδους διήθησης που εμφάνισαν. Μεταξύ των ομάδων τροφίμων που μελετήθηκαν, στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ατόμων σε όλες τις βαθμίδες ηπατικής στεάτωσης υπάρχουν για την ημερήσια πρόσληψη γαλακτοκομικών πλήρη σε λιπαρά και την εβδομαδιαία κατανάλωση πουλερικών και ψαριών ($p<0.05$).

Πίνακας 8: Διατροφικές συνήθειες του δείγματος ανά επίπεδο λιπώδους διήθησης

	Φυσιολογική (N=96)	Ήπια (N=158)	Μέτρια/ Έντονη (N=122)	p-value
Δημητριακά ολ. αλέσεως (μερίδες ¹ /ημέρα)	1.77±1.75	1.68±1.71	1.53±1.80	>0.05
Γαλακτοκομικά πλήρη σε λιπαρά (μερίδες ² /ημέρα)	0.34±0.56	0.27±0.54	0.18±0.43	<0.05
Γαλακτοκομικά 1.5-2% (μερίδες ² /ημέρα)	0.73±0.97	0.59±0.83	0.52±0.57	>0.05
Γαλακτοκομικά 0% (μερίδες ² /ημέρα)	0.05±0.023	0.005±0.041	0.003±0.01 9	>0.05
Φρούτα (μερίδες ³ /ημέρα)	2.58±2.15	2.79±2.25	2.8±2.49	>0.05

Λαχανικά (μερίδες ⁴ /ημέρα)	4.77±3.82	5.68±3.89	5.21±3.49	>0.05
Όσπρια (μερίδες ⁵ /εβδ)	2.82±5.14	2.33±3.47	2.09±1.99	>0.05
Ψάρια (εξαιρούνται τα τηγανισμένα ψάρια) (μερίδες ⁶ /εβδ)	2.85±2.40	2.72±2.27	2.37±2.17	<0.05
Πουλερικά (μερίδες ⁷ /εβδ)	3.59±4.62	3.16±4.60	2.34±2.65	<0.05
Κόκκινο κρέας (μερίδες ⁷ /εβδ)	11.21±8.96	9.59±9.81	8.63±7	>0.05
Έτοιμο φαγητό (μερίδες ⁸ /εβδ)	0.14±1.79	1.40±0.53	1.14±1.79	>0.05
Αναψυκτικά (μερίδες ⁹ /ημέρα)	0.16±0.37	0.20±0.53	0.22±0.53	>0.05
Καφές (μερίδες ⁹ /ημέρα)	1.33±1.19	1.41±1.04	1.5±1.07	>0.05

¹ Ψωμί 30γρ, δημητριακά 20γρ, χυλοπίτες/μακαρόνια 120γρ, ρύζι 90γρ, παξιμάδια 25γρ

² Γάλα 240γρ, γιαούρτι 200γρ

³ 1 μέτριο για τα περισσότερα φρούτα, καρπούζι/πεπόνι 1 φέτα, φράουλες/κεράσια/σταφύλια 1 φλιτζάνι, βερίκοκα 4 μικρά, σύκα 3 μέτρια, αποξηραμένα φρούτα 2 τεμάχια

⁴ 75γρ

⁵ 180γρ

⁶ Μικρά ψάρια 60γρ, μεγάλα ψάρια 75γρ

⁷ 75γρ

⁸ Πίτα με γύρο ή καλαμάκι: 1 τεμάχιο, πίτσα: 1 μέτριο κομμάτι, χοι ντογκ: 1 τεμάχιο, χάμπουργκερ: 1 τεμάχιο, κλαμπ σαντουιτς: 1 τεμάχιο

⁹ 240ml

Επίδραση παραγόντων κινδύνου στην εμφάνιση της NAFLD

Εξετάσθηκε, επιπλέον, η συσχέτιση όλων των παραπάνω παραγόντων με την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου, ανεξάρτητα από συγχυτικούς παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο και ο ΔΜΣ.

Πίνακας 9: Επίδραση παραγόντων κινδύνου στην πιθανότητα εμφάνισης της νόσου, ανεξάρτητα από την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ (*στους παράγοντες αυτούς έγινε διόρθωση ως προς την ενεργειακή πρόσληψη)

	<i>BETA</i>	<i>SE</i>	<i>p-value</i>
ΔΜΣ (kg/m ²)	0.442	0.049	<0.001
%Λιπώδους μάζας	0.063	0.045	>0.05

ΠΜ/ΠΙ (ανά cm)	0.093	0.022	<0.001
AST/ SGPT (U/L)	0.076	0.027	<0.01
ALT/ SGOT (U/L)	0.063	0.016	<0.001
γGT (U/L)	0.007	0.01	>0.05
AST/ALT (ανά 0.01)	-0.029	0.07	<0.001
Γλυκόζη (mg/dL)	0.069	0.018	<0.001
HbA1c (ανά 0.01)	0.020	0.007	<0.01
CRP	0.242	0.099	<0.05
Ολ. Χοληστερόλη (mg/dL)	0.011	0.004	<0.05
HDL (mg/dL)	-0.015	0.013	>0.05
LDL (mg/dL)	0.007	0.005	>0.05
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	0.025	0.005	<0.001
ΣΔΠ	-0.746	0.439	>0.05
Υπερλιπιδαιμία	-0.732	0.313	<0.05
Υπνική άπνοια	-0.404	0.512	>0.05
Ψάρια*	-0.165	0.059	<0.01
Γαλακτοκομικά πλήρη*	-0.617	0.407	>0.05
Πουλερικά*	-0.048	0.55	>0.05

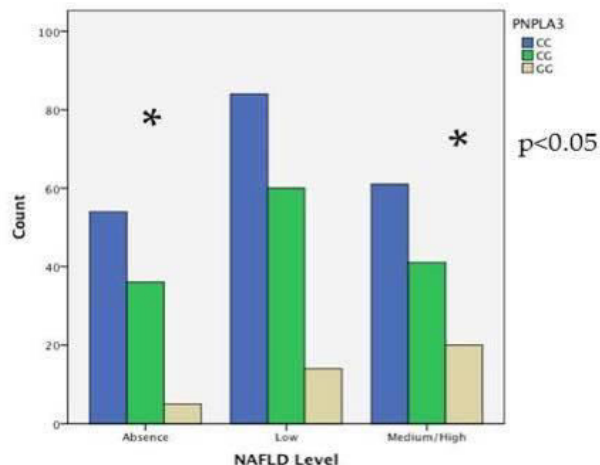
Όπως φαίνεται και στον πίνακα που προηγήθηκε (Πίνακας 9), αύξηση του ΔΜΣ, του λόγου ΠΜ/ΠΙ, των ηπατικών ενζύμων AST, ALT, των γλυκαιμικών δεικτών, της CRP, της ολικής χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων αυξάνουν την πιθανότητα εμφάνισης NAFLD.

