



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

**Αλλαγές στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης και του παράγοντα νέκρωσης των
όγκων-α (TNF-α) στην κυκλοφορία μετά από διατροφική παρέμβαση με
φυσική μαστίχα Χίου: Μελέτη σε παχύσαρκους ασθενείς με μη-αλκοολική
λιπώδη νόσο του ήπατος (NAFLD)**

Διπλωματική εργασία

ΓΚΙΝΗ ΑΦΡΟΔΙΤΗ

Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΜΣ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Νικόλαος Γιαννακούρης (Επιβλέπων)

Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής,

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Γεώργιος Δεδούσης

Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής,

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ανδριάννα Καλιώρα

Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής,

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η Αφροδίτη Γκίνη 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 προσβάλει 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.

Πίνακας περιεχομένων

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ABSTRACT	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ	12
1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ	12
1.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	14
1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	15
1.3.1. ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ	15
1.3.2. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	16
1.3.3. ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ	16
1.3.4. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2	17
1.3.5. ΥΠΕΡΤΑΣΗ	17
1.3.6. ΦΥΛΟ	17
1.3.7. ΗΛΙΚΙΑ	18
1.3.8. ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ	18
1.3.9. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	18
1.4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	20
1.4.1. ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	22
1.4.2. DE NOVO ΛΙΠΟΓΕΝΕΣΗ	22
1.4.3. ΛΙΠΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ	23
1.4.4. ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	23
1.4.5. ΣΤΡΕΣ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ	24
1.4.6. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	24
1.4.7. ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ	25
1.4.8. ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ	26
1.5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ	26
1.5.1. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ - ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	27
1.5.2. ΒΙΟΨΙΑ ΗΠΑΤΟΣ	28
1.5.3. ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ	29
1.5.4. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	29
1.6. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ NAFLD	32
1.6.1. ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΖΩΗΣ	32
1.6.2. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ	33
1.6.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ-ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ	33

1.6.4. ΒΑΡΙΑΤΡΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ.....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ	35
2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	35
2.2. ΤΟ ΜΑΣΤΙΧΟΔΕΝΤΡΟ.....	35
2.2.1. Η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ	36
2.3. ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	36
2.4. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	37
2.5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΑΣΤΙΧΑΣ.....	37
2.6. ΤΕΡΠΕΝΙΑ	38
2.7. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	38
2.8. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	39
2.9. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ.....	40
2.10. ΑΛΛΕΣ ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ.....	42
3.1 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ.....	42
3.1.1 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ NAFLD.....	43
3.1.2 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	44
3.1.3 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	44
3.1.4 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ.....	45
3.1.5 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ.....	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: TNF- α	46
4.1. TNF- α	46
4.1.2. TNF- α ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	47
4.1.3. TNF- α ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	47
4.1.4. Η ΣΧΕΣΗ ΤΟΥ TNF- α ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ	48
4.1.5. TNF- α ΚΑΙ NAFLD.....	48
4.1.6. Ο TNF- α ΩΣ ΠΙΘΑΝΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΗ NAFLD	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΚΟΠΟΣ – ΔΙΑΤΥΠΩΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΥΠΟΘΕΣΗΣ	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	52
6.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ MAST4HEALTH.....	52
6.2. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	52
6.3. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	53
6.3.1 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	55
6.3.2. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	56
6.3.3. ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (MRI)	56

6.3.4. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ – ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	57
6.5. ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗΣ	57
6.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΚΑΙ TNF- α	58
6.6.1. ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	59
6.6.2. TNF- α	59
6.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	60
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	61
7.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	61
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΖΗΤΗΣΗ	66
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	70
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	89

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

4-HNE	4-Hydroxynonenal
ACC	Acetyl-CoA Carboxylase
Acrp30	Antipocyte complement-related protein of 30kDa
ALP	Αλκαλική Φωσφατάση
ALT	Αμινοτρανσφεράση της Αλανίνης
AMPK	AMP-activated protein kinase
apM1	Adipose Most Abundant Gene transcript 1
AST	Ασπαρτική Αμινοτρανσφεράση
ATF6	Activating transcription factor 6
BMI	Body Mass Index
CCL2	CC-προσδέτη χημειοκίνης-2
cDNA	complementary DNA
CT	Computed Tomography
DNL	De novo lipogenesis
ELF	European Liver Fibrosis Test
FC	Free Cholesterol
FFA	Free Fatty Acids
GBP28	gelatin-binding protein of 28 kDa
GCKR	Glucokinase Regulatory
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HDL	High Density Lipoprotein
HMW	High Molecular Weight
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance
IL-6	Interleukin-6
IR	Insulin Resistance
IRE1a	Inositol-requiring protein 1a
LMW	Low Molecular Weight
MDA	Malondialdehyde
MMW	Medium Molecular Weight
MRE	Magnetic resonance elastography
MRS	Magnetic resonance spectroscopy
MUFA	Monounsaturated Fatty Acids
NAFLD	Non Alcoholic Fatty Liver Disease
NAS	NAFLD Activity Score
NASH	Non Alcoholic Steatohepatitis
NF-kB	Nuclear Factor- kB
NFS	NAFLD Fibrosis Score
PERK	Protein kinase RNA-like ER kinase
PNPLA3	Patatin-like phospholipase domain-containing-3
PPARs	Peroxisome proliferator activated receptors
PUFAs	Polyunsaturated Fatty Acids
RNS	Δραστικές μορφές αζώτου
ROS	Reactive Oxygen Species
SFA	Saturated Fatty Acids
SREBP-1c	Sterol regulatory element-binding protein 1
TG	Triglycerides
TLR4	Toll-like receptor 4
TM6SF2	Transmembrane 6 Superfamily Member 2
TNF-α	Tumor Necrosis Factor - α

UPR
VLDL
WHR
γ-GT
ΔΜΣ
ΕΔ
ΣΔ2

Unfolded Protein Response
Very Low Density Lipoprotein
Waist to Hip ratio
γ-γλουταμυλοτρανσφεράση
Δείκτης Μάζας Σώματος
Ενδοπλασματικό Δίκτυο
Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η μη-αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) είναι η πλέον διαδεδομένη μορφή χρόνιας ηπατικής νόσου στον κόσμο. Η NAFLD παρουσιάζει ένα ιστολογικό φάσμα που κυμαίνεται από την ήπια στεάτωση έως την πιο επιθετική φλεγμονώδη μορφή, τη μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH), η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε ίνωση και σε κίρρωση του ήπατος. Οι κυτταροκίνες αντιπονεκτίνη και παράγοντας νέκρωσης των όγκων- α (TNF- α) φαίνεται να σχετίζονται με την κατάσταση φλεγμονής στην οποία βρίσκεται ένας παχύσαρκος ασθενής με NAFLD. Η μαστίχα Χίου είναι φυσική ρητίνη πλούσια σε τερπενοειδή, έχει αντιοξειδωτική, καρδιοπροστατευτική, αντινεοπλασματική και αντιμικροβιακή δράση, ωστόσο, οι πιθανές ευεργετικές δράσεις της σε σχέση με τη φλεγμονή σε ασθενείς με NAFLD δεν έχουν μελετηθεί.

Σκοπός: Η διερεύνηση πιθανών αλλαγών στα επίπεδα αντιπονεκτίνης και TNF- α στην κυκλοφορία μετά από εξάμηνη διατροφική παρέμβαση με χορήγηση συμπληρώματος φυσικής μαστίχας Χίου (2.1γρ./ημέρα) σε παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD. Η παρέμβαση έγινε στο πλαίσιο της μελέτης MAST4HEALTH, μιας διπλά τυφλής τυχαιοποιημένης έναντι εικονικού συμπληρώματος κλινικής δοκιμής.

Μεθοδολογία: Στη μελέτη συμμετείχαν 22 παχύσαρκοι ασθενείς (14 άνδρες και 8 γυναίκες, ηλικίας 48.7 ± 7.7 ετών) με διαγνωσμένη NAFLD/NASH μέσω μαγνητικής τομογραφίας ήπατος και του λογισμικού LiverMultiScan, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες (ομάδες Placebo και Verum). Για όλους τους εθελοντές συλλέχθηκαν στοιχεία αναφορικά με ανθρωπομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς επίσης και τις συνήθειες του τρόπου ζωής. Οι συγκεντρώσεις αντιπονεκτίνης και TNF- α ορού μετρήθηκαν με την ανοσοενζυμική δοκιμασία ELISA πριν και μετά από την εξάμηνη παρέμβαση. Για τις συσχετίσεις των επιπέδων των κυτταροκινών με ανθρωπομετρικές, κλινικές και διατροφικές παραμέτρους χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικά και παραμετρικά τεστ ενώ η ύπαρξη διαφορών στα επίπεδα των κυτταροκινών μεταξύ των ομάδων μετά την παρέμβαση πραγματοποιήθηκε με ανάλυση συνδιακύμανσης ANCOVA.

Αποτελέσματα: Τα άτομα των δύο ομάδων δεν διέφεραν ως προς την ηλικία, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ή κλινικές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων των δεικτών πρόβλεψης και βαρύτητας της νόσου (NFS score, FIB-4 score, LIF score, Liver fat). Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις αντιπονεκτίνης και TNF- α στον ορό πριν από την έναρξη της παρέμβασης δεν διέφεραν ανάμεσα στις δύο ομάδες. Τα επίπεδα αντιπονεκτίνης ορού συσχετίζονταν αρνητικά με δείκτες παχυσαρκίας, όπως η περίμετρος μέσης ($\rho = -0.549$, $p=0.004$) και ο λόγος περιφέρειας μέσης/ισχύων ($\rho = -0.525$, $p=0.012$), και αρνητικά με τις συγκεντρώσεις ινσουλίνης ($\rho = -0.495$, $p=0.019$) και τον HOMA-IR ($\rho = -0.482$, $p=0.023$), ενώ θετική

συσχέτιση βρέθηκε με την HDL-χοληστερόλη ($\rho = 0.568$, $p=0.006$). Καμία συσχέτιση των επιπέδων TNF- α στον ορό με τα ανθρωπομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά των εθελοντών δεν παρατηρήθηκε. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα των αντιγονεκτίνης και TNF- α πριν και μετά την παρέμβαση για καμία από τις δύο ομάδες παρέμβασης (Placebo, Verum). Τέλος, από την ανάλυση συνδιακύμανσης ANCOVA δεν αναδείχθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα επίπεδα αντιγονεκτίνης ($p=0.505$) και TNF- α ($p=0.926$) μεταξύ των δύο ομάδων παρέμβασης.

Συμπέρασμα: Η εξάμηνη παρέμβαση με φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας Χίου σε παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD/NASH δεν φάνηκε να επηρεάζει τα επίπεδα αντιγονεκτίνης και TNF- α ορού. Ωστόσο, λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη, η διερεύνηση πιθανών αλλαγών στα επίπεδα των δύο κυτταροκινών, καθώς και σε άλλους δείκτες φλεγμονής, θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω σε ένα μεγαλύτερο δείγμα ασθενών.

Λέξεις Κλειδιά: Μη Αλκοολική Λιπώδης Νόσος Ήπατος, Μαστίχα, Αντιγονεκτίνη, TNF- α

ABSTRACT

Introduction: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is the most widespread form of chronic liver disease in the world. NAFLD presents a histological spectrum, ranging from mild steatosis to its most aggressive inflammatory form, non-alcoholic steatohepatitis (NASH), which can develop into liver fibrosis and cirrhosis. Adiponectin and tumor necrosis factor- α (TNF- α) are cytokines that play an important role in inflammation, a condition present in obese patients with NAFLD. Chios mastiha is a natural resin rich in terpenoids, with antioxidant, cardioprotective, antineoplastic and antimicrobial properties. However, the potential beneficial effect of Chios mastiha supplementation on markers of inflammation in patients with NAFLD has not been studied.

Aim: To investigate the potential beneficial effects of a six-month dietary intervention with Chios mastiha supplementation (2.1g/day) on adiponectin and TNF- α levels in obese patients with NAFLD. The study was part of the multicenter MAST4HEALTH study, a double-blind randomized versus placebo-controlled clinical trial.

Methods: Participants of the study were 22 obese patients with NAFLD/NASH (14 men and 8 women, aged 48.7 ± 7.7 years), who were diagnosed via liver MRI using LiverMultiScan software. Patients were randomized into two groups (Placebo/Verum). For all patients, data on anthropometric, clinical characteristics and lifestyle habits were collected. Serum concentrations of adiponectin and TNF- α were measured before and after the six-month intervention using ELISA immunoassay. Correlations of cytokine levels with anthropometric, clinical and dietary parameters were tested using non-parametric and parametric tests, while differences in cytokine levels after the intervention between the two groups were tested using analysis of covariance (ANCOVA).

Results: Patients in the two groups did not differ in age, anthropometric or clinical parameters, including markers of disease prediction and severity (i.e. the NFS score, FIB-4 score, LIF score and liver fat). In addition, pre-intervention concentrations of serum adiponectin and TNF- α did not differ between the two groups. Serum adiponectin levels correlated negatively with markers of obesity, such as waist circumference ($\rho = -0.549$, $p = 0.004$) and the waist-to-hip ratio ($\rho = -0.525$, $p = 0.012$), as well as with insulin concentrations ($\rho = -0.495$, $p = 0.019$) and the HOMA-IR index ($\rho = -0.482$, $p = 0.023$), while a positive correlation was also observed with HDL-cholesterol levels ($\rho = 0.568$, $p = 0.006$). In contrast, no significant association of serum TNF- α levels with anthropometric and clinical parameters was found. In addition, no statistically significant changes in serum adiponectin and TNF- α levels after the intervention were observed

for both the two intervention groups (Placebo, Verum). Finally, results of the ANCOVA analysis revealed no statistically significant differences between the two intervention groups for both adiponectin ($p=0.505$) and TNF- α ($p=0.926$).

Conclusion: A six-month intervention with natural Chios mastiha supplementation in obese patients with NAFLD/NASH was not found to affect circulating levels of adiponectin and TNF- α . However, due to the small number of patients participating in this study, further research with larger sample sizes need to be conducted to explore potential changes in serum levels of the two cytokines, as well as in other inflammation markers.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease, Mastiha, Adiponectin, TNF- α

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) ορίζεται από την παρουσία ηπατικής στεάτωσης σε ποσοστό $>5\%$ των ηπατοκυττάρων και δε συνοδεύεται από υπέρμετρη κατανάλωση αλκοόλ ή χρήση φαρμακευτικής αγωγής (1). Χαρακτηρίζεται δηλαδή από την αυξημένη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ και συνδέεται με την ινσουλινοαντίσταση (IR). Αποτελεί την πιο κοινή αιτία χρόνιας ηπατοπάθειας (2), με επιπολασμό που κυμαίνεται στο 20-30% του πληθυσμού των δυτικών χωρών (3). Πρόκειται για μία περίπλοκη νόσο που περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα εκδηλώσεων:

- Απλή στεάτωση χαρακτηριζόμενη από συσσώρευση λίπους, ειδικότερα τριγλυκεριδίων στο ηπατοκύτταρο
- Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (Non-alcoholic steatohepatitis - NASH) με φλεγμονή
- Ηπατοκυτταρικό τραυματισμό (ballooning) με ή χωρίς ίνωση, εξελισσόμενη σε τελικού σταδίου
- Ηπατική νόσο με κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (4) (5).

Μια ήπια στεάτωση αφορά βλάβη σε $<30\%$ των ηπατοκυττάρων, ενώ η σοβαρή στεάτωση αφορά βλάβη έως και ποσοστό 60% των ηπατοκυττάρων. Η απλή στεάτωση συνήθως εξελίσσεται αργά και δεν αποτελεί κίνδυνο για τον ασθενή. Αντίθετα η στεατοηπατίτιδα (NASH) μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (1).

Πιο συγκεκριμένα η ύπαρξη της NAFLD ορίζεται υπό την παρουσία των εξής παραγόντων :

- Παρουσία ηπατικής στεάτωσης, είτε απεικονιστικά είτε ιστολογικά και
- Απουσία αιτίας δευτεροπαθούς ηπατικής συσσώρευσης λίπους, όπως σημαντική κατανάλωση αλκοόλ, χρήση φαρμακευτικής αγωγής με αντίστοιχη δράση ή κληρονομικές διαταραχές.

Η περιορισμένη κατανάλωση αλκοόλ για τους άνδρες ορίζεται ως λιγότερο ή ίσο των 30γρ./ημέρα και για τις γυναίκες 20γρ./ημέρα (6).

