



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

**Διατροφική παρέμβαση με μαστίχα σε ασθενείς με μη-αλκοολική λιπώδη νόσο
του ήπατος. Σχεδιασμός και αξιολόγηση γενετικού δείκτη.**
Διπλωματική Εργασία

Βασιλική Μπουκόρου



Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Γεώργιος Δεδούσης

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

Ανδριάννα Καλιώρα

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

Νίκος Γιαννακούρης

**Αναπληρωτής Καθηγητής Βιολογίας-Φυσιολογίας, Τμήμα Επιστήμης
Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Η Βασιλική Μπουκόρου

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Δεδούση για την ανάθεση του θέματος και όλη την καθοδήγηση καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της έρευνας. Επίσης, οφείλω ένα ευχαριστώ στην επίκουρη καθηγήτρια κ. Καλιώρα για τη συνεργασία και τη γνώση που μου μετέδωσε.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ πρέπει να πω σε όλη την ομάδα του MAST4HEALTH και στην υποψήφια διδάκτωρ Χαρά Αμερικάνου, που ήταν πάντα δίπλα μου σε ωραίες και σε δύσκολες στιγμές.

Η παρούσα διπλωματική δεν θα είχε ολοκληρωθεί χωρίς τη στήριξη της οικογένειάς μου, την οποία και ευχαριστώ που είναι πάντα δίπλα μου σε ο,τι και αν αποφασίσω.

Κατάλογος περιεχομένων

1. Εισαγωγή.....	13
1.1 Ορισμός.....	13
1.2 Επιδημιολογία.....	14
1.3 Παθοφυσιολογία.....	15
1.4 Διάγνωση.....	17
1.4.1 Βιοχημικοί Δείκτες.....	17
1.4.2 Μοντέλα Πρόβλεψης.....	18
1.4.3 Μαγνητική Τομογραφία.....	19
1.4.4 Υπερηχογράφημα.....	20
1.4.5 Βιοψία Ήπατος.....	21
1.5 Παράγοντες κινδύνου.....	21
1.5.1 Μεταβολικό Σύνδρομο.....	21
1.5.2 Διατροφή.....	22
1.5.2.1 Λιπαρά οξέα.....	22
1.5.2.2 Φρουκτόζη.....	23
1.5.2.3 Όξινο Γλουταμινικό Νάτριο.....	23
1.5.3 Εντερικός Μικροβιόκοσμος.....	23
1.5.4 Οξειδωτικό Στρες.....	24
1.5.5 Γενετική προδιάθεση.....	24
1.6 Αντιμετώπιση.....	28
1.6.1 Αλλαγή Διατροφικών Συμπεριφορών και Φυσικής Δραστηριότητας.....	29
1.6.2 Φαρμακοθεραπεία.....	29
1.6.3 Βαριατρική Χειρουργική.....	30
1.6.4 Παρεμβάσεις με Φυσικά Προϊόντα.....	31
1.7 Μαστίχα Χίου.....	32
1.7.1 Η συγκομιδή.....	32
1.7.2 Φυσικές Ιδιότητες.....	33
1.7.3 Χημικές Ιδιότητες.....	34
1.7.4 Ευεργετικές Δράσεις.....	34
1.7.4.1 Αντιφλεγμονώδεις Δράσεις.....	34
1.7.4.2 Αντιμικροβιακές Δράσεις.....	35
1.7.4.3 Αντιοξειδωτικές Δράσεις.....	36
1.7.4.4 Καρδιοπροστατευτικές Ιδιότητες.....	36
1.7.4.5 Αντικαρκινικές Ιδιότητες.....	36
2. Σκοπός της Μελέτης.....	37
3. Μεθοδολογία.....	37
3.1 Πρωτόκολλο της Μελέτης.....	37
3.2 Πληθυσμός της Μελέτης.....	38
3.3 Τυχαιοποίηση-Τυφλοποίηση.....	39
3.4 Στρατολόγηση εθελοντών, επισκέψεις και παρακολούθηση συμμόρφωσης.....	40
3.5 Εργαστηριακές Αναλύσεις.....	44
3.5.1 Απομόνωση ορού, πλάσματος και buffy coat.....	44
3.5.2 Απομόνωση Γενετικού Υλικού και Ποσοτικός Προσδιορισμός της Συγκέντρωσής του.....	44
3.5.3 Φωτομέτρηση DNA.....	45
3.5.4 Γονοτύπηση.....	45
4. Στατιστική Ανάλυση.....	46
5. Αποτελέσματα.....	47

6. Συζήτηση.....	55
7. Βιβλιογραφία.....	58

Περίληψη

Εισαγωγή: Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) είναι μια πολυπαραγοντική νόσος με μεγάλο ιστολογικό φάσμα. Έχει φανεί πως η νόσος σχετίζεται ισχυρά με τις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου και αποτελεί την ηπατική εκδήλωσή του. Ο επιπολασμός της NAFLD στις ΗΠΑ και στη Μεσόγειο κυμαίνεται 30-32% ενώ η επίπτωση, ανέρχεται περίπου στα 20-86 περιστατικά/1000 ανθρωποέτη. Η αντιμετώπιση, έγκειται στην τροποποίηση των συμπεριφορών που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για τη νόσο. Η μαστίχα Χίου είναι η φυσική αρωματική ρητίνη που εκκρίνεται από το μαστιχόδεντρο της οικογένειας *Pistacia lentiscus var Chia*. Η ρητίνη είναι πλούσια σε τερπενοειδή και φαινολικά συστατικά, τα οποία προσδίδουν *in vivo* και *in vitro* αντιοξειδωτικές, καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και χημειοπροστατευτικές ιδιότητες.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας κλινικής δοκιμής είναι η διερεύνηση της επίδρασης της συμπληρωματικής χορήγησης Μαστίχας Χίου, ανάλογα με το γονότυπο, σε ασθενείς με NAFLD/NASH.

Μεθοδολογία: Σε 32 εθελοντές με NAFLD/NASH πραγματοποιήθηκε μαγνητική τομογραφία. Αξιολογήθηκε το LIF Score και επιλέχθηκαν 22 άτομα στα οποία χορηγήθηκε σκεύασμα μαστίχας Χίου ή placebo σε δόση των 2,1γρ ημερησίως. Η παρέμβαση διαρκεί 6 μήνες και ως πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης ορίζεται η βελτίωση της ηπατικής ιστοπαθολογίας, όπως αυτή παρατηρείται με τη βοήθεια της μαγνητικής τομογραφίας και ορίζεται με μείωση της τιμής του LIF score.

Αποτελέσματα: Στα 32 άτομα τα οποία πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία η μέση τιμή NFS και FIB-4 ήταν $-2,2 \pm 1$ και $0,8 \pm 0,4$, αντίστοιχα. Από αυτούς τους εθελοντές, οι 22 κρίθηκαν κατάλληλοι για συμμετοχή στη μελέτη, με βάση τα εκτιμώμενα LIF scores και το % ποσοστό λίπους. Ο μέσος όρος των LIF score ήταν $2,5 \pm 0,8$ και η περιεκτικότητα λίπους $13,9 \pm 8\%$. Το 37% είχε τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τον πολυμορφισμό TM6SF2, ο οποίος συσχετίστηκε θετικά με την % περιεκτικότητα ηπατικού λίπους και την τιμή ALT. Το 50% είχε τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τον πολυμορφισμό PNPLA3, ο οποίος συσχετίστηκε αρνητικά με το βάρος, το σωματικό λίπος και τη γλυκόζη νηστείας.

Συζήτηση: Από τα πρώτα αποτελέσματα δεν μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση της μαστίχας σε άτομα με NAFLD/NASH. Επιβεβαιώθηκε πως η παρουσία του πολυμορφισμού TM6SF2 σχετίζεται με την ηπατική περιεκτικότητα σε λίπος και του PNPLA3 με μειωμένο βάρος, Δ.Μ.Σ. και γλυκόζη νηστείας.

Λέξεις κλειδιά: Μη Αλκοολική Λιπώδης Νόσος Ήπατος, Γονίδια, Μαστίχα, Κλινική Δοκιμή

Abstract

Introduction: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is a disease with a large histological spectrum. It has been shown that is strongly related to the components of the metabolic syndrome and is its hepatic manifestation. NAFLD prevalence in the US and the Mediterranean ranges between 30-32%, with an incidence of about 20-86 incidents/1000 man-years. The main treatment is the modification of behaviors that are risk factors for the disease. Chios mastic is the natural aromatic resin that is secreted by the mastic tree of the *Pistacia lentiscus* var *Chia* family. The resin is rich in terpenoid and phenolic components, which has antioxidant, cardioprotective, anti-inflammatory, antimicrobial and chemoprotective properties.

Purpose: The purpose of this clinical trial is to investigate the effect of Chios mastic gum supplementation, according to the genotype, in patients with NAFLD / NASH.

Methodology: Magnetic resonance imaging was performed on 32 volunteers with NAFLD/NASH. LIF score was evaluated and 22 subjects were treated with Chios mastic gum or placebo at a dose of 2.1 g per day. Intervention lasts 6 months and the primary endpoint is the improvement of liver histopathology, as observed by MRI and is determined by a reduction in the LIF score value.

Results: In the 32 subjects who performed MRI, the mean NFS and FIB-4 scores were -2.2 ± 1 and 0.8 ± 0.4 , respectively. Of these volunteers, 22 were eligible to participate in the study, based on estimated LIF scores and % fat content. The average LIF score was 2.5 ± 0.8 and the fat content was $13.9 \pm 8\%$. Thirty seven percent of the volunteers had at least one risk allele for TM6SF2, which was positively correlated with liver fat content and ALT. Fifty percent had at least one risk allele for PNPLA3 polymorphism, which was negatively correlated with body weight, body fat and glucose.

Discussion: According to the first results, we can not conclude about the effect of mastic gum on patients with NAFLD/NASH. It was confirmed that the presence of TM6SF2 polymorphism is associated with hepatic fat and PNPLA3 with reduced weight, Body Mass Index and glucose.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease, mastic, genes, clinical trial

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1: Η φυσική εξέλιξη της NAFLD [22].....	14
Εικόνα 2: Η υπόθεση πολλαπλών χτυπημάτων για την ανάπτυξη της NAFLD [22].....	16
Εικόνα 3: Σύνοψη των μεταβλητών που περιλαμβάνονται στις μεθόδους βαθμολόγησης της NAFLD [25].....	19
Εικόνα 4: Απεικόνιση με τη μέθοδο LiverMultiScan. Αντιπροσωπευτικές εικόνες ασθενών σε κάθε κατηγορία σοβαρότητας της ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης [32].....	20
Εικόνα 5: Το χρωμάτισμα του σκίνου.....	32
Εικόνα 6: Το κέντημα.....	33
Εικόνα 7: Η συγκέντρωση της IL-6 στο πλάσμα 10 εθελοντών μειώθηκε μετά από χορήγηση μαστίχας Χίου [90].....	35
Εικόνα 8: Τα αντιδραστήρια και το δείγμα στην απομόνωση DNA.....	44
Εικόνα 9: Η αρχή της Real Time PCR.....	46
Εικόνα 10: Διάγραμμα ροής μελέτης.....	47
Εικόνα 11: Η διαφορά στην τιμή ALT ανάλογα με το αλληλόμορφο του πολυμορφισμού TM6SF2.....	53
Εικόνα 12: Οι διαφορές στο NASH Score στην ομάδα Α.....	53
Εικόνα 13: Οι διαφορές στο NASH Score στην ομάδα Β.....	54
Εικόνα 14: Οι διαφορές στο FIB-4 στην ομάδα Α.....	54
Εικόνα 15: Οι διαφορές στο FIB-4 στην ομάδα Β.....	54

Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας 1: Τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού.....	40
Πίνακας 2: Πλάνο Επισκέψεων Εθελοντών.....	44
Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά εθελοντών που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία.....	49
Πίνακας 4: Αποτελέσματα μαγνητικής τομογραφίας.....	49
Πίνακας 5: Σύγκριση μέσων τιμών της ομάδας που έχει το αλληλόμορφο κινδύνου σε σχέση με την ομάδα που έχει κανένα αλληλόμορφο κινδύνου με βάση τα χαρακτηριστικά τους.....	50
Πίνακας 6: Γραμμικές παλινδρομήσεις ελέγχου επίδρασης της παρουσίας του PNPLA3 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με Βάρος, ΔΜΣ, λίπος, γλυκόζη (εξαρτημένες μεταβλητές).....	50
Πίνακας 7: Γραμμική παλινδρόμηση ελέγχου επίδρασης της παρουσίας του TM6SF2 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με την ηπατική συγκέντρωση λίπους (εξαρτημένη μεταβλητή).....	51
Πίνακας 8: Συσχέτιση κατά Pearson για τα σκορ NASH Score, NFS και FIB-4 με τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας.....	51
Πίνακας 9: Χαρακτηριστικά εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες.....	51
Πίνακας 10: Αποτελέσματα μαγνητικής εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες.....	52
Πίνακας 11: Βιοχημικό προφίλ εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες.....	52
Πίνακας 12: Σύγκριση μέσων τιμών της ομάδας που έχει το αλληλόμορφο κινδύνου σε σχέση με την ομάδα που έχει κανένα αλληλόμορφο κινδύνου με βάση τα χαρακτηριστικά τους.....	53
Πίνακας 13: Γραμμικές παλινδρόμησης ελέγχου της επίδρασης της παρουσίας του PNPLA3 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με ΔΜΣ και γλυκόζη (εξαρτημένες μεταβλητές).....	53
Πίνακας 14: Γραμμική παλινδρόμηση ελέγχου της επίδρασης της παρουσίας του TM6SF2 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με ALT (εξαρτημένη μεταβλητή).....	53

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

NAFLD	Non Alcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Non Alcoholic Steatohepatitis
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
GCKR	Ρυθμιστική πρωτεΐνη της γλυκοκινάσης
HDL	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
LDL	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
VLDL	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας
SOD	Υπεροξειδική δισμουτάση
TNF- α	Παράγοντας νέκρωσης όγκων α
IL-6	Ιντερλευκίνη 6
AST	Αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού
ALT	Αμινοτρανσφεράση της αλανίνης
γ GT	γ -γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση
NFS	NAFLD Fibrosis score
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
Δ .Μ.Σ	Δείκτης Μάζας Σώματος
SREB 1	Super Conserved Receptor Expressed in Brain 1
ApoB	Apolipoprotein B

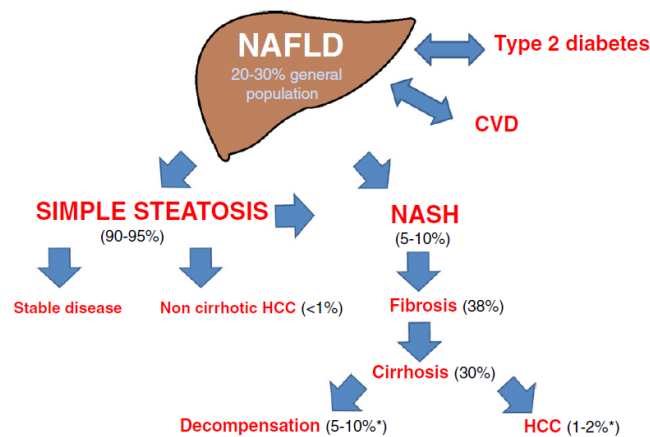
1. Εισαγωγή

1.1 Ορισμός

Ως μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (Non Alcoholic Fatty Liver Disease – NAFLD) ορίζεται μία κατάσταση που χαρακτηρίζεται από υπερβολική συσσώρευση λίπους, με τη μορφή τριακυλογλυκερολών, στο ήπαρ [1]. Στα άτομα που γίνεται διάγνωση με NAFLD, πρέπει να αποκλειστεί η κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης (<20γρ/ημέρα για άντρες, <10γρ/ημέρα για γυναίκες) [2]. Επίσης, πρέπει να υπάρχουν ενδείξεις ηπατικής στεάτωσης, είτε με απεικόνιση είτε με ιστολογία και να μην υπάρχουν αιτίες δευτερογενούς συσσώρευσης ηπατικού λίπους όπως χρήση φαρμάκων που προκαλούν στεάτωση ή κληρονομικές διαταραχές. Στην πλειονότητα των ασθενών, η NAFLD σχετίζεται με παράγοντες μεταβολικού κινδύνου όπως η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης και η δυσλιπιδαιμία [3]. Ένα ποσοστό των ασθενών με NAFLD, έχουν από ήπια έως σοβαρή στεάτωση και τίθεται η διάγνωση της στεατοηπατίτιδας (NASH). Η απλή στεάτωση αφορά τη βλάβη σε <30% των κυττάρων του ήπατος ενώ η σοβαρή σε βλάβη έως και 60% των ηπατοκυττάρων. Η NAFLD ακολουθεί συχνά καλοήγη πορεία και οι ασθενείς έχουν καλή πρόγνωση [4]. Η NASH μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση του ήπατος και ηπατοκυτταρικό καρκίνο [1, 5].

Έχει φανεί πως η νόσος σχετίζεται ισχυρά με τις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου και αποτελεί την ηπατική εκδήλωσή του.

Είναι γενικά αποδεκτό, πως η εξέλιξη της απλής στεάτωσης είναι αργή, ενώ οι ασθενείς με NASH μπορούν να παρουσιάσουν ιστολογική εξέλιξη μέχρι το στάδιο της κίρρωσης. Η πιο συνηθισμένη αιτία θανάτου σε ασθενείς με NAFLD και NASH είναι η καρδιαγγειακή νόσος ενώ οι ασθενείς με NASH έχουν αυξημένο ποσοστό θνησιμότητας σχετιζόμενο με το ήπαρ [3].



Εικόνα 1: Η φυσική εξέλιξη της NAFLD [22]

1.2 Επιδημιολογία

Ο επιπολασμός της NAFLD στις ΗΠΑ κυμαίνεται 30-32% στον πληθυσμό, ενώ τα ποσοστά είναι αυξημένα στους παχύσαρκους (90%) έναντι των υπέρβαρων (58%) [6, 7]. Όσον αφορά τη NASH, στα άτομα με αυξημένα ηπατικά ένζυμα ο επιπολασμός φτάνει το 34-40% ενώ στο γενικό πληθυσμό είναι 5-7% [8]. Στη Μεσόγειο φαίνεται πως είναι σχεδόν ίδιος με τις ΗΠΑ (36,8%), ενώ στο Ιράν και στον κινέζικο αστικό πληθυσμό είναι μικρότερος, 21,5% και 27% αντίστοιχα [9-11]. Ωστόσο, ο επιπολασμός κυμαίνεται μεταξύ χωρών και ηπείρων. Στην Ευρώπη είναι 20-30%, ενώ στην Ιαπωνία ποικίλλει μεταξύ 9-30% [12, 13]. Στην Ινδία, η συχνότητα εμφάνισης της NAFLD στον αστικό πληθυσμό είναι 16-32%, ενώ στις αγροτικές περιοχές είναι περίπου 9% [14].

Η επίπτωση, ανέρχεται περίπου στα 34 περιστατικά/1000 άτομα/χρόνο με βάση τα αυξημένα ηπατικά ένζυμα ή/και το υπερηχογράφημα και στα 34 περιστατικά/1000 ανθρωποέτη με βάση τη φασματοσκοπία [15].

1.3 Παθοφυσιολογία

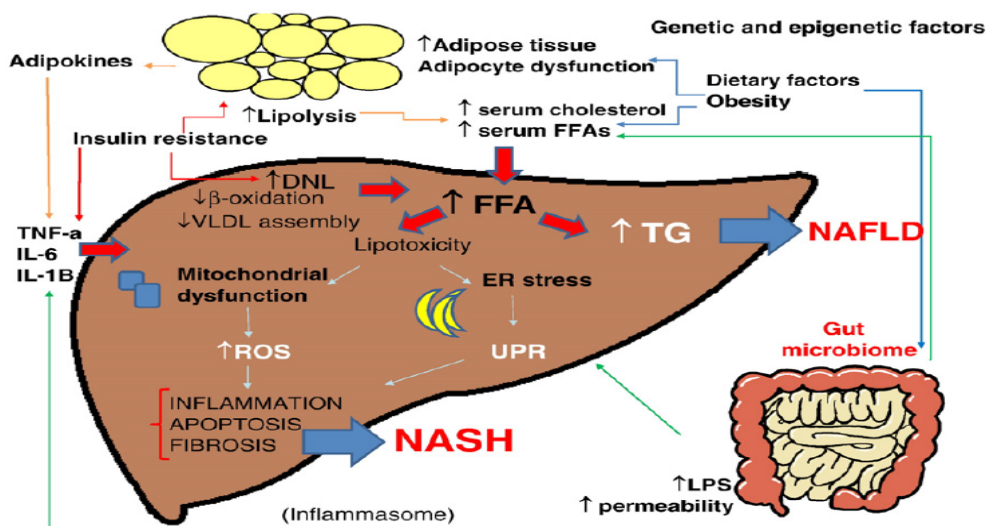
Το φάσμα της NAFLD κυμαίνεται από μία απλή στεάτωση σε NASH. Η NASH αναπτύσσεται όταν η συσσώρευση λίπους στα ηπατοκύτταρα ξεπερνάει τα φυσιολογικά επίπεδα (<5%). Παρά το γεγονός ότι η NAFLD εμφανίζεται σχεδόν σε όλους τους παχύσαρκους, η NASH δεν θα εμφανιστεί τόσο συχνά. Ομοίως, υπάρχουν πολλά άτομα που δεν έχουν αυξημένο Δείκτη Μάζας Σώματος, αλλά είναι μεταβολικά παχύσαρκα και εμφανίζουν NASH. Αυτό δείχνει πόσοι παράγοντες παίζουν ρόλο στην εξέλιξη της νόσου, πέρα από την παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση [16]. Σύμφωνα με την αρχική υπόθεση, των δύο "χτυπημάτων", αρχικά υπάρχει στεάτωση η οποία αυξάνει την ευαισθησία του ήπατος και οδηγεί σε τραυματισμό των ηπατοκυττάρων και εν τέλει σε φλεγμονή και ίνωση [17]. Η στεάτωση, μπορεί να προκληθεί από διάφορους μηχανισμούς, όπως η αυξημένη συσσώρευση λιπαρών οξέων λόγω αυξημένης λιπόλυσης ή/και αυξημένης πρόσληψης, η μειωμένη οξειδωση, η αυξημένη de novo σύνθεση λιπαρών οξέων και η μειωμένη έκκριση των VLDL. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε η τροποποιημένη υπόθεση των δύο "χτυπημάτων", σύμφωνα με την οποία η συσσώρευση των ελεύθερων λιπαρών οξέων προκαλεί βλάβη στο ήπαρ χωρίς να υπάρχει δεύτερο χτύπημα. Υποστηρίζεται πως η συσσώρευση τριακυλογλυκερολών στο ήπαρ μπορεί να είναι προστατευτική παρεμποδίζοντας τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες [18].

Παρ' όλα αυτά, οι τελευταίες μελέτες δείχνουν πολλαπλούς παράγοντες που αναπτύσσονται παράλληλα και όχι διαδοχικά και η εξέλιξη στη NASH εξαρτάται από τη στενή αλληλεπίδραση των γονιδίων, περιβαλλοντικών επιρροών, του εντερικού μικροβιόκοσμου και του ανοσοποιητικού συστήματος [19]. Όλοι αυτοί οι παράγοντες κινδύνου μαζί με την παχυσαρκία οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων και χοληστερόλης, αντίσταση στην ινσουλίνη, πολλαπλασιασμό λιποκυττάρων και αλλαγή στον εντερικό μικροβιόκοσμο. Η ινσουλινοαντίσταση δρα στο λιπώδη ιστό και στο ήπαρ παράλληλα. Στο ήπαρ, επάγει τη de novo λιπογένεση. Στο λιπώδη ιστό, επάγει τη λιπόλυση και συμβάλει στην απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως ο TNF-α και η IL-6 [20]. Η αυξημένη ροή των ελεύθερων λιπαρών οξέων που προέρχονται από τις παραπάνω διεργασίες οδηγεί στη σύνθεση και συσσώρευση τριακυλογλυκερολών, ελεύθερης χοληστερόλης και άλλων μεταβολιτών που προκαλούν μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, οξειδωτικό στρες και παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου στο ενδοπλασματικό δίκτυο και που τελικά συμβάλλουν στην ηπατική φλεγμονή. Παράλληλα, από το λιπώδη ιστό εκκρίνονται λεπτίνη και αδιπονεκτίνη. Η λεπτίνη, παρεμποδίζει τη συσσώρευση λιπαρών οξέων στο ήπαρ, μέσω της μείωσης της έκφρασης του παράγοντα SREB-1. Τα παχύσαρκα άτομα, εμφανίζουν αντίσταση στη λεπτίνη πράγμα που διαδραματίζει

κάποιο ρόλο στην ίνωση. Η αδιπονεκτίνη, που είναι μειωμένη σε παχύσαρκα άτομα, έχει αντιφλεγμονώδεις και ηπατοπροστατευτικές δράσεις.

Το οξειδωτικό στρες συνδυαστικά με τη δυσλειτουργία των μιτοχondρίων εμπλέκονται επίσης στην παθογένεση της NAFLD. Η μιτοχondριακή δυσλειτουργία μειώνει την ομοιόσταση του λίπους στο ήπαρ και επίσης οδηγεί σε υπερπαραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Αυτές οι δραστικές μορφές οξυγόνου θεωρούνται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ηπατοκυτταρική βλάβη. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε κυτταρικό επίπεδο, όπως στην υπεροξείδωση των λιπαρών οξέων της μεμβράνης, στην κυτταρική απόπτωση, στην έκφραση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και στην ίνωση [21].