Αντίθετα, αύξηση του λόγου AST/ALT κατά 0.01 μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου κατά 0.029, $p<0.001$. Επιβεβαιώνεται, λοιπόν, και στη μελέτη μας πως όταν ο λόγος AST/ALT μειώνεται (αυξάνονται δηλαδή τα επίπεδα ALT έναντι των επιπέδων AST), η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου αυξάνεται. Επίσης, με τη νόσο σχετίζεται στατιστικά σημαντικά η υπερλιπιδαιμία, η υπέρταση αλλά όχι η υπνική άπνοια και ο ΣΔΠ.

Όσον αφορά τα διατροφικά στοιχεία, αύξηση της εβδομαδιαίας πρόσληψης ψαριών κατά 1 μερίδα (70gr) φαίνεται ότι μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου κατά 0.165, $p<0.01$. Οι υπόλοιπες διατροφικές συνήθειες δε συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά με τη νόσο.

2. Αλληλεπιδράσεις γονιδίων και διατροφικών συνηθειών στην εμφάνιση NAFLD

Γονίδιο PNPLA3



Η συχνότητα εμφάνισης του κάθε γονότυπου του γονιδίου PNPLA3 στους υγιείς και στους ασθενείς, οι οποίοι είναι διαχωρισμένοι σε δύο επίπεδα, παρουσιάζεται στον πίνακα παραπλεύρως, επιβεβαιώνοντας τη στατιστικά σημαντική συσχέτισή τους.

Συγκεκριμένα, τα άτομα του δείγματος με ομόζυγο αλληλόμορφο κινδύνου (GG), παρουσιάζονται με μεγαλύτερη συχνότητα όσο αυξάνεται το επίπεδο λιπώδους διήθησης. Από την άλλη, ο ετερόζυγος γονότυπος (CG), βρίσκεται με μεγαλύτερη συχνότητα στα άτομα με ήπια ηπατική στεάτωση, παρά στους ασθενείς με μέτρια/έντονη ηπατική στεάτωση και στους υγιείς που παρουσιάζουν παραπλήσια συχνότητα εμφάνισης.

Συσχέτιση γονοτύπου με την εξέλιξη της νόσου

Πίνακας 10: Συσχέτιση από πολλαπλή λογαριθμική παλινδρόμηση που δημιουργήθηκε για να εκτιμήσει την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου σε σχέση με τον γονότυπο, (* στους παράγοντες αυτούς έγινε διόρθωση ως προς το φύλο, την ηλικία και τον ΔΜΣ).

	Συνολικό δείγμα*			Άνδρες			Γυναίκες		
	BETA	SE	p-value	BETA	SE	p-value	BETA	SE	p-value
CC	-1.122	0.395	0.004	-1.761	0.712	0.013	-0.834	0.479	0.081
CG	-1.002	0.406	0.014	-1.191	0.725	0.100	-1.136	0.501	0.023
GG	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Από τον προηγούμενο πίνακα (Πίνακας 10), φαίνεται με ακρίβεια η σχέση του γονότυπου, που φέρουν τα άτομα του δείγματος, με την εμφάνιση ηπατικής στεάτωσης NAFLD και μάλιστα επιβεβαιώνεται η θετική συσχέτιση του γονότυπου GG με την εμφάνιση της νόσου. Συγκεκριμένα, τα ομόζυγα ως προς C άτομα αλλά και τα ετερόζυγα, έχουν στατιστικά σημαντικά λιγότερες πιθανότητες εμφάνισης της NAFLD από τα ομόζυγα ως προς G (κατά 1.1 ± 0.4 και 1 ± 0.4 αντίστοιχα). Όσον αφορά τους άνδρες, στατιστικά σημαντικά λιγότερες πιθανότητες εμφάνισης της νόσου σε σύγκριση με αυτούς που έχουν γονότυπο GG, φέρουν μόνο οι άνδρες με γονότυπο CC. Αντίθετα, στις γυναίκες, μόνο αυτές με ετερόζυγο γονότυπο έχουν στατιστικά σημαντικά λιγότερες πιθανότητες εμφάνισης της νόσου σε σχέση με τις γυναίκες με γονότυπο GG.

Πίνακας 11: Περιγραφικά χαρακτηριστικά του συνολικού δείγματος ανά CC και G-αλληλόμορφο

	CC (N=191)	G-αλληλόμορφο (N=169)	p-value
Δημογραφικά Χαρακτηριστικά			
Ηλικία (έτη)	45.4±12.1	46.5±12.1	0.696
Φύλο (%άρρεν)	41.7	36.9	0.397
Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά			
ΔΜΣ (kg/m ²)	27.2±4.5	26.8±4.8	0.841
%Λιπώδους μάζας	29.1±10	29.6±9.2	0.099
ΠΜ/ΠΙ (ανά cm)	0.86±0.09	0.85±0.1	0.142
Βιοχημικά Χαρακτηριστικά			
Ολ. Χοληστερόλη (mg/dL)	170.6±76.5	180.5±71.2	0.270
HDL (mg/dL)	46.3±24.2	50.2±22.5	0.443
LDL (mg/dL)	103.3±55.6	109.7±51.9	0.236
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	82.3±55.8	84.6±54.1	0.796

Γλυκόζη (mg/dL)	73.9±31.1	84.6±54.1	0.796
ALT/SGOT (U/L)	19.3±12.1	22±13.1	0.028
AST/SGPT (U/L)	17.6±8.5	19.7±9.4	0.068
AST/ALT (ανά 0.01)	0.87±0.46	0.84±0.39	0.101
γGT (U/L)	17.6±13.7	18.9±15.5	0.097
Σίδηρος (μg/dL)	99.1±37.9	106.9±34.4	0.061
Κάθετος διάμετρος ήπατος (cm)	15.51±1.5	15.57±1.74	0.390

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι δύο ομάδες ατόμων με γονότυπους CC και G-αλληλόμορφου δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς το φύλο ($p=0.397$), αλλά ούτε και ως προς την ηλικία ($p=0.696$). Επιπλέον, ούτε στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά (ΔΜΣ, ΠΜ/ΠΙ, %Λιπώδους Μάζας) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά τα άτομα με διαφορετικούς γονότυπους)

Ως προς τα βιοχημικά τους χαρακτηριστικά, τα μοναδικό εύρημα που φαίνεται να διαφέρει, μεταξύ των ατόμων με γονότυπο CC και αυτών οι οποίοι στο γονότυπό τους διαθέτουν τουλάχιστον ένα G αλληλόμορφο, είναι το ηπατικό ένζυμο ALT. Η τιμή της ALT στα άτομα με CC γονότυπο φαίνεται να είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερη ($p=0.028$) από αυτή στα άτομα που φέρουν στο γονότυπό τους ένα G αλληλόμορφο. Ωστόσο, ο λόγος AST/ALT, ο οποίος αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο ηπατικής νόσου δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά στις δύο ομάδες ($p=0.101$).