Οι πρώτες αναφορές για την NAFLD έγιναν στις αρχές του 1960 όταν παρατηρήθηκε συσσώρευση τριγλυκεριδίων (TG) στο ήπαρ ατόμων που δεν κατανάλωναν σημαντικές

ποσότητες αλκοόλ. Αργότερα το 1980 οι Ludwig *et al.* ονόμασαν την παθολογική αυτή κατάσταση ως μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (non alcoholic steatohepatitis, NASH). Μεταγενέστερα η NAFLD έχει χρησιμοποιηθεί ως γενική ονομασία για καταστάσεις που κυμαίνονται από απλή στεάτωση έως στεατοηπατοπάθεια και κίρρωση (ηπατική νόσο τελικού σταδίου) (7).

Η NAFLD αντιπροσωπεύει μια ομάδα κλινικών καταστάσεων που κυμαίνονται από απλή ηπατική στεάτωση, συνήθως ασυμπτωματική, έως μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH). Η απλή ηπατική στεάτωση χαρακτηρίζεται από τα αυξημένα επίπεδα ηπατικών TG πάνω από το 95^ο τεταρτημόριο για νορμοβαρή υγιή άτομα (>55mg/g ήπατος) ή από την παρουσία κυτταροπλασματικού λίπους σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 5% των ηπατοκυττάρων (8).

Η NASH ορίζεται ως στεάτωση με ταυτόχρονη καταστροφή ηπατοκυττάρων, φλεγμονή ή/και μετέπειτα σε αντικατάσταση του ιστού με κολλαγόνο τύπου I (6). Το κολλαγόνο τύπου I παράγεται από τα αστεροειδή κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούνται από τραυματισμό του ήπατος και παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναγέννησή του (9). Η NASH έχει προοδευτική πορεία που εξελίσσεται σε κρυπτογενή κίρρωση. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία περίπου 10 -29% των ασθενών με NASH θα εμφανίσουν κίρρωση εντός περιόδου 10 ετών (10). Ωστόσο παραμένει άγνωστο εάν η απλή ηπατική στεάτωση προηγείται πάντα της NASH ή αν η απλή ηπατική στεάτωση και η NASH είναι διαφορετικές διαταραχές (10).

Οι επιπλοκές ενός ασθενή που θα εμφανίσει κίρρωση ήπατος είναι σοβαρές ανεξάρτητα από την αιτία που προκλήθηκε. Το ήπαρ είναι ίσως το πιο πολυλειτουργικό στερεό όργανο του σώματος και εμπλέκεται στην αποτοξίνωση, την αποθήκευση θρεπτικών ουσιών και την ομοιοστασία της γλυκόζης. Παρεμβάσεις σε οποιαδήποτε από αυτές τις διεργασίες μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες του οργάνου. Στην περίπτωση της NAFLD υπάρχουν πολλές συνέπειες όσον αφορά την ικανότητα του ήπατος να επεξεργάζεται τα λιπίδια. Αυτό οφείλεται σε πολυπαραγοντικές αλλοιώσεις της γενετικής, της εντερικής χλωρίδας, στη διαίτα, στον λιπώδη ιστό, στη ρύθμιση των ορμονών και στο ανοσοποιητικό σύστημα (2).

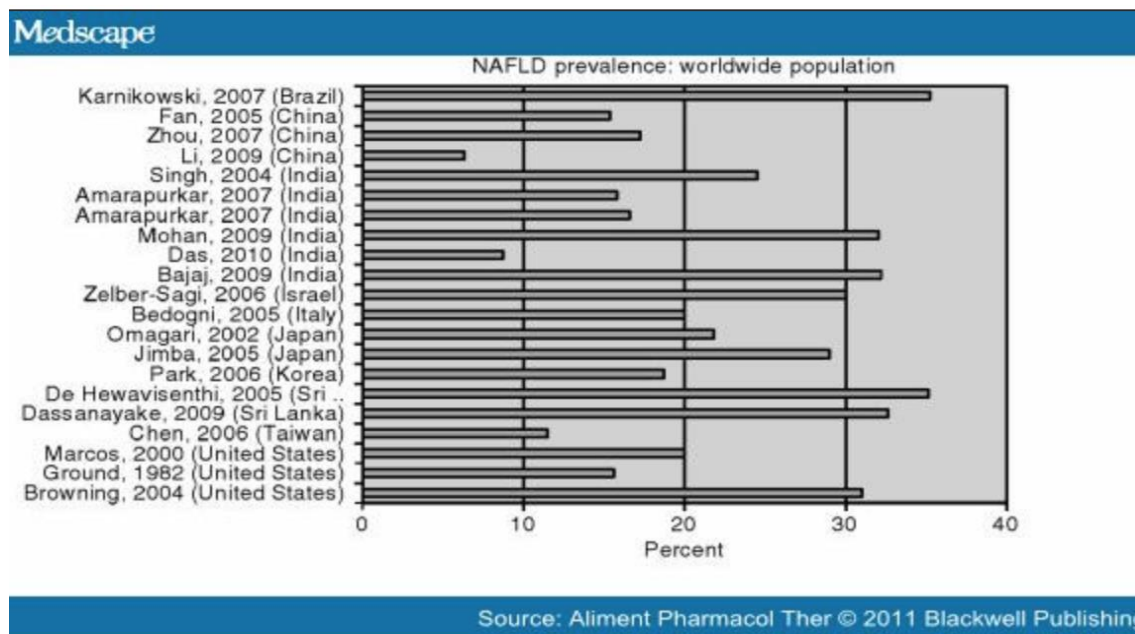
Η διαφοροποίηση μεταξύ απλής στεάτωσης και NASH είναι πολύ σημαντική όσον αφορά τη διαχείριση και τη πρόγνωση της νόσου, καθώς η εξέλιξη της NASH σε κίρρωση είναι μία ένδειξη για μεταμόσχευση ήπατος. Από την άλλη πλευρά η φυσική εξέλιξη της νόσου καθώς και των υποκατηγοριών της (π.χ. NASH) δεν είναι ξεκάθαρη (11).

1.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Τις τελευταίες δεκαετίες η NAFLD είναι ένα από τα συνηθέστερα ηπατικά νοσήματα στις δυτικές χώρες (12) (6). Ο επιπολασμός της αυξάνεται παγκοσμίως χρόνο με το χρόνο και προβλέπεται να είναι η επόμενη παγκόσμια επιδημία καθώς επηρεάζει εκατομμύρια ανθρώπους σε όλο τον κόσμο (13) (11).

Ο ακριβής παγκόσμιος επιπολασμός της NAFLD/NASH δεν είναι γνωστός. Πληθώρα ερευνητών που προσπάθησαν να εντοπίσουν τη συχνότητα εμφάνισης της νόσου και την επίπτωσή της, εντόπισαν ένα ευρύ φάσμα αποκλίσεων στα ποσοστά λόγω της ύπαρξης διαφορών στους πληθυσμούς, στις φυλετικές ομάδες, στα κριτήρια αποκλεισμού ως προς την κατανάλωση αλκοόλ, στο σχεδιασμό των μελετών και στις μεθόδους διάγνωσης. Ακόμη, η ασυμπτωματική φύση της ασθένειας και η μη επαρκής διαθεσιμότητα βιοψιών ήπατος, τη μέθοδο αναφοράς στη διάγνωση της νόσου, δημιουργεί ιδιαίτερα εμπόδια στη δημιουργία μελέτης σε μεγάλη κλίμακα. Πιθανολογείται λοιπόν, ότι η πραγματική συχνότητα εμφάνισης και επίπτωσης της NAFLD είναι υποδιαγνωσμένη (14). Παρόλα αυτά, από τις μέχρι τώρα μελέτες, υπάρχει κάποια εικόνα για την παγκόσμια τάση της επιδημίας NAFLD/NASH, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.

Εικόνα 1. Τα ποσοστά επικράτησης της NAFLD σε Ασία, Ευρώπη, Μέση Ανατολή, Βόρεια και Νότια Αμερική (Vernon, Baranova and Younossi, 2011).



Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ιαπωνία, με 3.147 συμμετέχοντες χωρίς NAFLD, αλλά με χαρακτηριστικά μεταβολικού συνδρόμου, που παρακολουθήθηκαν για 414 ημέρες,

παρατηρήθηκε εμφάνιση NAFLD στο 10% των περιπτώσεων (15). Μια άλλη μελέτη στην Ιαπωνία που βασίστηκε σε μεγάλο προσυμπτωματικού ελέγχου πληθυσμό, ανέφερε επίπτωση που αναλογεί σε 31 περιστατικά ανά 1000 ανθρωποέτη (16). Οι Whalley *et al.* σε μια βρετανική κλινική ηπατολογίας, υπολόγισαν τη συχνότητα εμφάνισης της NAFLD σε 29 περιστατικά ανά 100.000 ανθρωποέτη (17). Σε 8ετή μελέτη παρακολούθησης στην Ιταλία, εκτιμήθηκε ποσοστό επίπτωσης στα 18,5 περιστατικά ανά 1000 ανθρωποέτη (18).

Ο παγκόσμιος επιπολασμός της NAFLD στο γενικό πληθυσμό εκτιμάται 20-30% στις δυτικές χώρες και 5-18% στην Ασία ενώ αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου (18) (19). Ο παγκόσμιος επιπολασμός της NASH εκτιμάται σε ποσοστό 2-3%, ενώ σε πρόσφατη μετα-ανάλυση διαπιστώθηκε ότι ο παγκόσμιος επιπολασμός της NAFLD ήταν 24% και ότι έχει θετική συσχέτιση με την οικονομική κατάσταση .

Η επικράτηση της NAFLD παγκοσμίως κυμαίνεται περίπου στο 20% του γενικού πληθυσμού. Επιπλέον, ο αυξημένος επιπολασμός της έχει συνδεθεί με την ραγδαία αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας, αφού το 70-100% των ασθενών με NAFLD είναι παχύσαρκοι, το 20-80% έχουν δυσλιπιδαιμία και έως 75% έχουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) (1).

1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης NAFLD έχει βρεθεί ότι συμπίπτουν με τις μεταβολικές διαταραχές που συναντώνται στο μεταβολικό σύνδρομο. Συγκεκριμένα, η κεντρικού τύπου παχυσαρκία, η δυσλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η υπέρταση έχει βρεθεί ότι αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (20). Επιπλέον, παράγοντες όπως είναι οι δημογραφικοί (φύλο, ηλικία, εθνικότητα) αλλά και οι γενετικοί έχουν φανεί ότι επηρεάζουν την εμφάνιση καθώς και την εξέλιξη της νόσου. Όπως έχει αναφερθεί, η NAFLD είναι η κύρια ηπατική νόσος στις αναπτυγμένες χώρες και ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την εθνικότητα έχει φανεί ότι επηρεάζει το 17-46% των ενηλίκων. Οι παράγοντες κινδύνου της νόσου περιγράφονται παρακάτω

1.3.1. ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου αυξάνεται παγκοσμίως παράλληλα με την αύξηση της παχυσαρκίας. Στο μεταβολικό σύνδρομο πρέπει να συνυπάρχουν τουλάχιστον τρεις από τις

μεταβολικές δυσλειτουργίες που είναι η παχυσαρκία, η υπερτριγλυκεριδαιμία, η αντίσταση στην ινσουλίνη και τα αυξημένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης και το οποίο οδηγεί στην αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών νοσημάτων (21). Η NAFLD συνδέεται άμεσα με το μεταβολικό σύνδρομο καθώς όλες οι μεταβολικές διαταραχές που το ορίζουν σχετίζονται με τη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ. Η πλειονότητα των ασθενών που έχουν διαγνωστεί με NAFLD έχουν τουλάχιστον ένα από τα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου, ενώ περίπου το 33% τα παρουσιάζει όλα (6). Στην έρευνα των Asrih και Jornayvaz (2015), φάνηκε η συσχέτιση της NAFLD με την αντίσταση στην ινσουλίνη που αποτελεί βασικό παράγοντα του μεταβολικού συνδρόμου, να παίζει καθοριστικό ρόλο στη σοβαρότητα και εξέλιξη της νόσου (22). Συγκεκριμένα, η αντίσταση στην ινσουλίνη σχετίζεται άμεσα με τη συσσώρευση λίπους σε ιστούς όπως είναι το ήπαρ. Τα αυξημένα ελεύθερα λιπαρά οξέα φαίνεται ότι προωθούν τη φλεγμονή και το στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο, έχοντας ως αποτέλεσμα να παραμένει και να επιδεινώνεται η αντίσταση στην ινσουλίνη.

1.3.2. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Η παχυσαρκία είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου εμφάνισης αλλά και εξέλιξης της NAFLD και εντοπίζεται στους περισσότερους διαγνωσμένους ασθενείς. Συγκεκριμένα, η κεντρικού τύπου παχυσαρκία είναι αυτή που δημιουργεί τον αυξημένο κίνδυνο, καθώς το σπλαγχνικό λίπος είναι σημαντική πηγή τριγλυκεριδίων που οδηγεί σε στεάτωση (23). Με τον τρόπο αυτό, εξηγείται η εμφάνιση NAFLD σε άτομα που ενώ έχουν Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) μικρότερο από 30kg/m^2 καθώς και μερικές φορές μικρότερο από 25kg/m^2 , έχουν συσσώρευση σπλαγχνικού λίπους ή δυσλειτουργικό λιπώδη ιστό με ή χωρίς διαταραχή των ηπατικών δεικτών (24) (25). Η εξέλιξη της νόσου επηρεάζεται επιπλέον και από κοινές συννοσηρότητες της παχυσαρκίας όπως είναι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η άπνοια ύπνου, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και άλλες ενδοκρινικές διαταραχές (πχ. υπογοναδισμός) (24) (26).

1.3.3. ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ

Οι δυσλιπιδαιμία εμφανίζεται σε μεγάλο ποσοστό, περίπου 50%, σε ασθενείς με NAFLD (1) είτε ως υπερτριγλυκεριδαιμία είτε ως υπερχοληστερολαιμία ή και με τις δύο μορφές (27). Ο Marchesini και οι συνεργάτες του (2003), έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων εμφανίζονται στο 64% των ασθενών με NAFLD ενώ στο 30-42% εμφανίζονται τα χαμηλά

επίπεδα χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (HDL<40mg/dl στους άντρες και <50mg/dl στις γυναίκες) (28).

1.3.4. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2

Η πλειονότητα των ασθενών με ΣΔ2 παρουσιάζουν τα εξής γνωρίσματα: παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, αυξημένα ηπατικά ένζυμα και συσσώρευση λίπους στο ήπαρ (24). Ο επιπολασμός των ασθενών με ΣΔΤ2 και NAFLD είναι αυξημένος και κυμαίνεται ανάμεσα στο 30 και 75% ανάλογα με την ηλικία, την εθνικότητα και τον τρόπο διάγνωσης της νόσου (29). Η συνύπαρξη αυτών των δύο ασθενειών έχει φανεί ότι αυξάνει τη θνητότητα και το ποσοστό καρδιαγγειακών νοσημάτων σε σύγκριση με ασθενείς που έχουν μόνο ΣΔΤ2 (30). Τα αποτελέσματα μιας μετα-ανάλυσης έδειξαν ότι η NAFLD σχετίζεται με διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΣΔΤ2 και μεταβολικού συνδρόμου (31). Παρόλο που οι ακριβείς μηχανισμοί δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως, περιλαμβάνουν τη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ, τις μεταβολές του ενεργειακού μεταβολισμού και τα φλεγμονώδη σήματα που προέρχονται από διάφορους τύπους κυττάρων όπως αυτά του ανοσοποιητικού (32).

1.3.5. ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Η αυξημένη αρτηριακή πίεση και ιδιαίτερα η αυξημένη συστολική πίεση αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα εμφάνισης της NAFLD (33). Ο επιπολασμός της υπέρτασης σε ασθενείς με NAFLD ήταν 64% (34). Ο Dixon και οι συνεργάτες του (2001), επιβεβαίωσαν ότι η συστολική αρτηριακή πίεση είναι ανεξάρτητα συνδεδεμένη με προχωρημένης μορφής NAFLD σε παχύσαρκους ασθενείς (35). Σε μία άλλη μελέτη, φάνηκε ότι η παρουσία σοβαρής ηπατικής στεάτωσης σχετίζεται σημαντικά με τον επιπολασμό και το βαθμό της υπέρτασης καθώς και τα επίπεδα γλυκόζης και τριγλυκεριδίων (36).