Επίσης, ο αλλοιωμένος εντερικός μικροβιόκοσμος οδηγεί στην περαιτέρω παραγωγή λιπαρών οξέων στο έντερο, τα οποία συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του οξειδωτικού στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στην απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών. Γενετικοί παράγοντες ή επιγενετικές μεταλλάξεις επηρεάζουν, επίσης, την περιεκτικότητα των ηπατοκυττάρων σε λιπαρά οξέα [22].



Εικόνα 2: Η υπόθεση πολλαπλών χτυπημάτων για την ανάπτυξη της NAFLD [22]

1.4 Διάγνωση

Οι ασθενείς στα 2/3 των περιπτώσεων, είναι ασυμπτωματικοί, ενώ το ήπαρ στα 3/4 των περιπτώσεων είναι διογκωμένο. Τα κυριότερα συμπτώματα είναι ακαθόριστα ενοχλήματα, όπως αδυναμία, ή αίσθημα βάρους στο δεξιό υποχόνδριο που επιδεινώνεται με τις κινήσεις [2].

Η διάγνωση της NAFLD απαιτεί ιστολογία ήπατος. Όμως, η συχνότερη μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι το υπερηχογράφημα, το οποίο έχει ευαισθησία 100% και ειδικότητα 90% όταν το λίπος στη βιοψία ήπατος υπερβαίνει το 20%. Άλλες μη επεμβατικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της NAFLD είναι η ελαστογραφία και η Μαγνητική Τομογραφία. Η φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού είναι μια ποσοτική μέθοδος μέτρησης του ηπατικού λίπους, αλλά είναι περιορισμένη στην κλινική πράξη λόγω της έλλειψης της ευρείας διαθεσιμότητας και του κόστους. Ωστόσο, καμία από τις διαθέσιμες μη επεμβατικές μεθόδους μπορεί να διαχωρίσει τη στεάτωση από τη NASH. Παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών (ALT και AST) θεωρούνται δείκτες της NASH, τα επίπεδα τους μπορεί να είναι φυσιολογικά ακόμα και σε διαγνωσμένη με βιοψία NASH [16].

1.4.1 Βιοχημικοί Δείκτες

Στα άτομα με NAFLD τα επίπεδα AST και ALT είναι μετρίως αυξημένα, ενώ όταν η αναλογία AST/ALT είναι <1 γίνεται η διάκριση των ασθενών με NAFLD από αυτούς με αλκοολική ηπατοπάθεια. Ο βαθμός αύξησης των τρανσαμινασών δεν αντικατοπτρίζει τη σοβαρότητα της νόσου [23]. Με την εξέλιξη της στεάτωσης, τα επίπεδα της AST αυξάνονται, αυξάνοντας έτσι και το λόγο AST/ALT. Η γ -GT μπορεί επίσης να είναι αυξημένη μαζί με τις τρανσαμινάσες. Τόσο η ALT όσο και η γ -GT έχουν συσχετιστεί με τη στεάτωση σε μελέτες με απεικονιστικές μεθόδους, ενώ η AST δεν φαίνεται να συσχετίζεται [24]. Επιπρόσθετα, σε πολλά άτομα με NAFLD τα επίπεδα φερριτίνης ορού είναι 1,5 φορές υψηλότερα από το ανώτατο όριο φυσιολογικών ατόμων και σχετίζεται με πιο προχωρημένο ιστολογικό στάδιο της νόσου. Τα επίπεδα της κυττοκερατίνης 18 (CK-18) στον ορό, είναι ένας δείκτης απόπτωσης με κλινική χρήση καθώς έχει ευαισθησία 66% και ειδικότητα 82%. Άλλοι δείκτες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη διάγνωση και στην αξιολόγηση της νόσου είναι οι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως ο TNF- α και η IL-6 και πρωτεΐνες οξείας φάσης όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη. Κάποιες μελέτες, έδειξαν αυξημένες τιμές IL-6 σε άτομα με NASH αλλά ακόμα είναι περιορισμένη η χρήση τους λόγω της έλλειψης συσχέτισης μεταξύ των μελετών [25].

1.4.2 Μοντέλα Πρόβλεψης

Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει και στην ανάπτυξη κάποιων σκορ εκτίμησης της ίνωσης στην NAFLD. Το πιο γνωστό σκορ είναι το NAFLD Fibrosis Score (NFS), το οποίο, λαμβάνει υπόψιν το Δείκτη Μάζας Σώματος, το λόγο AST/ALT, τον αριθμό αιμοπεταλίων και την αλβουμίνη. Το NFS έχει ευαισθησία 82% και ειδικότητα 98%. Κατατάσσει τα άτομα σε τρεις ομάδες ανάλογα με την τιμή του σκορ, χαμηλής πιθανότητας για ίνωση ($< -1,455$), υψηλής πιθανότητας για ίνωση ($>0,675$) και ασάφειας. Τα άτομα με τιμές $< -1,455$ έχουν επίπεδα ίνωσης F0-F2 ενώ τα άτομα με τιμές $>0,675$ έχουν επίπεδα ίνωσης F3-F4. ($NFS = (-1.675 + 0.037 \times age (yr) + 0.094 \times BMI (kg/m^2) + 1.13 \times IFG/diabetes (yes = 1, no = 0) + 0.99 \times AST/ALT ratio - 0.013 \times platelet count (x10^9/L) - 0.66 \times albumin [g/dl])$) [26, 27].

Ένα ακόμα σκορ που έχει μελετηθεί είναι το Fibrotest το οποίο χρησιμοποιεί πέντε βιοχημικές τιμές, α -2 μακρογλοβουλίνη, απτοσφαιρίνη, απολιποπρωτεΐνη A1, χολερυθρίνη και τη γ -GT διορθωμένες ως προς την ηλικία. Το Fibrotest έχει ευαισθησία 77% και ειδικότητα 98%. Πρόκειται για έναν επικυρωμένο δείκτη για την ποσοτική αξιολόγηση της ίνωσης όχι μόνο στην NAFLD αλλά και στην αλκοολικής φύσεως ηπατοπάθεια καθώς και στη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα. Περιπτώσεις αποτυχίας του εν λόγω δείκτη φαίνεται να παρατηρούνται παρουσία του συνδρόμου Gilbert's, χολόστασης και οξείας φλεγμονής όπου αυξάνονται οι τιμές χολερυθρίνης και απτοσφαιρίνης αντίστοιχα, ενώ σημειώνεται και μη φυσιολογική συγκέντρωση απολιποπρωτεΐνης A1. ($Fibrotest = 4,467 \times \log_{10} [\alpha\text{-2 μακρογλοβουλίνη(g/L)}] - 1,357 \times \log_{10} [\text{απτοσφαιρίνη(g/L)}] + 1,017 \times \log_{10} [\gamma\text{-GT(IU/L)}] + 0,0281 \times [\text{age(years)}] + 1,737 \times \log_{10} [\text{χολερυθρίνη(}\mu\text{mol/L)}] - 1,184 \times [\text{απολιποπρωτεΐνη A1(g/L)}] + 0,301 \times \text{φύλο(female=0,male=1)} - 5,54$) [28].

Το FIB-4 είναι ένα σκορ που λαμβάνει υπόψιν την ηλικία, τις τιμές AST και ALT και τον αριθμό αιμοπεταλίων. Το συγκεκριμένο σκορ έχει ευαισθησία 84% και ειδικότητα 68%. Κατατάσσει τα άτομα σε δύο ομάδες ανάλογα με τις την τιμή του σκορ. Τα άτομα με τιμές $< 1,3$ έχουν επίπεδα ίνωσης F0-F1 ενώ τα άτομα με τιμές $>3,25$ έχουν επίπεδα ίνωσης F3-F4. ($FIB\text{-}4 = age (yr) \times AST Level (U/L) / Platelet Count (10^9/L) \times \sqrt{ALT (U/L)}$) [29].

Το 2014 από ένα μεγάλο δείγμα Φιλανδών και Ιταλών ασθενών με NAFLD και NASH αναπτύχθηκε το NASH Score λαμβάνοντας υπόψιν τρεις συνιστώσες που καθορίζουν την ανάπτυξη της νόσου. Αυτές οι συνιστώσες είναι η τιμή AST, η παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3 και η τιμή της ινσουλίνης. Η τιμή που έχει προταθεί σαν κατώφλι είναι το -1,054. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του σκορ είναι 71,6% και 73,5%, αντίστοιχα. ($NASH Score = -3,05 + 0,562 \times PNPLA3 \text{ genotype (CC=1, GC=2, GG=3)} - 0,0092 \times insulin(mU/L) + 0,0023 \times AST$

$(\text{IU/L}) + 0,0019 * (\text{insulin} * \text{AST})) [30].$

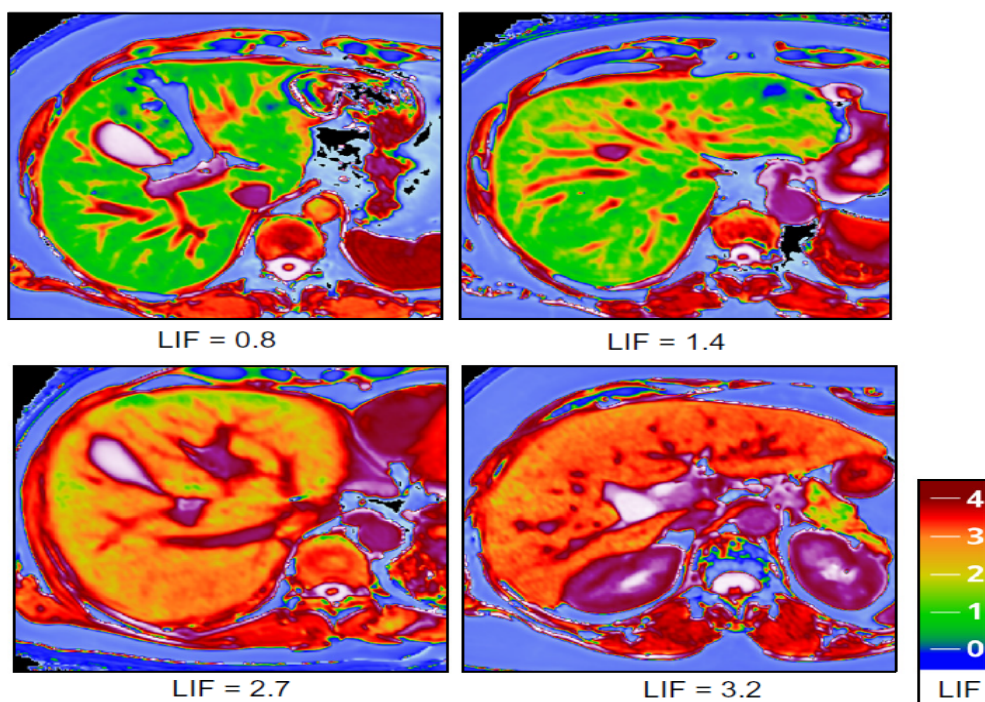
	NAFLD Fibrosis Score	Fibrotest	FIB-4	ELF	BARD	NICE	NASH test
Age	×	×	×	×			×
BMI	×				×		
AST	×		×		×		×
ALT	×		×		×	×	×
Platelet Count	×		×				
Albumin	×						
$\alpha 2$ -MG		×					×
Total bilirubin		×					×
Apo A1		×					×
GGT		×					×
PIIINP				×			
HA				×			
TIMP				×			
DM					×		
MS						×	
CK-18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

Εικόνα 3: Σύνοψη των μεταβλητών που περιλαμβάνονται στις μεθόδους βαθμολόγησης της NAFLD [25]

1.4.3 Μαγνητική Τομογραφία

Η μαγνητική τομογραφία (MRI) και η μαγνητική φασματοσκοπία (MRS) φαίνεται να αποτελούν τις πιο ευαίσθητες και ειδικές μεθόδους για τη διάγνωση της NAFLD, καθώς μπορούν να ανιχνεύσουν και πολύ χαμηλά επίπεδα στεάτωσης (<5%). Η μέθοδος βασίζεται στην εφαρμογή της χημικής μετατόπισης, η οποία προκαλείται από τη διαφορά της συχνότητας κινητικότητας μεταξύ των πρωτονίων των μορίων νερού και λίπους [31]. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μαγνητικής τομογραφίας ως προς την ικανότητα ανίχνευσης της ηπατικής στεάτωσης σε βαθμό $\geq 5\%$ κυμαίνονται από 76,7-90% και από 87,1-91% αντίστοιχα [31]. Η μέθοδος LiverMultiScan είναι ένα πολυπαραμετρικό εργαλείο το οποίο αναπτύχθηκε από τους Banerjee et al. το 2014, για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου καθώς και της NASH. Η συγκεκριμένη τεχνική μετρά το σίδηρο, το ηπατικό λίπος και ποσοτικοποιεί τη φλεγμονή και την ίνωση υπολογίζοντας ένα σκορ, το οποίο καλείται LIFscore. Η κατηγοριοποίηση του LIFscore βασίζεται στο σύστημα σταδιοποίησης Ishak, όπου η απουσία ίνωσης αντιστοιχεί στο στάδιο F0,

η ήπια ίνωση στα στάδια F1-F2, η μετρίου βαθμού ίνωση στα στάδια F3-F4 και η σοβαρού βαθμού στα στάδια F5-F6. Κατά αντιστοιχία με τα παραπάνω, οι τιμές του LIF score κυμαίνονται από 0 ως 4, με τιμές μικρότερες του 1 να υποδεικνύουν απουσία ηπατικής νόσου, τιμές από 1-1.99 ήπια νόσο, τιμές από 2-2.99 μέτρια και τιμές από 3-4 σοβαρή [32].



Εικόνα 4: Απεικόνιση με τη μέθοδο LiverMultiScan. Αντιπροσωπευτικές εικόνες ασθενών σε κάθε κατηγορία σοβαρότητας της ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης [32]

1.4.4 Υπερηχογράφημα

Το υπερηχογράφημα είναι μια απεικονιστική, μη επεμβατική μέθοδος για τη διάγνωση της στεάτωσης και της NASH. Είναι μία γρήγορη και ευρέως διαδεδομένη διαθέσιμη τεχνική απεικόνισης. Έχει ευαισθησία 60% - 94% και ειδικότητα 66% - 95%. Χαμηλότερη ευαισθησία παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με ήπια στεάτωση. Χρησιμοποιείται κυρίως για την επιβεβαίωση της παρουσίας της νόσου σε άτομα ασυμπτωματικά με αυξημένες τιμές τρανσαμινασών. Η μέθοδος βασίζεται στο γεγονός ότι το μη στεατωτικό ηπατικό παρέγχυμα έχει ομοιογενή ηχογένεια παρόμοια με αυτή του παρεγχύματος της σπλήνας και του νεφρικού φλοιού, σε αντίθεση με το λιπώδες ήπαρ το οποίο έχει μεγαλύτερη ηχογένεια εξαιτίας της ενδοκυτταρικής συσσώρευσης λίπους. Άλλοι περιορισμοί είναι η εξάρτηση του αποτελέσματος από την εμπειρία του χρήστη και η αδυναμία διαχωρισμού της NAFLD από άλλες παρόμοιες

νόσους [25].

1.4.5 Βιοψία Ήπατος

Η βιοψία ήπατος αποτελεί τη gold standard μέθοδο τόσο για τη διάγνωση όσο και για την κατηγοριοποίηση του σταδίου της νόσου. Με τη βιοψία διακρίνεται η απλή στεάτωση από τη στεατοηπατίτιδα και προσδιορίζεται ο βαθμός της φλεγμονής και της ίνωσης [25]. Η Αμερικάνικη Γαστρεντερολογική Εταιρεία συστήνει πως η βιοψία ήπατος πρέπει να γίνεται στα άτομα με αυξημένο κίνδυνο στεατοηπατίτιδας και προχωρημένης ίνωσης, καθώς επίσης και στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο. Επίσης, πρέπει να γίνεται σε ασθενείς με υποψία NAFLD που μπορεί να έχουν και άλλους αιτιολογικούς παράγοντες στεάτωσης καθώς και συνυπάρχουσες χρόνιες ηπατικές νόσους [33].

1.5 Παράγοντες κινδύνου

1.5.1 Μεταβολικό Σύνδρομο

Η NAFLD θεωρείται η ηπατική εκδήλωση του Μεταβολικού Συνδρόμου. Σύμφωνα με τα διαγνωστικά κριτήρια ATP III, ως Μεταβολικό Σύνδρομο ορίζεται η παρουσία τουλάχιστον τριών από τους παρακάτω παράγοντες κινδύνου

- Κεντρικού τύπου παχυσαρκία (περιφέρεια μέσης > 102 cm ♂ και > 88 ♀)
- Αυξημένες τριακυλογλυκερόλες ορού (>150 mg/dl ή υπό φαρμακευτική αγωγή)
- Μειωμένα επίπεδα HDL χοληστερόλης (<40 mg/dl ♂, <50 mg/dl ♀ ή υπό φαρμακευτική αγωγή)
- Υπέρταση (συστολική αρτηριακή πίεση >130 mmHg ή διαστολική >85 mmHg ή υπό φαρμακευτική αγωγή)
- Διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (≥ 100 mg/dL ή λήψη αντιδιαβητικής αγωγής)

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το 99% των ασθενών με διαγνωσμένη NAFLD φέρει τουλάχιστον ένα από τα παραπάνω κριτήρια, ενώ το 33% αυτών φέρει όλα τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου [34].

Ο επιπολασμός της NAFLD στους παχύσαρκους είναι σημαντικά αυξημένος σε σχέση με τους νορμοβαρείς. Τα σπλαχνικά λιποκύτταρα τροφοδοτούν με ελεύθερα λιπαρά οξέα το ήπαρ, παρουσιάζουν ανοχή στην ινσουλίνη και θεωρούνται ότι συμβάλουν στην προαγωγή της

φλεγμονής καθώς παράγουν προφλεγμονώδεις λιποκυτταροκίνες [35].

Άτομα με τριακυλογλυκερόλες ορού >200 mg/dl έχουν 3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης NAFLD έναντι ατόμων με φυσιολογικές τιμές τριακυλογλυκερολών ενώ και επίπεδα HDL χοληστερόλης <35 mg/dl οδηγούνσε διπλασιασμό του κινδύνου για τη νόσο [36].

Όσον αφορά την υπέρταση, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε μη υπέρβαρα και μη διαβητικά άτομα φάνηκε πως ο επιπολασμός της NAFLD είναι σχεδόν διπλάσιος στα υπερτασικά άτομα. Η συσχέτιση αφορούσε την εμφάνιση ινσουλινοαντίστασης που προκαλείται λόγω της υπέρτασης [37].

Η ινσουλινοαντίσταση φαίνεται να είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου για την NAFLD και την NASH καθώς αποτελεί και ένα από τα παράλληλα χτύπημα που συνηγορούν ώστε να ξεκινήσει η ηπατική στεάτωση. Από μελέτες φαίνεται πως ο επιπολασμός της ινσουλινοαντίστασης σε άτομα με NAFLD είναι 98%, ενώ τα άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη II παρουσιάζουν στεάτωση σε ποσοστό 70% [18, 38]. Επίσης, τα άτομα με λιπώδες ήπαρ τα οποία δεν έχουν ινσουλινοαντίσταση παρουσιάζουν πιο ήπια μορφή της νόσου [38]. Η ινσουλίνη, υπό φυσιολογικές συνθήκες, παρεμποδίζει τη λιπόλυση. Σε άτομα με ινσουλινοαντίσταση, η λιπόλυση είναι αυξημένη και τα λιπαρά οξέα κατευθύνονται προς το ήπαρ [39]. Επίσης, φαίνεται πως η η de novo λιπογένεση είναι αυξημένη λόγω αύξησης της έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα SREB-1 [18, 22].

1.5.2 Διατροφή

1.5.2.1 Λιπαρά οξέα

Η εμφάνιση της NAFLD επηρεάζεται τόσο από το συνολικό ποσοστό λίπους της διατροφής όσο και από συγκεκριμένες ομάδες λιπαρών οξέων.

Όσον αφορά τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, στα άτομα με NAFLD φαίνεται πως ο λόγος πολυακόρεστων λιπαρών οξέων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι μειωμένος. Επίσης, στα ίδια άτομα η πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις συστάσεις για το γενικό πληθυσμό [40, 41]. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα προωθούν το οξειδωτικό στρες και οδηγούν σε ηπατοκυτταρικό τραυματισμό [42]. Επίσης, έκθεση των ηπατοκυττάρων στο στεατικό και παλμιτικό οξύ προκαλεί την απόπτωση τους.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν τα ω-6 λιπαρά, όπως το λινολενικό οξύ και το αραχιδονικό οξύ και τα ω-3 λιπαρά, όπως το άλφα-λινολεϊκό οξύ, το εικοσοπεντανοϊκό οξύ και το δοκοσοεξανοϊκό οξύ. Τα ω-6 λιπαρά οξέα έχουν την ικανότητα να παράγουν προφλεγμονώδη

εικοσανοειδή, ενώ τα ω-3 λιπαρά οξέα έχουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Μελέτες έχουν δείξει πως η υψηλή αναλογία ω6:ω3 λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα και στην κυκλοφορία σχετίζεται με τη βαρύτητα της NAFLD [43, 44].

Τα τρανς λιπαρά οξέα απαντώνται φυσικά στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Συντίθενται από βακτήρια στη γαστρεντερική οδό των μηρυκαστικών. Επίσης, σχηματίζονται κατά την διάρκεια της υδρογόνωσης των φυτικών ελαίων. Η πρόσληψη τρανς λιπαρών οξέων, προάγει την προφλεγμονώδη δράση, εντείνει τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και προδιαθέτει για διαταραχές του λιπιδαιμικού προφίλ.

1.5.2.2 Φρουκτόζη

Η φρουκτόζη είναι ένα ισομερές της γλυκόζης με μία ομάδα υδροξυλίου στον άνθρακα-4. Τα τελευταία χρόνια, η κατανάλωση φρουκτόζης έχει αυξηθεί σημαντικά καθώς χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο ως τεχνητό γλυκαντικό [45]. Με τη βοήθεια των μεταφορέων τύπου 5 (GLUT 5), η φρουκτόζη απορροφάται από το λεπτό έντερο, και φθάνει στο ήπαρ μέσω της πυλαίας φλέβας. Η φρουκτόζη μπορεί να προκαλέσει ηπατοτοξικότητα έμμεσα με την επιδείνωση του μεταβολικού συνδρόμου και έχει συνδεθεί με την αύξηση των επιπέδων τριακυλογλυκερολών και της μείωσης της HDL [46, 47]. Επίσης, η υψηλή πρόσληψη φρουκτόζης έχει συνδεθεί με εντερική δυσβίωση και χαμηλή ενδοτοξαιμία, η οποία με τη σειρά της προδιαθέτει σε NASH [48].

1.5.2.3 Όξινο Γλουταμινικό Νάτριο

Πρόσφατα, η πρόσληψη προϊόντων διατροφής με προσθήκη όξινου γλουταμινικού νατρίου έχει αυξηθεί σημαντικά. Εκτιμάται ότι η κατανάλωση του στην Ευρώπη ανέρχεται σε 30 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα. Η αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη είναι 0-120 mg/kg σωματικού βάρους. Το όξινο γλουταμινικό νάτριο είναι ένα πρόσθετο τροφίμων που χρησιμοποιείται σαν ενισχυτικό γεύσης. Οι μελέτες δείχνουν ότι η κατανάλωση του αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD, ενισχύει τη φλεγμονή καθώς και τη δυσπλασία των ηπατοκυττάρων. Η πρόσληψη του όξινου γλουταμινικού νατρίου συμβάλλει στην αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και των τριακυλογλυκερολών του ορού [49].

1.5.3 Εντερικός Μικροβίος

Το έντερο θεωρείται πως περιέχει πάνω από 10^4 μικροοργανισμούς οι οποίοι κουβαλάνε το δικό τους DNA. Τα τελευταία χρόνια υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι εμπλέκεται στην NAFLD και

στη NASH. Ο εντερικός μικροβιόκοσμος των παχύσαρκων ανθρώπων διαφέρει από αυτόν των νορμοβαρών καθώς έχει μικρότερο ποσοστό βακτηριοειδών και μεγαλύτερη αναλογία Firmicutes/Bacteroidetes. Η αλλοιωμένη χλωρίδα του εντέρου οδηγεί σε περαιτέρω παραγωγή λιπαρών οξέων στο έντερο και αυξημένη διαπερατότητα του λεπτού εντέρου. Ως αποτέλεσμα, κυκλοφορούν μόρια που συμβάλλουν στην ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοπατιών και στην απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως IL-6 και TNF-α [22]. Επιπλέον, τα εντερικά βακτήρια συμβάλλουν στην αυξημένη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης που έχει σαν αποτέλεσμα την αυξημένη συσσώρευση τριακυλογλυκερολών. Τέλος, ο εντερικός μικροβιόκοσμος παράγει ένζυμα που καταλύουν τη μετατροπή της χολίνης σε τοξικές ενώσεις, όπως μεθυλαμίνες. Αυτές οι αμίνες μπορούν να είναι προσληφθούν από το ήπαρ και να μετατραπούν σε N-οξείδιο τριμεθυλαμίνης και να προκαλέσουν φλεγμονή και ηπατική βλάβη [22].

1.5.4 Οξειδωτικό Στρες

Η σύνθεση των κυτταροκινών, όπως ο TNF-α και η IL-6 που εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις και μεταβολικές αλλοιώσεις, χαρακτηρίζει την πρώτη φάση της βλάβης στο ήπαρ. Σε ασθενείς με NASH, έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του TNF-α και του βαθμού ίνωσης και συγκεκριμένα, αύξηση της γονιδιακής έκφρασης του TNF-α και του υποδοχέα του. Επίσης, Η IL-6, η οποία εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό, σχετίζεται με την ινσουλινοαντίσταση. Τέλος, η εξέλιξη της NAFLD, συσχετίζεται με πολυμορφισμούς στον υποκινητή του TNF-α [16].