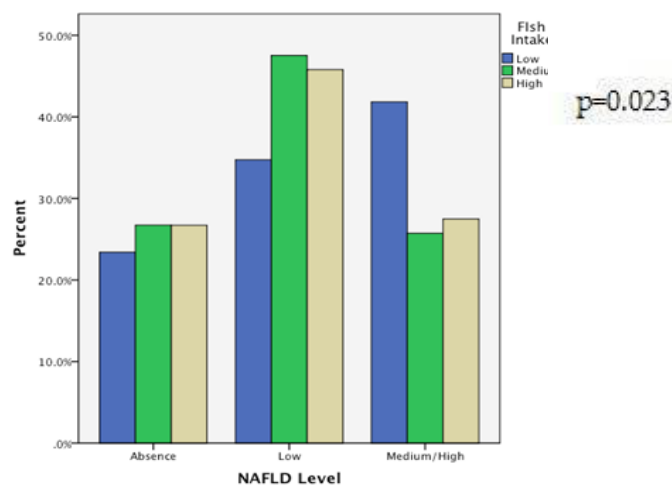
Συσχέτιση κατανάλωσης ψαριών με την εξέλιξη της νόσου

Η κατανάλωση ψαριών, που υπολογίσθηκε από την δεδηλωμένη διατροφική πρόσληψη του δείγματος, διαχωρίστηκε ως εξής:

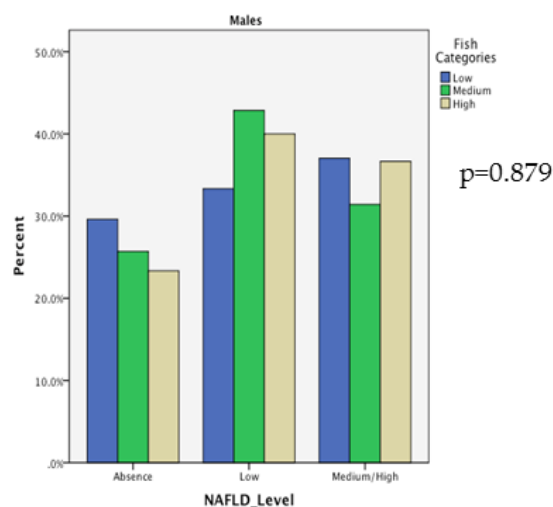
- Χαμηλή πρόσληψη ψαριών (Low) : <0.5 μερίδα/εβδομάδα
- Μεσαία πρόσληψη ψαριών (Medium) : 0.5-2.3 μερίδες/εβδομάδα
- Υψηλή πρόσληψη ψαριών (High) : >2.3 μερίδες/εβδομάδα

*Λαμβάνεται υπόψη ότι η μερίδα αποτελείται από 70γρ.

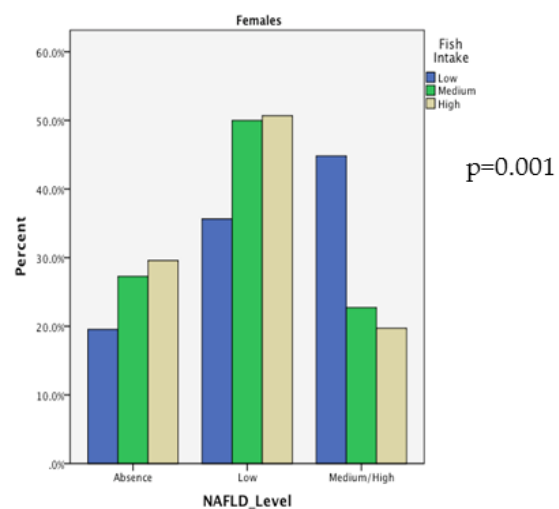
Συνολικό δείγμα



Άνδρες



Γυναίκες



Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται πως από το συνολικό δείγμα, μόνο στις γυναίκες υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση της ποσότητας ψαριού που καταναλώνεται με την ύπαρξη της νόσου σε κάποιο από τα στάδιά της. Πιο συγκεκριμένα, οι γυναίκες με μέτρια/έντονη ηπατική στεάτωση φαίνεται να καταναλώνουν τη χαμηλότερη ποσότητα ψαριών σε σχέση με τα άλλα δύο επίπεδα λιπώδους διήθησης. Αντίθετα, η συχνότητα κατανάλωσης υψηλής και μέτριας ποσότητας ψαριών παρουσιάζεται σημαντικά μεγαλύτερη στις γυναίκες ήπιας ηπατικής στεάτωσης σε σχέση με τα άλλα δύο επίπεδα λιπώδους διήθησης.

Πίνακας 12: Συσχέτιση από πολλαπλή λογαριθμική παλινδρόμηση που δημιουργήθηκε για να εκτιμήσει την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου στις γυναίκες σε σχέση με την κατανάλωση ψαριών (*στους παράγοντες αυτούς έγινε διόρθωση ως προς την ηλικία και την ενεργειακή πρόσληψη).

Κατανάλωση ψαριών	BETA	SE	P-VALUE
Χαμηλή	1.093	0.322	0.001
Μέτρια	0.334	0.340	0.325
Υψηλή	-	-	-

Τα παραπάνω αποτελέσματα περιγράφουν το ότι οι γυναίκες, οι οποίες καταναλώνουν χαμηλές ποσότητες ψαριού έχουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν NAFLD κατά 1.09 ± 0.3 φορές, από εκείνες τις γυναίκες που καταναλώνουν υψηλή ποσότητα ψαριού. Κάτι αντίστοιχο, για την μέτρια κατανάλωση ψαριών, δεν έχει εκτιμηθεί στατιστικά σημαντικά.

Συσχέτιση κατανάλωσης ψαριών, συνδυασμένης με γονότυπο, με την εμφάνιση της νόσου στις γυναίκες

Πίνακες 13-14: Συσχέτιση από πολλαπλή λογαριθμική παλινδρόμηση που δημιουργήθηκε για να εκτιμήσει την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου σε σχέση με την κατανάλωση ψαριών και τον γονότυπο, διορθωμένα κατά ηλικία και ΔΜΣ.