1.3.6. ΦΥΛΟ

Το φύλο φαίνεται ότι αποτελεί έναν μη τροποποιήσιμο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης NAFLD. Συγκεκριμένα, παγκόσμιες επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η νόσος συναντάται περισσότερο στους άντρες συγκριτικά με τις γυναίκες (37). Ο Hassan και οι συνεργάτες του (2014), έδειξαν ότι η νόσος εμφανίζεται στους άντρες σε μικρότερη ηλικία σε σχέση με τις γυναίκες (2). Αυτό πιθανά εξηγείται λόγω των οιστρογόνων που έχουν οι γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας και της προστατευτικής τους δράσης. Σε μία πρόσφατη μελέτη φάνηκε

ότι οι γυναίκες κατά την εμμηνόπαυση συγκριτικά με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είχαν υψηλότερο κίνδυνο ίνωσης (38).

1.3.7. ΗΛΙΚΙΑ

Η σχέση της ηλικίας με την εμφάνιση της NAFLD δεν έχει καθοριστεί πλήρως. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ο επιπολασμός της NAFLD αλλά και η NAFLD σχετιζόμενη ίνωση αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας (39) (40) (41). Η αύξηση της ηλικίας συνήθως συνεπάγεται την αύξηση της εμφάνισης συνοδών νοσημάτων όπως είναι ο ΣΔΤ2 και σοβαρή ηπατική ίνωση (42). Επίσης, έχει βρεθεί ότι με την αύξηση της ηλικίας, αυξάνεται η σοβαρότητα της νόσου και η θνησιμότητα (43) (44), αλλά αυτό οφείλεται πιθανότατα με την διάρκεια της ασθένειας και όχι αποκλειστικά με την ηλικία (45).

1.3.8. ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ

Η εθνικότητα είναι άλλος ένας παράγοντας που φαίνεται να επηρεάζει τον κίνδυνο εμφάνισης NAFLD. Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες έχουν εξετάσει τον επιπολασμό της νόσου ανάλογα με την εθνικότητα και τη φυλή και όντως υπάρχουν διαφορές. Συγκεκριμένα, ο επιπολασμός της NAFLD είναι 45% στους Ισπανούς, 33% στους Καυκάσιους και 24% στους Αφροαμερικάνους (46). Οι διαφορές αυτές δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως, αλλά εκτιμάται ότι οφείλονται τόσο σε γενετικούς προδιαθεσικούς παράγοντες όσο και σε αλλαγές του τρόπου ζωής (διατροφή, καθιστικός τρόπος ζωής).

1.3.9. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η φαινοτυπική έκφραση της NAFLD συχνά διαφέρει σε άτομα με κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου, γεγονός που αποδίδεται στο διαφορετικό γονότυπο του κάθε ατόμου. Η κληρονομικότητά της ανέρχεται στο 40%, ακόμη και μετά από προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο και την παχυσαρκία (47). Οι μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος (Genome-wide association - GWAS) έχουν αναδείξει αρκετούς πολυμορφισμούς γονιδίων οι οποίοι σχετίζονται με το μεταβολισμό των λιπιδίων, το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή και φαίνεται να συνεισφέρουν στην ετερογένεια της νόσου.

Γονίδιο PNPLA-3

Η πιο ισχυρή και ευρέως επιβεβαιωμένη γενετική παραλλαγή που σχετίζεται με τη NAFLD είναι αυτή του γονιδίου patatin-like phospholipase domain-containing-3 (PNPLA3), που υποκαθιστά την ισολευκίνη σε μεθειονίνη στο κωδικόνιο 148 (rs738409 C>G που κωδικοποιεί την PNPLA3 I148M) (48) (49) (50). Ομοζυγωτία ως προς τον πολυμορφισμό rs738409 C>G αυξάνει έως και 10 φορές τον κίνδυνο HCC που σχετίζεται με τη NAFLD στον ευρωπαϊκό πληθυσμό (51). Η πρωτεΐνη PNPLA3 δρα ως υδρολάση για τα TG και τους ρετινυλεστέρες (52) (53) (54). Η υποκατάσταση της μεθειονίνης στο κωδικόνιο 148 επάγει την απώλεια της ενζυματικής δραστηριότητας, με αποτέλεσμα την παγίδευση των TG και των ρετινυλεστέρων στα σταγονίδια των λιπιδίων των ηπατοκυττάρων και των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων. Αυτό μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο ήπαρ και να αποτρέψει την απελευθέρωση της εξωκυτταρικής πρωτεΐνης, η οποία διαφορετικά θα απέτρεπε τη διαδικασία της ίνωσης (49) (55). Η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου κινδύνου (G) για τον πολυμορφισμό rs738409 είναι 0.49 στους Ισπανόφωνους πληθυσμούς, 0.23 για τους Καυκάσιους και 0.17 για τους Αφρικανοαμερικανούς (48).

Γονίδιο TM6SF2

Η Transmembrane 6 Superfamily Member 2 (TM6SF2) εμπλέκεται στον εμπλουτισμό των TG με την απολιποπρωτεΐνη B100 στο μονοπάτι έκκρισης των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) από το ηπατοκύτταρο. Ο πολυμορφισμός rs58542926 C>T κωδικοποιεί την υποκατάσταση E προς K στη θέση 167 με αποτέλεσμα την απώλεια της λειτουργίας, προκαλώντας υψηλότερη περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια ήπατος και χαμηλότερη σε κυκλοφορούντες λιποπρωτεΐνες. Είναι ενδιαφέρον ότι οι φορείς αυτής της μετάλλαξης διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ηπατικής νόσου αλλά χαμηλότερο κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων (56) (57) (58) (59). Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι στον άνθρωπο ο TM6SF2 ρυθμίζει όχι μόνο τον ποιοτικό εμπλουτισμό των TG αλλά και τη σύνθεση των λιπιδίων και ποσοτικά τον αριθμό των εκκρινόμενων λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων (60) (61).

Γονίδιο GCKR

Η παραλλαγή στο γονιδιακό τόπο του ρυθμιστή της γλυκοκινάσης (Glucokinase Regulatory – GCKR) έχει συσχετιστεί με τη NAFLD (62) (63) (64) (65). Το γονίδιο GCKR ρυθμίζει τη de novo λιπογένεση (DNL) ελέγχοντας την εισροή της γλυκόζης στα ηπατοκύτταρα. Μία μη συνώνυμη γενετική παραλλαγή του GCKR rs1260326, η οποία χαρακτηρίζεται από υποκατάσταση της κυτοσίνης (C) σε θυμίνη (T) κωδικοποιώντας μία υποκατάσταση προλίνης σε λευκίνη στο κωδικόνιο της θέσεως 446 (P446L) (66), φαίνεται να αντιπροσωπεύει την αιτιακή

παραλλαγή που αποτελεί τη βάση της συσχέτισης με τη συσσώρευση του ηπατικού λίπους (67). Πράγματι, η παραλλαγή P446L επηρεάζει την ικανότητα του GCKR να ρυθμίζει αρνητικά τη γλυκοκινάση σε απόκριση της 6-φωσφορικής φρουκτόζης, ενεργοποιώντας ουσιαστικά την απορρόφηση της ηπατικής γλυκόζης (68). Αυτό οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα γλυκόζης νηστείας και ινσουλίνης στην κυκλοφορία, αλλά αυξάνει την παραγωγή μαλονυλο-CoA, πράγμα που ευνοεί τη συσσώρευση του ηπατικού λίπους χρησιμεύοντας ως υπόστρωμα λιπογένεσης και παρεμποδίζοντας την οξείδωση των λιπαρών οξέων.

Γονίδιο TNF-α

Η NAFLD χαρακτηρίζεται από την έκκριση φλεγμονωδών κυτταροκινών σε απόκριση των βακτηριακών παραγώγων εντερικής προέλευσης, και των οξειδωμένων λιπιδίων (69). Το γονίδιο Tumor Necrosis Factor – α (TNF-α) κωδικοποιεί μια προφλεγμονώδη κυτταροκίνη, τον TNF-α ο οποίος αυξάνει την IR μέσω της αναστολής της δράσης της κινάσης στον υποδοχέα της ινσουλίνης (70). Η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού rs361525 στον εκκινητή που ρυθμίζει την έκφραση του TNF-α φάνηκε αυξημένη σε Ιταλούς ασθενείς με NAFLD, με συχνότητα εμφάνισης 15% του αλληλομόρφου A στους υγιείς και 31% για τους ασθενείς. Επιπλέον, ο ίδιος πολυμορφισμός συσχετίστηκε και με τα χαμηλά επίπεδα του TNF-α στον ορό (71). Μια μετα-ανάλυση το 2007 επιβεβαίωσε τη συσχέτιση του πολυμορφισμού rs361525 του εκκινητή του γονιδίου TNF-α και της NAFLD, με συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου A στο 23.7% των ασθενών με NAFLD και στο 13.9% των υγιών (72). Ωστόσο, διερευνάται ακόμα αν η συσχέτιση αυτή οφείλεται στη σύνδεση με άλλους πολυμορφισμούς στην περιοχή του μεγαλύτερου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας του ανθρώπου (73).

1.4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η πρώτη ερμηνεία για την παθογένεια της NAFLD δόθηκε από τους Day και James το 1998, οι οποίοι πρότειναν τη θεωρία των «δύο χτυπημάτων». Σύμφωνα με αυτή, το πρώτο χτύπημα είναι η ανάπτυξη της ηπατικής στεάτωσης μέσω της συσσώρευσης των τριακυλογλυκερολών στα ηπατοκύτταρα, τα οποία αυξάνουν την ευαισθησία του ήπατος σε πιθανά «δεύτερα χτυπήματα» τα οποία οδηγούν στην φλεγμονή, την ίνωση και τον κυτταρικό θάνατο. Τα «δεύτερα χτυπήματα» μπορεί να είναι παράγοντες όπως οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, το οξειδωτικό

στρες και η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Έτσι η αύξηση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα των ώριμων ηπατοκυττάρων να πολλαπλασιάζονται με αποτέλεσμα τη μείωση της ενδογενούς αποκατάστασης του ήπατος (74).

Ωστόσο, η αρχική θεωρία τροποποιήθηκε και διατυπώθηκε η "τροποποιημένη θεωρία των δύο χτυπημάτων" καθώς άρχισε να αναγνωρίζεται ο ρόλος των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFAs) στην επαγωγή του ηπατικού τραυματισμού. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων αυτή τη φορά, είναι αυτή που επάγει την αύξηση του οξειδωτικού στρες και την ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοπατιών, μέσω των οποίων οδηγεί τελικά στην ηπατοπάθεια. (75).

Αργότερα, αναπτύχθηκε η υπόθεση των «τριών χτυπημάτων». Σύμφωνα με αυτή, το τρίτο χτύπημα αναφέρεται στη μειωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού των ώριμων ηπατοκυττάρων που σε συνδυασμό με τον κυτταρικό τους θάνατο και παρουσία οξειδωτικού στρες, συμβάλουν στην εξέλιξη της νόσου σε ίνωση/κίρρωση (75).

Οι παραπάνω θεωρίες τελικά αντικαταστάθηκαν το 2010 από τη διατύπωση της επικρατέστερης και ακριβέστερης μέχρι σήμερα θεωρίας των «πολλαπλών - παράλληλων χτυπημάτων» των Tigi και Moschen (76). Σύμφωνα με αυτή, μία ποικιλία πολλαπλών παθοφυσιολογικών διεργασιών δρα παράλληλα με τελική συνέπεια την ηπατική φλεγμονή η οποία προηγείται της στεάτωσης στη NASH. Τέτοια χτυπήματα μπορεί να είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη, οι ορμόνες που εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό, τα διατροφικά συστατικά, η μικροβιακή χλωρίδα, οι γενετικοί και επιγενετικοί παράγοντες (77).

Η ηπατική στεάτωση αναπτύσσεται όταν ο ρυθμός εισόδου των λιπαρών οξέων στο ήπαρ είναι μεγαλύτερος από τον ρυθμό εξόδου τους. Οι μηχανισμοί οι οποίοι συμβάλουν στη συσσώρευση του ηπατικού λίπους είναι οι εξής:

1. Αυξημένη παροχή ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) εξαιτίας της αυξημένης λιπόλυσης ή/και λόγω της αυξημένης διαιτητικής πρόσληψης λίπους.
2. Μειωμένη οξείδωση των FFA.
3. Αυξημένη ηπατική de novo λιπογένεση (DNL).
4. Μειωμένη ηπατική έκκριση των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL).

Οι μοριακοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την συσσώρευση του λίπους στο ήπαρ δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Ωστόσο, συγκεκριμένες κυτταροκίνες, κυρίως από εξωηπατικούς ιστούς μπορούν να πυροδοτήσουν την διαδικασία.

Ως ένα βαθμό, η απλή στεάτωση μετατρέπεται σε στεατοηπατίτιδα στο 20-30% των ασθενών με NAFLD. Τα παθολογικά χαρακτηριστικά της NASH περιλαμβάνουν απλή ηπατική στεάτωση και πιο συγκεκριμένα βλάβη στα κύτταρα του ήπατος με τη συνοδεία φλεγμονής ή/και ίνωσης. Μέχρι σήμερα, ένας μεγάλος αριθμός παθογόνων μηχανισμών έχουν προταθεί και έχουν περιγραφεί για την μετατροπή της απλής στεάτωσης σε NASH όπως είναι η λιποτοξικότητα, το οξειδωτικό στρες, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και το στρες ενδοπλασματικού δικτύου (78).

1.4.1. ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι ένα βασικό χαρακτηριστικό της NAFLD και εμφανίζεται συχνότερα στη NASH. Παρόλα αυτά, δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ύπαρξη της NAFLD. Όμως συνιστά ένα από τα βασικά πολλαπλά παράλληλα χτυπήματα. Αφού οδηγεί σε αυξημένη ηπατική de novo λιπογένεση και σε αδυναμία παρεμπόδισης της λιπόλυσης στο λιπώδη ιστό. Η αντίσταση στην ινσουλίνη, εκτός από υψηλά επίπεδα ινσουλίνης στην κυκλοφορία του αίματος, χαρακτηρίζεται και από αυξημένη ηπατική γλυκονεογένεση, διαταραγμένη πρόσληψη γλυκόζης από το μυϊκό ιστό, αυξημένα επίπεδα FFA και φλεγμονωδών κυτταροκινών από τους περιφερικούς ιστούς. Όλα τα παραπάνω αποτελούν χαρακτηριστικά σημεία για την προώθηση της συσσώρευσης ηπατικού λίπους και κατ' επέκταση στην εξέλιξη της ηπατικής στεάτωσης (77).

1.4.2. DE NOVO ΛΙΠΟΓΕΝΕΣΗ

Πιθανολογείται ότι η λιπογένεση στο ήπαρ μπορεί να αυξηθεί λόγω της στεατικής φύσης της NAFLD. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι οι δίαιτες πλούσιες σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και απλά σάκχαρα ενισχύουν τον κίνδυνο για ηπατική στεάτωση, πιθανώς μέσω της de novo λιπογένεσης (79) (80) (81) (82). Ο ρόλος της DNL στην ανάπτυξη της ηπατικής στεάτωσης υποστηρίζεται και από μία πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο και υψηλό ποσοστό ηπατικού λίπους (83), οι οποίοι είχαν τριπλάσιο ρυθμό de novo σύνθεσης λιπαρών οξέων. Όσον αφορά τη διατροφική σύσταση, το ποσοστό της πρόσληψης υδατανθράκων μπορεί να επηρεάσει θετικά την DNL στο ήπαρ αφού αποτελούν υπόστρωμα για αυτή. Τα απλά σάκχαρα μετατρέπονται σε λιπαρά οξέα γρηγορότερα σε σχέση με τους σύνθετους υδατάνθρακες (84) και η φρουκτόζη είναι ισχυρότερος επαγωγέας της DNL σε σχέση με τη γλυκόζη (85). Επιδημιολογικές μελέτες επιβεβαιώνουν τα παραπάνω, καθώς αποδεικνύουν την σύνδεση της φρουκτόζης με την ηπατική στεάτωση και τη NASH (79) (86). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το διαιτητικό λίπος και πιο συγκεκριμένα το κορεσμένο,

διεγείρει την DNL της αύξησης του μεταγραφικού παράγοντα SREBP-1, ο οποίος αποτελεί ρυθμιστή των λιπογενετικών γονιδίων στο ήπαρ (87). Ωστόσο δεν εμφανίζουν όλοι οι ασθενείς με ηπατική στεάτωση αυξημένη DNL, αλλά ούτε και αυξημένη έκφραση του SREBP-1, όπως παρατηρήθηκε από την μελέτη που έδειξε την παράδοξη διάσταση μεταξύ της ηπατικής DNL και του ηπατικού λίπους εξαιτίας του αλληλόμορφου PNPLA3 148M (88).