1.5.5 Γενετική προδιάθεση

Η ανάπτυξη της NAFLD συσχετίζεται με την αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων. Στοιχεία από μελέτες διδύμων υποστηρίζουν πως η γενετική παίζει έναν κύριο ρόλο στην ανάπτυξη και την πρόοδο της NAFLD [50, 51]. Κοινές γενετικές μεταλλάξεις σε διάφορους γενετικούς τόπους έχουν συσχετισθεί με τη λιπώδη διήθηση. Γενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι Ινδοί έχουν αυξημένο ηπατικό λίπος, παρά το γεγονός ότι έχουν χαμηλό Δείκτη Μάζας Σώματος λόγω της τάσης τους να συγκεντρώνουν το λίπος σπλαχνικά [16].

Γενετικοί πολυμορφισμοί των γονιδίων που ρυθμίζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων, την εξέλιξη της στεατοηπατίτιδας, τη φλεγμονή, καθώς και γονιδίων που σχετίζονται με διάφορες παραμέτρους του Μεταβολικού Συνδρόμου έχουν συσχετιστεί με την NAFLD. Οι απλοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) είναι απλές νουκλεοτιδικές υποκαταστάσεις του DNA που οδηγούν σε αλλαγή της έκφρασης ενός συγκεκριμένου γονιδίου ή αλλαγή της λειτουργίας της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί. Η επιλογή των υποψηφίων προς μελέτη γονιδίων γίνεται βάση

του υποτιθέμενου ή γνωστού ρόλου τους στην παθογένεια της NAFLD.

PNPLA3

Η αδιπονουτρίνη, γνωστή και ως PNPLA3 (patatin-like phospholipase domain-containing 3) είναι μια πρωτεΐνη 481 αμινοξέων με ενεργότητα λιπάσης τριακυλογλυκερολών, που διαμεσολαβεί την υδρόλυση τους. Εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό, ενώ η έκφρασή του αυξάνεται μεταγευματικά [52].

Το 2008 πραγματοποιήθηκε η πρώτη μελέτη σάρωσης ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) για το ηπατικό λίπος σε πολυεθνικό πληθυσμό της μελέτης «Dallas Heart Study». Η παρουσία του πολυμορφισμού rs738409 του γονιδίου PNPLA3, ήταν ο μόνος μεταξύ των 9.000 που φάνηκε να έχει ισχυρή σύνδεση με τη συσσώρευση τριακυλογλυκερολών στο ήπαρ και την πρόγνωση της NAFLD [53]. Πρόκειται για αντικατάσταση της κυτοσίνης (C) από γουανίνη (G) που οδηγεί σε αλλαγή της ισολευκίνης σε μεθειονίνη στο κωδικόνιο 148 [54]. Σε μία μετά-ανάλυση 23 μελετών συνδέθηκε η παρουσία του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με τη NAFLD (OR = 3,41) και τη NASH (OR = 4,44). Σε πληθυσμό με NAFLD η παρουσία του συσχετίστηκε με διπλασιασμό του κινδύνου για ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Το αποτέλεσμα ήταν ανεξάρτητο από συγχυτικούς παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, η συνύπαρξη Σακχαρώδη Διαβήτη, η παχυσαρκία και η ύπαρξη κίρρωσης [55].

Η παθοφυσιολογία της NAFLD είναι στενά συνδεδεμένη με το μεταβολικό σύνδρομο. Ορισμένοι συγγραφείς έχουν παρατηρήσει μια σύνδεση μεταξύ της παρουσίας του πολυμορφισμού, της αντίστασης στην ινσουλίνη [56] και της μείωσης των τριακυλογλυκερολών νηστείας, σε παχύσαρκους ασθενείς [57]. Ωστόσο, η συντριπτική πλειοψηφία των μελετών έχουν δείξει ότι η παρουσία του δεν συσχετίστηκε με το Δείκτη Μάζας Σώματος και των λιπιδίων του ορού [53, 58, 59].

TM6SF2

Ο πολυμορφισμός rs58542926 χαρακτηρίζεται από αντικατάσταση της κυτοσίνης (C) από θυμίνη (T) στο νουκλεοτίδιο 499, οδηγώντας σε υποκατάσταση του γλουταμινικού οξέος από λυσίνη στο κωδικόνιο 167 του γονιδίου TM6SF2 [60]. Το γονίδιο στο γονιδιακό τόπο 19p12 είναι υπεύθυνο για το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων στο ήπαρ. Κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 351 αμινοξέων με 7-10 προβλεπόμενες διαμεμβρανικές περιοχές και εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ και στο έντερο [61].

Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός φαίνεται να επηρεάζει τη φυσιολογική έκκριση των VLDL και να οδηγεί σε αυξημένη συγκέντρωση ηπατικών τριακυλογλυκερολών. Συγκεκριμένα, οι

ομοζυγώτες ως προς το αλληλόμορφο T έχουν αυξημένα ενδοηπατικές τριακυλογλυκερόλες σε σχέση με τους ομοζυγώτες ως προς το αλληλόμορφο C με τιμές $15,04 \pm 2,23\%$ και $5,86 \pm 0,25\%$, αντίστοιχα. Συσχετίστηκε επίσης, με σημαντική αύξηση της δραστηριότητας τρανσαμινάσης αλανίνης (ALT), με αυξημένη ηπατική βλάβη αλλά και με υπερλιπιδαιμία και καρδιαγγειακή νόσο. Όταν μελετήθηκε καυκάσιος πληθυσμός, συσχετίστηκε θετικά με την NAFLD και την ηπατική ίνωση. Η συσχέτιση ήταν ανεξάρτητη από το φύλο, την ηλικία, τον ΔΜΣ, την παρουσία Σακχαρώδη Διαβήτη και την παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3 (rs738409) [62]. Η συχνότητα του πολυμορφισμού ήταν υψηλότερη στην Ευρώπη (7,2%), σε σχέση με την Αφρική (3,4%) ή τους Ισπανούς (4,7%). Εκφράζεται στο λεπτό έντερο, στο ήπαρ και στους νεφρούς και υπάρχει σε χαμηλότερα επίπεδα σε άλλους ιστούς [63].

GCKR

Το γονίδιο GCKR κωδικοποιεί τη ρυθμιστική πρωτεΐνη της γλυκοκινάσης και έτσι φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της NAFLD [54]. Έχουν αναγνωριστεί δύο πολυμορφισμοί του συγκεκριμένου γονιδίου που συνδέονται με την ανάπτυξη NAFLD. Ο πολυμορφισμός rs1260326 σχετίζεται με διαρκή ηπατική γλυκόλυση, σύνθεση ακέτυλο-CoA και λιπογένεση [64]. Η παρουσία του πολυμορφισμού rs780094 σχετίζεται με υψηλή συγκέντρωση τριακυλογλυκερολών στον ορό [65].

LYPLA1, PPP1R3B

Το γονίδιο LYPLA1 κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην διάσπαση των τριακυλογλυκερολών και φαίνεται να συσχετίζεται με την ανάπτυξη NAFLD. Μία αλλαγή του γονιδίου PPP1R3B (rs2126259), το οποίο κωδικοποιεί την καταλυτική υπομονάδα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης-1, μπορεί να επηρεάσει την σύνθεση του ηπατικού γλυκογόνου και την ηπατική περιεκτικότητα σε τριακυλογλυκερόλες [54].

Σε μετά-ανάλυση 4 μελετών σάρωσης ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) (μελέτη «Amish», «Family Heart», «Framingham Heart» και «Ages») με σκοπό τη συσχέτιση της ηπατικής στεάτωσης και 2,4 εκατομμυρίων απλών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) σε πάνω από 7 χιλιάδες άτομα, ταυτοποιήθηκαν πολυμορφισμοί που σχετίζονταν στατιστικά σημαντικά με την NAFLD. Πρόκειται για πολυμορφισμούς πάνω ή κοντά στα γονίδια PNPLA3 (rs738409), NCAN (rs2228603) και PPP1R3B (rs4240624). Οι πολυμορφισμοί στα γονίδια των PNPLA3 και LYPLA1 (rs12137855) δεν επηρεάζουν τα μεταβολικά χαρακτηριστικά, αλλά προτάθηκε πως κατέχουν ένα ρόλο σε διαδοχικά στάδια αποικοδόμησης των τριακυλογλυκερολών,

αποτρέποντας την αποικοδόμηση τους και έτσι αυξάνοντας την ηπατική στεάτωση [59, 66].

APOC3

Η απολιποπρωτεΐνη C3 (ApoC3) αναστέλλει την λιποπρωτεϊνική λιπάση και την υδρόλυση των τριακυλογλυκερολών, οδηγώντας σε αυξημένα υπολείμματα χυλομικρών. Τα υπολείμματα προσλαμβάνονται από το ήπαρ, οδηγώντας σε NAFLD και ηπατική ινσουλινοαντίσταση. Με αυτόν τον τρόπο, οι πολυμορφισμοί rs2854117 και rs2854116 στο γονίδιο της ApoC3 αυξάνουν τον κίνδυνο για NAFLD [67]. Σε μελέτη με υγιείς άνδρες φάνηκε ότι οι φέροντες το αλληλόμορφο κινδύνου είχαν 30% αύξηση στην συγκέντρωση της απολιπορωτεΐνης C3 και 60% αύξηση στις τριακυλογλυκερόλες 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 [68].

ADIPOQ, ADIPOR2

Η αδιπονεκτίνη (ADIPOQ), μία ορμόνη του λιπώδους ιστού, εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της NAFLD μέσω της ρύθμιση της γλυκόζης και του καταβολισμού των λιπαρών οξέων [69]. Σε μελέτη που διερεύννησε την σχέση δύο πολυμορφισμών, των rs2241766 και rs1501299, με την NAFLD, φάνηκε να έχουν θετική συσχέτιση. Συγκεκριμένα, συσχετίστηκαν με μειωμένη μεταγευματική απόκριση ADIPOQ και αυξημένα μεταγευματικά επίπεδα τριακυλογλυκερολών, ελεύθερων λιπαρών οξέων και VLDL ανεξάρτητα από την αδιπονεκτίνη νηστείας, το λιπιδαιμικό προφίλ, τις διατροφικές συνήθειες, την παχυσαρκία και την ινσουλινοντίσταση [70]. Ωστόσο, υπάρχουν έρευνες που δεν έχουν δείξει κάποια συσχέτιση των πολυμορφισμών με την εμφάνιση NAFLD [71].

Ο πολυμορφισμός rs767870 στον ηπατικό υποδοχέα της αδιπονεκτίνης (ADIPOR2), έχει συσχετιστεί με το ηπατικό λίπος. Συγκεκριμένα, η παρουσία του C αλληλόμορφου στο γονίδιο του υποδοχέα συσχετίστηκε με 50% μείωση στο ηπατικό λίπος, μείωση στα επίπεδα γGT και στα επίπεδα τριακυλογλυκερολών [72].

TNF-a

Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF-a), είναι μία κυτταροκίνη η οποία σχετίζεται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη της NAFLD. Οι δύο πολυμορφισμοί που έχουν ταυτοποιηθεί στο γονίδιο του TNF-a είναι ο rs361525 και ο rs1800629. Ο πολυμορφισμός rs361525 συσχετίστηκε

με την NASH, κάτι που επιβεβαιώθηκε και από πρόσφατη μετα-ανάλυση [73, 74] .

IL-6

Η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), μια άλλη κυτταροκίνη, είναι μεσολαβητής της φλεγμονής και της ινσουλινοαντίστασης. Σε μελέτη με ασθενείς NAFLD και υγιή πληθυσμό, φάνηκε πως ο πολυμορφισμός 174C στο γονίδιο της IL-6 απαντάται πιο συχνά σε δείγματα ασθενών με NASH [75].

MTP

Η μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριακυλογλυκερολών (MTTP) ρυθμίζει τη σύνθεση, αποθήκευση και εξαγωγή των ηπατικών τριακυλογλυκερολών και είναι κρίσιμη για τη σύνθεση και έκκριση των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) από το ήπαρ. Ο πολυμορφισμός -493 G/T στον υποκινητή του γονιδίου MTP, σχετίζεται με αυξημένη μεταγραφή του γονιδίου *in vitro* και χαμηλότερα επίπεδα LDL-χοληστερόλης, σε υγιή άτομα, ενώ το αλληλόμορφο G πιθανόν

σχετίζεται με ηπατική στεάτωση. Επίσης, η ALT είναι σημαντική αυξημένη στα άτομα με δύο αντίγραφα για το αλληλόμορφο κινδύνου (GG) σε σχέση με αυτούς που έχουν ένα αλληλόμορφο κινδύνου (GT) και με αυτούς που δεν έχουν κανένα (TT), με ποσοστά 23%, 11% και 6%, αντίστοιχα [76].

MnSOD

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου συνδεδεμένη με μαγγάνιο (MnSOD) είναι ένα ένζυμο που προστατεύει έναντι των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Αυτό το ένζυμο συντίθεται στο κυτοσόλιο και στη συνέχεια τροποποιείται μετα-μεταγραφικά για μεταφορά στα μιτοχόνδρια. Ένας περιορισμένος αριθμός πολυμορφισμών έχουν περιγραφεί για το MnSOD, συμπεριλαμβανομένου του πολυμορφισμού rs4880 T/C. Αυτός ο πολυμορφισμός οδηγεί σε αλλαγή της βαλίνης με αλανίνη. Με τη σειρά της, αυτή η υποκατάσταση ενισχύει τη μεταφορά MnSOD στη μιτοχονδριακή μήτρα. Ο T/T γονότυπος στη θέση αυτή σχετίζεται με τη NASH και το βαθμό ίνωσης σε ασθενείς με NAFLD [77].

1.6 Αντιμετώπιση

Η NAFLD και η NASH εξελίσσονται με διαφορετικό ρυθμό σε κάθε άτομο ανάλογα με τους επιβαρυντικούς παράγοντες που φέρει. Η αντιμετώπιση, έγκειται στην τροποποίηση των συμπεριφορών που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για τη νόσο. Επίσης, έχουν αναπτυχθεί

θεραπευτικά πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση της ινσουλινοαντίστασης και της υπερλιπιδαιμίας που αποτελούν τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου [4]. Κανένα φάρμακο, μέχρι στιγμής, δεν έχει εγκριθεί για τη μείωση του ηπατικού λίπους και της ίνωσης.

1.6.1 Αλλαγή Διατροφικών Συμπεριφορών και Φυσικής Δραστηριότητας

Σύμφωνα με τις συστάσεις, η αλλαγή των διατροφικών συμπεριφορών θα πρέπει να συστήνεται σε ένα άτομο με NAFLD και NASH. Σε υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα με NAFLD, ο στόχος είναι η απώλεια βάρους 7-10% του αρχικού βάρους, για βελτίωση των ηπατικών ενζύμων. Οι διαιτητικές συστάσεις πρέπει να λαμβάνουν υπόψιν το θερμιδικό περιορισμό και τα τρόφιμα που επηρεάζουν το ηπατικό λίπος, όπως τα τρόφιμα και ποτά που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φρουκτόζη. Η σύνθεση των μακροθρεπτικών συστατικών θα πρέπει να προσαρμόζεται ανάλογα με τη Μεσογειακή Διατροφή. Όσον αφορά την άσκηση, τόσο η αερόβια όσο και οι ασκήσεις αντιστάσεων συμβάλλουν στη μείωση του ηπατικού λίπους και θα πρέπει να επιλέγεται η κατάλληλη για τον κάθε ασθενή. Πολλές μελέτες με απεικονιστικές μεθόδους διάγνωσης, καταλήγουν πως οι παρεμβάσεις είτε με δίαιτα είτε με συνδυασμό δίαιτας και άσκησης μπορούν να μειώσουν το ηπατικό λίπος από 20-81%. Ο βαθμός της μείωσης εξαρτάται από την παρέμβαση και απαιτεί μια απώλεια βάρους 5-10% [3].

1.6.2 Φαρμακοθεραπεία

Η φαρμακοθεραπεία πρέπει να περιορίζεται σε άτομα με ίνωση βαθμού >F2. Επίσης, θα πρέπει να εκτιμάται και σε άτομα με παράγοντες κινδύνου, όπως ινσουλινοαντίσταση, μεταβολικό σύνδρομο και αυξημένες τιμές ηπατικών ενζύμων.

Αρκετές μελέτες διερεύνησαν την επίδραση της μετφορμίνης στις αμινοτρανσφεράσες και την ιστολογία του ήπατος σε ασθενείς με NASH. Κάποιες μελέτες έδειξαν μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και των αμινοτρανσφερασών αλλά δεν παρουσίασαν σημαντική βελτίωση στην στολογία του ήπατος. Σε μελέτη με χορήγηση μετφορμίνης, βιταμίνης E ή απώλεια βάρους και διάρκεια 12 μηνών, οι αμινοτρανσφεράσες βελτιώθηκαν περισσότερο με τη μετφορμίνη παρά με τη βιταμίνη E ή με τη δίαιτα μόνο. Ωστόσο, υπήρξε μόνο μια μέτρια βελτίωση στην ηπατική στεάτωση και φλεγμονή. Σε μια τυχαιοποιημένη δοκιμή ελέγχου μετφορμίνης έναντι εικονικού φαρμάκου με παρόμοια παρέμβαση όσον αφορά τη δίαιτα και την άσκηση, φάνηκε η αναποτελεσματικότητα της μετφορμίνης. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση κατέληξε στο συμπέρασμα ότι παρέμβαση 6-12 μηνών με μετφορμίνη και αλλαγή του τρόπου ζωής δεν βελτίωσε τις αμινοτρανσφεράσες ή την ιστολογία του ήπατος. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Γαστρεντερολογική Εταιρεία η μετφορμίνη δεν θα πρέπει να συστήνεται σαν θεραπεία στην

NAFLD [3].

Όσον αφορά τις θειαζολιδινεδιόνες, έχουν μελετηθεί η πιογλιταζόνη και η ροσιγλιταζόνη στις αμινοτρανσφεράσες και στην ιστολογία του ήπατος. Σε άτομα με αποδεδειγμένη με βιοψία NASH, η ροσιγλιταζόνη βελτίωσε τις αμινοτρανσφεράσες, τη στεάτωση και τη φλεγμονή αλλά όχι την ίνωση [78]. Ωστόσο, σε παρόμοια μελέτη η ροσιγλιταζόνη βελτίωσε μόνο τις αμινοστρανσφεράσες και τη στεάτωση αλλά όχι τη φλεγμονή και την ίνωση [79]. Η χορήγηση πιογλιταζόνης (45 mg/ημέρα) σε ασθενείς με NASH με μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη ή Σακχαρώδη Διαβήτη II, βελτίωσε σημαντικά τις αμινοτρανσφεράσες, τη στεάτωση και τη φλεγμονή, αλλά παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση βάρους ($2,5 \pm 0,5$ kg) [80]. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι η πιογλιταζόνη βελτίωσε σημαντικά τη στεάτωση και τη φλεγμονή, αλλά όχι την ίνωση [81]. Έχουν υπάρξει αρκετές αντιπαραθέσεις σχετικά με τη μακροπρόθεσμη ασφάλεια των θειαζολιδινεδιονών όσον αφορά τις καρδιαγγειακές παθήσεις, τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και την απώλεια οστικής μάζας. Λόγω του αυξημένου κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίων επεισοδίων, η ροσιγλιταζόνη δεν κυκλοφορεί πλέον στην Ευρωπαϊκή Ένωση και η χρήση της είναι περιορισμένη στις Ηνωμένες Πολιτείες. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Γαστρεντερολογική Εταιρεία η πιογλιταζόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της στεατοηπατίτιδας σε ασθενείς με αποδεδειγμένη με βιοψία NASH αλλά δεν έχει τεκμηριωθεί η μακροπρόθεσμη ασφάλεια και αποτελεσματικότητά της [3].

1.6.3 Βαριατρική Χειρουργική

Η πλειονότητα των ασθενών που υποβάλλονται σε βαριατρική χειρουργική επέμβαση έχουν λιπώδεις ήπαρ. Έτσι υπήρξε ενδιαφέρον για τη βαριατρική χειρουργική επέμβαση ως πιθανή θεραπευτική επιλογή για τη NASH. Στη μελέτη των Mathurin et al., 381 ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε βαριατρική χειρουργική επέμβαση αξιολογήθηκαν όσον αφορά την ηπατική ιστολογία πριν και 1 και 5 χρόνια μετά την επέμβαση. Σε σύγκριση με το χρόνο 0, παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση στον επιπολασμό και τη σοβαρότητα της στεάτωσης. Σε ασθενείς με NASH κατά την έναρξη της μελέτης, παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση στη στεάτωση, στον πρώτο και στα 5 χρόνια μετά την επέμβαση. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε μια μικρή αλλά στατιστικά σημαντική αύξηση της ίνωσης στα 5 χρόνια μετά την επέμβαση. Παρά την αύξηση αυτή, στα 5 έτη, το 96% των ασθενών εμφάνιζαν βαθμολογία ίνωσης $\leq$ F1 και μόλις το 0,5% είχαν F3, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει κλινικά σημαντική επιδείνωση της ίνωσης [82]. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Γαστρεντερολογική Εταιρεία η βαριατρική χειρουργική δεν αντενδείκνυται σε υποψήφιους παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD ή NASH, αλλά χωρίς κίρρωση. Τέλος, δεν έχει ακόμα διαπιστωθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της

βαριατρικής χειρουργικής επέμβασης σε παχύσαρκα άτομα με εγκατεστημένη κίρρωση λόγω NAFLD [3].

1.6.4 Παρεμβάσεις με Φυσικά Προϊόντα

Το οξειδωτικό στρες θεωρείται ότι αποτελεί το βασικό μηχανισμό της ηπατοκυτταρικής βλάβης και της εξέλιξης της νόσου σε άτομα με NASH. Η βιταμίνη E είναι ένα αντιοξειδωτικό και έχει διερευνηθεί για τη θεραπεία της NASH. Από τις μελέτες μπορεί να συνοψιστεί ότι:

- η χρήση της βιταμίνης E σχετίζεται με μείωση των αμινοτρανσφερασών σε άτομα με NASH
- μελέτες όπου αξιολογήσαν την ιστολογία του ήπατος δείχνουν ότι η βιταμίνη E προκαλεί βελτίωση στη στεάτωση και στη φλεγμονή
- η βιταμίνη E δεν έχει επίδραση στην ηπατική ίνωση

Ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα όσον αφορά τη βιταμίνη E είναι κατά πόσο αυξάνει τη θνησιμότητα από άλλα αίτια. Ορισμένες μετα-αναλύσεις ανέφεραν αύξηση της θνησιμότητας από όλες τις αιτίες με υψηλή δόση βιταμίνης E, ενώ άλλες απέτυχαν να επιβεβαιώσουν μια τέτοια συσχέτιση. Μια τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή έδειξε ότι όταν η βιταμίνη E χορηγήθηκε σε δόση 400 IU/ημέρα αύξησε τον κίνδυνο καρκίνου του προστάτη σε υγιείς άνδρες. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Γαστρεντερολογική Εταιρεία η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) χορηγούμενη σε ημερήσια δόση 800 IU βελτιώνει την ηπατική ιστολογία σε μη διαβητικούς ενήλικες με αποδεδειγμένη με βιοψία NASH και ως εκ τούτου θα πρέπει να θεωρείται φαρμακοθεραπεία πρώτης γραμμής για αυτόν τον πληθυσμό ασθενών. Μέχρι να διατεθούν περαιτέρω δεδομένα που να υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά της, η βιταμίνη E δεν συνιστάται για τη θεραπεία της NASH σε διαβητικούς ασθενείς, της NAFLD χωρίς βιοψία ήπατος ή της κίρρωσης από NASH [3].

Άλλα αντιοξειδωτικά τα οποία έχουν μελετηθεί είναι τα ω-3 λιπαρά οξέα με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Δύο μετά-αναλύσεις έδειξαν σημαντική βελτίωση του ηπατικού λίπους ύστερα από χορήγηση ω-3 λιπαρών οξέων. Αυτό πιθανά οφείλεται στην επίδρασή τους στις τριακυλογλυκερόλες καθώς και στην αντιφλεγμονώδη δράση τους. Η θετική τους επίδραση εμφανίζεται σε δόσεις μεγαλύτερες των 0,83g/ημέρα [83].

Τέλος, έχει μελετηθεί και η συμπληρωματική χορήγηση προβιοτικών μαζί με πρεβιοτικά. Συγκεκριμένα, σε δείγμα 20 ασθενών με NASH, ηλικίας 18-70 ετών η συμπληρωματική χορήγηση προβιοτικών και πρεβιοτικών βελτίωσε τη συγκέντρωση ενδοηπατικών

τριακυλογλυκερολών και τις τιμές αμινοτρανσφεράσης του ασπαρτικού, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου [84].

1.7 Μαστίχα Χίου

Η μαστίχα είναι μια ρητινώδης ουσία που εξέρχεται, σε σχήμα δακρύων, από τον κορμό και τα κλαδιά του μαστιχόδεντρου (*Pistacia Lentiscus* var. *Chia*) το οποίο ευδοκimeί στη Χίο. Οι ευεργετικές της ιδιότητες έχουν αναγνωριστεί από το παρελθόν. Αναφέρεται η χρήση της στη δυσπεψία, στις γαστρεντερικές παθήσεις και στη κοσμετολογία.



Εικόνα 5: Το χωμάτισμα του σχίνου

Το *Pistacia Lentiscus* var. *Chia* (οικογένεια *Anacardaceae*) είναι ένας θάμνος που καλλιεργείται στο νότιο τμήμα του νησιού, στα 24 χωριά που ονομάζονται Μαστιχοχώρια. Το ύψος του φτάνει στα 2-3 μέτρα και αναπτύσσεται πλήρως μετά από 40-50 χρόνια όπου φτάνει και τα 5 μέτρα σε ύψος. Η παραγωγή της μαστίχας γίνεται μετά τον πέμπτο ή έκτο χρόνο φύτευσης του. Η μέση ετήσια απόδοση ανά δένδρο είναι 150-180 γραμμάρια και καλλιεργούνται κυρίως τα αρσενικά [85].