	BETA	SE	p-value
CC + High Fish Intake	-0.942	0.453	0.038
CC + Medium Fish Intake	-1.127	0.468	0.016
CC + Low Fish Intake	-	-	-

	BETA	SE	p-value
G-allele + High Fish Intake	-1.620	0.527	0.002
G-allele + Medium Fish Intake	-0.519	0.486	0.286
G-allele + Low Fish Intake	-	-	-

Από τους πίνακες 13 και 14, φαίνεται με ακρίβεια η σχέση της κατανάλωσης ψαριών συνδυασμένης με τον γονότυπο, που φέρουν οι γυναίκες του δείγματος. Συγκεκριμένα, οι γυναίκες με ομόζυγο ως προς C γονότυπο έχουν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη πιθανότητα να εμφανίσουν NAFLD όταν παράλληλα καταναλώνουν υψηλή (κατά 0.9 με $p=0.038$) ή μέτρια (κατά 1.1 με $p=0.016$) ποσότητα ψαριών σε σχέση με τις γυναίκες ίδιου γονότυπου, οι οποίες καταναλώνουν χαμηλή ποσότητα ψαριών. Όσον αφορά τις γυναίκες που έχουν γονότυπο που περιέχει τουλάχιστον ένα G αλληλόμορφο, μόνο εκείνες που καταναλώνουν υψηλή ποσότητα ψαριών έχουν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη πιθανότητα (κατά 1.6 με $p=0.002$) να εμφανίσουν NAFLD σε σχέση με τις γυναίκες που έχουν ίδιο γονότυπο αλλά καταναλώνουν χαμηλή ποσότητα ψαριών. Η μέτρια κατανάλωση ψαριών για τις γυναίκες με τουλάχιστον ένα G αλληλόμορφο στον γονότυπό τους δεν φαίνεται να έχει παρόμοιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συμμετοχή της διατροφής και της γενετικής προδιάθεσης στον κίνδυνο εμφάνισης της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος, συγκεντρώνει ολοένα και μεγαλύτερο ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Ωστόσο, έως τώρα, ο δυνητικός ρόλος των διατροφικών συνηθειών και διαφόρων γενετικών πολυμορφισμών ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου έχει ελάχιστα διερευνηθεί. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η αξιολόγηση του ρόλου της γενετικής προδιάθεσης και της διατροφής στον κίνδυνο εμφάνισης της NAFLD, ενώ της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η αξιολόγηση συγκεκριμένης διατροφικής συμπεριφοράς, συνδυασμένης με συγκεκριμένο γονοτυπικό χαρακτήρα στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου NAFLD.

Αρχικά, παρουσιάστηκαν οι διαφοροποιήσεις στα δημογραφικά, ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά ανάμεσα στα άτομα του δείγματος της μελέτης, αφού πρώτα διαχωρίστηκαν ανάλογα με το βαθμό λιπώδους διήθησης που παρουσίαζαν. Στη συνέχεια, έγινε παρουσίαση της συσχέτισης περιγραφικών χαρακτηριστικών με την εμφάνιση της NAFLD. Επίσης, παρουσιάστηκαν οι διαφοροποιήσεις στις διατροφικές συμπεριφορές και προσλήψεις ανάμεσα στα επίπεδα λιπώδους διήθησης των συμμετεχόντων και η συσχέτιση της κατανάλωσης αυτών των ομάδων με την εμφάνιση της νόσου. Τέλος, έγινε αξιολόγηση της επίδρασης των γονιδίων και των διατροφικών συνηθειών στην εμφάνιση της νόσου ξεχωριστά για κάθε φύλο, αλλά και η συσχέτιση των δύο παραγόντων σε συνδυασμό, με την εμφάνιση της νόσου.

Όσον αφορά τη σχέση της νόσου με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, η συγκεκριμένη μελέτη, προτείνει πως η ηλικία διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς χαρακτηρίζονται από υψηλότερη ηλικία και όσο αυξάνεται ο βαθμός λιπώδους διήθησης αυξάνεται και η ηλικία των ατόμων. Ωστόσο, αποτελέσματα από την πολλαπλή λογαριθμική παλινδρόμηση δεν κατέληξαν σε κάποια συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και της νόσου μετά από έλεγχο για το φύλο και το ΔΜΣ. Η βιβλιογραφία προτείνει πως ο επιπολασμός της νόσου αυξάνει με την ηλικία, με τα

άτομα 40-49 ετών να έχουν την μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης [6]. Βέβαια, στην Ιταλική μελέτη «Διόνυσος», ηλικία ≥ 66 έτη ήταν ανεξάρτητος παράγοντας πρόβλεψης για φυσιολογικό ήπαρ και AFLD σε σύγκριση με την NAFLD προτείνοντας πως η ηλικία μπορεί να είναι προστατευτικός παράγοντας για τη νόσο ⁽³¹⁾. Σε συμφωνία με την Ιταλική μελέτη «Διόνυσος» ⁽³¹⁾, δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το φύλο ανάμεσα στους ασθενείς και τους υγιείς. Αυτό αντιτίθεται με δεδομένα που δείχνουν πως η νόσος εμφανίζεται πιο συχνά στο ανδρικό φύλο ⁽¹⁸⁾.

Σχετικά με την σχέση της νόσου με τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, τα αποτελέσματα προτείνουν πως ο ΔΜΣ, η % Λιπώδης μάζα και ο λόγος ΠΜ/ΠΙ διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης. Συγκεκριμένα, ο ΔΜΣ αυξάνεται κατά την μεταπήδηση των ασθενών σε υψηλότερο βαθμό λιπώδους διήθησης και τα αποτελέσματα από την πολλαπλή λογαριθμική παλινδρόμηση κατέληξαν σε συσχέτιση μεταξύ του ΔΜΣ και της νόσου ανεξάρτητα από το φύλο και την ηλικία. Ουσιαστικά, 1 kg/m^2 διαφορά στα επίπεδα του ΔΜΣ συσχετίστηκε με 0.4 μεγαλύτερη πιθανότητα για εμφάνιση της νόσου, έπειτα από έλεγχο για την ηλικία και το φύλο. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με την βιβλιογραφία που προτείνει πως το υπερβάλλον βάρος και η παχυσαρκία είναι ξεκάθαρα συνδεδεμένα με την NAFLD, με την πιθανότητα ανάπτυξης της νόσου να αυξάνεται με το μέγεθος της παχυσαρκίας ⁽¹²⁵⁾. Σχετικά με την % Λιπώδη μάζα, αυτή αυξάνεται κατά την μεταπήδηση των ασθενών σε υψηλότερο βαθμό λιπώδους διήθησης. Τέλος, έγινε εμφανής στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το λόγο περιφέρεια μέση/περιφέρεια ισχίου (ΠΜ/ΠΙ) μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης. Ουσιαστικά, όσο αυξάνει ο βαθμός λιπώδους διήθησης των ασθενών, αυξάνεται και ο λόγος αναδεικνύοντας μια πιο κεντρικού τύπου παχυσαρκία κατά την μεταπήδηση τους σε υψηλότερο βαθμό λιπώδους διήθησης σε συμφωνία με την βιβλιογραφία που χαρακτηρίζει τον ρόλο της κεντρικής παχυσαρκίας ως κρίσιμο για την NAFLD ⁽⁸⁾.