1.4.3. ΛΙΠΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Σύμφωνα με μελέτες φαίνεται ότι ορισμένα λιποειδή μπορεί να είναι επιβλαβή για τα ηπατοκύτταρα στη NAFLD. Αυτό ισχύει για τα μακράς αλύσου κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA) όπως το παλμιτικό (C6:0) και στεατικό (08:0), τα οποία περιέχονται σε αφθονία στο ζωικό λίπος και στα γαλακτοκομικά προϊόντα και παράγονται στο ήπαρ από διαιτητική ζάχαρη. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα SFAs μεταφέρονται στα μιτοχόνδρια για β-οξείδωση ή εστεροποιούνται είτε για να απεκκριθούν με τις VLDL (λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας) είτε για να αποθηκευτούν ως σταγονίδια λιποειδών. Στην παθοφυσιολογία της NASH, πολλοί μηχανισμοί ταυτόχρονα μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα ηπατοκύτταρα που κατακλύζονται από SFA και από ελεύθερη χοληστερόλη (FC) που προέρχεται από de novo σύνθεση (89). Η συσσώρευση της ελεύθερης χοληστερόλης οδηγεί σε ηπατικό τραυματισμό μέσω της ενεργοποίησης ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών στα κύτταρα Kupffer, στα αστεροειδή κύτταρα και στα ηπατοκύτταρα. Η ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer και των αστεροειδών κυττάρων επάγει την φλεγμονή και την ίνωση. Τα λιποειδή αυτά, συμπεριλαμβανομένων των FC, SFA και ορισμένων ενδιάμεσων λιποειδών από την περίσσεια SFA, μπορούν να ενεργοποιήσουν ένα πλήθος ενδοκυτταρικών αποκρίσεων όπως η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης (JNK1) και του μιτοχονδριακού μονοπατιού απόπτωσης, με αποτέλεσμα το λιποτοξικό στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στα μιτοχόνδρια, αντίστοιχα (89) (90). Επιπλέον ο toll-like receptor 4 (TLR4) είναι ένας υποδοχέας αναγνώρισης ο οποίος ενεργοποιεί ένα προφλεγμονώδες σηματοδοτικό μονοπάτι σε απόκριση των υπέρμετρων SFAs, το οποίο τελικά οδηγεί στην ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κβ (NF-kB) και στην παραγωγή του TNF-α (91).

1.4.4. ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Τα μιτοχόνδρια είναι οι σημαντικότεροι προμηθευτές ενέργειας του κυττάρου και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων. Η λειτουργία της οξείδωσης των λιπαρών οξέων μπορεί να αυξηθεί για να αντισταθμιστεί σε κάποιο βαθμό το αυξημένο λίπος. Παρόλα αυτά σε πολλές μελέτες έχουν παρατηρηθεί μειωμένα επίπεδα τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) του ήπατος στη NAFLD (92) (93). Αυτή η ασυμφωνία

υποδεινώνει μιτοχονδριακή δυσλειτουργία σε κατάσταση υπερφόρτωσης λίπους του ήπατος που είναι χαρακτηριστικό της NAFLD. Παρότι οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την μιτοχονδριακή δυσλειτουργία παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί στη NAFLD, η μειωμένη ενζυμική λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) ως αποτέλεσμα της διαρροής ηλεκτρονίων κατά τη διάρκεια της β-οξείδωσης κατά την παραγωγή ενέργειας (υπό μορφή ATP) (94). Σύμφωνα με μελέτες, έχει βρεθεί ότι οι ROS μπορεί να προκαλέσουν βλάβη στην αναπνευστική αλυσίδα ή ακόμη και μεταλλάξεις στο DNA των μιτοχονδρίων (95).

1.4.5. ΣΤΡΕΣ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ

Το ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ) είναι ένα σύστημα κοιλοτήτων μορφής αγωγών και κύστεων, μέρος του ενδομεμβρανικού συστήματος μέσα στο κυτταρόπλασμα. Στο ΕΔ πραγματοποιείται κυρίως η σύνθεση, αναδίπλωση/επιδιόρθωση και η μεταφορά διαφόρων πρωτεϊνών (96). Υπό παθολογικές και/ή στρεσογόνες συνθήκες όπως είναι η NASH, έχει παρατηρηθεί μείωση της αποδοτικότητας του ΕΔ, στην αναδίπλωση πρωτεϊνών, επιδιόρθωση και/ή μεταφορά ενώ παράλληλα υπάρχει ανάγκη για πρωτεϊνοσύνθεση και αναδίπλωση/επιδιόρθωση (96). Αυτή η ανισορροπία μεταξύ της αυξημένης ανάγκης για αναδίπλωση πρωτεϊνών και της μειωμένης απόκρισης του ΕΔ ορίζεται ως στρες ΕΔ, το οποίο μπορεί να οδηγήσει στην συσσώρευση μη αναδιπλωμένων και/ή λανθασμένων πρωτεϊνών στο ΕΔ. Αυτό το είδος κυτταρικού στρες συνήθως ενεργοποιεί ένα προσαρμοστικό μηχανισμό απόκρισης που στοχεύει στην επίλυση του στρες ΕΔ και ονομάζεται unfolded protein response (UPR) (97). Το UPR διαμεσολαβείται τουλάχιστον από τρεις διαφορετικές οδούς ανίχνευσης στρες: protein kinase RNA-like ER kinase (PERK), inositol-requiring protein 1a (IRE1a), και activating transcription factor 6 (ATF6) (98). Παρόλο που το στρες του ΕΔ είναι συνδεδεμένο με φλεγμονή, οξειδωτικό στρες, αντίσταση στην ινσουλίνη, και σηματοδότηση απόπτωσης, φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της σύνθεσης και του μεγέθους των λιποειδών καθώς και στη σύνθεση λιποειδών, συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού της χοληστερόλης (96), μέσω του μεταγραφικού παράγοντα sterol regulatory element-binding protein (SREBP).

1.4.6. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Σε κατάσταση αυξημένης συγκέντρωσης λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα, το οξειδωτικό στρες μπορεί να συμβεί και να αποδοθεί στα αυξημένα επίπεδα δραστικών μορφών οξυγόνου/αζώτου (ROS/RNS) και στην υπεροξείδωση λιποειδών που παράγονται κατά το μεταβολισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων στα μικροσωμάτια, υπεροξυσωμάτια, και στα

μιτοχόνδρια (99). Η υπεροξειδωση του πλάσματος και των ενδοκυτταρικών μεμβρανών μπορούν να προκαλέσουν άμεση κυτταρική νέκρωση/απόπτωση και μεγαλομιτοχονδρία, ενώ η έκφραση του υποδοχέα Fas στα ηπατοκύτταρα λόγω των ROS μπορεί να πυροδοτήσει την εκτέλεση της απόπτωσης. Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι το οξειδωτικό στρες πιθανών αποτελεί βασικό αίτιο συσσώρευσης λίπους στο ήπαρ και στη συνέχεια τραυματισμού αυτού, και οι ROS ίσως παίζουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη της ίνωσης (100). Οι ROS μπορούν να ενεργοποιήσουν την λιποειδική υπεροξειδωση στοχεύοντας στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), με αποτέλεσμα τον σχηματισμό υψηλών επιπέδων δραστικών προϊόντων αλδεϋδης, όπως είναι η 4-υδρόξυ-2 nonenal (4-HNE) και η μηλονική διαλδεϋδη (MDA). Αυτά τα αντιδραστικά λιποειδικά παράγωγα έχουν τη δυνατότητα να ενισχύουν την ενδοκυτταρική βλάβη με τη μεσολάβηση της διάχυσης των ROS/RNS στον εξωκυττάριο χώρο, προκαλώντας έτσι βλάβη στους ιστούς.

1.4.7. ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ

Η ακριβής αιτία έναρξης της φλεγμονής στον λιπώδη ιστό στην παχυσαρκία παραμένει άγνωστη, όμως πιθανολογείται ότι η υποξία και ο θάνατος των ταχέων διογκωμένων λιποκυττάρων παίζουν κάποιο ρόλο (101). Τα λιποκύτταρα υπό συνθήκες φλεγμονής εκκρίνουν κυτταροκίνες και χημειοκίνες, κυρίως τον παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α), την ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και τον CC-προσδέτη χημειοκίνης-2 (CCL2) (101) (102). Τα αυξημένα επίπεδα αυτών των κυτταροκινών στον ορό έχουν συσχετιστεί με την παρουσία την ινσουλινοαντίστασης, ενώ ο TNF-α και η IL-6 φαίνεται να ρυθμίζουν την ηπατική ινσουλινοαντίσταση μέσω της αύξησης του SOCS3, ενός καταστολέα σηματοδότησης κυταροκινών (103). Ο CCL2 στρατολογεί μακροφάγα στον λιπώδη ιστό, με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη παραγωγή τοπικών κυτταροκινών διαιωνίζοντας έτσι το φαύλο κύκλο της φλεγμονής. Ο TNF-α και η IL-6 επάγουν την ινσουλινοαντίσταση στα λιποκύτταρα, η οποία διεγείρει την υδρόλυση των τριακυλογλυκερολών και τα λιπαρά οξέα απελευθερώνονται στην κυκλοφορία. Συγχρόνως, τα εξωηπατικά λιποκύτταρα μειώνουν την έκκριση αντιπονεκτίνης, μιας αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης που διευκολύνει την κανονική κατανομή των λιποειδών στα λιποκύτταρα για αποθήκευση (76). Η κυκλοφορούμενη αντιπονεκτίνη ρυθμίζει την ηπατική β-οξειδωση μέσω της ενεργοποίησης της AMP πρωτεϊνικής κινάσης (AMPK) και της ακετυλ-CoA- καρβοξυλάσης (ACC), οι οποίες μαζί επιτείνουν την απώλεια λίπους από τα λιποκύτταρα και προάγουν την έκτοπη συσσώρευση λίπους (104).

1.4.8. ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ

Πριν από δεκάδες χρόνια, παρατηρήθηκε ότι το εντερικό μικροβίωμα μεταβάλλεται σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο ενώ σήμερα βρίσκεται στο επίκεντρο του ερευνητικού ενδιαφέροντος, αφού περισσότερο από το 50% της αιματικής παροχής του ήπατος, προέρχεται από το έντερο μέσω της πυλαίας φλέβας. Το ήπαρ αποτελεί ένα από τα πιο εκτεθειμένα όργανα σε τοξικούς παράγοντες του εντέρου, αποτελώντας την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι βακτηριακών υποπροϊόντων (105). Η διαταραχή της μικροχλωρίδας του εντέρου, η βακτηριακή υπερανάπτυξη στο λεπτό έντερο, συμβαίνει σε μεγάλο ποσοστό (20-75%) σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο. Οι ασθενείς με NAFLD φαίνεται να έχουν σημαντικά αυξημένη διαπερατότητα εντέρου και υψηλότερο επιπολασμό βακτηριακής υπερανάπτυξης στο λεπτό έντερο, σε σύγκριση με τα υγιή άτομα. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, το εντερικό μικροβίωμα μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια της NAFLD μέσω των εξής μηχανισμών:

- 1) αυξημένη παραγωγή και απορρόφηση από το έντερο λιπαρών οξέων μικρής αλύσου
- 2) μετατροπή του μεταβολισμού της διαιτητικής χολίνης από το μικροβίωμα
- 3) μετατροπή των χολικών οξέων από το μικροβίωμα
- 4) αυξημένη μεταφορά αιθανόλης από το μικροβίωμα προς το ήπαρ
- 5) αυξημένη εντερική διαπερατότητα και απελευθέρωση ενδοτοξινών
- 6) αλληλεπίδραση μεταξύ του μικροβιώματος και συγκεκριμένης διαίτας (106)

1.5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση της NAFLD προϋποθέτει:

- α)Επιβεβαιωμένη ηπατική στεάτωση είτε ιστολογικά είτε απεικονιστικά
- β)Αποκλεισμό υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ (≥ 30 γρ./ημέρα για τους άνδρες, ≥ 20 γρ./ημέρα για τις γυναίκες)
- γ)Αποκλεισμό ανταγωνιστικών αιτιών για ηπατική στεάτωση και
- δ)Αποκλεισμό άλλων αιτιών για χρόνια ηπατική νόσο (1)

Ωστόσο η διάγνωση της NAFLD δεν είναι ξεκάθαρη στον επιστημονικό κλάδο καθώς υπάρχουν σημαντικά κενά όσον αφορά τη φυσική εξέλιξη και τη θεραπεία της (1). Επιπλέον το μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών με NAFLD δεν παρουσιάζει συμπτώματα ηπατικής νόσου (77% των ασθενών με NAFLD είναι ασυμπτωματικοί), καθώς οι βιοχημικοί δείκτες στο ήπαρ των ασθενών μπορεί να βρίσκονται σε φυσιολογικά επίπεδα (107). Στην περίπτωση που εκδηλώσουν

κάποια συμπτώματα, τότε είναι ασαφής, όπως κόπωση και κοιλιακοί πόνοι. Σε κλινικές εξετάσεις θα ήταν χρήσιμο να εξεταστούν παράγοντες κινδύνου για τη NAFLD, όπως ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), το βάρος και η αυξημένη αρτηριακή πίεση. Τέλος, καθώς υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ του μεταβολικού συνδρόμου και της NAFLD, οι κλινικές ενδείξεις της αντίστασης στην ινσουλίνη θα πρέπει να προκαλέσουν υποψία για τη νόσο (108).

1.5.1. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ - ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η πιο συχνή διαταραχή στις εργαστηριακές εξετάσεις που ανιχνεύεται σε ασθενείς με NAFLD είναι η αύξηση των αμινοτρανσφερασών, της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) ενώ σπανιότερα παρατηρείται αύξηση στην αλκαλική φωσφατάση (ALP) και στη γ-γλουταμυλοτρανσφεράση (γ-GT). Τα αυξημένα επίπεδα ALT και AST μπορεί να υποδεικνύουν την παρουσία ηπατικής στεάτωσης, φλεγμονής ή ίνωσης. Ωστόσο η χρησιμότητά τους στη διάγνωση της NAFLD είναι περιορισμένη λόγω της μικρής ευαισθησίας, ειδικότητας και προγνωστικής αξίας τους. Στη βιβλιογραφία παρατηρούμε ότι, το 80% των ασθενών με NAFLD έχει τιμές αμινοτρανσφερασών εντός των φυσιολογικών ορίων και τείνουν να πέφτουν με την πάροδο του χρόνου ενώ η ίνωση εξελίσσεται (109) (2). Τα επίπεδα της AST της ALT μπορεί να είναι από 1.5 ως 4 φορές αυξημένα σε σχέση με το ανώτερο αποδεκτό όριο στους ασθενείς με NAFLD. Τιμές του λόγου AST/ALT >1 φαίνεται να συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης της νόσου. Επίσης οι τιμές της (γ-GT) και της ALP μπορεί να είναι αυξημένες (110). Δεδομένου ότι αυτά τα ένζυμα τείνουν να παρουσιάζουν διακυμάνσεις, οι μετρήσεις των αμινοτρανσφερασών συστήνεται να επαναλαμβάνονται αρχικά για επαλήθευση των αυξημένων τιμών και για περιπτώσεις ασθενών με παράγοντες κινδύνου της NAFLD και φυσιολογικές τιμές. Αφού επιβεβαιωθούν τα αυξημένα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων, κρίνεται αναγκαία περαιτέρω διερεύνηση για τον αποκλεισμό άλλων αιτιών ηπατικής νόσου και επιβεβαίωση της διάγνωσης.