1.7.1 Η συγκομιδή

Πριν από τη συλλογή της μαστίχας, απομακρύνονται όλα τα φυτά, τα χόρτα και οι πέτρες γύρω από το θάμνο. Ακολουθεί το χωμάτισμα με ασπρόχρωμα καλά κοσκινισμένο, που στρώνεται και πιέζεται στο έδαφος για να δημιουργηθεί λεία επιφάνεια. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται το χάραγμα των σχίνων, το κέντημα. Με ένα μικρό αιχμηρό εργαλείο χαράζουν τον κορμό και τα μεγάλα κλαδιά του δέντρου με τομές μήκους 10-15 χιλιοστά και βάθους 4-5 χιλιοστά. Μετά τις

15 Αυγούστου ξεκινάει η πρώτη συλλογή με ένα ειδικό εργαλείο που λέγεται τιμητήρι. Πρώτα συλλέγεται η χοντρή μαστίχα και στη συνέχεια συλλέγεται και η μαστίχα που έχει πήξει στον κορμό του δέντρου, τα λεγόμενα «δάκρυα», και αυτή που κρέμεται από τα κλαδιά (φλισκάρια). Τέλος, γίνεται και δεύτερο κέντημα, διάρκειας 5-6 εβδομάδων και ακολουθούνται όλες οι προηγούμενες διεργασίες μέχρι την τελευταία συλλογή του φθινοπώρου. Το τελικό μάζεμα γίνεται μετά τις 15 Σεπτεμβρίου, οπότε και συλλέγεται η μαστίχα από τον κορμό και το έδαφος [85].

Η μαστίχα Χίου από το 1997, έχει χαρακτηριστεί ως Προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.), βάσει του υπ' αριθμ. 123/1997 Κανονισμού (L0224/24-1-97) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και έχει καταχωρηθεί στον σχετικό Κοινοτικό Κατάλογο των Προϊόντων Π.Ο.Π.

Τα προϊόντα που διατίθενται είναι η μαστίχα σε σκόνη, το μαστιχόνερο, το μαστιχέλαιο και οι κάψουλες οι οποίες έχουν εγκριθεί από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων ως ειδικό τρόφιμο και χρησιμοποιούνται για την υγιεινή του πεπτικού συστήματος [85].



Εικόνα 6: Το κέντημα

1.7.2 Φυσικές Ιδιότητες

Η Μαστίχα Χίου αποτελεί μια φυσική κρυσταλλική ρητίνη, με λευκό ή υποκίτρινο χρωματισμό υπό την μορφή κόκκων σφαιρικού ή ακανόνιστου σχήματος. Αρχικά, έχει μια πικρή γεύση η οποία απομακρύνεται σταδιακά για να αφήσει μια μοναδική γεύση και ένα ιδιαίτερο άρωμα

χαρακτηριστικό του προϊόντος που το κάνει μοναδικό. Η σκληρότητα της εξαρτάται από τη θερμοκρασία, το χρόνο έκθεσης στη φύση και το μέγεθος του εκκρινόμενου δακρύου. Η μαστίχα είναι σχεδόν αδιάλυτη στο νερό, αλλά διαλυτή σε κοινούς οργανικούς διαλύτες. Το σημείο τήξης κυμαίνεται από 85-105°C [85].

1.7.3 Χημικές Ιδιότητες

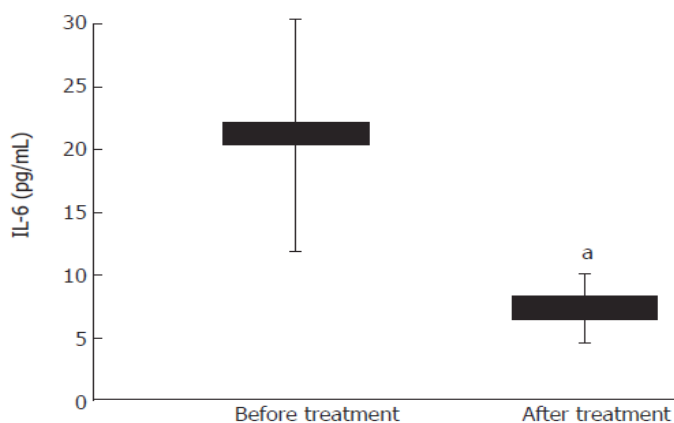
Η ρητίνη της μαστίχας αποτελείται από ένα φυσικό πολυμερές, πτητικών και αρωματικών ενώσεων, οι οποίες απαρτίζουν το αιθέριο έλαιο, τερπενικών οξέων, φυτοστερολών, πολυφαινολικών ενώσεων και δευτερογενών μεταβολιτών. Έχουν ταυτοποιηθεί πολυφαινόλες και στα φύλλα του μαστιχόδεντρου, αλλά και πολικές φαινολικές ενώσεις στη ρητίνη [86]. Ο διαχωρισμός της γίνεται με αέρια και υγρή χρωματογραφία. Κλασματοποιείται ένα κολλώδες και αδιάλυτο πολυμερές, το *cis*-1,4-πολυ-β-μυρκένιο, που αποτελεί το 25% της μαστίχας. Στη συνέχεια μπορεί να διαχωριστεί εκ νέου σε δύο κλάσματα, το όξινο και το ουδέτερο. Το όξινο κλάσμα περιλαμβάνει κυρίως τριτερπενικά καρβονυλικά οξέα, όπως το ολεανονικό οξύ, μορονικό οξύ, 24Z-μαστιχαδιενονικό οξύ, 24Z-ισομαστιχαδιενονικό οξύ, 24Z-ισομαστιχαδιενολικό οξύ και 24Z-μαστιχαδιενολικό οξύ. Το ουδέτερο κλάσμα αποτελείται κυρίως από καρβονυλικού τύπου πεντακυκλικές τερπενοειδείς ενώσεις, όπως τιρουκαλλόλη, δαμμαραδιενόνη, 3-οξύ-28-νορολεαν-12-έννη, ολεανονική αλδεΐδη, ολεανολική αλδεΐδη, β-αμυρόνη, β-αμυρίνη και ισομαστιχαδιενολική αλδεΐδη [87, 88].

1.7.4 Ευεργετικές Δράσεις

1.7.4.1 Αντιφλεγμονώδεις Δράσεις

Αρχικά, μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν πως η μαστίχα Χίου μπορεί να αναστείλει την παραγωγή προ-φλεγμονωδών παραγόντων [89]. Βέβαια η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας έχει φανεί και σε ανθρώπους. Συγκεκριμένα, η ημερήσια πρόσληψη 2,2 γρ. μαστίχας Χίου για ένα μήνα βελτιώνει την κλινική εικόνα ασθενών με νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας βαρύτητας. Στη μελέτη, μειώθηκαν σημαντικά οι δείκτες φλεγμονής, όπως η IL-6 (Εικόνα 7) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP). Όταν μελετήθηκαν απομονωμένα από τους ασθενείς περιφερικά μονοπύρηνα κύτταρα αίματος φάνηκε πως είχε ανασταλεί η έκκριση του TNF-α. [90]. Σε άλλη μελέτη, η μαστίχα φάνηκε να παρεμποδίζει την προσκόλληση των μακροφάγων στα ενδοθηλιακά κύτταρα αορτής παρουσία TNF-α. Ταυτόχρονα, μειώνεται η έκφραση του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα (NF-κB), ενός παράγοντα «κλειδί» στο μονοπάτι της

φλεγμονής [91].



Εικόνα 7: Η συγκέντρωση της IL-6 στο πλάσμα 10 εθελοντών μειώθηκε μετά από χορήγηση μαστίχας Χίου [90]

1.7.4.2 Αντιμικροβιακές Δράσεις

Η μαστίχα, έχει σημαντική χρήση και στη χειρουργική. Με τα υποπροϊόντα της δημιουργούνται τα απορροφήσιμα ράμματα.

Στην οδοντιατρική, η μαστίχα δρα ως αντισηπτικό και περιέχεται σε οδοντόκρεμες και τσίχλες. Επίσης, φαίνεται ότι η μάσηση μαστίχας, μειώνει ή παρεμποδίζει το σχηματισμό πλάκας [92].

Όσον αφορά τη γαστρεντερολογία, η μαστίχα δρα ενάντια του *Helicobacter pylori*, ενός gram αρνητικού και αερόβιου βακτηρίου που ευθύνεται για την εμφάνιση χρόνιας ενεργούς γαστρίτιδας, καθώς και μιας σειράς άλλων στομαχικών διαταραχών [93]. Μια διπλή τυφλή κλινική δοκιμή που διεξήχθη σε ασθενείς με συμπτωματικό και ενδοσκοπικά αποδεδειγμένο έλκος δωδεκαδακτύλου, έδειξε αυξημένη ανακούφιση από συμπτώματα σε ασθενείς με ημερήσια πρόσληψη μαστίχας, σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο, ενώ φάνηκε και επούλωση στο 70% των ατόμων [94]. Μελέτη του 2007, συμπέρανε πως η ημερήσια πρόσληψη 0,75 mg μαστίχας ημερησίως για 3 μήνες μειώνει το *H.pylori* σειράς SS1 στο στόμαχο πειραματόζωων, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από ιστολογική εξέταση [88]. Ωστόσο, σε μια πιο πρόσφατη in vivo μελέτη, η δραστηριότητα της μαστίχας συγκρίθηκε με τη λήψη αντιβιοτικών και μετά από θεραπεία 7 ημερών δεν παρατηρήθηκε εξάλειψη του βακτηρίου

σε πειραματόζωα που έλαβαν μαστίχα [95]. Τέλος, ασθενείς με H.pylori που υποβλήθηκαν σε αγωγή με μαστίχα, μετά από 7 ημέρες παρέμεναν θετικοί [96].

1.7.4.3 Αντιοξειδωτικές Δράσεις

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2011, η έγχυση μαστίχας in vitro σε λεία μυϊκά κύτταρα τα οποία είχαν υποστεί διέγερση παρουσία TNF-α οδήγησε σε μείωση του σχηματισμού υπεροξειδίου, λόγω παρεμπόδισης της πρωτεϊνικής κινάσης C η οποία με τη σειρά της οδήγησε σε παρεμπόδιση της οξειδάσης του NADPH. Επίσης, φάνηκε πως μειώνεται υπεροξειδίου σε ενδοθηλιακά κύτταρα διεγερμένα παρουσία αγγιοτενσίνης II [97].

1.7.4.4 Καρδιοπροστατευτικές Ιδιότητες

Η μαστίχα Χίου έχει συσχετιστεί με καρδιαγγειακή προστασία. Αναστέλλει την οξείδωση της LDL in vitro [98] και, χάρη στα τριτερπένια, δρα στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος για να προκαλέσει αντιαθηρογόνο δράση [99]. Συγκεκριμένα, το εκχύλισμα καταστέλλει την προκαλούμενη από την οξειδωμένη LDL απόπτωση των μονοκυττάρων μέσω της μείωσης της έκφρασης του υποδοχέα της στα μακροφάγα και της αποκατάστασης της ενδοκυττάριας αντιοξειδωτικής γλουταθειόνης [99]. Σε μελέτη, στην οποία δόθηκε 5g μαστίχας Χίου σε 133 εθελοντές ηλικίας άνω των 50, με υψηλό λιπιδαιμικό προφίλ, φάνηκε πως η μαστίχα το βελτιώνει σημαντικά. Συγκεκριμένα, μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά οι τιμές ολικής χοληστερόλης, LDL χοληστερόλης, ολικής χοληστερόλης/HDL, Απολιποπρωτεΐνης A-1, Απολιποπρωτεΐνης B και οι ηπατικές τιμές SGOT και SGPT [100].

1.7.4.5 Αντικαρκινικές Ιδιότητες

Η μαστίχα Χίου θεωρείται και αντικαρκινικός παράγοντας, ειδικά σε όγκους του μαστού, του ήπατος, του στομάχου, του σπλήνα και της μήτρας [101]. Επίσης, φάνηκε πως η μαστίχα προκαλεί απόπτωση και έχει αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες σε κύτταρα του παχέος εντέρου [102]. Τέλος, όταν μελετήθηκαν καρκινικά κύτταρα προστάτη η μαστίχα κατάφερε να αναστείλει τον κυτταρικό κύκλο μέσω καταστολής της δραστηριότητας του NF-κΒ [103].

2. Σκοπός της Μελέτης

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας γίνεται κατανοητό πως η εναπόθεση λίπους στο ήπαρ, εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες κινδύνου, όπως δημογραφικοί, κλινικοί, γενετικοί και περιβαλλοντικοί. Στις παθοφυσιολογικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα παράλληλα, συμπεριλαμβάνονται η ινσουλινοαντίσταση, το οξειδωτικό στρες και η συμβολή του εντερικού μικροβιόκοσμου. Μέχρι σήμερα η φαρμακοθεραπεία, στοχεύει στη μείωση των παραγόντων του μεταβολικού συνδρόμου και όχι στη μείωση της στέατωσης ή της ίνωσης. Πολυάριθμες μελέτες έχουν αποδείξει τις αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της μαστίχας Χίου. Επίσης, έχει χορηγηθεί σε άτομα με νόσο Crohn με θετικά αποτελέσματα, αλλά δεν έχει αξιολογηθεί η επίδρασή της σε άτομα με στεάτωση.

Σκοπός της παρούσας κλινικής δοκιμής είναι η διερεύνηση της επίδρασης της συμπληρωματικής χορήγησης Μαστίχας Χίου, ανάλογα με το γονότυπο, σε ασθενείς με NAFLD/NASH.

3. Μεθοδολογία

3.1 Πρωτόκολλο της Μελέτης

Η μελέτη MAST4HEALTH είναι μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, έναντι εικονικού φαρμάκου, κλινική δοκιμή για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της συμπληρωματικής, εξάμηνης χορήγησης μαστίχας στη δόση των 2,1 γρ ημερησίως σε κάψουλες των 350 mg/κάψουλα σαν μη φαρμακολογική θεραπεία στους ασθενείς με NAFLD/NASH.

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης είναι η βελτίωση της ιστοπαθολογίας του ήπατος, όπως αυτή αξιολογείται από τη μαγνητική τομογραφία και από την τιμή του LIF Score, όπως προκύπτει από χρήση του πρωτοκόλλου LiverMultiScan. Ως δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ορίζονται η βελτίωση των τιμών των ηπατικών ενζύμων, η μείωση φλεγμονής και οξειδωτικού στρες, η βελτίωση των παραμέτρων του μεταβολικού συνδρόμου. Επίσης, θα αξιολογηθεί η ανταπόκριση των ασθενών στη χορήγηση μαστίχας στη συγκεκριμένη δόση και για διάστημα τριών μηνών με βάση το γενετικό τους προφίλ και συγκεκριμένα με την παρουσία ή όχι των πολυμορφισμών PNPLA3 ή/και TM6SF2, θα καταγραφούν τυχόν αλλαγές στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας πριν και μετά την τρίμηνη και εξάμηνη παρέμβαση, θα μελετηθούν επιγενετικές αλλαγές, ως απόκριση στη θεραπεία της μαστίχας και η θα συγκριθεί το μεταβολομικό/μεταβολονομικό αποτύπωμα των συμμετεχόντων πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση αλλά και με τον υγιή πληθυσμό.

3.2 Πληθυσμός της Μελέτης

Ο πληθυσμός της μελέτης είναι ενήλικες, παχύσαρκοι ασθενείς με NAFLD/NASH, ηλικίας 18-67 ετών με Δ.Μ.Σ. $>30 \text{ kg/m}^2$. Η διάγνωση έγινε με μαγνητική τομογραφία ήπατος και τη χρήση του πρωτοκόλλου LiverMultiScan.

Άτομα ηλικίας άνω των 67 ετών όπως επίσης και άτομα τα οποία λαμβάνουν ηπατοτοξική φαρμακευτική αγωγή ή που έχουν διαγνωστεί με κάποιο άλλο νόσημα του ήπατος, ασθενείς με αρρυθμιστο Σακχαρώδη Διαβήτη ($\text{HbA1c} >7\%$), υποθυρεοειδισμό ή υπερθυρεοειδισμό, υποφυσιακή ανεπάρκεια ή Σύνδρομο Cushing εξαιρούνται από τη μελέτη. Όσον αφορά τους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη η συμμετοχή τους στο πρωτόκολλο εγκρίνεται μόνο εφόσον η τιμή της HbA1c δεν είναι $>7\%$ και η φαρμακευτική τους αγωγή είναι σταθερή τόσο ως προς το είδος όσο και ως προς τη δοσολογία για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 3 μηνών πριν την έναρξη της μελέτης. Ασθενείς με κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένες συστηματικές νόσους, με εξαίρεση τη ρυθμισμένη υπέρταση υπό σταθερή αντιυπερτασική αγωγή, αποκλείονται επίσης από τη μελέτη. Ρυθμισμένη φαίνεται να θεωρείται η υπέρταση όταν οι τιμές συστολικής πίεσης δεν ξεπερνούν την τιμή των 140 mmHg και διαστολικής την τιμή των 90 mmHg στο γενικό πληθυσμό αλλά και στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, με εξαίρεση άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών όπου τιμές συστολικής $< 150 \text{ mmHg}$ και διαστολικής $< 90 \text{ mmHg}$ είναι επίσης αποδεκτές. Από τη μελέτη αποκλείονται επίσης οι ασθενείς με οποιαδήποτε ψυχιατρική ή πνευματική διαταραχή, οι αυστηρά χορτοφάγοι, οι γαλακτο- και ωο-γαλακτο-χορτοφάγοι καθώς και τα άτομα με πρόσφατη σημαντική απώλεια σωματικού βάρους ή σε πρόγραμμα απώλειας σωματικού βάρους. Άτομα τα οποία κάνουν κατάχρηση αλκοόλ ή άλλων ουσιών επίσης δεν μπορούν να συμμετέχουν στο πρωτόκολλο. Η λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ή συμπληρωμάτων πλούσιων σε φυτοχημικά συστατικά καθώς και η λήψη προβιοτικών και πρεβιοτικών το τελευταίο τρίμηνο πριν την έναρξη της παρέμβασης και αντιβιοτικών το τελευταίο δίμηνο πριν από αυτή θεωρούνται επίσης κριτήρια αποκλεισμού. Σε περίπτωση εγκυμοσύνης συστήνεται η διακοπή του συμπληρώματος και η παρακολούθηση της κύησης μέχρι αυτή να έρθει σε πέρας, ενώ οφείλει να ενημερωθεί και η αντίστοιχη επιτροπή Βιοηθικής.

Πίνακας 1: Τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Κριτήρια Ένταξης	Κριτήρια Αποκλεισμού
Διαγνωσμένη NAFLD/NASH	Λήψη ηπατοτοξικής φαρμακευτικής αγωγής
Ηλικία >18 έτη και <65 έτη	Συνυπάρχουσα ηπατική νόσος
$\Delta.M.\Sigma >30 \text{ kg/m}^2$	Αρρυθμιστος Σακχαρώδης Διαβήτης
	Υποθυρεοειδισμός / Υπερθυρεοειδισμός, Σύνδρομο Cushing, Υποφυσική Ανεπάρκεια
	Κατάχρηση αλκοόλ ή ουσιών
	Κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένη συστηματική νόσος
	Εγκυμοσύνη ή θηλασμός
	Αυστηρή χορτοφαγία, Γαλακτο-χορτοφαγία, Ωο-γαλακτο-χορτοφαγία
	Ψυχιατρική διαταραχή
	Πρόσφατη σημαντική απώλεια σωματικού βάρους ή σε πρόγραμμα απώλειας σωματικού βάρους
	Λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ή συμπληρωμάτων πλούσιων σε φυτοχημικά συστατικά, προβιοτικών ή πρεβιοτικών τους τελευταίους 3 μήνες
	Λήψη αντιβιοτικών τους τελευταίους 2 μήνες

3.3 Τυχαιοποίηση-Τυφλοποίηση

Με στόχο την ενίσχυση της εγκυρότητας των αποτελεσμάτων και την αποφυγή της υιοθέτησης λανθασμένης μεθοδολογίας και παραπλανητικών αποτελεσμάτων, γίνεται τυφλοποίηση των τεσσάρων ομάδων της κλινικής δοκιμής σε κάθε ένα εκ των κέντρων της MAST4HEALTH: των συμμετεχόντων, των κλινικών, των ατόμων που εμπλέκονται στη συλλογή και των ατόμων που εμπλέκονται στην ανάλυση των δεδομένων. Η τυφλοποίηση επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας πανομοιότυπες κάψουλες ως προς την εμφάνιση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους τόσο στην ομάδα του verum όσο και στην ομάδα του placebo.

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

verum είτε στην ομάδα του placebo.

Μετά την επιβεβαίωση της ικανότητας συμμετοχής τους στο πρωτόκολλο και την τυχαιοποίησή τους σε μία εκ των δύο ομάδων (verum ή placebo), κάθε συμμετέχοντας έλαβε μία κάρτα ασθενούς με τον τίτλο της μελέτης, τον αριθμό συμμετοχής του σε αυτή -κωδικός εθελοντή-, λεπτομέρειες σχετικές με το εξεταζόμενο φαρμακευτικό προϊόν (Μαστίχα Χίου), τα στοιχεία επικοινωνίας με τον επικεφαλής ερευνητή και στοιχεία επικοινωνίας σε περίπτωση ανάγκης. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι μετά από την τυχαιοποίηση τα άτομα τα οποία θα αποσυρθούν από την μελέτη θα αντικατασταθούν αν ο αριθμός των drop-outs υπερβαίνει το ποσοστό που είχε υπολογιστεί στο σχεδιασμό της στατιστικής ανάλυσης.

3.4 Στρατολόγηση εθελοντών, επισκέψεις και παρακολούθηση συμμόρφωσης

Δυνητικά υποψήφιοι εθελοντές, νοσηλευόμενοι αλλά και ασθενείς εξωτερικών ιατρείων με επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH προσήλθαν στο κέντρο της κλινικής δοκιμής. Υποψήφιοι εθελοντές επιλέχθηκαν από βάση προηγούμενης ερευνητικής εργασίας η οποία απευθυνόταν σε ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD και η οποία είχε λάβει χώρα στο παρελθόν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο και σε συνεργασία με νοσοκομεία και ιατρούς. Αφού προηγήθηκε τηλεφωνική επικοινωνία της ερευνητικής ομάδας με τους ενδιαφερόμενους, ορίστηκε η πρώτη συνάντηση η οποία έλαβε χώρα στη Μονάδα Μεταβολισμού του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Οι ενδιαφερόμενοι προσήλθαν στο προγραμματισμένο ραντεβού μετά από 12ωρη νηστεία. Αφού ενημερώθηκαν εκτενώς από την ερευνητική ομάδα για τη μελέτη, τις υποχρεώσεις και τα οφέλη που σχετίζονται με τη συμμετοχή τους σε αυτή και εφόσον ήταν σύμφωνοι με αυτά, έδωσαν την έγγραφη συγκατάθεσή τους.

Στη συνέχεια ελήφθη μικρή ποσότητα αίματος για τον προσδιορισμό των βιοχημικών δεικτών που απαιτούνται για τον υπολογισμό των NFS και FIB-4 scores και την πραγματοποίηση γενικής αίματος. Ακολούθησαν οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις, η μέτρηση του αναστήματος και του σωματικού βάρους για τον υπολογισμό του δείκτη μάζας σώματος, καθώς και η μέτρηση της περιφέρειας μέσης και της περιφέρειας ισχύου για τον υπολογισμό του λόγου περιφέρειας μέσης/ισχύου. Η μέτρηση του σωματικού βάρους έγινε με χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας, ο οποίος χρησιμοποιείται και για την ανάλυση σύστασης σώματος (TANITA SC-330). Οι περίμετροι μέσης και ισχύων μετρήθηκαν σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Τέλος, μέσω ερωτηματολογίου συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικές με το

ιατρικό ιστορικό, τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, το οικογενειακό ιστορικό και τις καπνιστικές συνήθειες των συμμετεχόντων, ενώ με τη χρήση του ερωτηματολογίου FINDRISK εκτιμήθηκε εξατομικευμένα ο κίνδυνος εμφάνισης Σακχαρώδους Διαβήτη.

Σε δεύτερη συνάντηση έλαβε χώρα η Μαγνητική Τομογραφία, τα αποτελέσματα της οποίας αξιολογούνται για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου και τον υπολογισμό του LIF score. Αν η εξατομικευμένη, συνολική τιμή του LIF score είναι > 2 ή τουλάχιστον 2 εκ των εξεταζόμενων τμημάτων (slices) του ήπατος εμφανίζουν LIF score μεταξύ των τιμών 2 και 3 σε ποσοστό $> 30\%$ με ταυτόχρονη παρουσία λίπους σε ποσοστό $> 5,6\%$, τότε ο εκάστοτε εθελοντής θεωρείται επιλέξιμος για τη μελέτη. Γίνεται επίσης αιμοληψία για την περαιτέρω αξιολόγηση του βιοχημικού προφίλ καθενός εκ των υποψηφίων – μέτρηση ολικής, HDL, LDL χοληστερόλης και TGs καθώς και γλυκόζης νηστείας, ινσουλίνης, υπολογισμός HOMA-IR (homeostasis model assesment) και καμπύλη γλυκόζης (OGTT). Γίνεται επίσης συλλογή 25 mL αίματος για την παραλαβή ορού, πλάσματος, ερυθροκυττάρων και buffy coat καθώς και παραλαβή δείγματος κοπράνων, τα οποία αποστέλλονται σε συνεργαζόμενα ερευνητικά κέντρα για την αξιολόγηση των δευτερευόντων καταληκτικών σημείων της μελέτης. Ακολούθησε αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών και της φυσικής δραστηριότητας. Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών έγινε με συμπλήρωση ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 69 ερωτήσεων (69-item FFQ) το οποίο αφορά το τελευταίο 6μηνο και με μία ανάκληση 24ώρου, ενώ ο συμμετέχοντας έλαβε οδηγίες για την τήρηση ενός 3ήμερου ερωτηματολογίου καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης, ώστε συνολικά να έχει καταγραφεί η διαιτητική του πρόσληψη για 4 ημέρες -2 καθημερινές και 2 ημέρες του Σαββατοκύριακου- μέχρι την επόμενη συνάντησή του με την ερευνητική ομάδα. Η ανάλυση της διαιτητικής πρόσληψης έγινε με χρήση του Nutritionist Pro και περιλαμβάνει τον υπολογισμό της θερμιδικής πρόσληψης, του ποσοστού των μακροθρεπτικών συστατικών (πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπιδίων συμπεριλαμβανομένων κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων καθώς και χοληστερόλης), των διαιτητικών ινών και των συστατικών με αντιοξειδωτική δράση. Η αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας έγινε με συμπλήρωση του επικυρωμένου ερωτηματολογίου IPAQ (International Physical Activity Questionnaire) το οποίο περιλαμβάνει ερωτήσεις σχετικές με τη φυσική δραστηριότητα του συμμετέχοντα κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών.