Αναφορικά με τη σχέση της νόσου με τα βιοχημικά χαρακτηριστικά, τα αποτελέσματα προτείνουν πως τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και γλυκόζης διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης. Όσο αυξάνει ο

βαθμός λιπώδους διήθησης τόσο αυξάνονται τα επίπεδα τριγλυκεριδίων, αγγίζοντας κατά μέσο όρο τα ανώτερα φυσιολογικά όρια σε άτομα με βαθμό λιπώδους διήθησης 3 ⁽¹²⁶⁾. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η NAFLD σχετίζεται με την δυσλιπιδαιμία και μάλιστα το 64% των ασθενών πάσχει από υπερτριγλυκεριδαιμία ⁽¹⁶⁾. Όσον αφορά την γλυκόζη, τα επίπεδά της αυξάνονται όσο αυξάνει και ο βαθμός λιπώδους διήθησης, αγγίζοντας κατά μέσο όρο τα ανώτερα φυσιολογικά όρια σε άτομα με βαθμό λιπώδους διήθησης 3 ⁽¹²⁷⁾. Επίσης, τα επίπεδα ALT και AST διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης. Μάλιστα, τα επίπεδα τους αυξάνονται όσο αυξάνει ο βαθμός λιπώδους διήθησης των ασθενών παραμένοντας όμως κατά μέσο όρο μέσα στα φυσιολογικά όρια ⁽¹⁸⁾ σε συμφωνία με την παρατήρηση πως σε 78% των ασθενών με τη νόσο τα επίπεδα τους είναι φυσιολογικά ⁽³⁷⁾. Αντίθετα, η συγκεκριμένη μελέτη προτείνει πως τα άτομα με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, δεδομένο που αντιτίθεται στη μέχρι τώρα βιβλιογραφία που ορίζει τον διαβήτη ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης της NAFLD ⁽¹⁴⁾.

Όσον αφορά την σχέση μεταξύ της κατανάλωσης ομάδων τροφίμων και της νόσου, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εργασίας προτείνουν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανάλωση γαλακτοκομικών (πλήρους λίπους), ψαριών και πουλερικών μεταξύ των ατόμων με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης. Κατά την πραγματοποίηση πολλαπλής λογαριθμικής παλινδρόμησης, έπειτα από έλεγχο ως προς την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ και την ενεργειακή πρόσληψη, μόνο η κατανάλωση ψαριών συσχετίστηκε με την εμφάνιση της νόσου. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, η οποία χαρακτηρίζει τον ρόλο των ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων προστατευτικό ως προς την εμφάνιση της NAFLD ⁽⁷¹⁾.

Όσον αφορά την σχέση της παρουσίας αλληλόμορφου κινδύνου G του γενετικού πολυμορφισμού PNPLA3 (rs738409) που συσχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου, η μελέτη ανέδειξε, όχι μόνο στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας του αλληλόμορφου αυτού και της νόσου, αλλά και αλληλεπίδραση του αλληλόμορφου κινδύνου με συγκεκριμένη διατροφική συμπεριφορά ως προς την εμφάνιση της νόσου. Πιο συγκεκριμένα, τα άτομα του δείγματος που είχαν στον γονότυπό τους

τουλάχιστον ένα C αλληλόμορφο, παρουσίασαν σημαντικά λιγότερη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου, σε σχέση με τα άτομα με ομόζυγο ως προς G γονότυπο, επιβεβαιώνοντας έτσι δεδομένα της βιβλιογραφίας που ορίζουν το αλληλόμορφο G ως αλληλόμορφο κινδύνου για την εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου ⁽⁷⁷⁾. Επιπλέον, κατά την απόπειρα συσχέτισης ενός παράγοντα κινδύνου (γονότυπος) με έναν προστατευτικό παράγοντα (κατανάλωση ψαριών) ως προς την εμφάνιση της νόσου, παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα μόνο για τον πληθυσμό των γυναικών. Στις γυναίκες, λοιπόν, η υψηλή κατανάλωση ψαριών παρουσίασε προστατευτική επίδραση στην εμφάνιση της νόσου για όλους τους τύπους του γονότυπου που εμφάνιζαν. Για τις γυναίκες με γονότυπο που περιείχε G-αλληλόμορφο, η υψηλή κατανάλωση ψαριών αποκλειστικά, επιδρά ως προστατευτικός παράγοντας στην εμφάνιση της νόσου, ενώ για τις γυναίκες με CC γονότυπο, υψηλή και μέτρια κατανάλωση ψαριών τις προστατεύουν από την εμφάνιση της νόσου.

Περιορισμό της παρούσας μελέτης αποτελεί το σχετικά μικρό δείγμα, κάτι που εμποδίζει την πλήρη ανάδειξη των διαφορών μεταξύ των ασθενών με διαφορετικό βαθμό λιπώδους διήθησης και των υγείων. Επίσης, η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών των ατόμων και επομένως της κατανάλωσης ομάδων τροφίμων με ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, πιθανώς ενέχει κάποιο σφάλμα, καθώς οι εξεταζόμενοι μπορεί να υποεκτιμούν ή να υπερεκτιμούν την διατροφική τους πρόσληψη.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η σημασία της συγκεκριμένης επιδημιολογικής μελέτης είναι μεγάλη καθώς στον διεθνή χώρο υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με το ρόλο της διατροφής και της γενετικής προδιάθεσης στον κίνδυνο εμφάνισης της NAFLD. Η ανάλυση του γονιδιώματος στα άτομα του δείγματος, η διεξαγωγή συσχετίσεων μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και του κινδύνου εμφάνισης της νόσου, καθώς και η διερεύνηση της ύπαρξης αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικών και διατροφικών παραγόντων ως προς την ανάπτυξη της NAFLD, δημιούργησαν μια πλατφόρμα αναφοράς για την αξιολόγηση της επίδρασης του γενετικού υποβάθρου στην εμφάνιση της νόσου, και πώς αυτό επηρεάζεται από συγκεκριμένες διατροφικές συμπεριφορές.