Υπάρχουν και κάποιες επιπλέον βιοχημικές εξετάσεις που συνεκτιμώνται στα πλαίσια ενός εργαστηριακού ελέγχου. Τα επίπεδα της γ-GT ενδέχεται να είναι υψηλά σε ασθενείς με NAFLD ενώ έχουν συσχετιστεί με προχωρημένη ίνωση και θνησιμότητα από όλες τις αιτίες (111), πιθανόν περισσότερο στους άνδρες. Από μια πρόσφατη προοπτική μελέτη που έλαβε χώρα στο Βέλγιο, σε 230 ασθενείς με NAFLD διαπιστώθηκε ότι οι τιμές της γ-GT ήταν 5 φορές υψηλότερες του φυσιολογικού ορίου και συσχετίστηκαν με την ηλικία, το διαβήτη και την αυξημένη ίνωση. Τα επίπεδα της ALP είναι ελαφρώς αυξημένα στο 1/3 των ασθενών, αλλά σπάνια αποτελούν μοναδικό εύρημα ηπατικής δυσλειτουργίας (112). Η συντηρητικά αυξημένη φερριτίνη ορού είναι συνηθισμένη σε ασθενείς με NAFLD και δεν υποδεικνύει απαραίτητα

αυξημένα αποθέματα σιδήρου. Η αυξημένη φερριτίνη ορού και ο κορεσμός της τρανσφερρίνης σε ασθενείς με NAFLD θα πρέπει να οδηγήσουν σε έλεγχο για κληρονομική αιμοχρωμάτωση. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο HFE εμφανίζονται με μεταβλητή συχνότητα σε ασθενείς με NAFLD και η κλινική τους σημασία είναι ασαφής (1). Ένας ακόμα βιοδείκτης είναι τα κλάσματα κυτοκερατίνης-18. Η κυτοκερατίνη-18

είναι πρωτεΐνη η οποία εμπλέκεται σε καταρράκτες αντιδράσεων με τελικό αποτέλεσμα την απόπτωση των ηπατοκυττάρων. Τα επίπεδά της στο αίμα των ασθενών αυξάνονται παρουσία ηπατικής βλάβης και οι αυξημένες τιμές τους εμφανίζουν θετική συσχέτιση με την ιστολογικά επιβεβαιωμένη NASH. Παρόλα αυτά, προς το παρόν η δοκιμασία δεν είναι εμπορικά διαθέσιμη και δεν υπάρχουν τιμές αναφοράς για τον προσδιορισμό της παρουσίας της NAFLD (1). Οι κυτταροκίνες, οι πρωτεΐνες οξείας φάσης και οι δείκτες οξειδωτικού στρες είναι βιοδείκτες ορού που έχουν αξιολογηθεί για τη διάγνωση της NAFLD. Ορισμένες από τις κυτταροκίνες που έχουν αξιολογηθεί περιλαμβάνουν την IL-6, τον TNFα και την CCL2 (2)

1.5.2. ΒΙΟΨΙΑ ΗΠΑΤΟΣ

Η βιοψία του ήπατος είναι η μέθοδος αναφοράς (gold standard) για τη διάγνωση της NAFLD και χρησιμεύει στο διαχωρισμό της απλής ηπατικής στεάτωσης από τη στεατοηπατίτιδα. Σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες της Αμερικανικής γαστρεντερολογικής ένωσης, η βιοψία ήπατος ενδείκνυται μόνο σε ασθενείς με NAFLD οι οποίοι διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο να παρουσιάσουν στεατοηπατίτιδα και προχωρημένη ίνωση (108). Η βιοψία ιδίως στα πρώτα στάδια της NAFLD συνδέεται με καλύτερη διάγνωση και πιο έγκαιρη έναρξη της κατάλληλης θεραπείας, κάτι το οποίο μπορεί να συμβάλει στη διατήρηση μιας πιο ήπιας εξέλιξης της νόσου και στην αποφυγή της μεταμόσχευσης ήπατος (113). Παρόλα αυτά υπάρχουν περιορισμοί ως προς την χρήση της μεθόδου συμπεριλαμβανομένου του κόστους, των επιπλοκών και του σφάλματος δειγματοληψίας. Μπορεί λοιπόν, να εκδηλωθεί αιμορραγία στο ήπαρ, ακόμη και 15 ημέρες, μετά την πραγματοποίηση βιοψίας. Να εμφανιστεί, ρήξη διατεταμένου χοληφόρου αγγείου στην περιτοναϊκή κοιλότητα, σε βαριά ενδοηπατική χολόσταση, (χολοπεριτόναιο) (2). Αποτελεί μια παρεμβατική διαδικασία και δε θεωρείται η πιο πρακτική τεχνική για το screening και την αξιολόγηση των ασθενών με NAFLD. Πολύ σημαντική είναι και η εμπειρία του ιατρού που αναλαμβάνει τη δειγματοληψία, ως προς την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Τέλος τα μικρά σε μέγεθος δείγματα, είναι πιθανό να οδηγήσουν τον εκάστοτε ιατρό σε εσφαλμένη διάγνωση (114).

1.5.3. MONTEΛA ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Το πιο μελετημένο μοντέλο εκτίμησης της ίνωσης της NAFLD είναι το NAFLD Fibrosis Score (NFS), ενσωματώνει την ηλικία, το BMI, το λόγο AST / ALT, τον αριθμό των αιμοπεταλίων και την αλβουμίνη. Η μεγάλη εξειδίκευση του NFS το καθιστά ένα χρήσιμο εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου, μέσω του οποίου μπορεί να αποφασιστεί εάν θα πραγματοποιηθεί βιοψία ήπατος. Η δημιουργία του βασίστηκε σε ένα πληθυσμό 733 επιβεβαιωμένων με βιοψία ασθενών με NAFLD από διαφορετικά κέντρα παγκοσμίως και φαίνεται να έχει ευαισθησία 82% και ειδικότητα 98%. Το NFS ορίζει δύο σημεία διαχωρισμού (cut off points) για να διαχωρίζει τους ασθενείς σε ασθενείς με χαμηλή πιθανότητα ίνωσης, με υψηλή πιθανότητα και με απροσδιόριστη πιθανότητα. Το 90% των ασθενών διαγνώστηκαν με ακρίβεια. Ωστόσο, το 25% των ασθενών είχαν απροσδιόριστη πιθανότητα ίνωσης. Παρόλα αυτά, το NFS έχει αποδείξει την κλινική χρησιμότητά του (2).

Το Fibrotest είναι ένα άλλο μοντέλο που έχει επίσης την ικανότητα να αξιολογεί την ίνωση. Το συγκεκριμένο μοντέλο χρησιμοποιεί έναν μη δημοσιοποιημένο τύπο, ο οποίος ενσωματώνει την ηλικία ενός ασθενούς, την α2 μακροσφαιρίνη, την ολική χολερυθρίνη, τη γ-GT και την A1 απολιποπρωτεΐνη (115). Το σκορ της ίνωσης κυμαίνεται από 0,75 έως 0,86 με ευαισθησία 77%, ειδικότητα 98%, θετική προβλεπτική αξία 90% και αρνητική προβλεπτική αξία 73%. Ωστόσο, το Fibrotest είχε κάποιους περιορισμούς, όπως την αδυναμία να ταξινομήσει το ένα τρίτο των ασθενών, καθώς και την αδυναμία να κάνει διάκριση μεταξύ ήπιας έως μέτριας ίνωσης (115) (116).

Άλλα μοντέλα πρόβλεψης για την ίνωση αποτελούν το European Liver Fibrosis Test (ELF) (117), το Fibrometer (118), 2009), το NAFLD Diagnostic Panel (20), το BAAT (115), το μοντέλο NICE (119) και η δοκιμή NASH (120). Καθένα από αυτά τα μοντέλα πρόβλεψης ενσωματώνουν διάφορες εργαστηριακές τιμές και χαρακτηριστικά του ασθενούς και παρόλο που παρουσιάζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, δεν παύουν να υπάρχουν σημαντικοί περιορισμοί, στους οποίους συγκαταλέγεται η συμμετοχή μικρού αριθμού ασθενών και η έλλειψη προοπτικών μελετών ώστε να αποδειχθεί η εγκυρότητά τους (4).

1.5.4. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Οι απεικονιστικές μέθοδοι διάγνωσης της NAFLD και της NASH έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας που ενδιαφέρεται να εξακριβώσει εκείνη με τα πιο αξιόπιστα αποτελέσματα και τα πιο περισσότερα προτερήματα στην κλινική πράξη ώστε να αποφευχθεί η διενέργεια της βιοψίας ήπατος.

Το υπερηχογράφημα είναι οικονομικό, γρήγορο και ευρέως χρησιμοποιούμενο στην κλινική πράξη για τη διάγνωση της NAFLD. Η ευαισθησία του κυμαίνεται από 60% έως 94% και η ειδικότητά του από 66% έως 95%. Παρόλα αυτά η ευαισθησία της μεθόδου είναι μικρή σε περιπτώσεις ήπιας στεάτωσης, καθώς και σε άτομα με νοσογόνο παχυσαρκία. Η χρήση της δεν ενδείκνυται για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου λόγω της αδυναμίας ακριβούς ποσοτικοποίησης του λίπους στο ήπαρ (121).

Η παροδική ελαστογραφία ήπατος [Transient elastography, TE (Fibroscan)] είναι ένα εργαλείο που αναπτύχθηκε την τελευταία δεκαετία και έχει σχεδιαστεί για τη μέτρηση της δυσκαμψίας του ήπατος μέσω υπερήχων. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου και επομένως τη διάκριση της απλής στεάτωσης από την στεατοηπατίτιδα. Οι περιορισμοί της τεχνικής είναι παρόμοιοι με του υπερηχογραφήματος (122).

Η αξονική τομογραφία (Computed Tomography CT) είναι ικανή να μετρά την ποσότητα του σπλαχνικού λίπους (123) (124). Ωστόσο η CT έχει ορισμένους περιορισμούς λόγω του κόστους, της έκθεσης στην ακτινοβολία και της περιορισμένης ευαισθησίας όταν η στεάτωση είναι ήπια (125). Η CT δεν έχει κανένα ρόλο στην ανίχνευση της πρώιμης ίνωσης, και το μεγαλύτερο μέρος της αξονικής τομογραφίας του ήπατος συνήθως γίνεται σε κιρρωτικούς ασθενείς για να ανιχνεύσουν την ηπατική βλάβη (126).

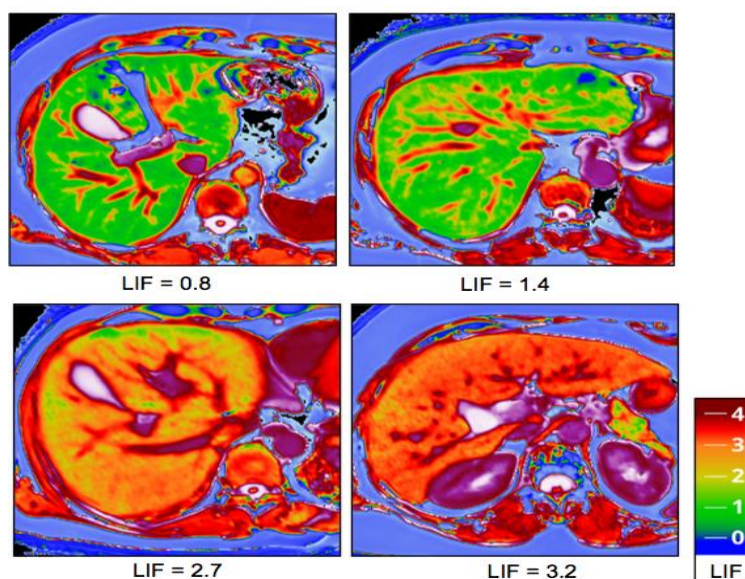
Η μαγνητική τομογραφία (magnetic resonance imaging MRI) έχει πολλά πλεονεκτήματα ως προς την αξιολόγηση της NASH (127):

- 1) μπορεί αξιολογήσει τη συνολική δομή του ήπατος
- 2) να ποσοτικοποιήσει το λίπος χρησιμοποιώντας τη μαγνητική φασματοσκοπία (Magnetic resonance spectroscopy, MRS),
- 3) να ποσοτικοποιήσει την ίνωση χρησιμοποιώντας την μαγνητική ελαστογραφία (magnetic resonance elastography MRE) και
- 4) να αξιολογήσει μεγάλο μέρος ή ακόμη και ολόκληρο το ήπαρ

Στους περιορισμούς περιλαμβάνονται το υψηλό κόστος, η διάρκεια της δοκιμής ενώ δεν ενδείκνυται για ασθενείς με κλειστοφοβία ή μεταλλικά εμφυτεύματα.

Οι Banerjee *et al.* το 2014 ανέπτυξαν τη μέθοδο LiverMultiScan (LMS, Perspectum Diagnostics, Oxford, Ηνωμένο Βασίλειο). Το LMS χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση ανωνύμων εικόνων, από ερευνητές που δεν είχαν κλινικά και ιστολογικά δεδομένα. Είναι ένα πολυπαραμετρικό εργαλείο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου καθώς και της NASH. Χρησιμοποιώντας το LMS έγινε ποσοτικοποίηση της ηπατικής

ίνωσης, της στεάτωσης και της αιμοσιδήρωσης. Η συγκεκριμένη τεχνική είναι ένα σημαντικό βήμα προς μια ασφαλέστερη εναλλακτική λύση αντί της βιοψίας ήπατος. Μετρά το σίδηρο, το ηπατικό λίπος και ποσοτικοποιεί τη φλεγμονή και την ίνωση υπολογίζοντας ένα σκορ, το LIF score το οποίο ενδείκνυται για τη διάκριση της απλής στεάτωσης από τη NASH. Η κατηγοριοποίηση του LIF score 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 (Εικόνα 2) (128).



Εικόνα 2. LMS με χαρτογράφηση T1

Στο LMS γίνεται μια χαρτογράφηση T1, που είναι μια απεικονιστική τεχνική που επιτρέπει τον *in vivo* χαρακτηρισμό ιστού, απεικονίζει την ίνωση/φλεγμονή του ήπατος. Η χαρτογράφηση T2 γίνεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό του σιδήρου στο ήπαρ (Liver Iron Concentration, LIC) και η ποσοτικοποίηση του λίπους, με φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού πρωτονίων (H-MRS). Πρόκειται για μια γρήγορη και μη επεμβατική μέθοδο. Ο ηπατικός σίδηρος έχει επίδραση στην χαρτογράφηση T1 και αυτό μετράται στον υπολογισμό του σκορ LIF (129)

1.6. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ NAFLD

1.6.1. ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΖΩΗΣ

Η σύνδεση ανάμεσα στην αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη και την καθιστική ζωή με το μεταβολικό σύνδρομο, την ινσουλινοαντοχή και επακόλουθα με την NAFLD είναι εδραιωμένη στη βιβλιογραφία. Ακρογωνιαίος λίθος στη διαχείριση της NAFLD θεωρείται η αλλαγή στον τρόπο ζωής, με έμφαση στη διαίτα και στη φυσική δραστηριότητα. Το 2010 ο Promrat και οι συνεργάτες του έδειξαν βελτίωση του NAFLD Activity Score (NAS) καθώς και των επιπέδων alanine aminotransferase (ALT) σε ασθενείς που έχασαν 7-10% του αρχικού σωματικού τους βάρους (2).

Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν και από μία τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή όπου ο Harrison και οι συνεργάτες του κατέληξαν σε βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας και του δείκτη NAS σε ασθενείς που έχασαν >5% του σωματικού τους βάρους και οι βελτιώσεις ήταν ακόμη μεγαλύτερες σε όσους έχασαν >9% του βάρους τους (130).

Μία πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση 23 μελετών που αξιολόγησαν την επίδραση της διαίτας ή της φυσικής δραστηριότητας σε ενήλικες με NAFLD, κατέδειξε ότι αυτές οι αλλαγές στον τρόπο ζωής μείωσαν σταθερά το ηπατικό λίπος και βελτίωσαν την ινσουλινοευαισθησία (3).

Ωστόσο συστήνεται η απώλεια βάρους να μην υπερβαίνει το 1kg ανά εβδομάδα, διότι η γρήγορη απώλεια μπορεί να επιταχύνει την ηπατική στεάτωση (131). Ομοίως, δίαιτες πολύ χαμηλών θερμίδων θα πρέπει να αποφεύγονται ως μέθοδος απώλειας βάρους, εξαιτίας του κινδύνου επιδείνωσης της ίνωσης. Γι' αυτό και ο προτεινόμενος στόχος σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες είναι απώλεια 7-10% του αρχικού σωματικού βάρους σε διάστημα 6 μηνών (132).

Πιο συγκεκριμένα, οι διατροφικές συστάσεις περιλαμβάνουν υψηλότερη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά και χαμηλότερη κατανάλωση υδατανθράκων (40% - 45% των συνολικών θερμίδων) και κορεσμένων λιπαρών σε συνδυασμό με αυξημένη πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFA) και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) (133) . Τέλος οι ασθενείς θα πρέπει να αποφεύγουν τροφές εμπλουτισμένες σε φρουκτόζη, όπως αναψυκτικά και άλλα ποτά με γλυκαντικά (134), ενώ το κάπνισμα συνδέεται με την πιο σοβαρή μορφή της NASH και συστήνεται διακοπή του (135).