Οι επιλέξιμοι συμμετέχοντες χωρίστηκαν τυχαία σε 2 ομάδες: α) placebo και β) verum. Κάθε συμμετέχοντας έλαβε κατά την έναρξη της μελέτης δύο συσκευασίες, με συνολική περιεκτικότητα 180 κάψουλες. Οι κάψουλες αυτές επαρκούσαν για διάστημα 1 μήνα. Στο τέλος του κάθε μήνα οι συμμετέχοντες ανεφοδιάζονται με ακόμα δύο συσκευασίες. Κατά τον

ανεφοδιασμό, το είδος της χορηγούμενης θεραπείας (placebo ή verum) οφείλει να μην τροποποιηθεί. Παράλληλα καθένας εξ αυτών έλαβε καθοδήγηση από εξειδικευμένους διαιτολόγους-διατροφολόγους, μέλη της ερευνητικής ομάδας, για την απώλεια σωματικού βάρους σε ποσοστό μέχρι 5% του παρόντος σωματικού βάρους, για τη μείωση της διαιτητικής πρόσληψης λίπους σε ποσοστό μέχρι 35% της ενεργειακής πρόσληψης και υδατανθράκων σε ποσοστό μέχρι 50% αυτής.

Η παρακολούθηση της συμμόρφωσης στο πρωτόκολλο καθώς και η καταγραφή οποιονδήποτε ανεπιθύμητων παρενεργειών σχετιζόμενων με τη λήψη του συμπληρώματος γίνεται μηνιαία.

Στον 3ο μήνα, οι συμμετέχοντες προσήλθαν και πάλι στο χώρο του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου για ανεφοδιασμό του συμπληρώματος (verum ή placebo, ανάλογα με την ομάδα στην οποία έχουν τυχαιοποιηθεί). Η ερευνητική ομάδα αξιολόγησε τη συμμόρφωσή τους, καταγράφηκαν τυχόν ανεπιθύμητες παρενέργειες ενώ απαναλήφθηκαν οι ανθρωπομετρήσεις που έλαβαν χώρα κατά την πρώτη συνάντηση. Οι συμμετέχοντες έλαβαν ένα ημερολόγιο καταγραφής της διαιτητικής τους πρόσληψης το οποίο καλούνται να συμπληρώσουν για 1 καθημερινή και 2 ημέρες του Σαββατοκύριακου μέχρι την επόμενη συνάντησή τους με τους διαιτολόγους-διατροφολόγους. Έγινε εκ νέου αξιολόγηση της σωματικής δραστηριότητας με τη σύντομη μορφή του Διεθνούς Ερωτηματολογίου Φυσικής Δραστηριότητας (IPAQ Short) που λαμβάνει πληροφορίες για τις τελευταίες 7 ημέρες. Έγινε λήψη αίματος για γενική αίματος, μέτρηση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, σιδήρου, φερριτίνης και παραλαβή ορού, πλάσματος και buffy coat.

Η συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο ολοκληρώνεται μετά το πέρας 6 μηνών. Στην τελευταία συνάντηση οι εθελοντές καλούνται να επαναλάβουν τη μαγνητική τομογραφία για την εκ νέου εκτίμηση του LIF score και τη δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη. Παραλαμβάνεται επίσης, εκ νέου, δείγμα κοπράνων και επαναλαμβάνεται η αιμοληψία τόσο για τον προσδιορισμό των NFS και FIB-4 scores όσο και για την αξιολόγηση του βιοχημικού προφίλ και την παραλαβή ορού, πλάσματος, ερυθροκυττάρων και buffy coat για την εκτίμηση των δευτερευόντων καταληκτικών σημείων της μελέτης. Επαναλαμβάνονται επίσης όλες οι ανθρωπομετρήσεις, η αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας και της διατροφικής πρόσληψης. Τέλος, λαμβάνεται εκ νέου ένα ιατρικό ιστορικό, συλλέγονται πληροφορίες για τις καπνιστικές συνήθειες και αξιολογείται ο κίνδυνος εμφάνισης Σακχαρώδους Διαβήτη.

Η κλινική δοκιμή έχει λάβει έγκριση από την αντίστοιχη Επιτροπή Βιοηθικής.

Πίνακας 2: Πλάνο Επισκέψεων Εθελοντών

Πλάνο Επισκέψεων	1 ^η Επίσκεψη	2 ^η Επίσκεψη	3ος Μήνας	Τελευταία Επίσκεψη
Συγκατάθεση	X			
Χορήγηση verum ή placebo		X		
Ιατρικό ιστορικό	X			X
Δημογραφικά δεδομένα	X			
Οικογενειακό ιστορικό	X			
Καπνιστικές συνήθειες	X			X
FINDRISK	X			X
69-Item FFQ		X		
Ανάκληση 24ώρου		X		X
3ήμερο ημερολόγιο καταγραφής		X		
IPAQ		X	X	X
IPAQ phone			X	
Ανθρωπομετρία	X		X	X
MRI		X		X
Διατροφική παρακολούθηση		X		
NFS score	X			X
FIB-4 score	X			X
Βιοχημικό προφίλ		X		X
OGTT		X		X
Συλλογή αίματος (ορός, πλάσμα, ερυθροκύτταρα, DNA)		X		X
Δείγμα κοπράνων		X		X
Συμμόρφωση στο πρωτόκολλο			X	X
Δυσάρεστες παρενέργειες			X	X

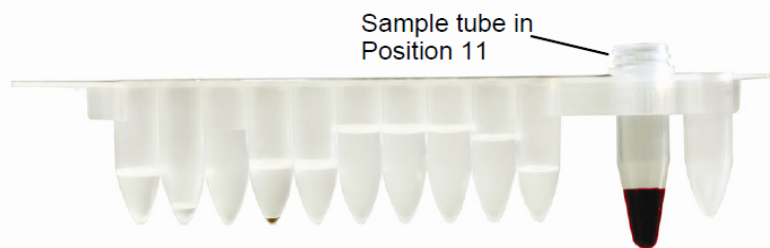
3.5 Εργαστηριακές Αναλύσεις

3.5.1 Απομόνωση ορού, πλάσματος και buffy coat

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν και ο διαχωρισμός του πλάσματος και του ορού έγινε μέσω φυγοκέντρησης στις 3000 στροφές/λεπτό, για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 25°C με τη φυγόκεντρο Eppendorf 5810R. Στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε μικρά σωληνάκια (eppendorfs) στους 80°C για μετέπειτα προσδιορισμό. Αφού αφαιρέθηκε το πλάσμα, συλλέχθηκε η λευκή στοιβάδα (buffy coat) και αποθηκεύτηκε στους -80°C.

3.5.2 Απομόνωση Γενετικού Υλικού και Ποσοτικός Προσδιορισμός της Συγκέντρωσής του

Η απομόνωση DNA έγινε από παρασκεύασμα λευκοκυττάρων με τη σειρά αντιδραστηρίων iPrepTMPureLinkTMgDNA. Το συγκεκριμένο kit επιτρέπει τη γρήγορη και αυτοματοποιημένη απομόνωση γενωμικού DNA. Η έκλυση του DNA βασίζεται στη χρήση των μικροσφαιριδίων Dynabeads MyOneTMSILANE. Το καθαρό γενωμικό DNA που εκλύεται με τη μέθοδο αυτή είναι κατάλληλο για εφαρμογές όπως η PCR, η γονοτύπηση και η ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος. Η συσκευή απομονώνει νουκλεϊκά οξέα από 13 δείγματα buffy coat (300μl) ταυτόχρονα σε 30 λεπτά. Η λύση των κυτταρικών μεμβρανών επιτυγχάνεται με το διάλυμα Lysis και η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών με τη χρήση του ενζύμου πρωτεϊνάση K. Το προϊόν που προκύπτει αναμιγνύεται με τα μαγνητικά μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOneTMSILANE, τα οποία δεσμεύονται στο DNA και στη συνέχεια το δεσμευμένο με μικροσφαιρίδια DNA απομονώνεται από το διάλυμα με χρήση μαγνητικού διαχωρισμού. Τα μικροσφαιρίδια ξεπλένονται με τα διαλύματα πλύσης για να απομακρυνθούν οι προσμείξεις. Το γενωμικό DNA στη συνέχεια εκλύεται στο διάλυμα έκλυσης, σε τελικό όγκο 100μL και αποθηκεύεται στους -20°C, με σκοπό να χρησιμοποιηθεί αργότερα για γονοτυπική ταυτοποίηση.



Εικόνα 8: Τα αντιδραστήρια και το δείγμα στην απομόνωση DNA

3.5.3 Φωτομέτρηση DNA

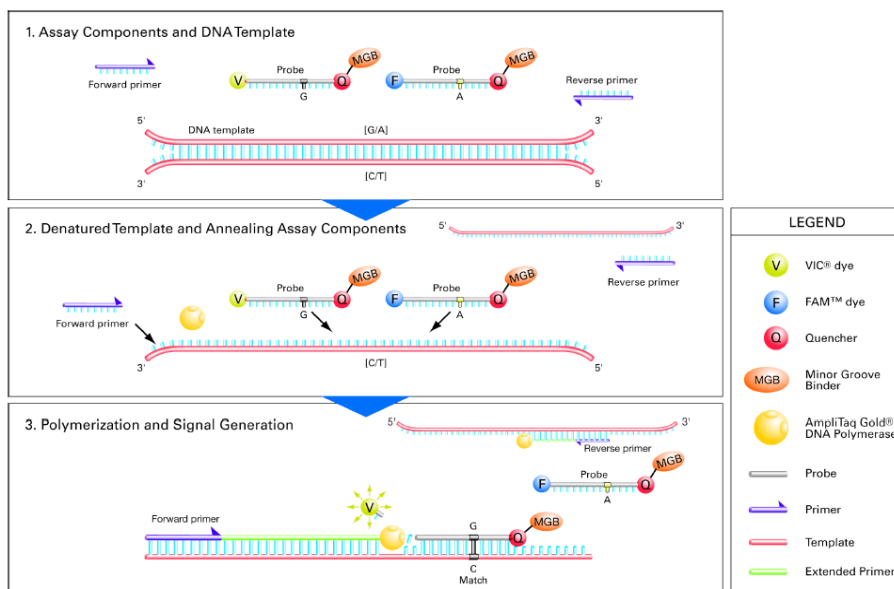
Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του DNA γίνεται με φωτομέτρηση στο φασματοφωτόμετρο IMPLEN P330, βάσει της ιδιότητας του να απορροφά ακτινοβολία μήκους κύματος 260nm. Συγκεκριμένα, μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) διαλύματος DNA σε νερό σε μήκος κύματος 260 και 280nm. Ο λόγος OD260/OD280 χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της καθαρότητας του DNA και της επιμόλυνσης από πρωτεΐνες καθώς αυτές απορροφούν στα 280nm. Τιμές μεταξύ 1,7 και 1,9 υποδηλώνουν παρουσία επαρκώς καθαρού DNA. Ο λόγος OD260/OD280 χρησιμοποιείται σαν δεύτερη μέτρηση ένδειξης καθαρότητας νουκλεϊκών οξέων με επιθυμητές τιμές 2-2,2. Μικρότερες τιμές υποδεικνύει παρουσία μορίων που απορροφούν στα 230nm όπως EDTA και φαινόλες.

Στη συνέχεια πραγματοποιείται αραίωση του δείγματος DNA έτσι ώστε η περιεκτικότητα των νουκλεϊκών οξέων να κυμαίνεται μεταξύ των 1-20 ng στα 4,5 μl που θα χρησιμοποιηθούν στη γονοτύπηση. Αποφασίστηκε η ποσότητα των 9ng από όπου και προέκυψε η τελική συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων να είναι 2ng/ml.

3.5.4 Γονοτύπηση

Η Γονοτύπηση έγινε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (Real Time PCR). Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο είναι μία παραλλαγή της κλασικής PCR με τη διαφορά ότι στην παρακολούθηση της αύξησης των PCR προϊόντων κατά την διάρκεια της αντίδρασης (real time) γίνεται σε οθόνη υπολογιστή. Δίνεται επίσης η δυνατότητα να σημανθούν τα προϊόντα της PCR με φθορίζουσα ουσία προσαρμοσμένη στους ειδικούς ανιχνευτές για την αλληλουχία στόχο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, όταν ο ανιχνευτής ή ο εκκινητής συνδεθεί με την αλληλουχία στόχο, να αποσυνδέεται ο αδρονιοποιητής από τη φθορίζουσα ουσία, το οποίο και εκπέμπει σήμα. Η γονοτυπική ταυτοποίηση έγινε με την χρήση του μηχανήματος StepOnePlus™ της εταιρίας Applied Biosystems StepOne™ με την βοήθεια της ανάλυσης TaqMan® SNP Genotyping. Πρόκειται για μία ολοκληρωμένη συλλογή αντιστοιχισμένων εκκινητών και ανιχνευτών που οδηγούν στον προσδιορισμό μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε ανθρώπινες δείγματα DNA. Χρησιμοποιείται ειδικό TaqMan® αντιδραστήριο για την ενίσχυση και την ανίχνευση συγκεκριμένων SNP σε καθαρισμένα δείγματα γονιδιωματικού DNA. Η δράση του αντιδραστήριου βελτιστοποιείται με την προσθήκη ειδικού Master mix. Αφού έχει γίνει η αραίωση όπως περιγράφηκε παραπάνω προστίθενται 4,5μl DNA σε κάθε well. Επίσης, σε κάθε plate προστίθενται ένας 2 αρνητικοί

δείκτες, δηλαδή νερό, και 2 θετικοί δείκτες, όπου προστίθενται DNA από γνωστό δείγμα. Στη συνέχεια, προστίθενται 5,5 μ l reaction mix (αποτελείται από 5 μ l Master mix και 0,5 μ l Genotyping assay) σε κάθε well. Το plate καλύπτεται με ειδικό πλαστικό κάλυμμα, πραγματοποιείται φυγοκέντρηση και εισάγεται στο StepOnePlus™.



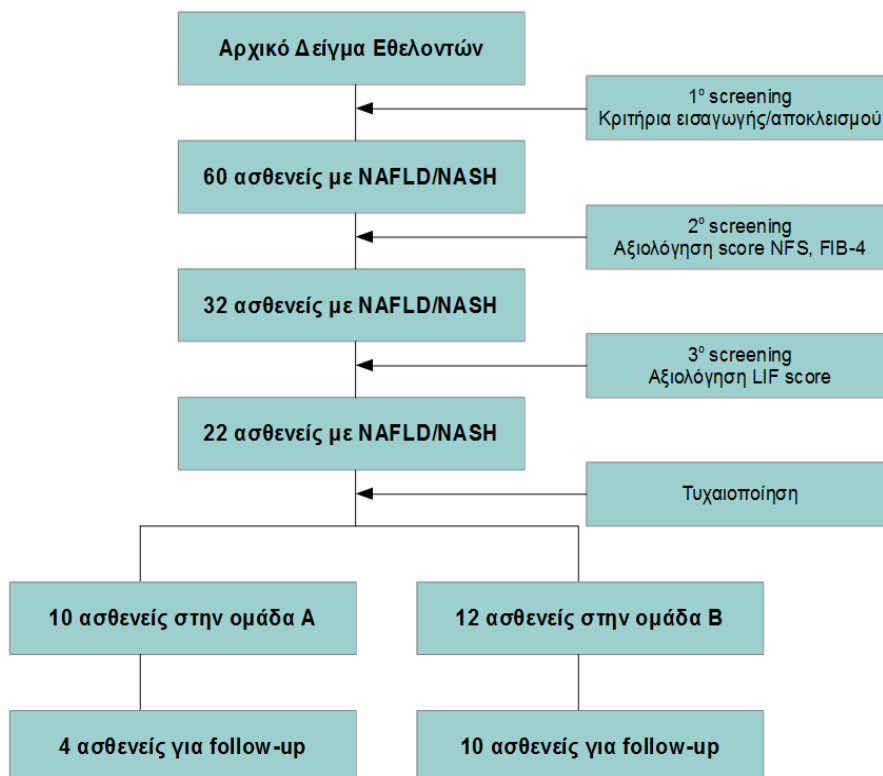
Εικόνα 9: Η αρχή της Real Time PCR

4. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με την χρήση του στατιστικού προγράμματος Pasw SPSS statistics, έκδοση 20.0. Θεωρήθηκε ότι όλες οι μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή λόγω του μεγάλου δείγματος της μελέτης. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κατηγορικές και ποσοτικές. Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά, δηλαδή συχνότητα (%), ενώ οι ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση. Για τη συσχέτιση μεταξύ δύο κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Pearson. Για τη συσχέτιση μιας ποσοτικής μεταβλητής, που ακολουθεί την κανονική κατανομή, με μια κατηγορική μεταβλητή με δύο κατηγορίες χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό κριτήριο T-test. Για τη συσχέτιση μιας ποσοτικής μεταβλητής, που ακολουθεί την κανονική κατανομή, με μια κατηγορική μεταβλητή με πάνω από δύο κατηγορίες χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (One-Way ANOVA). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας σε όλες τις αναλύσεις ορίστηκε ως $p < 0,05$.

5. Αποτελέσματα

Οι εθελοντές επιλέχθηκαν από μία αρχική βάση 400 ατόμων με με NAFLD/NASH και από εθελοντές που εκδήλωναν ενδιαφέρον από τις αφίσες. Με βάση τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού στο συγκεκριμένο ερευνητικό πρωτόκολλο επιλέχθηκαν 60 δυνητικά υποψήφιοι εθελοντές οι οποίοι προσήλθαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Σε δεύτερο στάδιο και μετά από συνέντευξη επανεξετάστηκαν τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού και υπολογίστηκαν τα NFS και FIB-4 scores για καθέναν από αυτούς. Αφού συνεκτιμήθηκαν οι τιμές των NFS και FIB-4, καθώς και το BMI και η ηλικία των υποψηφίων, επιλέχθηκαν 32 από τους 60 προκειμένου να πραγματοποιήσουν μαγνητική τομογραφία ώστε να υπολογιστεί το εξατομικευμένο LIF score τους και να κριθεί η καταλληλότητα συμμετοχής τους στη μελέτη.



Εικόνα 10: Διάγραμμα ροής μελέτης

Τριάντα δύο άτομα με μέση ηλικία $50,7 \pm 8,4$ έτη και Δ.Μ.Σ $34,5 \pm 5,3$ kg/m² πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία. Τα άτομα αυτά είχαν μέση τιμή NFS και FIB-4 $-2,2 \pm 1$ και $0,8 \pm 0,4$, αντίστοιχα.

Τα χαρακτηριστικά των εθελοντών, οι οποίοι πραγματοποίησαν τη μαγνητική τομογραφία φαίνονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά εθελοντών που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία

Χαρακτηριστικά Εθελοντών	Μέσοι όροι±SD
Ηλικία (έτη)	50,7±8,4
Βάρος (Kg)	101±27
Δ.Μ.Σ.(kg/m ²)	34,5±5,3
Σωματικό Λίπος (%)	37,3±8,5
Περιφέρεια Μέσης (cm)	114,3±13,8
Περιφέρεια Ισχίων (cm)	123,3±12,7
NFS	-2,2±1
FIB-4	0,8±0,4

Τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας, εκφρασμένα με το LIF Score ή την % συγκέντρωση λίπους φαίνονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα μαγνητικής τομογραφίας

Αποτελέσματα MRI	Μέσοι όροι±SD
LIF Score	2±0,98
Fat_Content	11±7,8

Έγινε σύγκριση μέσω τιμών των χαρακτηριστικών των εθελοντών που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τους πολυμορφισμούς TM6SF2 και PLNPLA3 και των εθελοντών που είχαν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου. Τα άτομα που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για το PNPLA3 είχαν χαμηλότερο βάρος ($p=0,02$), χαμηλότερο Δ.Μ.Σ. ($p=0,01$), χαμηλότερο σωματικό λίπος ($p=0,04$) και χαμηλότερη γλυκόζη νηστείας ($p=0,03$). Τα άτομα που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τον TM6SF2 είχαν αυξημένο ηπατικό λίπος ($p=0,05$). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5: Σύγκριση μέσων τιμών της ομάδας που έχει το αλληλόμορφο κινδύνου σε σχέση με την ομάδα που έχει κανένα αλληλόμορφο κινδύνου με βάση τα χαρακτηριστικά τους

	TM6SF2			PNPLA3		
	AA	AT	p	CC	G-	p
	N=19	N=7		N=14	N=14	
Βάρος	100±30,3	109,3±25	0,5	112±23,8	88±26,3*	0,02
Δ.Μ.Σ.	35,6±5,7	35,4±4,6	0,9	37,7±5,2	32,2±3,8*	0,01
Σωματικό Λίπος	37,9±9,1	36,9±7,1	0,8	41,6±7	33,8±8,2*	0,04
AST	21±8,5	20,6±5,8	0,9	20,4±5,3	23±10	0,5
ALT	24,7±11	32,3±12	0,1	27±12,5	28,6±13,5	0,8
Γλυκόζη Νηστείας	99±7,6	106±3,4	0,1	104±4,8	96,2±8,4	0,03
NFS	-2,3±1,1	-2,2±0,5	0,7	-2,3±1,1	-2,1±1	0,8
FIB-4	0,8±0,5	0,8±0,3	0,8	0,71±0,3	1±0,5	0,2
LIF	2±1	2,3±1,2	0,5	2,5±1	1,7±0,9	0,1
Fat_Content	9,2 ±6,4	16±9,5	0,05	13±7,6	9,3±7,4	0,4

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι ±SD

Μετά από προσαρμογή για γνωστούς συγχυτικούς παράγοντες, οι περισσότερες συσχετίσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές. Η συσχέτιση του PNPLA3 με τη γλυκόζη νηστείας έχασε τη σημαντικότητα της, πράγμα που δείχνει πως ο Δ.Μ.Σ. επηρεάζει την τιμή της γλυκόζης.

Πίνακας 6: Γραμμικές παλινδρομήσεις ελέγχου επίδρασης της παρουσίας του PNPLA3 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με Βάρος, ΔΜΣ, λίπος, γλυκόζη (εξαρτημένες μεταβλητές)

Εξαρτημένες Μεταβλητές	Model 1 (unadjusted)		Model 2 (adjusted*)	
	sig	beta	sig	beta
Βάρος	0,02	-23,8	0,01	-29,2
Δ.Μ.Σ.	0,01	-5,5	0,01	-4,9
Σωματικό Λίπος	0,04	-7,8	0,03	-5,4
Γλυκόζη Νηστείας	0,03	-7,8	0,06	-8,4**

*adjusted for age, sex

**adjusted for age,sex,BMI

Πίνακας 7: Γραμμική παλινδρόμηση ελέγχου επίδρασης της παρουσίας του TM6SF2 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με την ηπατική συγκέντρωση λίπους (εξαρτημένη μεταβλητή)

Εξαρτημένες Μεταβλητές	Model 1 (unadjusted)		Model 2 (adjusted*)	
	sig	beta	sig	beta
Fat_Content	0,05	6,8	0,02	8,2

*adjusted for age, sex

Στη συνέχεια συσχετίστηκαν τα τρία πιο χρησιμοποιούμενα σκορ με τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας. Δεν φάνηκε να υπάρχει συσχέτιση των σκορ NFS, FIB-4 και NASH Score με το LIF Score ή με την % περιεκτικότητα του ηπατικού λίπους.

Πίνακας 8: Συσχέτιση κατά Pearson για τα σκορ NASH Score, NFS και FIB-4 με τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας

	NASH Score	p	FIB-4 Score	p	NFS Score	p
LIF	-0,3	0,2	-0,2	0,3	-0,03	0,8
Fat Content	-0,1	0,6	-0,3	0,7	-0,01	0,9

Από τους 32 υποψήφιους εθελοντές που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία 22 άτομα κρίθηκαν κατάλληλα για συμμετοχή στη μελέτη, με βάση τα εκτιμώμενα LIF scores και το % ποσοστό ηπατικού λίπους. Τα άτομα αυτά, είχαν μέση ηλικία 49 ± 7 έτη, Δ.Μ.Σ. $36,9 \pm 5,7$ kg/m², LIF Score $2,6 \pm 0,8$ και ηπατική συγκέντρωση λίπους $16,7 \pm 8,7$ %. Στους Πίνακες 9,10,11 εμφανίζονται τα χαρακτηριστικά των ατόμων που μπήκαν στη μελέτη και τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες.