Το σημαντικότερο συμπέρασμα της παρούσας εργασίας είναι η προστατευτική δράση που φαίνεται να προσφέρει η κατανάλωση ψαριών στην εξέλιξη της NAFLD, όταν μάλιστα, παράλληλα, το γενετικό υπόβαθρο ορίζει μια αυξημένη τάση εμφάνισης της νόσου. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, υποδεικνύεται μια εξατομικευμένη τακτική για την αντιμετώπιση της νόσου, κατά την οποία θα λαμβάνεται υπόψη το φύλο και το γενετικό προφίλ.

Ωστόσο, παρά τα ικανοποιητικά ενδεικτικά αποτελέσματα, τίθενται κάποια ευσταθή ερωτήματα. Από την μελέτη αποδείχθηκε προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης ψαριών στην εμφάνιση της νόσου, αλλά δεν διευκρινίστηκε το είδος των καταναλισκόμενων ψαριών. Επιπλέον, από τα αποτελέσματα, δεν διευκρινίζονται οι συνολικές διατροφικές συνήθειες που ακολουθούν τα άτομα παράλληλα με την πρόσληψή τους σε ψάρια. Δηλαδή, δεν μπορούμε να γνωρίζουμε αν τα άτομα που καταναλώνουν υψηλή ποσότητα ψαριών, σε γενικές γραμμές διατρέφονται σύμφωνα με το μεσογειακό πρότυπο, με διατροφικό πρότυπο υψηλού ποσοστού σε λίπος, υψηλής πρόσληψης τροφίμων από την ομάδα του κρέατος ή με οποιοδήποτε άλλο διατροφικό πρότυπο που ίσως αυτό τελικά σχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου. Σε αυτή την περίπτωση, ο συνυπολογισμός του Δείκτη Μεσογειακού Σκορ (Med Diet Score), θα μπορούσε να

δημιουργήσει πιο ασφαλή και ακριβή αποτελέσματα για την αντικειμενική συσχέτιση της κατανάλωσης ψαριών με την εμφάνιση της νόσου στον πληθυσμό. Επίσης, δεν υπάρχουν αναφορές για την φυσική δραστηριότητα που πιθανώς διατηρούν τα άτομα που καταναλώνουν τις διάφορες ποσότητες ψαριών, έτσι ώστε να γνωρίζουμε αν τίθεται θέμα συσχέτισης της αλληλεπίδρασης αυτής στην εμφάνιση της NAFLD.

Στο μέλλον, η περεταίρω ανάλυση των περιγραφικών χαρακτηριστικών, των διατροφικών συνηθειών και του γενετικού υποβάθρου στα άτομα του δείγματος, θα επιτρέψει την διεξαγωγή ακριβέστερων και πιο σύνθετων συσχετίσεων μεταξύ περισσότερων γενετικών πολυμορφισμών και του κινδύνου εμφάνισης της νόσου καθώς και την διερεύνηση της ύπαρξης αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικών και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων ως προς την εμφάνιση και εξέλιξή της.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013 Mar;58(3):593-608
2. Serfaty L¹, Lemoine M, Definition and natural history of metabolic steatosis: clinical aspects of NAFLD, NASH and cirrhosis. *Diabetes Metab.* 2008 Dec
3. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol.* 2010 Aug;53(2):372-84.
4. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346:1.221.
5. Babusik, P., Bilal, M. & Duris, I. Nonalcoholic fatty liver disease of two ethnic groups in Kuwait: comparison of prevalence and risk factors. *Med. Princ. Pract.* 21, 56–62 (2012).
6. 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).
7. Bedogni, G. et al. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 42, 44–52 (2005).
8. Ratziu, V., Bellentani, S., Cortez-Pinto, H., Day, C. & Marchesini, G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J. Hepatol.* 53, 372–384 (2010).
9. Eguchi, Y. et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J. Gastroenterol.* 47, 586–595 (2012).
10. Fan, J. G. et al. Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: update 2010: (published in Chinese on Chinese Journal of Hepatology 2010; 18, 163–166). *J. Dig. Dis.* 12, 38–44 (2011).
11. Farrell, G. C., Wong, V. W. & Chitturi, S. NAFLD in Asia—as common and important as in the West. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10, 307–318 (2013).
12. Fan, J. G. & Peng, Y. D. Metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: Asian definitions and Asian studies. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 6, 572–578 (2007).
13. American Gastroenterological Association. American Gastroenterological Association Medical Position Statement: Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123:1.702 - 1.704.
14. Gupte, P., et al., Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol*, 2004. 19(8): p. 854-8.
15. Jimba, S., et al., Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med*, 2005. 22(9): p. 1141-5.
16. Marchesini, G., et al., Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*, 2003. 37(4): p. 917-23.
17. Tsantoulas D CE. Alcoholic Fatty Liver Disease. *Iatrika Analekta.* 2010(3).
18. Papatheodoridis GV, et al. High prevalence of elevated liver enzymes in Greek blood donors: Associations with male gender and central adiposity. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007;19(4):281-7
19. Day CP. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*

- 2002;16(5):663-78
20. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liv Dis* 2001;21:27-41
 21. Parekh S, et al. Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2007;132:2191-207
 22. Badman MK, et al. The adipocyte as an active participant in energy balance and metabolism. *Gastroenterology* 2007;132:2103-15
 23. Tilg H, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology* 2006;131:934-45
 24. Lonardo A, et al. "Endocrine NAFLD" a hormonocentric perspective of nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis. *J Hepatol* 2006;44:1196-207
 25. Sanyal AJ, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001;120:1183-92
 26. Dowman, J.K., J.W. Tomlinson, and P.N. Newsome, Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*, 2010. 103(2): p. 71-83.
 27. Liu, Q., S. Bengmark, and S. Qu, The role of hepatic fat accumulation in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids Health Dis*, 2010. 9: p. 42.
 28. Mirza, M.S., Obesity, Visceral Fat, and NAFLD: Querying the Role of Adipokines in the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *ISRN Gastroenterol*, 2011. 2011: p. 592404.
 29. Finelli, C. and G. Tarantino, What is the role of adiponectin in obesity related non-alcoholic fatty liver disease? *World J Gastroenterol*, 2013. 19(6): p. 802-12.
 30. Tsochatzis, E.A., G.V. Papatheodoridis, and A.J. Archimandritis, Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm*, 2009. 2009: p. 831670
 31. Dowman, J.K., J.W. Tomlinson, and P.N. Newsome, Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*, 2010. 103(2): p. 71-83.
 32. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Definitions, Risk Factors, and Workup Puneet Puri, M.B.B.S., M.D. and Arun J. Sanyal, M.B.B.S., M.D.
 33. Preiss, D. and N. Sattar, Non-alcoholic fatty liver disease: an overview of prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment considerations. *Clin Sci (Lond)*, 2008. 115(5): p. 141-50.
 34. Ahmed, M.H., E.O. Abu, and C.D. Byrne, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): new challenge for general practitioners and important burden for health authorities? *Prim Care Diabetes*, 2010. 4(3): p. 129-37.
 35. McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 521-533.
 36. Adams LA, Angulo P. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med* 2005; 22: 1129-1133.
 37. Adams, L.A. and J.A. Talwalkar, Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol*, 2006. 40 Suppl 1: p. S34-8.
 38. Bellentani, S., et al., Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med*, 2000. 132(2): p. 112-7.
 39. Hamaguchi, M., et al., The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*, 2005. 143(10): p. 722-8.
 40. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002 May;122(6):1649-57.
 41. Karcaaltincaba, M. and O. Akhan, Imaging of hepatic steatosis and fatty sparing. *Eur J*