1.6.2. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Η φαρμακευτική προσέγγιση ενδείκνυται κυρίως για προχωρημένη NASH, αλλά και για πρώιμα στάδια με αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σε ίνωση (ηλικία >50, διαβήτης, μεταβολικό σύνδρομο, αυξημένο ALT). Μέχρι στιγμής κανένα φάρμακο δεν έχει ελεγχθεί και εγκριθεί για τη NASH σε κλινική μελέτη φάσης III, καθώς η ασφάλεια και η ανεκτικότητα είναι σημαντικά προαπαιτούμενα για μία θεραπεία, λόγω των συνυπαρχόντων με τη NASH συνοσηροτήτων και της επακόλουθης πολυφαρμακευτικής αγωγής που μπορεί να οδηγήσει σε αλληλεπίδραση φαρμακευτικών ουσιών. Λόγω της σχέσης μεταξύ NAFLD και ινσουλινοαντίστασης, αρκετές μελέτες έχουν εστιάσει στη χρήση παραγόντων που προκαλούν ευαισθητοποίηση στην ινσουλίνη, με τον περισσότερο μελετημένο από όλους να είναι η μετφορμίνη. Η επίδραση της μετφορμίνης στο ηπατικό λίπος είναι ασθενής, λόγω της αδυναμίας της να επαναφέρει τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης στον ορό.

Οι θειαζολιδινεδιόνες είναι ανταγωνιστές των ενεργοποιημένων υποδοχέων των πολλαπλασιαστών των υπεροξυσωμάτων (Peroxisome proliferator activated receptors PPARs). Στην κλινική μελέτη PIVENS με χορήγηση χαμηλής δόση πιογλιταζόνης, έναντι βιταμίνης E και placebo, παρατηρήθηκε βελτίωση ιστολογικών χαρακτηριστικών (εκτός της ίνωσης) συχνότερα από την ομάδα ελέγχου, με ανησυχητικά όμως αποτελέσματα όσον αφορά τις παρενέργειες του φαρμάκου.

Τέλος, οι μιμητές των ινκρετινών που δρουν στην αλληλεπίδραση γλυκόζης-ινσουλίνης έδειξαν ευνοϊκά αποτελέσματα σε πιλοτικές μελέτες (132). Οι στατίνες συνταγογραφούνται συχνά σε ασθενείς με NAFLD καθώς θεωρούνται ασφαλείς και συμβάλλουν στη θεραπεία των καρδιαγγειακών παθήσεων σε αυτούς τους ασθενείς.

Στη μελέτη GREASE που πραγματοποιήθηκε το 2010 σε μεγάλο πληθυσμό (1600 άτομα) με μη φυσιολογικά επίπεδα ηπατικών ενζύμων και καρδιακές παθήσεις εμφανίστηκε σημαντική μείωση στα ηπατικά ένζυμα, ενώ στην St Francis Heart Study παρουσιάστηκε μείωση της ηπατικής στεάτωσης σε 455 ασθενείς που λάμβαναν συνδυασμένη θεραπεία ατροβαστατίνης με βιταμίνη C και E σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (2). Επιπλέον ευρεία είναι και η χρήση των ω3 λιπαρών οξέων λόγω της υπολιπιδαιμικής τους δράσης.

1.6.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ-ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ

Η βιταμίνη E χρησιμοποιείται στη NASH λόγω της αντιοξειδωτικής της ικανότητας. Δύο μελέτες φάσης II (PIVENS, TONIC) έδειξαν ότι η βιταμίνη E είναι ανώτερη του εικονικού σκευάσματος σχετικά με τη βελτίωση της ιστοπαθολογίας του ήπατος στη NASH, καθώς και

στα ηπατικά ένζυμα. Η κύρια ανησυχία για τη χρήση της βιταμίνης E, είναι το ενδεχόμενο της τοξικότητας μετά από μακροχρόνια χρήση (136).

Η κερσετίνη είναι ένα φλαβονοειδές με ευεργετική δράση στη συσσώρευση λίπους, τη φλεγμονή, την ίνωση και την ινσουλινοαντοχή που σχετίζεται με τη NAFLD (137). Το ουρσοδεοξυχολικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές μελέτες, με διαφορετική δοσολογία και θετική επίδραση μόνο σε βιοχημικά και όχι σε ιστολογικά χαρακτηριστικά.

Τα προβιοτικά έχουν προταθεί για την πρόληψη διαφόρων χρόνιων ηπατικών διαταραχών, καθώς εμποδίζουν τη μετανάστευση των βακτηρίων και την εισβολή στα επιθήλια και μειώνουν την φλεγμονή ενεργοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Μελέτες έχουν αναδείξει τη συμβολή του προβιοτικών μαζί με συμβιοτικά στη μείωση των ηπατικών ενζύμων και των δεικτών του οξειδωτικού στρες (138).

1.6.4. ΒΑΡΙΑΤΡΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

Έχει παρατηρηθεί σημαντική μείωση στην στεατοηπατίτιδα σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε βαριατρική χειρουργική, με τις επιπλοκές της επέμβασης να μην επιδεινώνονται λόγω της παρουσίας NASH. Δύο πρόσφατες μετα-αναλύσεις κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η βαριατρική χειρουργική βελτιώνει όλες τις μετρήσιμες παραμέτρους της NASH. Παρόλα αυτά, υπάρχει έλλειψη ικανοποιητικών δεδομένων και απαιτείται μακροχρόνια μελέτη στον τομέα της βαριατρικής για να μπορέσουμε να πούμε με ασφάλεια ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά για τη θεραπεία της NASH (2).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μαστίχα Χίου συνιστά τη φυσική, αρωματική ρητίνη που παραλαμβάνεται σε σχήμα δακρύων από τον κορμό και τα μεγάλα κλαδιά του φυτού *Pistacia Lentiscus* var. *Chia*. Η ιστορία της χρονολογείται στον 5ο αιώνα π.Χ, με αρχαιολογικά ευρήματα και ιστορικές αναφορές να υποστηρίζουν τη χρήση της στην ιατρική, τη κοσμετολογία και τη γαστρονομία στην περιοχή της Μεσογείου (139). Χαρακτηριστική είναι η αναφορά του Διοσκουρίδη στο έργο του “*De Materia Medica*” τον 1ο αιώνα μ.Χ. όπου η μαστίχα παρουσιάζεται σαν ένα βότανο μεγάλης ιατρικής σημασίας κατά την αρχαιότητα (140).

2.2. ΤΟ ΜΑΣΤΙΧΟΔΕΝΤΡΟ

Το μαστιχόδεντρο ή μαστιχοφόρος σκίνος είναι ένας αειθαλής θάμνος της οικογένειας *Anacardiaceae* ο οποίος ευδοκimeί στην περιοχή της Μεσογείου. Το είδος *Pistacia Lentiscus* var. *Chia* εδώ και εκατοντάδες χρόνια καλλιεργείται συστηματικά για να αποδώσει τα δάκρυα της μαστίχας μόνο στο νότιο τμήμα του νησιού της Χίου, σε 24 χωριά τα οποία αποκαλούνται Μαστιχοχώρια (140). Το μαστιχόδεντρο μπορεί να φυτευτεί και σε άλλες περιοχές του κόσμου, συμπεριλαμβανομένου και του βόρειου τμήματος της Χίου, αλλά δε θα παράγει τη ρητίνη. Το ύψος του θάμνου ανέρχεται στα 2 με 3 μέτρα και μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 5μ. μετά την πλήρη ανάπτυξή του η οποία απαιτεί ένα χρονικό διάστημα 40 με 50 ετών. Η συνολική διάρκεια ζωής του φυτού είναι μεγαλύτερη των 100 χρόνων. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η παραγωγή μαστίχας δεν είναι εφικτή πριν το φυτό συμπληρώσει τον 5ο ή 6ο χρόνο από τη στιγμή της φύτευσής του ενώ η μέγιστη απόδοση καταγράφεται μετά το 15ο χρόνο. Από τα 70 έτη ζωής του φυτού και έπειτα η απόδοσή του ξεκινά να φθίνει. Η μέση ετήσια απόδοση κάθε φυτού κυμαίνεται στα 150-180γρ. μαστίχας, με τα αρσενικά φυτά να είναι περισσότερο αποδοτικά συγκριτικά με τα θηλυκά και να καλλιεργούνται περισσότερο (141).

2.2.1. Η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ

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 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 (141).

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 (141).

2.3. ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

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 σκληρότητά 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 (141).

2.4. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

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 (142). 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-ένη, ολεανονική αλδεΐδη, ολεανολική αλδεΐδη, β-αμυρόνη, β-αμυρίνη και ισομαστιχαδιενολική αλδεΐδη (143).

2.5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΑΣΤΙΧΑΣ

Η μαστίχα από την αρχαιότητα είχε πολλές χρήσεις. Στην αρχαία Ελλάδα ήταν γνωστή για τις ιατροφαρμακευτικές της ιδιότητες. Στη σημερινή εποχή η ευρύτερη χρήση της είναι ως τσίχλα ή άρωμα για τη ζαχαροπλαστική, ενώ γνωστό είναι και το λικέρ μαστίχας. Το μαστιχέλαιο χρησιμοποιείται επίσης στην επιπλοποιία και στην κατασκευή μουσικών οργάνων. Επίσης στην ιατρική, φαρμακευτική, ορθοδοντική, αρωματοποιία, στην παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής και καλλυντικών (144). Η Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου παράγει την τσίχλα ΕΛΜΑ, η οποία περιέχει φυσική ρητίνη. Το αιθέριο έλαιο, λαμβάνεται από την απόσταξη της μαστίχας και χρησιμοποιείται από εταιρίες καλλυντικών και αρωμάτων. Αντίστοιχα το μαστιχόνερο παραλαμβάνεται από τη μαστίχα μέσω απλής απόσταξης με ατμό, είναι φυσικά αρωματισμένο νερό το οποίο μεταφέρει το αυθεντικό άρωμα μαστίχας και όλες τις ευεργετικές της ιδιότητες. Η μαστίχα κυκλοφορεί και σε μορφή σκόνης αναμιγμένης με ινσουλίνη σε αναλογία 6 /4 (144). Η προσθήκη ινσουλίνης εμποδίζει τη συσσωμάτωση της μαστίχας, διευκολύνοντας έτσι τη διαλυτότητά της στο νερό και την κατάποση. Επιπλέον, έχουν εγκριθεί από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ) οι κάψουλες μαστίχας. Το σκεύασμα

αυτό χρησιμοποιείται για την υγιεινή του πεπτικού συστήματος. Τέλος το κολοφώνιο είναι η ρητινώδης ουσία που απομένει μετά την απομάκρυνση του αιθέριου ελαίου από τη μαστίχα. Η χρήση του εντοπίζεται κυρίως στην παρασκευή χειρουργικών νημάτων, τα οποία απορροφώνται από τον οργανισμό (144).

2.6. TERPENIA

Τα τερπένια απαντώνται ευρέως στη φύση και εμφανίζουν ποικίλες βιολογικές δράσεις, με αποτέλεσμα να προσελκύουν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας και των φαρμακευτικών εταιριών οι οποίες διερευνούν την πιθανά ευεργετική επίδραση της χορήγησής τους σε διάφορα νοσήματα. Τα αιθέρια έλαια και οι ρητίνες περιέχουν μια μεγάλη ποικιλία τερπενίων. Συγκεκριμένα, τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από πτητικά, χαμηλού μοριακού βάρους τερπένια, ενώ οι ρητίνες είναι μίγμα πτητικών και μη πτητικών τερπενίων (145). Τα τερπένια είναι υδρογονάνθρακες φυτικής προέλευσης με ανθρακικό σκελετό ισοπρενίου $H_2C=C(CH_3)-CH=CH_2$ (2-μεθυλοβουταδιένιο_{1,3}) ανοικτής αλύσου ή κυκλικό (μόνο- ή δικυκλικό) (146). Τα τριτερπενοειδή παράγωγα είναι μια μεγάλη ομάδα φυσικών προϊόντων (στερόλες, στεροειδή, σαπωνίνες), με 30 άνθρακες που προέρχονται από 6 μονάδες ισοπρενίου. Τα περισσότερα τριτερπένια υπάρχουν σε κυκλική μορφή (π.χ. λανοστερόλη), είναι άχρωμα, κρυσταλλικά, με υψηλό σημείο ζέσεως, οπτικά ενεργές ουσίες, που είναι δύσκολο να χαρακτηριστούν λόγω της έλλειψης χημικής δραστηριότητας. Όμως υπάρχει μια διαδεδομένη διεργασία που ονομάζεται αντίδραση Liberman-Burchard (αντίδραση οξικού ανυδρίτη σε πυκνό υδροχλωρικό οξύ) και δίνει γαλαζοπράσινο χρώμα με τα περισσότερα τριτερπένια και στερόλες. Μια σημαντική κατηγορία αυτών είναι τα στεροειδή, τα οποία είναι απόλυτα συγγενικά με τις ενώσεις που υπάρχουν στην μαστίχα (147).

2.7. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

Οι πολυφαινόλες αποτελούν μια μεγάλη ομάδα ενώσεων φυτικής προέλευσης που ανιχνεύονται στη μαστίχα και αποτελούνται από ένα ή περισσότερα υδροξύλια απ' ευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή/και ετεροκυκλικούς δακτύλιους. Είναι προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και η δομή τους μπορεί να είναι από απλή, όπως είναι τα φαινολικά οξέα, έως και πολύπλοκη, όπως είναι οι ταννίνες. Παρουσιάζουν αντιοξειδωτική,

αντικαρκινική και αντιφλεγμονώδη δράση, ιδιαίτερα ωφέλιμες ιδιότητες στην προστασία έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων, νευροεκφυλιστικών ασθενειών και καρκίνων ενώ φαίνεται να ασκούν διάφορες ωφέλιμες δράσεις στην ηπατική και εξω-ηπατική ομοιόσταση γλυκόζης και λιπιδίων. Η προστατευτική αυτή ικανότητα οφείλεται στην ιδιότητά τους να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες και στην αποδόμηση αλυσιδωτών οξειδωτικών αντιδράσεων (148). Οι πολυφαινόλες είναι μεταξύ άλλων και αυτές υπεύθυνες για τις οργανοληπτικές και διατροφικές ιδιότητες των τροφίμων. Η στυφή και πικρή γεύση των τροφίμων και ποτών εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους σε αυτές. Κατά τη διάρκεια των δεκαετιών του '90 και του '00, τα πτητικά συστατικά της μαστίχας αποτέλεσαν αντικείμενο πολλών μελετών, στα πλαίσια της ανάλυσης της σύνθεσης και της δραστηριότητας του αιθέριου ελαίου της μαστίχα (149). Ίχνη πολυφαινολών όπως, τυροσόλης, p-υδροξυ-φαινυλοξικού, p-υδροξυ-βενζοϊκού, γαλλικού και βανιλλικού οξέος ανιχνεύονται στη ρητίνη (150; 151). Το πολυμερές της μαστίχας αναγνωρίστηκε ως cis-1,4-poly-β-μυρσενίου (152), ενώ η μαστίχα περιέχει επίσης ένα μικρό κλάσμα (περίπου 2%) αιθέριου ελαίου, το οποίο αναλύθηκε από διάφορους επιστήμονες αλλά μελετήθηκε κυρίως από τους Papageorgiou et al. (149).

2.8. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η αντιοξειδωτική δράση της μαστίχας Χίου ήταν ήδη γνωστή από την δεκαετία του 70 από έρευνες Αιγύπτων επιστημόνων (153). Η πληθώρα των φαινολών στη μαστίχα σχετίζεται άμεσα με την υψηλή αντιοξειδωτική της δράση. Πολλές μελέτες έχουν αξιολογήσει τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των διαφόρων ειδών *Pistacia*. Το 2003 οι Andrikopoulos *et al.* έδειξαν την αντιοξειδωτική ικανότητα διάφορων κλασμάτων της μαστίχας Χίου αλλά και βασικών τερπενίων της, όπως του ολεανολικού οξέος, μελετώντας την προστατευτική τους δράση κατά της οξείδωσης της LDL-λιποπρωτεΐνης (146). Η ηπατοπροστατευτική επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος του *P. lentiscus*, αξιολογήθηκε σε μοντέλα αρουραίων, όπου τους χορηγήθηκε από του στόματος το εκχύλισμα σε δόση 4 ml/kg. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια αντιηπατοτοξική δράση (154). Η μελέτη των Rauf *et al.* έδειξε σε αρκετές *in vitro* μεθόδους ότι τα εκχυλίσματα διαφόρων τμημάτων της ποικιλίας *P. vera* έχουν αντιοξειδωτική δράση (155). Τέλος σε άλλη μία μελέτη των Abdelwahed *et al.* φάνηκε ότι η περιεκτικότητα της μαστίχας σε γαλλικό οξύ, προκάλεσε την έκφραση γονιδίων αντιοξειδωτικών και επιδιόρθωσης του DNA, γεγονός που εξηγεί την αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών (156).