Πίνακας 9: Χαρακτηριστικά εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες

Χαρακτηριστικά ατόμων που μπήκαν στην παρέμβαση	Group A	Group B	p
Ηλικία (έτη)	48,4 $\pm$ 9	49 $\pm$ 7	0,9
Βάρος (Kg)	101 $\pm$ 18	117,7 $\pm$ 23,4	0,08
Δ.Μ.Σ.(kg/m ²)	35,8 $\pm$ 4,6	36,9 $\pm$ 5,7	0,4
Σωματικό Λίπος (%)	41,6 $\pm$ 6	38 $\pm$ 7,8	0,25

*Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι $\pm$ SD

Πίνακας 10: Αποτελέσματα μαγνητικής εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες

Αποτελέσματα MRI ατόμων που μπήκαν στην παρέμβαση	Group A	Group B	p
LIF Score	2,3±7,8	2,6±0,8	0,2
Fat_Content (%)	10,6±5,8	16,7±8,7	0,07

*Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ±SD

Πίνακας 11: Βιοχημικό προφίλ εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες

Βιοχημικό προφίλ ατόμων που μπήκαν στην παρέμβαση	Group A	Group B	p
AST (IU/L)	18,8±6	22,7±6,4	0,2
ALT (IU/L)	25,4±12	33,5±13,1	0,1
CHOL (mg/dl)	199,2±23,1	193,5±25	0,5
LDL (mg/dl)	115,2±25,3	119,2±23,1	0,8
TAG (mg/dl)	175,2±81,4	130,4±45	0,1
HDL (mg/dl)	49±7,8	47,8±8	0,8
Γλυκόζη (mg/dl)	100,9±8,3	102,4±5,8	0,7
Ινσουλίνη (μIU/ml)	26,5±22,7	27,6±16,6	0,5
NASH_Score	-1,4±0,45	-1,3±1,19	0,9
NFS	-2,2±1	-2,5±1	0,4
FIB-4	0,73±0,3	0,7± 0,25	0,3

*Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ±SD

Έγινε σύγκριση μέσω τιμών των χαρακτηριστικών των εθελοντών που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τους πολυμορφισμούς TM6SF2 και PLNPLA3 και των εθελοντών που είχαν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου. Τα άτομα που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για το PNPLA3 είχαν χαμηλότερο Δ.Μ.Σ. ($p=0,04$) και χαμηλότερη γλυκόζη νηστείας ($p=0,03$). Τα άτομα που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τον TM6SF2 είχαν αυξημένο τιμή ALT ($p=0,02$). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12: Σύγκριση μέσων τιμών της ομάδας που έχει το αλληλόμορφο κινδύνου σε σχέση με την ομάδα που έχει κανένα αλληλόμορφο κινδύνου με βάση τα χαρακτηριστικά τους

	TM6SF2			PNPLA3		
	AA	AT	p	CC	G-	p
	N=14	N=5		N=13	N=8	
Βάρος	109,2±23	120,7±26	0,4	114±21,8	103,7±20,2	0,2
Δ.Μ.Σ.	36,8±5,7	37,2±4	0,9	38,2±5,1	34,6±4,3	0,04
Σωματικό Λίπος (%)	40,2±7,3	37,4±6,7	0,5	41,6±7,2	36,4±7	0,3
AST	19,2±5,5	22,6±5,2	0,2	20,4±5,3	24,4±8,7	0,4
ALT	24,8±11	38±8,3	0,02	27±12,8	33±14	0,3
Γλυκόζη	99,7±7,2	105±4,4	0,1	103,7±4,7	100±7,8	0,03
NFS	-2,5±1	-2,1±0,4	0,4	-2,3±1,1	-2,5±0,6	0,9
FIB-4	0,6±0,2	0,7±0,2	0,6	0,8±0,2	0,8±0,3	0,2
LIF	2,4±0,7	2,9±0,9	0,2	2,8±0,7	2,1±0,9	0,1
FAT_Content (%)	12±7,5	19,5±9	0,08	15,4±7,8	12,5±8,5	0,7

Πίνακας 13: Γραμμικές παλινδρόμησης ελέγχου της επίδρασης της παρουσίας του PNPLA3 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με ΔΜΣ και γλυκόζη (εξαρτημένες μεταβλητές)

Εξαρτημένες Μεταβλητές	Model 1 (unadjusted)		Model 2 (adjusted*)	
	sig	beta	sig	beta
Δ.Μ.Σ.	0,04	-4,6	0,05	-4,5
Γλυκόζη	0,03	-6,3	0,08	-6,9**

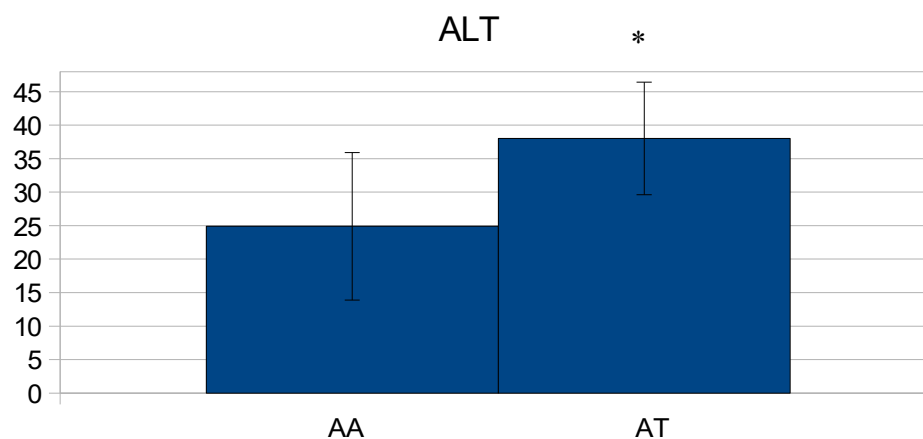
*adjusted for age, sex

**adjusted for age,sex,BMI

Πίνακας 14: Γραμμική παλινδρόμηση ελέγχου της επίδρασης της παρουσίας του TM6SF2 (ανεξάρτητη μεταβλητή) με ALT (εξαρτημένη μεταβλητή)

Εξαρτημένες Μεταβλητές	Model 1 (unadjusted)		Model 2 (adjusted*)	
	sig	beta	sig	beta
ALT	0,02	13	0,06	10

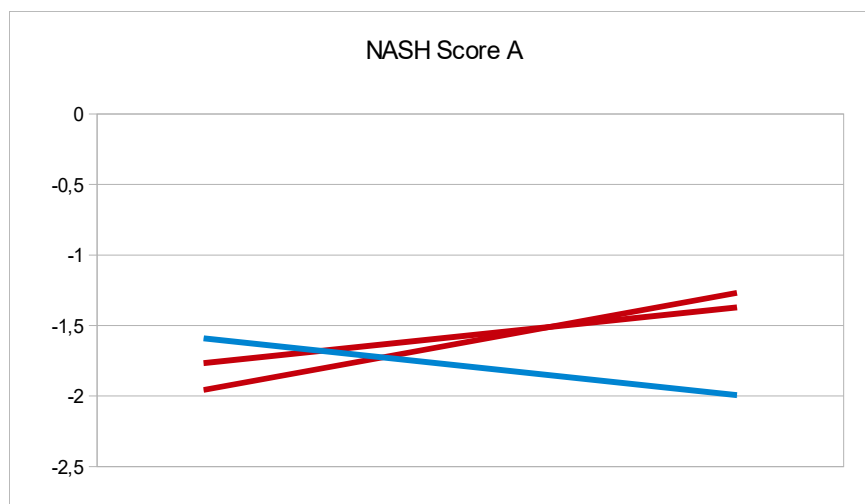
*adjusted for age, sex



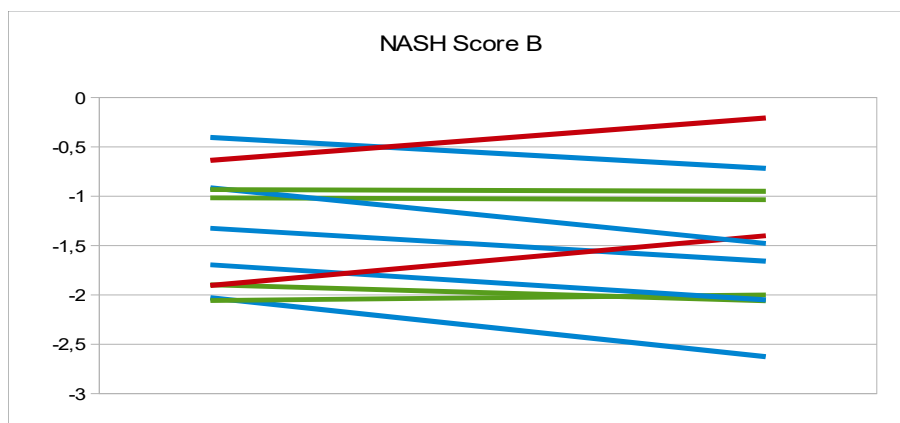
Εικόνα 11: Η διαφορά στην τιμή ALT ανάλογα με το αλληλόμορφο του πολυμορφισμού TM6SF2

*p=0,02

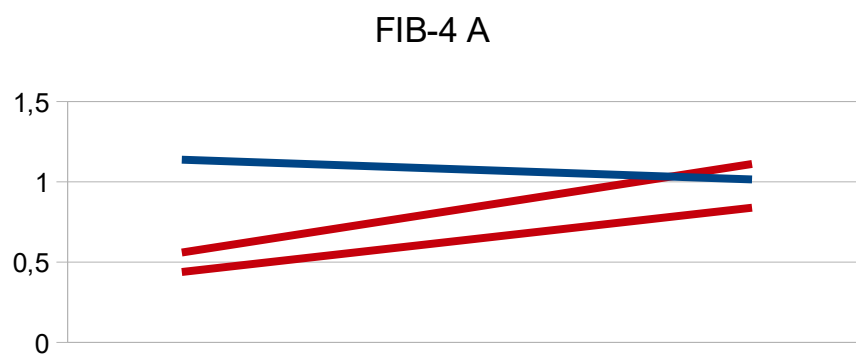
Στο τρίμηνο, προσήλθαν 3 άτομα από την ομάδα A και 10 άτομα από την ομάδα B για επαναξιολόγηση του βιοχημικού προφίλ και των Nash Score και FIB-4. Οι διαφορές στα δύο σκορ, για κάθε άτομο των ομάδων A και B, φαίνονται παρακάτω.



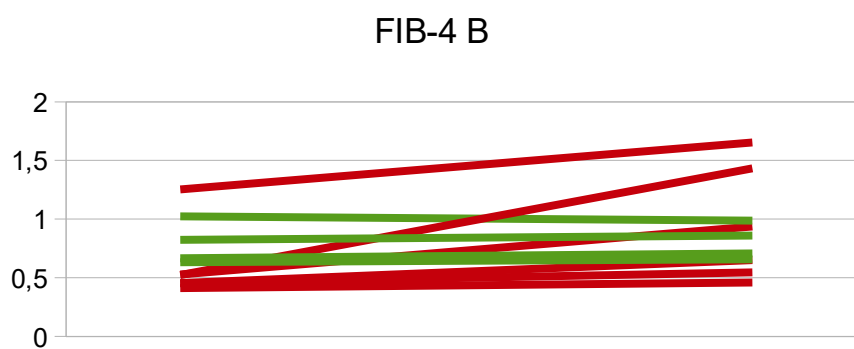
Εικόνα 12: Οι διαφορές στο NASH Score στην ομάδα A



Εικόνα 13: Οι διαφορές στο NASH Score στην ομάδα B



Εικόνα 14: Οι διαφορές στο FIB-4 στην ομάδα A



Εικόνα 15: Οι διαφορές στο FIB-4 στην ομάδα B

6. Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 32 εθελοντές ηλικίας 18-67 ετών, οι οποίοι πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία. Εξ αυτών, οι 22 εθελοντές τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες, verum ή placebo. Αρχικά, παρουσιάστηκαν τα χαρακτηριστικά των εθελοντών που πραγματοποίησαν τη μαγνητική τομογραφία. Από την εξέταση του βιοχημικού προφίλ των εθελοντών ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως οι τιμές AST και ALT εμφανίζονται εντός φυσιολογικών ορίων. Το γεγονός αυτό είναι κάτι που επισημαίνεται στη βιβλιογραφία, για αυτό υπάρχει ανάγκη για ανάπτυξη κάποιων σκορ πρόβλεψης και αξιολόγησης της νόσου. Στην συνέχεια, έγινε σύγκριση μέσω τιμών των χαρακτηριστικών των ατόμων που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τους πολυμορφισμούς TM6SF2 και PNPLA3 και των ατόμων που είχαν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου.

Η παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3 δεν φάνηκε να σχετίζεται με το ηπατικό λίπος, όταν αυτό αξιολογήθηκε με μαγνητική τομογραφία. Στη βιβλιογραφία, η παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3, έχει συσχετίσει θετικά με τη νόσο. Συγκεκριμένα, σε μία μετά-ανάλυση φάνηκε πως η ομοζυγία ως προς το αλληλόμορφο G συσχετίζεται με 3,12 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να έχει ένα άτομο NAFLD ή NASH ($p < 0,001$) και μεγαλύτερη πιθανότητα για φλεγμονή ($p < 0,001$) όταν αυτή αξιολογήθηκε με βιοψία ήπατος [104]. Επίσης, επειδή η NAFLD σχετίζεται ισχυρά με το μεταβολικό σύνδρομο έγινε συσχέτιση με τις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου, όπως το βάρος, το BMI, οι περιφέρειες μέσης και ισχίων, την LDL, τις τριακυλογλυκερόλες και τη γλυκόζη. Η παρουσία του PNPLA3 συσχετίστηκε αρνητικά με το βάρος ($p = 0,02$), το Δ.Μ.Σ. ($p = 0,01$), το σωματικό λίπος ($p = 0,04$) και τη γλυκόζη νηστείας ($p = 0,03$). Συγκεκριμένα, για κάθε επιπλέον αλληλόμορφο κινδύνου ο Δ.Μ.Σ. μειώνεται κατά $5,5 \text{ kg/m}^2$, το βάρος κατά $23,8 \text{ kg}$, το σωματικό λίπος κατά $5,5\%$ και η γλυκόζη νηστείας κατά $7,8 \text{ mg/dl}$. Όσον αφορά το Δ.Μ.Σ. και την παρουσία του πολυμορφισμού, τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας είναι αντικρουόμενα. Η μελέτη των Speliotes et al., έδειξε πως το αλληλόμορφο G συνδέεται με χαμηλό ΔΜΣ, χαμηλό βάρος, μειωμένη περιφέρεια μέσης, μειωμένη τιμή τριακυλογλυκερολών και υψηλή HDL [58]. Παρόμοια, σε μία πιο πρόσφατη μελέτη η παρουσία του αλληλόμορφου G συσχετίστηκε με χαμηλότερο βάρος και χαμηλότερο ποσοστό σωματικού λίπους [105]. Υπάρχουν όμως και μελέτες που δεν έχουν δείξει καμία συσχέτιση [104].

Η παρουσία του πολυμορφισμού TM6SF2 συσχετίστηκε θετικά με το ηπατικό λίπος, όταν αυτό

αξιολογήθηκε με μαγνητική τομογραφία. Συγκεκριμένα, για κάθε επιπλέον αλληλόμορφο κινδύνου, αυξάνεται το ηπατικό περιεχόμενο σε λίπος κατά 6,8%. Στις περισσότερες μελέτες, η παρουσία του πολυμορφισμού συσχετίστηκε με αυξημένο ηπατικό περιεχόμενο σε τριακυλογλυκερόλες [63]. Επίσης, σε μια σειρά πειραμάτων *in vitro* διαπιστώθηκε πως η παρουσία του πολυμορφισμού μειώνει την έκκριση των λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριάκυλογλυκερόλες και της ApoB. Αυτό οδήγησε σε αύξηση της κυτταρικής συσσώρευσης τριακυλογλυκερολών και εκδηλώνεται με αύξηση στο μέγεθος και στον αριθμό των λιποσταγόνων [54].

Στη συνέχεια έγιναν συσχετίσεις των αποτελεσμάτων της μαγνητικής τομογραφίας με τα σκορ που χρησιμοποιήθηκαν στην επιλογή των εθελοντών, το FIB-4, το NASH Score και το NFS. Δεν βρέθηκε κάποια σημαντική σχέση της ηπατικής συγκέντρωσης λίπους, του LIF Score και των τριών άλλων σκορ. Το λογισμικό LiverMultiScan είναι ένα πολυπαραμετρικό εργαλείο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου καθώς και της NASH. Η συγκεκριμένη τεχνική μετρά το σίδηρο, το ηπατικό λίπος και ποσοτικοποιεί τη φλεγμονή και την ίνωση. Τα σκορ FIB-4 και NFS χρησιμοποιούν κάποιες παραμέτρους και κατατάσσουν τα άτομα ανάλογα με την πιθανότητα για ίνωση. Το σκορ NASH Score, έχει και μία επιπλέον παράμετρο, την παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα, γεννούν την ανάγκη ανάπτυξης κάποιων σκορ πρόβλεψης της νόσου με μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα.

Στη συνέχεια, στα 22 άτομα που μπήκαν στη μελέτη έγιναν οι ίδιες συσχετίσεις και οι συγκρίσεις μέσω των τιμών στην ομάδα που είχε τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου και στην ομάδα που είχε κανένα αλληλόμορφο κινδύνου. Τα άτομα που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου για τον πολυμορφισμό TM6SF2 είχαν αυξημένες τιμές ALT. Το εύρημα επιβεβαιώνεται και από τρεις μεγάλες μελέτες, την DHS (n=4.587), την Dallas BioBank (n=8.585), και την Copenhagen Study (n=73.532), που είχαν όμοια αποτελέσματα [63].

Όσον αφορά την παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3, τα άτομα με τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου είχαν χαμηλότερο Δ.Μ.Σ. κατά 4,5 kg/m² και χαμηλότερη γλυκόζη νηστείας κατά 6,3 mg/dl.

Από τα πρώτα αποτελέσματα της τρίμηνης παρακολούθησης δεν γνωρίζουμε ακόμα την επίδραση της μαστίχας στα άτομα με NAFLD/NASH. Μόλις ολοκληρωθεί η εξάμηνη παρακολούθηση σε όλα τα κέντρα της Ευρώπης, θα μπορούμε να βγάλουμε ασφαλέστερα συμπεράσματα για την ανταπόκριση στην παρέμβαση ανάλογα με το γονότυπο.

Περιορισμό της παρούσας μελέτης αποτελεί το σχετικά μικρό δείγμα. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας στρατολόγησης των εθελοντών τόσο στην Ελλάδα όσο και στα υπόλοιπα κέντρα της κλινικής δοκιμής θα συλλεχθεί ένας σημαντικά μεγαλύτερος πληθυσμός ο οποίος θα μας δώσει τη δυνατότητα εξαγωγής ασφαλέστερων συμπερασμάτων. Τέλος, για τη διάγνωση της νόσου χρησιμοποιήθηκε η μαγνητική τομογραφία. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μαγνητικής τομογραφίας ως προς την ικανότητα ανίχνευσης της ηπατικής στεάτωσης σε βαθμό $\geq 5\%$ κυμαίνονται από 76,7-90% και από 87,1-91% αντίστοιχα. Φυσικά, η gold standard μέθοδος τόσο για τη διάγνωση όσο και για την κατηγοριοποίηση του σταδίου της νόσου είναι η βιοψία ήπατος. Με τη βιοψία διακρίνεται η απλή στεάτωση από τη στεατοηπατίτιδα και προσδιορίζεται ο βαθμός της φλεγμονής και της ίνωσης

7. Βιβλιογραφία

1. LaBrecque, D., *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*. 2012.
2. Αρχιμανδρίτης, Α., *Παθολογία*. 2010: Π.Χ. Πασχαλίδης.
3. Chalasani, N., et al., *The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association*. Hepatology, 2012. **55**(6): p. 2005-23.
4. McCullough, A.J., *The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease*. Clin Liver Dis, 2004. **8**(3): p. 521-33, viii.
5. Αρχιμανδρίτης, Α., *Παθολογία*. 2010: Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.
6. Bellentani, S., et al., *Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy*. Ann Intern Med, 2000. **132**(2): p. 112-7.
7. Smits, M.M., et al., *Non-alcoholic fatty liver disease as an independent manifestation of the metabolic syndrome: results of a US national survey in three ethnic groups*. J Gastroenterol Hepatol, 2013. **28**(4): p. 664-70.
8. Pereira, K., J. Salsamendi, and J. Casillas, *The Global Nonalcoholic Fatty Liver Disease Epidemic: What a Radiologist Needs to Know*. J Clin Imaging Sci, 2015. **5**: p. 32.
9. Fan, J.G. and G.C. Farrell, *Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China*. J Hepatol, 2009. **50**(1): p. 204-10.
10. Chiloiro, M., et al., *Ultrasound evaluation and correlates of fatty liver disease: a population study in a Mediterranean area*. Metab Syndr Relat Disord, 2013. **11**(5): p. 349-58.
11. Lankarani, K.B., et al., *Non alcoholic fatty liver disease in southern Iran: a population based study*. Hepat Mon, 2013. **13**(5): p. e9248.
12. 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, 2012. **47**(5): p. 586-95.

13. Loomba, R., et al., *Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis*. Hepatology, 2012. **56**(3): p. 943-51.
14. Das, K., et al., *Nonobese population in a developing country has a high prevalence of nonalcoholic fatty liver and significant liver disease*. Hepatology, 2010. **51**(5): p. 1593-602.
15. European Association for the Study of the L., D. European Association for the Study of, and O. European Association for the Study of, *EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2016. **64**(6): p. 1388-402.
16. Sharma, M., et al., *The Riddle of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Progression From Nonalcoholic Fatty Liver to Nonalcoholic Steatohepatitis*. J Clin Exp Hepatol, 2015. **5**(2): p. 147-58.
17. Day, C.P. and O.F. James, *Steatohepatitis: a tale of two "hits"?* Gastroenterology, 1998. **114**(4): p. 842-5.
18. Dowman, J.K., J.W. Tomlinson, and P.N. Newsome, *Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease*. QJM, 2010. **103**(2): p. 71-83.
19. Tilg, H. and A.R. Moschen, *Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis*. Hepatology, 2010. **52**(5): p. 1836-46.
20. Wree, A., et al., *From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013. **10**(11): p. 627-36.
21. Paradies, G., et al., *Oxidative stress, cardiolipin and mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(39): p. 14205-18.
22. Buzzetti, E., M. Pinzani, and E.A. Tsochatzis, *The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. Metabolism, 2016. **65**(8): p. 1038-48.
23. Raman, M. and J. Allard, *Nonalcoholic fatty liver disease: A clinical approach and review*. Can J Gastroenterol, 2006. **20**(5): p. 345-9.
24. Sattar, N., E. Forrest, and D. Preiss, *Non-alcoholic fatty liver disease*. BMJ : British Medical Journal, 2014. **349**.
25. Hassan, K., et al., *Nonalcoholic fatty liver disease: a comprehensive review of a growing epidemic*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(34): p. 12082-101.

26. Musso, G., et al., *Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity*. Ann Med, 2011. **43**(8): p. 617-49.
27. Angulo, P., et al., *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-54.
28. Ratziu, V., et al., *Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. BMC Gastroenterol, 2006. **6**: p. 6.
29. Sun, W., et al., *Comparison of FIB-4 index, NAFLD fibrosis score and BARD score for prediction of advanced fibrosis in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis study*. Hepatol Res, 2016. **46**(9): p. 862-70.
30. Hyysalo, J., et al., *A population-based study on the prevalence of NASH using scores validated against liver histology*. J Hepatol, 2014. **60**(4): p. 839-46.
31. Koplay, M., et al., *Importance of imaging and recent developments in diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease*. World J Hepatol, 2015. **7**(5): p. 769-76.
32. Pavlides, M., et al., *Multiparametric magnetic resonance imaging predicts clinical outcomes in patients with chronic liver disease*. J Hepatol, 2016. **64**(2): p. 308-15.
33. Chalasani, N., et al., *The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology*. Gastroenterology, 2012. **142**(7): p. 1592-609.
34. Paschos, P. and K. Paletas, *Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome*. Hippokratia, 2009. **13**(1): p. 9-19.
35. Bedogni, G., et al., *Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study*. Hepatology, 2005. **42**(1): p. 44-52.
36. Assy, N., et al., *Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients*. Dig Dis Sci, 2000. **45**(10): p. 1929-34.
37. Donati, G., et al., *Increased prevalence of fatty liver in arterial hypertensive patients with normal liver enzymes: role of insulin resistance*. Gut, 2004. **53**(7): p. 1020-3.
38. Duseja, A., et al., *The clinicopathological profile of Indian patients with nonalcoholic*

- fatty liver disease (NAFLD) is different from that in the West. Dig Dis Sci, 2007. 52(9): p. 2368-74.*
39. Sanyal, A.J., et al., *Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. Gastroenterology, 2001. 120(5): p. 1183-92.*
 40. Vilar, L., et al., *High-fat diet: a trigger of non-alcoholic steatohepatitis? Preliminary findings in obese subjects. Nutrition, 2008. 24(11-12): p. 1097-102.*
 41. Ferolla, S.M., et al., *Dietary patterns in Brazilian patients with nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. Clinics (Sao Paulo), 2013. 68(1): p. 11-7.*
 42. 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.*
 43. Seki, H., Y. Tani, and M. Arita, *Omega-3 PUFA derived anti-inflammatory lipid mediator resolvin E1. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2009. 89(3-4): p. 126-30.*
 44. Dentin, R., et al., *Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. J Clin Invest, 2005. 115(10): p. 2843-54.*
 45. Lustig, R.H., *Fructose: metabolic, hedonic, and societal parallels with ethanol. J Am Diet Assoc, 2010. 110(9): p. 1307-21.*
 46. Lim, J.S., et al., *The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010. 7(5): p. 251-64.*
 47. Le, K.A. and L. Tappy, *Metabolic effects of fructose. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2006. 9(4): p. 469-75.*
 48. Nolan, J.P., *The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and evolving history. Hepatology, 2010. 52(5): p. 1829-35.*
 49. Kargulewicz, A., H. Stankowiak-Kulpa, and M. Grzymislowski, *Dietary recommendations for patients with nonalcoholic fatty liver disease. Prz Gastroenterol, 2014. 9(1): p. 18-23.*
 50. Brouwers, M.C., et al., *Heritability and genetic loci of fatty liver in familial combined hyperlipidemia. J Lipid Res, 2006. 47(12): p. 2799-807.*
 51. Schwimmer, J.B., et al., *Heritability of nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology,*

2009. **136**(5): p. 1585-92.
52. Huang, Y., et al., *A feed-forward loop amplifies nutritional regulation of PNPLA3*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(17): p. 7892-7.
 53. Romeo, S., et al., *Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease*. Nat Genet, 2008. **40**(12): p. 1461-5.
 54. Anstee, Q.M. and C.P. Day, *The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2*. Semin Liver Dis, 2015. **35**(3): p. 270-90.
 55. Liu, Y.L., et al., *Carriage of the PNPLA3 rs738409 C >G polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma*. J Hepatol, 2014. **61**(1): p. 75-81.
 56. Palmer, C.N., et al., *Paradoxical lower serum triglyceride levels and higher type 2 diabetes mellitus susceptibility in obese individuals with the PNPLA3 148M variant*. PLoS One, 2012. **7**(6): p. e39362.
 57. Stojkovic, I.A., et al., *The PNPLA3 Ile148Met interacts with overweight and dietary intakes on fasting triglyceride levels*. Genes Nutr, 2014. **9**(2): p. 388.
 58. Speliotes, E.K., et al., *PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease*. Hepatology, 2010. **52**(3): p. 904-12.
 59. 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.
 60. Goffredo, M., et al., *Role of TM6SF2 rs58542926 in the pathogenesis of nonalcoholic pediatric fatty liver disease: A multiethnic study*. Hepatology, 2016. **63**(1): p. 117-25.
 61. Falletti, E., et al., *PNPLA3 rs738409 and TM6SF2 rs58542926 variants increase the risk of hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis*. Dig Liver Dis, 2016. **48**(1): p. 69-75.
 62. Liu, Y.L., et al., *TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. Nat Commun, 2014. **5**: p. 4309.
 63. Kozlitina, J., et al., *Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease*. Nat Genet, 2014. **46**(4): p. 352-6.