- Radiol, 2007. 61(1): p. 33-43.
42. Schuppan, D. and J.M. Schattenberg, Non-alcoholic steatohepatitis: pathogenesis and novel therapeutic approaches. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013. 28 Suppl 1: p. 68-76.
 43. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liv Dis*. 2001;21:3-16
 44. Nonomura A, et al. Clinical and pathological features of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2005:
 45. Alba LM, Lindor K. Non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 977-986.
 46. Angulo P, Keach J, Batts K, Lindor K. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-1362.
 47. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *HEPATOLOGY* 2005;41:1313-1321
 48. American Gastroenterological Association. American Gastroenterological Association Medical Position Statement: Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123:1.702 - 1.704.
 49. Hooper, A.J., L.A. Adams, and J.R. Burnett, Genetic determinants of hepatic steatosis in man. *J Lipid Res*, 2011. 52(4): p. 593-617.
 50. Anstee QM¹, Day CP¹, The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2, *Semin Liver Dis*. 2015 Aug;35(3):270-90. doi: 10.1055/s-0035-1562947. Epub 2015 Sep 17.
 51. Beer, N.L., et al., The P446L variant in GCKR associated with fasting plasma glucose and triglyceride levels exerts its effect through increased glucokinase activity in liver. *Hum Mol Genet*, 2009. 18(21): p. 4081-8.
 52. Agius, L., Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *Biochem J*, 2008. 414(1): p. 1-18.
 53. Burger, M., et al., Crystal structure of the predicted phospholipase LYPLAL1 reveals unexpected functional plasticity despite close relationship to acyl protein thioesterases. *J Lipid Res*, 2012. 53(1): p. 43-50.
 54. Speliotes, E.K., et al., Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet*, 2011. 7(3): p. e1001324.
 55. 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.
 56. 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.
 57. Delanote, V., J. Vandekerckhove, and J. Gettemans, Plastins: versatile modulators of actin organization in (patho)physiological cellular processes. *Acta Pharmacol Sin*, 2005. 26(7): p. 769-79.
 58. Targher, G., et al., Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2007. 17(7): p. 517-24.
 59. Takiishi, T., et al., Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010. 39(2): p. 419-46, table of contents.
 60. Luo, W., et al., Identification of polymorphisms associated with hypertriglyceridemia and prolonged survival induced by bexarotene in treating non-small cell lung cancer.

Anticancer

61. 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.
62. Petersen, K.F., et al., Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 2010. 362(12): p. 1082-9.
63. Burkhead JL, Gray LW, Lutsenko S, Systems biology approach to Wilson's disease., *Biomaterials*. 2011 Jun; 24(3):455-66.
64. Kneeman JM, Misdraji J, Corey KE. Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2012 May;5(3):199-207.
65. Hsiao PJ^{1,2}, Lee MY³, Wang YT⁴, Jiang HJ⁵, Lin PC⁶, Yang YH⁷, Kuo KK^{8,9}, MTTP-297H polymorphism reduced serum cholesterol but increased risk of non-alcoholic fatty liver disease-a cross-sectional study, *BMC Med Genet*. 2015 Oct 12;16:93. doi: 10.1186/s12881-015-0242-6.
66. Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Apr 15;25(8):883-9.
67. Souza MR, Diniz Mde F, Medeiros-Filho JE, Araujo MS. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arq Gastroenterol*. 2012 Jan-Mar;49(1):89-96.
68. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007 May;30(5):1212-8.
69. Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Virovic Jukic L, Velagic V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2007 Sep 14;13(34):4539-50.
70. Farrell GC. The liver and the waistline: Fifty years of growth. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Oct;24 Suppl 3:S105-18.
71. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*. 2005 Dec;330(6):326-35.
72. Speliotes EK, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Meigs JB, Sahani DV, et al. Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study. *Hepatology*. 2010 Jun;51(6):1979-87.
73. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2012 Feb;32(1):22-9.
74. Lopez-Suarez A, Guerrero JM, Elvira-Gonzalez J, Beltran-Robles M, Canas-Hormigo F, Bascunana-Quirell A. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with blood pressure in hypertensive and nonhypertensive individuals from the general population with normal levels of alanine aminotransferase. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Nov;23(11):1011-7.
75. Toshikuni N, Fukumura A, Hayashi N, Nomura T, Tsuchishima M, Arisawa T, et al. Comparison of the relationships of alcoholic and nonalcoholic fatty liver with hypertension, diabetes mellitus, and dyslipidemia. *J Clin Biochem Nutr*. 2013 Jan;52(1):82-8.
76. Allard JP, Other disease associations with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002 Oct; 16(5):783-95
77. (77) Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:27-41.
78. Economou F, Xyrafis X, Livadas S, Androulakis II, Argyrakopoulou G, Christakou CD, Kandaraki E, Palioura E, Diamanti-Kandarakis E. In overweight/obese but not in normal-weight women, polycystic ovary syndrome is associated with elevated liver enzymes compared to controls. *Hormones (Athens)*. 2009 Jul- Sep;8(3):199-206.