2.9. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας οφείλεται στη μεγάλη ποικιλία των τερπενίων που περιέχει όπως είναι το ολεανόνιο, το ευφάνιο, η λουπεόλη, η α-τοκοφερόλη και οι πολυφαινόλες (151).

Ο πιθανός ρόλος της αντιφλεγμονώδους δραστηριότητας της μαστίχας σε χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες όπως η νόσος του Crohn έχει αξιολογηθεί (157; 158). Σε μία κλινική μελέτη που διεξήχθη για να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της χορήγησης της μαστίχας στην παραγωγή κυτταροκινών από τα μονοπύρρηνα κύτταρα της κυκλοφορίας (158) σε ασθενείς με ενεργό νόσο Crohn έπειτα από θεραπεία με κάψουλες μαστίχας (0,37γρ. ανά κάψουλα, 6 κάψουλες ημερησίως για 4 εβδομάδες) οδήγησε σε μείωση της έκκρισης του TNF-α και αύξηση της απελευθέρωσης του παράγοντα αναστολής της μετανάστευσης των μακροφάγων (MIF), υποδεικνύοντας την αναστολή της τυχαίας μετανάστευσης και της χημειοταξίας των μονοκυττάρων και των μακροφάγων. Η μελέτη αυτή πρότεινε ότι η μαστίχα μπορεί να παίζει ρόλο στη ρύθμιση της ανοσολογικής λειτουργίας στη νόσο Crohn, ειδικά με τη δράση της ως ρυθμιστής ανοσίας στα μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος. Παρόμοια αποτελέσματα που φανερώνουν ότι η μαστίχα μπορεί να είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ανοσολογικής λειτουργίας στη νόσο του Crohn είχε και η μελέτη των Kaliora *et al.* (159)

2.10. ΆΛΛΕΣ ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η τρέχουσα βιβλιογραφία υποδηλώνει ότι η Μαστίχα Χίου (*Pistacia lentiscus* var *chia*) διαθέτει ποικίλες ευεργετικές ιδιότητες μεταξύ των οποίων οι αντιμικροβιακές, οι καρδιοπροστατευτικές, οι αντιοξειδωτικές, και οι ηπατοπροστατευτικές.

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες της μαστίχας Χίου έχουν καταδειχθεί έναντι διαφόρων βακτηριδίων, συμπεριλαμβανομένου του *Helicobacter Pylori*, ενός gram (-) αερόβιου βακτηρίου που ευθύνεται για την εμφάνιση χρόνιας ενεργούς γαστρίτιδας, καθώς και μιας σειράς άλλων στομαχικών διαταραχών όπως εξέλκωση, ατροφία, αδενοκαρκίνωμα και λέμφωμα. Οι Paraschos *et al.* μελέτησαν για 3 μήνες ποντίκια που είχαν μολυνθεί με *Helicobacter pylori*. Τους χορηγήθηκε εκχύλισμα μαστίχας 0,75mg/ημέρα και παρατήρησαν 30 φορές μείωση του αποικισμού του *Helicobacter pylori*. Συμπέραναν ότι τα κύρια τριτερπενικά οξέα, στο όξινο

εκχύλισμα μαστίχας μπορεί να είναι υπεύθυνα για μια τέτοια δραστηριότητα, με πιο δραστική ένωση το ισομεταδιενικό οξύ (160).

Λόγω των αντιφλεγμονωδών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων, η μαστίχα έχει μελετηθεί για την ικανότητά της να τροποποιεί μόρια συνδεδεμένα με την προστασία του καρδιαγγειακού συστήματος (139). Η καρδιοπροστατευτική αυτή δράση επιβεβαιώνεται από κλινική δοκιμή των Triantafyllou *et al.* στην οποία συμμετείχαν 133 ασθενείς (40 άνδρες και 93 γυναίκες) με υψηλό λιπιδαιμικό προφίλ και ηλικία άνω των 50 ετών. Οι αιματολογικές εξετάσεις στο τέλος της παρέμβασης (18 μήνες) έδειξαν ότι το λιπιδαιμικό προφίλ των εθελοντών βελτιώθηκε σημαντικά ύστερα από ημερήσια κατανάλωση 5g μαστίχας διαλυμένης σε νερό. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μειώσεις στην ολική χοληστερόλη, στην LDL χοληστερόλη, στην αναλογία ολικής χοληστερόλης/HDL χοληστερόλης, στην λιποπρωτεΐνη-α, καθώς και στις απολιποπρωτεΐνες A1 και B ορού ($p<0,05$) (161).

Η μαστίχα Χίου φαίνεται να περιέχει ενώσεις που αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και προκαλούν θάνατο καρκινικών ανθρώπινων κυττάρων. Ενδεικτικά, οι Balan *et al.* επιβεβαίωσαν την παραπάνω υπόθεση *in vitro* σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου. Η επίδραση της μαστίχας συνέβαλε στην απόπτωση των HCT116 καρκινικών κυττάρων και φάνηκε να μεσολαβείται από ενεργοποίηση της κασπάσης-3, της κασπάσης-8 και 9. Τα ευρήματα που παρουσιάστηκαν υποδεικνύουν ότι η μαστίχα, επάγει μία μορφή ψευδοκυτταρικού θανάτου σε HCT116 καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χημειοθεραπευτικός παράγοντας ως προς τον καρκίνο του παχέος εντέρου και άλλων καρκίνων (162).

Σημαντικά ευρήματα προκύπτουν από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για να διερευνήσουν την διατροφική τοξικότητα της μαστίχας. Κατά τη διάρκεια διατροφικής θεραπείας με μαστίχα για 13 εβδομάδες σε αρουραίους, δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα ή εμφανή κλινικά σημεία σε κανένα από τα ζώα που συμμετείχαν σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες. Αντιθέτως, στην ομάδα ζώων που έλαβε υψηλή δόση μαστίχας, μειώθηκε σημαντικά το σωματικό βάρος τους. Επιπλέον, ειδικά στα αρσενικά ζώα, υπήρξαν μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους, καθώς αυξήθηκε ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων (163).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

3.1 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Η αντιπονεκτίνη ανακαλύφθηκε το 1995 και προσέελκυσε το ενδιαφέρον των ερευνητών εξ αιτίας των αντιφλεγμονωδών, αντιδιαβητικών, αντιαθηρογόνων και καρδιοπροστατευτικών ιδιοτήτων της (164). Συναντάται ως Antipocyte complement-related protein of 30kDa (Acrp30). Άλλες ονομασίες με τις οποίες μπορεί να τη συναντήσουμε είναι η i)AdipoQ που είναι η πρωτεΐνη η οποία ταυτοποιήθηκε σε ζώα, ii) η Adipose Most Abundant Gene transcript 1 (apM1) που αποτελεί το cDNA της ανθρώπινης αντιπονεκτίνης και τέλος iii) gelatin-binding protein of 28 kDa (GBP28) η οποία είναι η ανθρώπινη πρωτεΐνη που ταυτοποιήθηκε σε πλάσμα ανθρώπινου αίματος (165).

Το γονίδιο apM1 καταλαμβάνει 17kb στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 3 στην περιοχή 3q27. Αποτελείται από 3 εξώνια και 2 εσώνια. Η πεπτιδική αλυσίδα της πρωτεΐνης αποτελείται από 244 αμινοξέα και έχει μέγεθος 30kDa (166) (167).

Συντίθεται ως μονομερές των 28-30kDa που συναρμολογείται σε ομολιγομερή διαφορετικών μοριακών βαρών που είναι τα εξής:

- Τριμερής μορφή χαμηλού μοριακού βάρους (LMW)
- Εξαμερής μορφή μεσαίου μοριακού βάρους (MMW)
- Δωδεκαμερή και δεκαοκταμερή συμπλέγματα υψηλού μοριακού βάρους (HMW) (165)

Η HMW θεωρείται ως η βιολογικά δραστική μορφή που πιθανόν ασκεί αντιαθηρογόνες, αντιδιαβητικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις που εμποδίζουν την ανάπτυξη μεταβολικών και καρδιαγγειακών νοσημάτων (168).

Η μονομερής πεπτιδική αλληλουχία αποτελείται από τέσσερις περιοχές:

- Ένα αμινοτελικό πεπτίδιο που χρησιμεύει στην έκκριση της ορμόνης
- Μία σύντομη υπερμεταβλητή περιοχή
- Μία περιοχή παρόμοια με του κολλαγόνου (collagen-like domain)
- Μία καρβοξυτελική σφαιρική περιοχή παρόμοια με τον παράγοντα C1q (C1q-like domain) (169) (170).

Στον ορό του αίματος, η μονομερής μορφή της αντιπονεκτίνης υπάρχει σε μορφή πλήρους μήκους (fAdiponectin) ή σε σφαιρική μορφή (gAdiponectin). Η gAdiponectin παράγεται σαν προϊόν της πρωτεολυτικής διάσπασης της fAdiponectin και περιέχει τη σφαιρική κεφαλή χωρίς την collagen-like domain, ενεργοποιώντας έτσι το σχηματισμό των τριμερών χαμηλού μοριακού βάρους (171) (165) (172). Ωστόσο, η αντιπονεκτίνη έχει μη γραμμική κατανομή εντός του φάσματος NAFLD και αυξάνεται όταν η NASH εξελίσσεται σε κίρρωση (173).

Η αντιπονεκτίνη κυκλοφορεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις στον ορό του αίματος (5-30μg/mL) αντιπροσωπεύοντας το 0,01% των συνολικών πρωτεϊνών του ορού. Οι τιμές της σχετίζονται με το φύλο και την εθνότητα και είναι υψηλότερες στους Καυκάσιους σε σχέση με τους Ινδο-ασιάτες και στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες (174).

Έχουν αναγνωριστεί δύο υποδοχείς της αντιπονεκτίνης. Ο ADIPOR1 που εκφράζεται κυρίως στους σκελετικούς μύες και έχει μεγαλύτερη συγγένεια με το σφαιρικό τμήμα (gAdiponectin) της ορμόνης και ο ADIPOR2 που εκφράζεται στο ήπαρ και παρουσιάζει ενδιάμεση συγγένεια τόσο ως προς το gAdiponectin όσο και ως προς το ολικό μόριο της αντιπονεκτίνης (fAdiponectin) (170).

Είναι μία κυτταροκίνη που παράγεται κυρίως από το λευκό λιπώδη ιστό και συγκεκριμένα από τα ώριμα λιποκύτταρα. Η έκφρασή της καθορίζεται πρωτίστως από το μέγεθος των λιποκυττάρων και την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Δηλαδή με την αύξηση του μεγέθους του λιποκυττάρου και της αντίστασης στην ινσουλίνη, το κύτταρο μειώνει την παραγωγή αντιπονεκτίνης (165) (175) (176).

Αποτελεί μία προστατευτική αντιποκυτταροκίνη, η οποία εμπλέκεται τόσο στη ρύθμιση της γλυκόζης και του μεταβολισμού των λιπιδίων, όσο και στη φλεγμονή, αναστέλλοντας την παραγωγή του NF-κB και του TNF-α από τα μακροφάγα. Συνεπώς, η συγκέντρωσή της στον ορό του αίματος έχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση με το διαβήτη και την παχυσαρκία. Επιπλέον, τα επίπεδά της φαίνεται να είναι χαμηλότερα σε παχύσαρκα άτομα και ασθενείς με διαγνωσμένη αντίσταση στην ινσουλίνη (175).

3.1.1 ANTIPONEKTINH KAI NAFLD

Η αντιπονεκτίνη επάγει το μεταβολισμό της γλυκόζης και του ηπατικού λίπους μέσω των υποδοχέων της AdipoR1 και της AdipoR2. Στους ασθενείς με NAFLD, παρατηρούνται ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα αντιπονεκτίνης, αφενός λόγω της υποβόσκουσας ινσουλινοαντίστασης και

αφετέρου λόγω της εναπόθεσης ενδοηπατικού λίπους (177). Η αντιπονεκτίνη διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη NAFLD, λόγω της αντιφλεγμονώδους δράσης που ασκεί αναστέλλοντας την έκφραση του TNF-α στο ήπαρ και μειώνοντας τα επίπεδά του στο πλάσμα του αίματος (178). Ωστόσο ακριβής ρόλος των αντιποκινών στην παθογένεση της NAFLD, παραμένει αδιευκρίνιστος. Υψηλές συγκεντρώσεις TNF-α και χαμηλές αντιπονεκτίνης έχουν συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης NAFLD, ανεξάρτητα από την παρουσία ινσουλινοαντίστασης (179). Τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα του αίματος φαίνεται να μειώνονται σε ασθενείς με NAFLD, γεγονός που εξηγείται από την ευαισθησία της στην ινσουλίνη και την αντιφλεγμονώδη δράση της (180). Μετά από θεραπεία με θειαζολιδινεδιόνες, οι τιμές της αντιπονεκτίνης φάνηκε να αυξάνονται στη NASH ως ένα σημάδι βελτίωσης της ηπατικής στεάτωσης, την νεκρωτικής φλεγμονής και κυρίως της ίνωσης (181). Ωστόσο, η αντιπονεκτίνη έχει μη γραμμική κατανομή εντός του φάσματος NAFLD και αυξάνεται όταν η NASH εξελίσσεται σε κίρρωση (173).

3.1.2 ANTIΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Παρόλο που η επίδραση της διατροφής και της άσκησης στα επίπεδα αντιπονεκτίνης είναι αμφιλεγόμενη, έχει επιβεβαιωθεί η αντιφλεγμονώδης δράση της που είναι ικανή να αναστείλει την παραγωγή των NF-κB και TNF-α στα μακροφάγα. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης στον ορό του αίματος, είναι αντίστροφα συνδεδεμένη με την παχυσαρκία και διάφορες χρόνιες μεταβολικές διαταραχές όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη και ο διαβήτης. Από την άλλη πλευρά, τα υψηλά επίπεδα αντιπονεκτίνης σε περιπτώσεις με χρόνια φλεγμονώδη/αυτοάνοσα νοσήματα, όπως είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και η κυστική ίνωση δε σχετίζονται με αυξημένη εναπόθεση λιπώδους ιστού (182).

3.1.3 ANTIΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Παρά το γεγονός ότι η αντιπονεκτίνη εκκρίνεται από το λιπώδη ιστό, τα κυκλοφορούντα επίπεδα της, παραδόξως, μειώνονται όσο αυξάνεται η κεντρική παχυσαρκία. Η παραγωγή αντιπονεκτίνης καθορίζεται κυρίως από το μέγεθος των λιποκυττάρων και την ινσουλινοευαισθησία, με τα μεγαλύτερα, ινσουλινο-ανθεκτικά λιποκύτταρα να παράγουν λιγότερη αντιπονεκτίνη (168). Στο λιπώδη ιστό των παχύσαρκων ατόμων, τόσο η ενδοκυττάρια διάταξη όσο και η έκκριση της HMW αντιπονεκτίνης είναι μειωμένη. Τα μειωμένα επίπεδα της

ΗΜW φάνηκε ότι συμβάλλουν στην αντίσταση στην ινσουλίνη και καρδιαγγειακή δυσλειτουργία (183).

3.1.4 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τα ανεβασμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης φαίνεται να συνδέονται με δίαιτες υψηλές σε περιεκτικότητα λίπους ενώ μία πιο ήπια αύξηση παρατηρήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε συμπλήρωμα ω-3 λιπαρών οξέων (184) (185). Αντιθέτως, όταν χρησιμοποιήθηκε συζευγμένο συμπλήρωμα λινολενικού οξέος, παρατηρήθηκε πτώση στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης. Σε ποντίκια η δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες αύξησε τα επίπεδα αντιπονεκτίνης ενώ στους ανθρώπους παρατηρήθηκε αυτή η αύξηση μόνο όταν καταναλώθηκε γλυκόζη. Με την κατανάλωση φρουκτόζης δεν παρατηρήθηκε το ίδιο φαινόμενο (184). Τέλος, κάποιες έρευνες έδειξαν ότι η παραγωγή αντιπονεκτίνης από τα λιποκύτταρα, ομαλοποιείται μέσω διέγερσης της ινσουλίνης και της γλυκόζης (186).