64. Orho-Melander, M., et al., *Common missense variant in the glucokinase regulatory protein gene is associated with increased plasma triglyceride and C-reactive protein but lower fasting glucose concentrations*. Diabetes, 2008. **57**(11): p. 3112-21.
65. Petta, S., et al., *Glucokinase regulatory protein gene polymorphism affects liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease*. PLoS One, 2014. **9**(2): p. e87523.
66. Chambers, J.C., et al., *Genome-wide association study identifies loci influencing concentrations of liver enzymes in plasma*. Nat Genet, 2011. **43**(11): p. 1131-8.
67. 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.
68. Petersen, K.F., et al., *Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease*. N Engl J Med, 2010. **362**(12): p. 1082-9.
69. Polyzos, S.A., et al., *The role of adiponectin in the pathogenesis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease*. Diabetes Obes Metab, 2010. **12**(5): p. 365-83.
70. Musso, G., et al., *Adiponectin gene polymorphisms modulate acute adiponectin response to dietary fat: Possible pathogenetic role in NASH*. Hepatology, 2008. **47**(4): p. 1167-77.
71. Wong, V.W., et al., *Genetic polymorphisms of adiponectin and tumor necrosis factor-alpha and nonalcoholic fatty liver disease in Chinese people*. J Gastroenterol Hepatol, 2008. **23**(6): p. 914-21.
72. Kotronen, A., et al., *A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans*. Diabetologia, 2009. **52**(6): p. 1056-60.
73. Valenti, L., et al., *Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease*. Gastroenterology, 2002. **122**(2): p. 274-80.
74. Wang, J.K., et al., *Association of tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism at sites -308 and -238 with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis*. J Gastroenterol Hepatol, 2012. **27**(4): p. 670-6.
75. Carulli, L., et al., *Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphism is associated with non-alcoholic steatohepatitis*. Dig Liver Dis, 2009. **41**(11): p. 823-8.
76. Bernard, S., et al., *Association between microsomal triglyceride transfer protein gene polymorphism and the biological features of liver steatosis in patients with Type II*

- diabetes*. Diabetologia, 2000. **43**(8): p. 995-999.
77. Namikawa, C., et al., *Polymorphisms of microsomal triglyceride transfer protein gene and manganese superoxide dismutase gene in non-alcoholic steatohepatitis*. J Hepatol, 2004. **40**(5): p. 781-6.
 78. Neuschwander-Tetri, B.A., et al., *Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosiglitazone*. Hepatology, 2003. **38**(4): p. 1008-17.
 79. Ratziu, V., et al., *Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial*. Gastroenterology, 2008. **135**(1): p. 100-10.
 80. Belfort, R., et al., *A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis*. N Engl J Med, 2006. **355**(22): p. 2297-307.
 81. Vernon, G., A. Baranova, and Z.M. Younossi, *Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(3): p. 274-85.
 82. Mathurin, P., et al., *Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease*. Gastroenterology, 2009. **137**(2): p. 532-40.
 83. Musso, G., et al., *Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials*. Diabetologia, 2012. **55**(4): p. 885-904.
 84. Wong, V.W., et al., *Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with probiotics. A proof-of-concept study*. Ann Hepatol, 2013. **12**(2): p. 256-62.
 85. Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου. 26/05/2017]; Available from: <https://www.gummastic.gr/el/>.
 86. Kaliora, A.C., et al., *Detection and Identification of Simple Phenolics in Pistacia lentiscus Resin*. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 2004. **27**(2): p. 289-300.
 87. Sharifi, M.S. and S.L. Hazell, *Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of Mastic, Kurdica, Mutica and Cabolica gums from genus Pistacia*. Glob J Health Sci, 2011. **4**(1): p. 217-28.

88. Paraschos, S., et al., *In vitro and in vivo activities of Chios mastic gum extracts and constituents against Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother, 2007. **51**(2): p. 551-9.
89. Zhou, L., et al., *Re-evaluation of anti-inflammatory activity of mastic using activated macrophages*. In Vivo, 2009. **23**(4): p. 583-9.
90. Kaliora, A.C., et al., *Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease*. World J Gastroenterol, 2007. **13**(5): p. 748-53.
91. Loizou, S., et al., *Chios mastic gum extract and isolated phytosterol tirucallol exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells*. Exp Biol Med (Maywood), 2009. **234**(5): p. 553-61.
92. Takahashi, K., et al., *A pilot study on antiplaque effects of mastic chewing gum in the oral cavity*. J Periodontol, 2003. **74**(4): p. 501-5.
93. Peek, R.M., *Helicobacter pylori infection and disease: from humans to animal models*. Dis Model Mech, 2008. **1**(1): p. 50-5.
94. Al-Habbal, M.J., Z. Al-Habbal, and F.U. Huwez, *A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1984. **11**(5): p. 541-4.
95. Loughlin, M.F., D.A. Ala'Aldeen, and P.J. Jenks, *Monotherapy with mastic does not eradicate Helicobacter pylori infection from mice*. J Antimicrob Chemother, 2003. **51**(2): p. 367-71.
96. Bebb, J.R., et al., *Mastic gum has no effect on Helicobacter pylori load in vivo*. J Antimicrob Chemother, 2003. **52**(3): p. 522-3.
97. Triantafyllou, A., et al., *Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress*. Nutr J, 2011. **10**: p. 64.
98. Andrikopoulos, N.K., et al., *Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation*. Phytother Res, 2003. **17**(5): p. 501-7.
99. Dedoussis, G.V., et al., *Antiatherogenic effect of Pistacia lentiscus via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression*. Atherosclerosis, 2004. **174**(2): p. 293-303.
100. Triantafyllou, A., et al., *Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a*

- human population*. J Ethnopharmacol, 2007. **111**(1): p. 43-9.
101. Assimopoulou, A.N. and V.P. Papageorgiou, *GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of Pistacia species. Part I. Pistacia lentiscus var. Chia*. Biomed Chromatogr, 2005. **19**(4): p. 285-311.
102. Balan, K.V., et al., *Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from Pistacia lentiscus L. var. chia*. Phytomedicine, 2007. **14**(4): p. 263-72.
103. He, M.L., et al., *Mechanisms of antiprostata cancer by gum mastic: NF-kappaB signal as target*. Acta Pharmacol Sin, 2007. **28**(3): p. 446-52.
104. Sookoian, S. and C.J. Pirola, *Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2011. **53**(6): p. 1883-94.
105. Kempinska-Podhorodecka, A., et al., *Healthy PNPLA3 risk allele carriers present with unexpected body fat composition. A study of one thousand subjects*. J Gastrointestin Liver Dis, 2014. **23**(1): p. 33-7.

Παράρτημα

4ήμερο ημερολόγιο καταγραφής διαιτητικής πρόσληψης

	Καθημερινή 1	Καθημερινή 2	Σάββατο	Κυριακή
Γεύμα	Τρόφιμα (...../...../.....)	Τρόφιμα (...../...../.....)	Τρόφιμα (..../...../.....)	Τρόφιμα (...../...../.....)
Πρωινό				
Ενδιάμεσο				
Μεσημεριανό				
Απογευματινό				
Βραδινό				
Προ ύπνου				

Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων:

Τρόφιμα και ροφήματα, μεγέθη μερίδων και συχνότητα κατανάλωσης

Φαγητό ή ρόφημα	Μέγεθος μερίδας αναφοράς	Συχνότητα Κατανάλωσης
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ		
Πλήρες γάλα/ γασούρτι	1 κούπα (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Χαμηλό σε λίπος γάλα/γασούρτι	1 κούπα (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Κίτρινο τυρί / κρεμώδες τυρί	30g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Λευκό τυρί (πχ τυρί φέτα)	30g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Χαμηλό σε λίπος τυρί (light/cottage)	30g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Αυγό (βραστό, τηγανητό, ομελέτα)	50g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ, ΑΜΥΛΟΥΧΑ ΤΡΟΦΙΜΑ		
Λευκό ψωμί / τوست	1φέτα (30g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Ολικής άλεσης ψωμί / φρυγανιά	1φέτα (30g), 2 τεμάχια	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Burger ψωμί	1τεμάχιο (60g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Κράκερς	2 λεπτά τεμάχια (20g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Δημητριακά/ μπάρες δημητριακών	1/2κούπα (20g), 1τεμάχιο	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Ρύζι άσπρο	1κούπα (160g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Ρύζι καστανό	1κούπα (195g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Ζυμαρικά / αποφλοιωμένο κριθάρι	1κούπα (140g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Ζυμαρικά ολικής άλεσης	1κούπα (140g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Πατάτες βραστές/ ψητές/ πουρές	1 μέτρια (90g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Τηγανητές πατάτες	½ μερίδα (70g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
ΚΡΕΑΣ		
Μοσχάρι (μπριζόλα, φιλέτο)	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Μπιφτέκι/ κεφτεδάκια/ κιμάς	120g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Κοτόπουλο/γαλοπούλα (όλα τα είδη)	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Χοιρινό (μπριζόλα, φιλέτο)	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ
Αρνί/ κατσίκι/ κυνήγι/ παϊδάκια	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ήμ, ≥ 2 φ/ήμ

Αλλαντικά	1 φέτα (30g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Λουκάνικο/ μπέικον	1 μέτριο τμχ., 2 φέτες (30g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Τύπου light/ χωρίς λίπος αλλαντικά	30g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΨΑΡΙΑ		
Μικρά ψάρια	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μεγάλα ψάρια	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Θαλασσινά (χταπόδι, καλαμαράκια, γαρίδες)	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΟΣΠΡΙΑ, ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΑ ΦΑΓΗΤΑ		
Όσπρια (φακές, φασόλια, ρεβίθια, φάβα)	1 μερίδα (300g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Σπανακόρυζο / λαχανόρυζο	1 μερίδα (250g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Παστίτσιο/ μουσακάς/ παπουτσάκια	1 μερίδα (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΛΑΧΑΝΙΚΑ		
Αρακάς, φασολάκια, μπάμιες, αγκινάρα	200g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Ντομάτα, αγγούρι, καρότο, πιπεριά	100g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μαρούλι, λάχανο, σπανάκι, ρόκα	80g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μπρόκολο, κουνουπίδι, κολοκυθάκι	100g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Χόρτα, σέλινο, σπανάκι	90g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΦΡΟΥΤΑ, ΞΗΡΟΙ ΚΑΡΠΟΙ		
Πορτοκάλι	1 μέτριο (170g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μήλο, αχλάδι	1 μέτριο (140g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Άλλα χειμερινά φρούτα	1 κομμάτι, ½ κούπα (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μπανάνα	1 μέτρια (100g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Άλλα καλοκαιρινά φρούτα	1 κομμάτι, ½ κούπα (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Χυμοί φρούτων	1 ποτήρι (240g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Αποξηραμένα φρούτα	¼ ποτηριού (35g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Ξηροί Καρποί	1 κούπα του καφέ (50g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
SNACKS		
Σπιτικές πίτες (τυρόπιτα, σπανακόπιτα)	1 κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ

Πίτες (ώλες)	1 κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Τοστ, σάντουιτς	1 κομμάτι (200g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
ΓΛΥΚΑ, ΑΛΜΥΡΑ SNACKS		
Γλυκά δίσκου	1 κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Γλυκά του κουταλιού, κομπόστα φρούτων, ζελέ φρούτων	1μερίδα (100g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Gateau, τάρτα	1κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Κρουασάν, γκοφρέτα, κέικ, μπισκότα	1τεμάχιο, 1 κομμάτι, 3- 4τμχ	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Σοκολάτα	1μέτριο (60g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Παγωτό, milk-shake, κρέμα, ρυζόγαλο	1 κομμάτι	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Πατατάκια, ποπ-κορν	1σακουλάκι (70g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Μέλι, μαρμελάδα, ζάχαρη	1κγ (5g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Ελιές	10 μικρές/ 5 μεγάλες	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
ΡΟΦΗΜΑΤΑ		
Κρασί	1 ποτήρι (125ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Μπίρα	1 ποτήρι (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Άλλα αλκοολούχα ποτά	1 ποτήρι (30ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Αναψυκτικά	1 κουτάκι (330ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Αναψυκτικά light	1 κουτάκι (330ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Καφές	1 κούπα (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Τσάι / άλλα αφηνήματα	1 κούπα (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
ΛΙΠΗ		
Μαγιονέζα, σως	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Light μαγιονέζα, light σως	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Ελαιόλαδο	3κ.σ (45g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Σπορέλαιο	3κ.σ (45g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Μαργαρίνη	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$
Βούτυρο	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, $\geq 2\phi/\eta\mu$

φ/μήνα: φορές στο μήνα; φ/εβδ: φορές στην εβδομάδα; φ/ημ: φορές στην ημέρα; τμχ: τεμάχιο

Ερωτηματολόγιο FINDRISK για την αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2

Αξιολόγηση Κινδύνου για Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2

Κυκλώστε μία εκ των απαντήσεων και προσθέστε τους βαθμούς.

1. Ηλικία

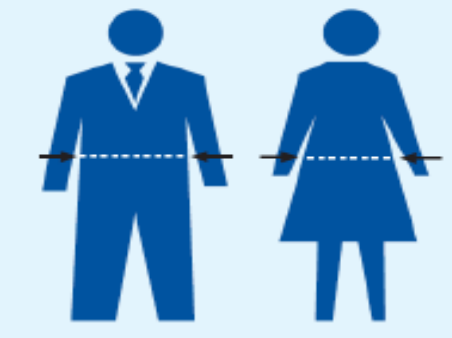
0 βαθμοί	Κάτω των 45 ετών
2 βαθμοί	45-54 ετών
3 βαθμοί	55-64 ετών
4 βαθμοί	Άνω των 64 ετών

2. Δείκτης Μάζας Σώματος

0 βαθμοί	Λιγότερο από 25 kg/m ²
1 βαθμός	25-30 kg/m ²
3 βαθμοί	Περισσότερο από 30 kg/m ²

3.Περίμετρος μέσης κάτω από τα πλευρά

	ΑΝΔΡΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ
0 βαθμοί	< 94 cm	< 80 cm
3 βαθμοί	94-102 cm	80-88 cm
4 βαθμοί	> 102 cm	> 88 cm



4. Συμβαίνει συχνά να είναι η καθημερινή σας φυσική δραστηριότητα τουλάχιστον 30 λεπτά (στην εργασία ή/και κατά τη διάρκεια του ελεύθερου χρόνου σας, εδώ θα συμπεριλάβετε και τη δραστηριότητά σας για την προσωπική σας υγιεινή, ένδυση και λήψη τροφής)

0 βαθμοί	Ναι
2 βαθμοί	Όχι

5. Πόσο συχνά τρώτε λαχανικά ή φρούτα;

0 βαθμοί	Καθημερινά
1 βαθμός	Όχι καθημερινά

6. Έχετε λάβει ποτέ συστηματικά φαρμακευτική αγωγή για την υψηλή αρτηριακή πίεση;

0 βαθμοί	Όχι
2 βαθμοί	Ναι

7. Είχατε ποτέ υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα (π.χ. σε εξέταση, κατά τη διάρκεια μιας ασθένειας, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης)

0 βαθμοί	Όχι
5 βαθμοί	Ναι

8. Έχει κάποιο από τα μέλη της άμεσης οικογένειάς σας ή άλλος συγγενής διαγνωσθεί με διαβήτη (τύπου 1 ή τύπου 2);

0 βαθμοί	Όχι
3 βαθμοί	Ναι: παππούς, γιαγιά, θεία, θείος ή πρώτος εξάδελφος (αλλά όχι γονέας, αδελφός, αδελφή ή παιδί)
5 βαθμοί	Ναι: γονέας, αδελφός, αδελφή ή παιδί



Συνολικό σκορ κινδύνου

Ο κίνδυνος να αναπτύξετε Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 στη 10ετία είναι

< 7	Χαμηλός: εκτιμάται ότι 1 στους 100 θα αναπτύξουν τη νόσο
7-11	Ελαφρώς αυξημένος εκτιμάται ότι 1 στους 25 θα αναπτύξουν τη νόσο
12-14	Μέτρια: εκτιμάται ότι 1 στα 6 θα αναπτύξουν τη νόσο
15-20	Υψηλός: εκτιμάται ότι 1 στους 3 θα αναπτύξουν τη νόσο
>20	Πολύ υψηλός: εκτιμάται ότι 1 στους 2 θα αναπτύξουν τη νόσο

ΦΥΛΛΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

ΚΩΔΙΚΟΣ ΕΘΕΛΟΝΤΗ :

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΠΙΣΚΕΨΗΣ: ____ / ____ / ____

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ: ____ / ____ / ____

Νηστεία: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Λαμβάνετε φαρμακευτική αγωγή; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Παρακαλώ δηλώστε αν έχετε λάβει κάποιο φάρμακο πριν τη δειγματοληψία αίματος (το τελευταίο 24ωρο):

Φάρμακο	Αιτιολογία
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	

ΦΥΛΟ: Α ☐ Γ ☐

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: ____ / ____ / ____

ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ:

ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ:

Καταγωγή πατέρα:

Καταγωγή μητέρας:

Συγγνημένα αργεία στην κλινική καταγωγή:

1. Κλινικά δεδομένα
2. Ανθρωπομετρικά δεδομένα
3. Δεδομένα τρόπου ζωής
4. Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων
5. Ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας
6. Έντυπο Αξιολόγησης Κινδύνου για Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου II

Σχόλια:

- 1.
- 2.
- 3.

Δυσάρεστα Συμβάντα (ΔΣ) / Σοβαρά Δυσάρεστα Συμβάντα (ΣΔΣ)	Ημερομηνία
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	

ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

1. Ομάδα αίματος:.....

- Αρτηριακή πίεση / Καρδιακός ρυθμός
- Συστολική Αρτηριακή Πίεση:.....
- Διαστολική Αρτηριακή Πίεση:.....
- Καρδιακός ρυθμός (παλμοί ανά λεπτό):.....

2. Έμμηνος κύκλος

- Έχετε περίοδο; ☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
- Διάρκεια περιόδου
- Ηλικία πρώτης περιόδου
- Ηλικία τελευταίας περιόδου
- Είχατε ποτέ αμηνόρροια; ☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ (διάρκεια ηλικία αιτιολογία.....)
- Έχετε χρησιμοποιήσει ποτέ αντισυλληπτικά χάπια; ☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
- Υστερεκτομή? ☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
- Ορμόνες ☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
- Παιδιά.....
- Αρσενικά
- Θηλυκά

3. Φαρμακευτική αγωγή

Λαμβάνετε φαρμακευτική αγωγή ή ακολουθείτε κάποια θεραπεία (π.χ. χημειοθεραπεία, ραδιοθεραπεία)

☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ

Εάν ΝΑΙ

Όνομα φαρμάκου ή θεραπείας	Αιτιολογία	Συχνότητα

4. Χειρουργικές επεμβάσεις

Έχετε κάνει χειρουργική επέμβαση?

☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ

Εάν ΝΑΙ

Είδος χειρουργείου	Αιτιολογία	Χρονολογία χειρουργείου

5. Σας έχει πει ποτέ ο γιατρός σας ότι πάσχετε από:

Μη Αλκοολική Λιπώδη Διήθηση Ήπατος (NAFLD)	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Μη Αλκοολική Στεατοηπατίτιδα (NASH)	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Στεφανιαία Νόσο	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Σταθερή Σπηθαγγή	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Ασταθή Σπηθαγγή	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Έμφραγμα του Μυοκαρδίου	1. ☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ..... 2. ☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ.....	☐ ΟΧΙ
Καρδιακή Ανεπάρκεια	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Καρδιακή Αρρυθμία	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Θρόμβωση	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Εγκεφαλικό Επεισόδιο	☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ:.....	☐ ΟΧΙ
Υπερλιπιδαιμία	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Αρτηριακή Υπέρταση	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ
Σακχ. Διαβήτη Τύπου I	☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ:.....	☐ ΟΧΙ
Σακχ. Διαβήτη Τύπου II	☐ ΝΑΙ	☐ ΟΧΙ

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

1. Σωματικό Βάρος (Kg)

Παρόν Σωματικό Βάρος:.....

Νηστείας: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Σύνηθες Σωματικό Βάρος:

2. Ιστορικό

	Κιλά	Ηλικία	Χρονική Περίοδος	Αιτιολογία
Απώλεια Βάρους				
Αύξηση Βάρους				

Βάρος γέννησης:.....

3. Ύψος (m).....

4. Περίμετροι Σώματος (cm)

Περίμετρος Μέσης (cm):

Περίμετρος Ισχίου (cm):.....

5. Σύσταση Σώματος

Λιπώδης μάζα (Kg).....

Λιπώδης Μάζα (%).....

Μυϊκή Μάζα (Kg).....

Μυϊκή Μάζα (%).....

Οστική Μάζα (Kg).....

Οστική Μάζα (% Σωμ. Βάρους).....

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΤΡΟΠΟΥ ΖΩΗΣ

1 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

- Παντρεμένος/η ☐
- Διαζευγμένος/η ☐
- Σε διάσταση ☐
- Χήρος/α ☐
- Σταθερή σχέση ☐
- Ελεύθερος/η ☐

2 ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Χωρίς εκπαίδευση ☐
- Πρωτοβάθμια Εκπαίδευση ☐
- Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση ☐
- Τριτοβάθμια Εκπαίδευση ☐
- Άλλο ☐

Αριθμός συνολικών χρόνων εκπαίδευσης:.....

3 ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ

- Πλήρης απασχόληση – δημόσιος τομέας ☐
- Πλήρης απασχόληση – ιδιωτικός τομέας ☐
- Μερική απασχόληση – δημόσιος τομέας ☐
- Μερική απασχόληση – ιδιωτικός τομέας ☐
- Αυτοαπασχολούμενος ☐
- Οικιακά ☐
- Άνεργος ☐
- Συνταξιούχος ☐

Παρακαλούμε περιγράψτε το επάγγελμά σας:.....

ΚΑΠΝΙΣΜΑ

4 Ποια από τις παρακάτω προτάσεις σας εκφράζει καλύτερα;

- Καπνίζω καθημερινά ☐
- Καπνίζω περιστασιακά αλλά όχι καθημερινά ☐
- Συνήθιζα να καπνίζω καθημερινά αλλά το έχω σταματήσει ☐
- Συνήθιζα να καπνίζω περιστασιακά αλλά το έχω σταματήσει ☐
- Δεν κάπνισα ποτέ ☐

5 Σε ποια ηλικία ξεκινήσατε το κάπνισμα;.....

6 Εάν συνηθίζατε να καπνίζατε αλλά το έχετε σταματήσει, παρακαλώ απαντήστε στις ερωτήσεις:

Πριν πόσο διάστημα σταματήσατε το κάπνισμα?.....
Διάστημα που καπνίζατε (σε χρόνια).....

7 Εάν καπνίζετε, κάνετε....

- Τσιγάρο (με φίλτρο) ☐
- Τσιγάρο (χωρίς φίλτρο) ☐
- Πούρο ☐
- Άλλο ☐

παρακαλώ διευκρινίστε:

8 Αριθμός τσιγάρων ημερησίως.....

Ερωτηματολόγιο IPAQ (International Physical Activity Questionnaire) για την αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας

**ΔΙΕΘΝΕΣ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ
(Οκτώβριος 2002)**

ΕΚΤΕΝΗΣ ΜΟΡΦΗ 7 ΗΜΕΡΩΝ

Για χρήση σε νέους και μεσήλικες (15-69 ετών)

Το Διεθνές Ερωτηματολόγιο Σωματικής Δραστηριότητας (IPAQ) περιλαμβάνει ένα σύνολο 4 ερωτηματολογίων. Είναι διαθέσιμες η εκτενής (5 τομείς δραστηριότητας που ερωτώνται ανεξάρτητα) και η σύντομη (4 γενικά θέματα) έκδοση για χρήση είτε μέσω τηλεφώνου, είτε με μεθόδους αυτοδιαχείρισης. Σκοπός των ερωτηματολογίων είναι η παροχή συνήθων εργαλείων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απόκτηση διεθνώς συγκρίσιμων δεδομένων σωματικής δραστηριότητας που σχετίζονται με την υγεία.