79. Markou A, Androulakis II, Mourmouris C et al. Hepatic steatosis in young lean insulin resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009
80. Pillai AA, Rinella ME, Non-alcoholic fatty liver disease: is bariatric surgery the answer, *Clin Liver Dis.* 2009 Nov; 13(4):689-710.
81. Crum-Cianflone N, Dilay A, Collins G, Asher D, Campin R, Medina S, Goodman Z, Parker R, Lifson A, Capozza T, Bavaro M, Hale B, Hames C, Nonalcoholic fatty liver disease among HIV-infected persons, *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009 Apr 15; 50(5):464-73
82. Saphner T, Triest-Robertson S, Li H, Holzman P, The association of nonalcoholic steatohepatitis and tamoxifen in patients with breast cancer, *Cancer.* 2009 Jul 15; 115(14):3189-95
83. Langman G, Hall PM, Todd G, Role of non-alcoholic steatohepatitis in methotrexate-induced liver injury, *J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Dec; 16(12):1395-401
84. Jia Y, Viswakarma N, Fu T, Yu S, Rao MS, Borensztajn J, Reddy JK, Conditional ablation of mediator subunit MED1 (MED1/PPARBP) gene in mouse liver attenuates glucocorticoid receptor agonist dexamethasone-induced hepatic steatosis, *Gene Expr.* 2009; 14(5):291-306
85. Solga SF, Clark JM, Alkhuraishi AR, Torbenson M, Tabesh A, Schweitzer M, et al. Race and comorbid factors predict nonalcoholic fatty liver disease histopathology in severely obese patients. *Surg Obes Relat Dis.* 2005 Jan-Feb;1(1):6-11.
86. Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet.* 2011 Mar;7(3):e1001324
87. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Aug;34(3):274-85.
88. Araújo MRdASMdFFdMDJEMdM-FMSTd. Síndrome metabólica e fatores de risco para a doença hepática gordurosa não-alcoólica. *Arquivos de Gastroenterologia.* Mar. 2012;49(1):89-96.
89. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Eng J Med* 2002;346:1221-31
90. Cortez-Pinto H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): diagnosis and clinical course. *Best Prac Res Clin Gastroenterol* 2004;18(6):1089-1104
91. Arun J, Clements RH, Lazenby AJ, Leeth RR, Abrams GA. The prevalence of nonalcoholic steatohepatitis is greater in morbidly obese men compared to women. *Obes Surg.* 2006 Oct;16(10):1351-8.
92. Browning, J.D., et al., Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 2004. 40(6): p. 1387-95.
93. Wagenknecht, L.E., et al., Correlates and heritability of nonalcoholic fatty liver disease in a minority cohort. *Obesity (Silver Spring)*, 2009. 17(6): p. 1240-6.
94. Zelber-Sagi, S., V. Ratziu, and R. Oren, Nutrition and physical activity in NAFLD: an overview of the epidemiological evidence. *World J Gastroenterol*, 2011. 17(29): p. 3377-89.
95. 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.
96. McCuskey, R.S., et al., Hepatic microvascular dysfunction during evolution of dietary steatohepatitis in mice. *Hepatology*, 2004. 40(2): p. 386-93.

97. Samuel, V.T., et al., Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem*, 2004. 279(31): p. 32345-53.
98. Kim, S.P., et al., Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. *Diabetes*, 2003. 52(10): p. 2453-60.
99. Wang, D., Y. Wei, and M.J. Pagliassotti, Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*, 2006. 147(2): p. 943-51.
100. Nseir, W., F. Nassar, and N. Assy, Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2010. 16(21): p. 2579-88.
101. Machado, R.M., et al., Intake of trans fatty acids causes nonalcoholic steatohepatitis and reduces adipose tissue fat content. *J Nutr*, 2010. 140(6): p. 1127-32.
102. Solga, S., et al., Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*, 2004. 49(10): p. 1578-83.
103. Machado, M.V., et al., Blood oxidative stress markers in non-alcoholic steatohepatitis and how it correlates with diet. *Scand J Gastroenterol*, 2008. 43(1): p. 95-102.
104. Zivkovic, A.M., J.B. German, and A.J. Sanyal, Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr*, 2007. 86(2): p. 285-300.
105. 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.
106. Loguercio, C., et al., Non-alcoholic fatty liver disease in an area of southern Italy: main clinical, histological, and pathophysiological aspects. *J Hepatol*, 2001. 35(5): p. 568-74.
107. Borrelli B, Mermelstein R. The role of weight concern and self-efficacy in smoking cessation and weight gain among smokers in a clinic-based cessation program. *Addict Behav*. 1998 Sep-Oct;23(5):609-22.
108. Zein CO, Unalp A, Colvin R, Liu YC, McCullough AJ. Smoking and severity of hepatic fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2011 Apr;54(4):753-9.
109. Nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology*. 2003 Feb;37(2):244
110. Reichert FF, Barros AJ, Domingues MR, Hallal PC. The role of perceived personal barriers to engagement in leisure-time physical activity. *Am J Public Health*. 2007 Mar;97(3):515-9.
111. Zelber-Sagi, S., V. Ratziu, and R. Oren, Nutrition and physical activity in NAFLD: an overview of the epidemiological evidence. *World J Gastroenterol*, 2011. 17(29): p. 3377-89.
112. Church, T.S., et al., Association of cardiorespiratory fitness, body mass index, and waist circumference to nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2006. 130(7): p. 2023-30.
113. Perseghin, G., et al., Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. *Diabetes Care*, 2007. 30(3): p. 683-8.
114. Hannukainen, J.C., et al., Increased physical activity decreases hepatic free fatty acid uptake: a study in human monozygotic twins. *J Physiol*, 2007. 578(Pt 1): p. 347-58.
115. Eckard, C., et al., Prospective histopathologic evaluation of lifestyle modification in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized trial. *Therap Adv Gastroenterol*, 2013. 6(4): p. 249-59.
116. Neuschwander-Tetri BA, Bacon E. Non-alcoholic steatohepatitis. *Med Clin North Am*

- 1996; 80: 1147-1166
117. Rector RS, Thyfault JP. Does physical inactivity cause nonalcoholic fatty liver disease? *J Appl Physiol*. 2011 Dec;111(6):1828-35.
 118. WHO. Global recommendations on physical activity for health.
 119. Paschos, P. and K. Paletas, Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia*, 2009. 13(1): p. 9-19.
 120. Tsochatzis, E.A., G.V. Papatheodoridis, and A.J. Archimandritis, Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm*, 2009. 2009: p. 831670.
 121. Day, C.P. and O.F. James, Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 1998. 114(4): p. 842-5.
 122. Kotronen, A., et al., Liver fat in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. 92(9): p. 3490-7.
 123. Sheth SG, Gordon F, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-145.
 124. Loguercio C, Simone TD, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Chicco MD, Carteni M. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2144-2146.
 125. Petta, S., C. Muratore, and A. Craxi, Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis*, 2009. 41(9): p. 615-25.
 126. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, 2002. 106(25): p. 3143-421.
 127. Bantle, J.P., et al., Nutrition recommendations and interventions for diabetes--2006: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 2006. 29(9): p. 2140-57.