Υπόβαθρο του IPAQ

Η ανάπτυξη μιας διεθνούς μονάδας μέτρησης της σωματικής δραστηριότητας ξεκίνησε στη Γενεύη το 1998. Ακολούθησαν εκτεταμένοι έλεγχοι αξιοπιστίας και εγκυρότητας που πραγματοποιήθηκαν σε 12 χώρες (14 τοποθεσίες) κατά τη διάρκεια του 2000. Το σύνολο των αποτελεσμάτων καταδεικνύουν ότι το παρόν ερωτηματολόγιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διαφορετικά περιβάλλοντα και γλώσσες, και είναι κατάλληλο για εθνικές πληθυσμιακές μελέτες επιπολασμού σχετικές με τη σωματική δραστηριότητα.

Χρησιμοποιώντας το IPAQ

Η χρήση των εργαλείων του IPAQ για σκοπούς παρακολούθησης και έρευνας ενθαρρύνεται. Προτείνεται να μη γίνονται αλλαγές στη σειρά ή στη διατύπωση των ερωτήσεων, καθώς αυτό μπορεί να επηρεάσει τις ψυχομετρικές ιδιότητες των εργαλείων.

Μετάφραση από τα Αγγλικά και Πολιτισμική Προσαρμογή

Η μετάφραση από τα Αγγλικά ενθαρρύνεται για να διευκολύνει την παγκόσμια χρήση του IPAQ. Πληροφορίες για τη διαθεσιμότητα του IPAQ σε διαφορετικές γλώσσες μπορούν να ληφθούν από το www.ipaq.ki.se. Εάν πραγματοποιηθεί μια καινούρια μετάφραση, συστήνουμε ιδιαίτερα τη χρήση των προβλεπόμενων μεθόδων της «προς τα πίσω» μετάφρασης που διατίθενται στην ιστοσελίδα του IPAQ. Εάν είναι δυνατό, παρακαλώ σκεφτείτε να διαθέσετε και σε άλλους τη μεταφρασμένη έκδοσή σας του IPAQ, προσφέροντάς την στην ιστοσελίδα του IPAQ. Περαιτέρω λεπτομέρειες για τη μετάφραση και την πολιτισμική προσαρμογή μπορούν να ληφθούν από την ιστοσελίδα.

Περισσότερες Πληροφορίες

Πιο λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τη διαδικασία του IPAQ και τις ερευνητικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάπτυξη των εργαλείων του IPAQ διατίθενται στο www.ipaq.ki.se και Booth, M.L. (2000). Assessment of Physical Activity: An International Perspective. Research Quarterly for Exercise and Sport, 71 (2): s114-20. Άλλες επιστημονικές δημοσιεύσεις και παρουσιάσεις σχετικά με τη χρήση του IPAQ συνοψίζονται στην ιστοσελίδα.

Διεθνές ερωτηματολόγιο σωματικής δραστηριότητας IPAQ

Οι ερωτήσεις αφορούν στο χρόνο που περάσατε σωματικά δραστήριος τις τελευταίες 7 ημέρες. Παρακαλώ απαντήστε σε κάθε ερώτηση, ακόμα και αν δεν θεωρείτε τον εαυτό σας ως ένα δραστήριο άτομο. Σκεφτείτε τις δραστηριότητες που κάνετε στη δουλειά, ως μέρος των δουλειών του σπιτιού και της αυλής, για να μετακινηθείτε από μέρος σε μέρος, και στον ελεύθερο χρόνο σας για ψυχαγωγία, άσκηση ή άθληση.

Σκεφτείτε όλες τις έντονες και μέτριας έντασης δραστηριότητες που κάνετε τις τελευταίες 7 ημέρες. Οι έντονες σωματικές δραστηριότητες αναφέρονται σε δραστηριότητες που απαιτούν έντονη σωματική προσπάθεια και σας κάνουν να αναπνέετε σημαντικά δυσκολότερα απ' ό,τι συνήθως. Οι μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες αναφέρονται σε δραστηριότητες που απαιτούν μέτρια σωματική προσπάθεια και σας κάνουν να αναπνέετε κάπως δυσκολότερα απ' ό,τι συνήθως.

ΜΕΡΟΣ 1: ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΣΧΕΤΙΚΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ

Το πρώτο μέρος είναι σχετικό με την εργασία σας. Αυτό περιλαμβάνει αμειβόμενα επαγγέλματα, αγροτικές εργασίες, εθελοντική εργασία, σπουδές και διάβασμα και όποια άλλη μη αμειβόμενη εργασία που κάνετε εκτός σπιτιού. Μην συμπεριλάβετε κάποια μη-αμειβόμενη εργασία που μπορεί να κάνετε γύρω από το σπίτι, όπως δουλειές του σπιτιού, δουλειές στην αυλή, γενική συντήρηση και φροντίδα της οικογένειάς σας. Αυτά ερωτώνται στο Μέρος 3.

1. Εργάζεστε αυτή την περίοδο ή κάνετε κάποια μη-αμειβόμενη εργασία εκτός σπιτιού;

☐

Ναι

☐

Όχι (Περάστε στο ΜΕΡΟΣ 2)

Οι επόμενες ερωτήσεις είναι για όλη τη σωματική δραστηριότητα που κάνετε τις τελευταίες 7 ημέρες ως μέρος της αμειβόμενης ή μη-αμειβόμενης εργασίας σας. Δεν περιλαμβάνεται η μετακίνηση από και προς τη δουλειά.

2. Στη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες ημέρες κάνετε έντονες σωματικές δραστηριότητες όπως να σηκώνετε βάρη, να σκάψατε, να κάνετε βαριές κατασκευές ή να ανεβήκατε σκάλες ως μέρος της δουλειάς σας; Σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που κάνετε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά.

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐

Καμία έντονη σωματική δραστηριότητα σχετική με τη δουλειά
Περάστε στην ερώτηση 4

3. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας έντονες σωματικές δραστηριότητες ως μέρος της δουλειάς σας;

_____ ώρες την ημέρα
_____ λεπτά την ημέρα

4. Ξανά, σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες, όπως κουβάλημα ελαφριών φορτίων ως μέρος της δουλειάς σας; Παρακαλώ μην συμπεριλάβετε το περπάτημα.

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐

Καμία μέτριας έντασης σωματική δραστηριότητα σχετική με τη δουλειά

Περάστε στην ερώτηση 6

5. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες ως μέρος της δουλειάς σας?

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

6. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες περπατήσατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά ως μέρος της δουλειάς σας; Παρακαλώ μην υπολογίσετε κάποιο περπάτημα για να κινηθείτε από και προς τη δουλειά.

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐

Καθόλου περπάτημα σχετικό με τη δουλειά

Περάστε στο ΜΕΡΟΣ 2

7. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες περπατώντας ως μέρος της δουλειάς σας;

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

ΜΕΡΟΣ 2: ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΕΙΣ Αυτές οι ερωτήσεις αφορούν στη μετακίνηση από μέρος σε μέρος, συμπεριλαμβανομένων και τοποθεσιών όπως η δουλειά, τα μαγαζιά, ο κινηματογράφος κ.α.

8. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες μετακινηθήκατε με αυτοκινούμενο όχημα όπως τρένο, λεωφορείο, αυτοκίνητο ή τραμ;

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐

Καμία μετακίνηση με αυτοκινούμενο όχημα

Περάστε στην ερώτηση 10

9. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες ταξιδεύοντας σε ένα τρένο, λεωφορείο, αυτοκίνητο, τραμ ή άλλο είδος αυτοκινούμενου οχήματος;

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

Τώρα σκεφτείτε μόνο την **ποδηλασία** και το **περπάτημα** που μπορεί να κάνετε για να πάτε από και προς τη δουλειά, για να κάνετε εξωτερικές δουλειές, ή για να πάτε από μέρος σε μέρος.

- 10. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε ποδήλατο για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά για να πάτε από μέρος σε μέρος;**

_____ μέρες την εβδομάδα

☐ Καθόλου ποδηλασία από μέρος σε μέρος
Περάστε στην ερώτηση 12

- 11. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες για να κάνετε ποδήλατο από μέρος σε μέρος;**

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

- 12. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες περπατήσατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά για να πάτε από μέρος σε μέρος;**

_____ μέρες την εβδομάδα

☐ Καθόλου περπάτημα από μέρος σε μέρος
Περάστε στο ΜΕΡΟΣ 3

- 13. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες για να περπατήσετε από μέρος σε μέρος;**

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

ΜΕΡΟΣ 3: ΔΟΥΛΕΙΕΣ ΣΠΙΤΙΟΥ, ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΣΠΙΤΙΟΥ ΚΑΙ ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ Αυτό το μέρος είναι για σωματικές δραστηριότητες που κάνατε τις τελευταίες 7 ημέρες μέσα και γύρω από το σπίτι; συντήρηση σπιτιού, κηπουρική, αυλή, και φροντίδα οικογένειάς.

- 14. Σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε έντονες σωματικές δραστηριότητες όπως να σηκώνετε βαριά φορτία, να κόψετε ξύλα, να φτυαρίζετε χιόνι ή να σκάψετε στον κήπο ή στην αυλή;**

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐ Καμία έντονη σωματική δραστηριότητα στον κήπο ή στην αυλή
Περάστε στην ερώτηση 16

- 15. Πόσο χρόνο περάσατε μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας έντονες σωματικές δραστηριότητες στον κήπο ή στην αυλή;**

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

16. Σκεφτείτε μόνο τις δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά/ φορά. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε μέτριας έντασης δραστηριότητες (κουβάλημα ελαφρών φορτίων, σκούπισμα, καθάρισμα τζαμιών, σκάλισμα σε κήπο ή αυλή;)

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐ Καμία μέτριας έντασης σωματική δραστηριότητα στον κήπο ή στην αυλή
Περάστε στην ερώτηση 18

17. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες στον κήπο ή στην αυλή;

_____ ώρες την ημέρα
_____ λεπτά την ημέρα

18. Ακόμα μία φορά, σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες, όπως κουβάλημα ελαφρών φορτίων, καθάρισμα τζαμιών, τρίψιμο δαπέδων και σκούπισμα μέσα στο σπίτι;

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐ Καμία μέτριας έντασης σωματική δραστηριότητα μέσα στο σπίτι
Περάστε στο ΜΕΡΟΣ 4

19. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες μέσα στο σπίτι;

_____ ώρες την ημέρα
_____ λεπτά την ημέρα

ΜΕΡΟΣ 4: ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΨΥΧΑΓΩΓΙΑ, ΑΘΛΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΥΘΕΡΟ ΧΡΟΝΟ Αφορά σε δραστηριότητες που κάνατε τις τελευταίες 7 ημέρες για ψυχαγωγία, άθληση, άσκηση ή στον ελεύθερο χρόνο, όχι αυτές που έχετε ήδη αναφέρει.

20. Χωρίς να υπολογίσετε το περπάτημα που έχετε ήδη αναφέρει, τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες περπατήσατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά στον ελεύθερο χρόνο σας;

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐ Καθόλου περπάτημα στον ελεύθερο χρόνο
Περάστε στην ερώτηση 22

21. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες περπατώντας στον ελεύθερο χρόνο σας;

_____ ώρες την ημέρα
_____ λεπτά την ημέρα

22. Σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά τη φορά. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε έντονες σωματικές δραστηριότητες όπως αεροβική, τρέξιμο, γρήγορη ποδηλασία, ή γρήγορη κολύμβηση στον ελεύθερο χρόνο σας;

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐

Καμία έντονη δραστηριότητα στον ελεύθερο χρόνο

Περάστε στην ερώτηση 24

23. Πόσο χρόνο περάσατε συνήθως μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας έντονες σωματικές δραστηριότητες στον ελεύθερο χρόνο σας;

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

24. Σκεφτείτε τις σωματικές δραστηριότητες που κάνατε για τουλάχιστον 10 λεπτά/ φορά. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε μέτριας έντασης δραστηριότητες (ποδηλασία ή κολύμβηση σε φυσιολογικό ρυθμό, διπλό τένις) στον ελεύθερο χρόνο σας;

_____ ημέρες την εβδομάδα

☐

Καμία μέτριας έντασης δραστηριότητα στον ελεύθερο χρόνο

Περάστε στο ΜΕΡΟΣ 5

25. Πόσο χρόνο περάσατε μία από αυτές τις ημέρες κάνοντας μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες στον ελεύθερο χρόνο σας;

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

ΜΕΡΟΣ 5: ΧΡΟΝΟΣ ΠΟΥ ΠΕΡΑΣΑΤΕ ΚΑΘΙΣΜΕΝΟΣ Αφορούν στο χρόνο που περάσατε καθισμένος στη δουλειά, στο σπίτι, διαβάζοντας, ελεύθερος χρόνος. Περιλαμβάνει το χρόνο που περάσατε καθισμένος σε γραφείο, επίσκεψη σε φίλους, διαβάζοντας ή ξαπλωμένος μπροστά σε τηλεόραση. ΌΧΙ καθισμένος σε ένα όχημα για τον οποίο έχετε ήδη απαντήσει.

26. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσο χρόνο περάσατε συνήθως καθισμένος μία καθημερινή;

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

27. Τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσο χρόνο περάσατε συνήθως καθισμένος μία ημέρα του Σαββατοκύριακου;

_____ ώρες την ημέρα

_____ λεπτά την ημέρα

**ΔΙΕΘΝΕΣ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ
(Αύγουστος 2002)**

ΣΥΝΤΟΜΗ ΤΗΛΕΦΩΝΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΤΕΛΕΥΤΑΙΩΝ 7 ΗΜΕΡΩΝ

Για χρήση σε Νέους και Μεσήλικες (15-69 ετών)

Το Διεθνές Ερωτηματολόγιο Σωματικής Δραστηριότητας (International Physical Activity Questionnaire, IPAQ) αποτελεί ένα σύνολο 4 ερωτηματολογίων. Είναι διαθέσιμη η εκτεταμένη (5 πεδία δραστηριότητας που ερωτώνται ανεξάρτητα) και η σύντομη (4 γενικά στοιχεία) έκδοση για χρήση είτε μέσω τηλεφώνου είτε μέσω μεθόδων αυτοδιαχείρισης. Ο σκοπός των ερωτηματολογίων είναι να παράσχουν κοινά εργαλεία που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αποκτηθούν διεθνώς συγκρίσιμα δεδομένα σχετικά με τη σωματική δραστηριότητα που σχετίζεται με τη νόσο.

Υπόβαθρο του IPAQ

Η ανάπτυξη ενός διεθνούς μέτρου για τη σωματική δραστηριότητα ξεκίνησε στη Γενεύη το 1998 και ακολουθήθηκε από εκτεταμένο έλεγχο αξιοπιστίας και εγκυρότητας που επιχειρήθηκε σε 12 χώρες (14 τοποθεσίες) κατά τη διάρκεια του 2000. Τα τελικά αποτελέσματα προτείνουν ότι αυτά τα μέτρα έχουν αποδεκτές ιδιότητες μέτρησης για χρήση σε διάφορες τοποθεσίες και σε διαφορετικές γλώσσες, και είναι κατάλληλα για πληθυσμιακές μελέτες επιπολασμού σε εθνικό επίπεδο για τη συμμετοχή στη σωματική δραστηριότητα.

Χρησιμοποιώντας το IPAQ

Ενθαρρύνεται η χρήση των εργαλείων του IPAQ για σκοπούς παρακολούθησης και έρευνας. Συνιστάται να μην γίνουν αλλαγές στη σειρά ή στη διατύπωση των ερωτήσεων καθώς αυτό θα επηρεάσει τις ψυχομετρικές ιδιότητες των εργαλείων.

Μετάφραση από τα Αγγλικά και Πολιτισμική Προσαρμογή

Η μετάφραση από τα Αγγλικά στηρίζεται για να διευκολύνει την παγκόσμια χρήση του IPAQ. Πληροφορίες για τη διαθεσιμότητα του IPAQ σε διάφορες γλώσσες μπορούν να ληφθούν στο <http://www.ipaq.ki.se>. Αν επιχειρηθεί μία νέα μετάφραση συνιστούμε ιδιαίτερα τη χρήση των προβλεπόμενων μεθόδων της προς τα πίσω μετάφρασης που διατίθενται στην ιστοσελίδα του IPAQ. Αν είναι εφικτό παρακαλείσθε να λάβετε υπ' όψιν να κάνετε τη μεταφρασμένη σας έκδοση του IPAQ διαθέσιμη στους άλλους συμβάλλοντάς τη στην ιστοσελίδα του IPAQ. Περαιτέρω λεπτομέρειες για τη μετάφραση και την πολιτισμική προσαρμογή μπορούν να ληφθούν από την ιστοσελίδα.

Εισαγωγή Δεδομένων και Κωδικοποίηση

Στις κατηγορίες των απαντήσεων για κάθε ερώτηση επισυνάπτονται προτεινόμενα ονόματα μεταβλητών και έγκυρες κλίμακες για να βοηθήσουν στη διαχείριση των δεδομένων και στην εκπαίδευση των ερευνητών. Συνιστούμε να καταγράφεται η πραγματική απάντηση που δίνεται από τον ερωτώμενο. Για παράδειγμα, "120 λεπτά" καταγράφεται στο πεδίο απάντησης των λεπτών. "Δύο ώρες" θα πρέπει να καταγραφεί ως "2" στη στήλη των ωρών. Η απάντηση "μιάμιση ώρα" θα πρέπει να καταγραφεί ως "1" στη στήλη της ώρας και "30" στη στήλη των λεπτών.

Περαιτέρω Βελτιώσεις του IPAQ

Διεθνής συνεργασία για το IPAQ είναι εν εξέλιξη και μία Διεθνής Μελέτη Επιπολασμού για τη Σωματική Δραστηριότητα (International Physical Activity Prevalence Study) είναι υπό εξέλιξη. Για περαιτέρω πληροφορίες δείτε την ιστοσελίδα του IPAQ.

Περαιτέρω Πληροφορίες

Λεπτομερέστερες πληροφορίες για τη διεργασία του IPAQ και τις ερευνητικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάπτυξη των εργαλείων του IPAQ διατίθενται στο <http://www.ipaq.ki.se> και Booth, M.L. (2000). Assessment of Physical Activity: An International Perspective. Research Quarterly for Exercise and Sport, 71 (2): s114-20. Άλλες επιστημονικές δημοσιεύσεις και παρουσιάσεις σχετικά με τη χρήση του IPAQ συνοψίζονται στην ιστοσελίδα.

Σύντομο Τηλεφωνικό ΙΡΑQ Τελευταίων 7 Ημερών

Πρόκειται να σας ρωτήσω σχετικά με το χρόνο που δαπανήσατε όντας σωματικά δραστήριος τις τελευταίες 7 ημέρες. Παρακαλώ απαντήστε κάθε ερώτηση ακόμα και αν δεν θεωρείτε τον εαυτό σας δραστήριο άτομο. Σκεφτείτε τις δραστηριότητες που πραγματοποιείτε στην εργασία σας, ως μέρος των εργασιών του σπιτιού και του κήπου, για να πάτε από το ένα μέρος στο άλλο, και στον ελεύθερο χρόνο σας για ψυχαγωγία, άσκηση ή αθλητισμό.

- 1. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες ημέρες κάνατε έντονες σωματικές δραστηριότητες;** [Οι έντονες δραστηριότητες μας κάνουν να αναπνέουμε πολύ πιο έντονα από το κανονικό και μπορεί να περιλαμβάνουν άρση βαρέων αντικειμένων, σκάψιμο, αεροβική άσκηση, ή γρήγορη ποδηλασία. Σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που πραγματοποιείτε για τουλάχιστον 10min κάθε φορά. Σε απάντηση μηδέν, άρνηση ή «δεν γνωρίζω», >> Ερώτηση 3]

___ Ημέρες ανά εβδομάδα [VDAY; Range 0-7, 8,9]

8. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

9. Αρνήθηκε

- 2. Πόσο χρόνο δαπανήσατε συνήθως κάνοντας έντονες σωματικές δραστηριότητες σε μία από αυτές τις ημέρες;** [Σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που πραγματοποιήσατε για τουλάχιστον 10min κάθε φορά.

___ Ώρες ανά ημέρα [VDHRS; Range 0-16]

___ Λεπτά ανά ημέρα [VDMIN; Range 0-960, 998, 999]

998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

999. Αρνήθηκε

[Αν ο ερωτώμενος δεν μπορεί να απαντήσει επειδή το μοτίβο του δαπανηθέντος χρόνου ποικίλει σημαντικά από μέρα σε μέρα]

Πόσο χρόνο συνολικά δαπανήσατε τις τελευταίες 7 ημέρες κάνοντας έντονες σωματικές δραστηριότητες;

___ Ώρες ανά εβδομάδα [VWHRS; Range 0-112]

___ Λεπτά ανά εβδομάδα [VWMIN; Range 0-6720, 9998, 9999]

9998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

9999. Αρνήθηκε

- 3. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες ημέρες πραγματοποιήσατε μέτριες σωματικές δραστηριότητες;** [Οι μέτριες σωματικές δραστηριότητες μας κάνουν να αναπνεύουμε κάπως πιο έντονα από το κανονικό και μπορεί να περιλαμβάνουν μεταφορά ελαφρών φορτίων, ποδηλασία σε κανονικό ρυθμό, ή διπλό τένις. Μην συμπεριλάβετε το περπάτημα. Και πάλι, σκεφτείτε μόνο εκείνες τις σωματικές δραστηριότητες που πραγματοποιήσατε για τουλάχιστον 10 λεπτά κάθε φορά. Σε απάντηση μηδέν, άρνηση ή «δεν γνωρίζω», >> Ερώτηση 5].

___ Ημέρες ανά εβδομάδα [MDAY; Range 0-7, 8,9]

8..... Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

9..... Αρνήθηκε

- 4. Πόσο χρόνο δαπανήσατε συνήθως κάνοντας μέτριες σωματικές δραστηριότητες σε μία από αυτές τις ημέρες;**

___ Ώρες ανά ημέρα [MDHRS; Range 0-16]

___ Λεπτά ανά ημέρα [MDMIN; Range 0-960, 998, 999]

998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

999. Αρνήθηκε

[Αν ο ερωτώμενος δεν μπορεί να απαντήσει επειδή το μοτίβο του δαπανηθέντος χρόνου ποικίλει σημαντικά από μέρα σε μέρα]

Πόσο χρόνο συνολικά δαπανήσατε τις τελευταίες 7 ημέρες κάνοντας μέτριες σωματικές δραστηριότητες;

___ Ώρες ανά εβδομάδα [MWHRS; Range 0-112]

___ Λεπτά ανά εβδομάδα [MWMIN; Range 0-6720, 9998, 9999]

9998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

9999. Αρνήθηκε

- 5. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσες ημέρες περπατήσατε για τουλάχιστον 10 λεπτά κάθε φορά;** [ο χρόνος αφορά σε αυτόν που δαπανήσατε περπατώντας σε εργασία και σπίντ, περπάτημα για μετακίνηση, άλλο περπάτημα που έχετε πραγματοποιήσει για ψυχαγωγία, άσκηση, ή στον ελεύθερο χρόνο. Σε απάντηση μηδέν, άρνηση ή «δεν γνωρίζω», >> Ερώτηση 7]

___ Ημέρες ανά εβδομάδα [WDAY; Range 0-7, 8,9]

8. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

9. Αρνήθηκε

6. Πόσο χρόνο δαπανήσατε περπατώντας σε μία από αυτές τις ημέρες;

- ___ Ώρες ανά ημέρα [WDHRS; Range 0-16]
___ Λεπτά ανά ημέρα [WDMIN; Range 0-960, 998, 999]

998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

999. Αρνήθηκε

[Αν ο ερωτώμενος δεν μπορεί να απαντήσει επειδή το μοτίβο του δαπανηθέντος χρόνου ποικίλει σημαντικά από μέρα σε μέρα]

Πόσο χρόνο συνολικά δαπανήσατε περπατώντας τις τελευταίες 7 ημέρες;

- ___ Ώρες ανά εβδομάδα [WWHRS; Range 0-112]
___ Λεπτά ανά εβδομάδα [WWMIN; Range 0-6720, 9998, 9999]

9998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

9999. Αρνήθηκε

7. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 7 ημερών, πόσο χρόνο δαπανήσατε καθισμένος (τυπική καθημερινή ημέρα της εβδομάδας); [ο χρόνος που δαπανήσατε καθισμένος, ή ξαπλωμένος όχι κοιμώμενος: στην εργασία, στο σπίτι, κάνοντας εργασίες, και κατά τη διάρκεια του ελεύθερου χρόνου, σε γραφείο, σε επίσκεψη φίλων, διαβάζοντας, καθισμένος ή για να δείτε τηλεόραση.

- ___ Ώρες ανά ημέρα [SDHRS; Range 0-16]
___ Λεπτά ανά ημέρα [SDMIN; Range 0-960, 998, 999]

998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

999. Αρνήθηκε

[Αν ο ερωτώμενος δεν μπορεί να απαντήσει επειδή το μοτίβο του δαπανηθέντος χρόνου ποικίλει σημαντικά από μέρα σε μέρα]

Πόσο χρόνο συνολικά δαπανήσατε καθισμένος την περασμένη Τετάρτη;

- ___ Ώρες την Τετάρτη [SWHRS; Range 0-16]
___ Λεπτά ανά εβδομάδα [SWMIN; Range 0-960, 998, 999]

998. Δεν γνωρίζω/Δεν είμαι σίγουρος

999. Αρνήθηκε