3.1.5 ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

Η ήπιας ή μέτριας έντασης άσκηση δε βρέθηκε να αλλάζει τα επίπεδα αντιπονεκτίνης, ενώ όταν η άσκηση ήταν μεγαλύτερης διάρκειας, παρατηρήθηκε θετική επίδραση (187). Τα ανεβασμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης συσχετίστηκαν με βελτίωση της καρωτιδικής αγγειακής λειτουργίας σε παχύσαρκους ασθενείς που ακολούθησαν υψηλής έντασης άσκηση σε συνδυασμό με μέτριο διατροφικό θερμιδικό περιορισμό (188).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: TNF- α

4.1. TNF- α

Ο όρος παράγοντας νέκρωσης όγκων (Tumor Necrosis Factor - TNF) ή εναλλακτικά καχεκτίνη ή TNF-άλφα (TNF- α) ή Tumor necrosis factor ligand superfamily member 2 αναφέρεται σε μία πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο TNF ή TNFA ή TNFS2 που εδράζει στο χρωμόσωμα 6p21.33 και αποτελεί αρχέγονο μέλος της υπερικογένειας των γονιδίων TNF (189). Η έκκρισή της προκαλείται κυρίως από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και τα Τ-κύτταρα (190) (191) (192). Η πρωτεϊνική μορφή του TNF- α μπορεί να καταταχθεί σε 6 κατηγορίες ανάλογα με την περιοχή του κυττάρου που βρίσκεται:

1. Μεμβρανική μορφή (NTF)
2. Ενδοκυτταρική περιοχή 1 (ICD1)
3. Ενδοκυτταρική περιοχή 2 (ICD2)
4. C-domain 1
5. C-domain 2 α
6. Εξωκυττάρια περιοχή, στη διαλυτή μορφή (sTNF- α) (189)

Ο TNF- α συντίθεται ως πρόδρομη διαμεμβρανική πρωτεΐνη (mTNF- α) με μοριακή μάζα 26kDa (193), η οποία έπειτα μεταφέρεται μέσω του αδρού ενδοπλασμικού δικτύου, του συμπλέγματος Golgi και του ενδοσώματος ανακύκλωσης στην κυτταρική επιφάνεια (194). Τα μονομερή του TNF- α πρώτα συνδέονται στην πλασματική μεμβράνη ως μη ομοιοπολικά τριμερή (195) (196) και έπειτα διασπώνται από μία μεταλλοπρωτεάση την TACE ή ADAM17 που αποτελεί το ένζυμο διάσπασης του TNF- α (197) με αποτέλεσμα την παραγωγή του 17 kDa sTNF- α εξωκυττάρια και ενός τριμερούς sTNF- α που αποτελεί και το ισχυρότερο μόριο πρόσδεσης που ενεργοποιεί τους TNF υποδοχείς (193). Μετά τη διάσπαση από το TACE, το στέλεχος της μεμβράνης υποβάλλεται σε πρωτεολυτική επεξεργασία από τις σηματοδοτικές πεπτιδάσες των πεπτιδίων SPPL2a και SPPL2b (198). Αυτή η διάσπαση παράγει μια ενδοκυτταρική περιοχή (ICD) που μεταφέρεται στον πυρήνα και προκαλεί τη σηματοδότηση μιας προ-φλεγμονώδους κυτταροκίνης, και ιδιαίτερα την έκφραση της IL-12 (198). Έτσι, το πρόδρομο μόριο του TNF- α υποβάλλεται σε πολλαπλές διασπάσεις ώστε να απελευθερωθούν ισχυροί ρυθμιστές της φλεγμονής.

Οι μοριακές δράσεις του εξωκυττάριου sTNF- α και της mTNF- α τυπικά εμφανίζονται μέσω της δέσμευσης σε έναν από τους δύο υποδοχείς:

- Τον TNFR1 που εκφράζεται ευρέως και

- Τον TNFR2 που εκφράζεται κυρίως στα λευκοκύτταρα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (193).

4.1.2. TNF- α ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η διατήρηση των κατάλληλων επιπέδων του TNF- α είναι απαραίτητη για την εκτέλεση των βασικών ομοιοστατικών λειτουργιών του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της νέκρωσης και της απόπτωσης (195). Ο TNF- α ανήκει στις προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και η κυριότερη δράση του έγκειται στη φλεγμονώδη απάντηση (190) που περιλαμβάνει τόσο τη συστηματική όσο και την τοπική ανοσολογική απάντηση. Οι δράσεις του TNF- α κατά τη φλεγμονή συμπεριλαμβάνουν την ενεργοποίηση της έκφρασης των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, των μεσολαβητών των λιπιδίων που προάγουν το οίδημα του ιστού, καθώς και τη μοριακή προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο επιθήλιο τα οποία διεγείρουν την κυτταρική ανοσία (199).

Σε αρκετές μελέτες έχει φανεί ότι η μη σωστή ρύθμιση της φλεγμονώδους απάντησης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε αρκετές χρόνιες ασθένειες, όπως και στον καρκίνο (200), όπου το 25% των περιπτώσεων του έχει συσχετισθεί με τη χρόνια φλεγμονή (201). Συγκεκριμένα, ο TNF- α εμπλέκεται άμεσα στην παθολογία διάφορων συστημικών ασθενειών όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η νόσος parkinson, η νόσος alzheimer, η νόσος Behcet's και το περιοδικό σύνδρομο που σχετίζεται με τον υποδοχέα του παράγοντα νέκρωσης όγκων, καθώς επίσης επηρεάζει και την παθολογία κάποιων ασθενειών μέσω συγκεκριμένων επιδράσεων (195). Ορισμένες μεγάλες μελέτες έχουν δείξει την αποτελεσματικότητα της αντι-TNF- α θεραπείας σε φλεγμονώδεις ασθένειες (202).

4.1.3. TNF- α ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και μεταγραφικοί παράγοντες εκφράζονται έντονα στο λιπώδη ιστό. Στον άνθρωπο, η έκκριση του TNF- α στον λιπώδη ιστό γίνεται κυρίως από τα στρωματικά-αγγειακά κύτταρα και από κλάσματα κυττάρων με το ίδιο καλούπι (μήτρα), συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων, τα επίπεδα των οποίων είναι υψηλότερα στον υποδόριο λιπώδη ιστό σε σύγκριση με τον σπλαγχνικό λιπώδη ιστό (203) (204). Με παρόμοιο τρόπο ο TNF- α εκφράζεται και στα προ-λιποκύτταρα, ωστόσο τα επίπεδά του αυξάνονται σύμφωνα με το βαθμό διαφοροποίησης του κυττάρου (205). Οι δύο υποδοχείς του TNF- α εκφράζονται εντός των λιποκυττάρων και τα επίπεδα έκφρασής τους έχει φανεί ότι μεταβάλλονται στα μυϊκά κύτταρα και στα λιποκύτταρα των διαβητικών παχύσαρκων

αρουραίων, ενώ οι ινσουλινοευαίσθητοι παράγοντες και ο περιορισμός της τροφής εξομαλύνουν την έκφρασή τους (206). Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η παραγωγή του TNF-α από τον λιπώδη ιστό συνδέεται με το επίπεδο της παχυσαρκίας, την υπερινσουλιναιμία και την αντίστοιχη αντίσταση στην ινσουλίνη (207). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει στην παχυσαρκία αυξημένα επίπεδα TNF-α στο λιπώδη ιστό, οι μηχανισμοί όμως που οδηγούν σε αυτή την αύξηση παραμένουν ασαφείς. Επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι ο TNF-α μπορεί να αυτορυθμίσει θετικά τη βιοσύνθεσή του στον λιπώδη ιστό, συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση αυξημένων επιπέδων TNF-α στην παχυσαρκία και επομένως σε μια κατάσταση χαμηλού βαθμού χρόνιας φλεγμονής (208).

4.1.4. Η ΣΧΕΣΗ ΤΟΥ TNF-α ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ

Σε μελέτη που έγινε σε knockout ποντίκια για την αντιπονεκτίνη εμφανίστηκε υψηλή έκφραση του mRNA του TNF-α στο λιπώδη ιστό και υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεΐνης TNF-α στην κυκλοφορία, υποδεικνύοντας ότι η αντιπονεκτίνη ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση (209), η οποία μεσολαβεί όχι μόνο για την καταστολή της έκφρασης του TNF-α, αλλά και την επαγωγή της αντιφλεγμονώδους έκφρασης των γονιδίων στα ανθρώπινα λευκοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των ανταγωνιστικών υποδοχέων της IL-10 και της IL-1 (210). Ο TNF-α αναστέλλει τη μεταγραφή της αντιπονεκτίνης στα λιποκύτταρα, επηρεάζοντας έτσι αρνητικά τη φλεγμονή. Επιπλέον, η αντιπονεκτίνη μπορεί να βελτιώσει τις σχετιζόμενες με την παχυσαρκία ηπατικές ανωμαλίες, όπως η ηπατομεγαλία και η στεάτωση, ενισχύοντας τη δράση της παλμιτοϋλοτρανσφεράσης I της καρνιτίνης και την οξείδωση των ηπατικών λιπαρών οξέων, ενώ μειώνεται η δράση της ακετυλο-CoA καρβοξυλάσης και της συνθάσης των λιπαρών οξέων, δύο βασικών ενζύμων που εμπλέκονται στη σύνθεση των λιπαρών οξέων (211).

4.1.5. TNF-α ΚΑΙ NAFLD

Η ισορροπία μεταξύ των προφλεγμονωδών και των αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στις συστηματικές, τοπικές μεταβολικές και φλεγμονώδεις διεργασίες που εμπλέκονται στην ανάπτυξη της NAFLD και της IR. Ο TNF-α είναι μια προφλεγμονώδης κυτταροκίνη που χαρακτηρίζεται από διάφορες βιολογικές επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένων των μεταβολικών, των φλεγμονωδών, των πολλαπλασιαστικών αλλά και των νεκρωτικών διεργασιών, με αυξημένη έκφραση στο ήπαρ και τον λιπώδη ιστό, καθιστώντας τον έτσι από τους κύριους αιτιολογικούς παράγοντες για τη NAFLD. Εκκρίνεται από τα μακροφάγα που

έχουν διεισδύσει στον λιπώδη ιστό των παχύσαρκων μοντέλων, από τα ηπατοκύτταρα, τα κύτταρα Kupffer και άλλους κυτταρικούς τύπους, ως απόκριση στη χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση (212) (213). Μεταξύ όλων των εμπλεκόμενων προφλεγμονωδών κυτταροκινών στην παθογένεση της παχυσαρκίας, της IR και της NAFLD, ο TNF-α είναι ο παράγοντας που διερευνάται πιο συχνά και χαρακτηρίζεται από αντικρουόμενα αποτελέσματα, λόγω της ετερογένειας του πληθυσμού των μελετών, λόγω δειγμάτων μικρού μεγέθους και παραγόντων που ενδεχομένως παρεμβαίνουν στην ανίχνευση των επιπέδων του TNF-α στον ορό. Σε μελέτες σε ανθρώπους (214) και σε πειραματικές μελέτες σε μοντέλα που προκλήθηκε η NAFLD μέσω της διατροφής, με ή χωρίς γενετική διαφοροποίηση, το αποτέλεσμα ήταν η εξασθενημένη σηματοδότηση ή εξουδετέρωση με αντισώματα, υποδεικνύοντας ότι ο TNF-α διαδραματίζει κάποιο ρόλο στα διάφορα στάδια εξέλιξης της NAFLD (ηπατική στεάτωση, νέκρωση, απόπτωση και ίνωση) καθώς και την IR.

Στους ανθρώπους έχει βρεθεί ότι ακόμη και υγιή άτομα με υψηλά τα βασικά επίπεδα του TNF-α είχαν σημαντικά μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD (214). Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών σε ενήλικες και παιδιά έδειξε αυξημένη έκφραση του TNF-α και των υποδοχέων του σε NASH ασθενείς με επαγόμενη IR (214) (215) (216) (217) (218) (219) (220). Αν και τα αποτελέσματα της μελέτης σχετικά με τη συσχέτιση του TNF-α με την εξέλιξη της νόσου είναι αντιφατικά (215), αρκετές νεότερες μελέτες σε ζώα και σε ανθρώπους δηλώνουν ότι ο TNF-α 179 (217) (218) (219) (220) (193). Πράγματι, *in vitro* και σε ένα ζωϊκό μοντέλο με υπερβολική πρόσληψη θερμίδων που στερείται και των δύο υποδοχέων του TNF-α, φάνηκε ότι ο TNF-α που παράγεται από τα κύτταρα Kupffer ενισχύει την έκφραση του αναστολέα των ιστών της μεταλλοπρωτεϊνάσης 1 (TMP-1) mRNA σε ενεργοποιημένα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα και καταστέλλει την επαγωγή της απόπτωσης τους, επιβεβαιώνοντας έτσι τον ρόλο του στην ηπατική ίνωση (193). Οι μελέτες *in vitro* και *in vivo* έδειξαν ότι η NAFLD που προκαλείται από τη φρουκτόζη έχει συσχετισθεί με ενδοτοξαιμία η οποία οδηγεί στην ενεργοποίηση των ηπατικών κυττάρων Kupffer στο ήπαρ και στη συνέχεια στη παραγωγή του TNF-α (221) (222) (223) (224) (225) (226) (227). Η γενετική προδιάθεση για τη NASH έχει γίνει πρόσφατα θέμα μεγάλης σημασίας καθώς ο πολυμορφισμός του TNF-α σε συγκεκριμένους πληθυσμούς έχει συνδεθεί με την ευαισθησία στη NAFLD (216) (228) (229), ενώ πολυάριθμες μελέτες επιβεβαιώνουν την εμπλοκή του TNF-α σε ένα σύνθετο δίκτυο που οδηγεί στην ανάπτυξη της NAFLD. Έχουν προταθεί ποικίλες θεραπευτικές επιλογές.

4.1.6. Ο TNF-α ΩΣ ΠΙΘΑΝΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΗ NAFLD

Μία από τις φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που μελετώνται για τη διάγνωση της NASH είναι και ο TNF-α (230). Αρκετές πρόσφατες μελέτες μέτρησαν φλεγμονώδεις δείκτες σε ασθενείς με NAFLD (231) (232) (233) (234) (235) (236). Δύο από αυτές τις μελέτες συνέκριναν ασθενείς με NAFLD με ομάδα ελέγχου χωρίς NAFLD (233) (235), ενώ οι υπόλοιπες τρεις συνέκριναν ασθενείς με NASH με ασθενείς χωρίς NASH σε συνολικό δείγμα ασθενών με NAFLD (231) (232) (236). Ο TNF-α ήταν υψηλότερος σε ασθενείς με NAFLD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, χωρίς NAFLD (233) (235), όπως επίσης υψηλότερος ήταν στους ασθενείς με NASH σε σύγκριση με τους ασθενείς με NASH σε δείγμα ασθενών με NAFLD (236), ενώ σε μία άλλη μελέτη ήταν παρόμοιος μεταξύ ασθενών με NASH και χωρίς NASH (231). Τα επίπεδα του TNF-α ήταν παρόμοια μεταξύ των ασθενών με NASH και αυτών χωρίς NASH, και συνεπώς δεν συσχετίσθηκε με τη NASH σε δείγμα ασθενών με NAFLD (232).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΚΟΠΟΣ – ΔΙΑΤΥΠΩΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΥΠΟΘΕΣΗΣ

Λόγω των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της μαστίχας Χίου, υποθέτουμε ότι μπορεί να έχει ευεργετική δράση στα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών σε παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD, οι οποίοι έχουν διαταραγμένα επίπεδα αυτών.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η μέτρηση και αξιολόγηση των επιπέδων αντιπονεκτίνης και TNF- α σε παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD οι οποίοι συμμετείχαν στη μελέτη MAST4HEALTH και στα πλαίσια αυτής, υποβλήθηκαν σε εξάμηνη διατροφική παρέμβαση με χορήγηση συμπληρώματος φυσικής μαστίχας Χίου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

6.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ MAST4HEALTH

Η μελέτη MAST4HEALTH είναι μια πολυκεντρική (3 κέντρα παρέμβασης σε Ελλάδα, Ιταλία και Σερβία), τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, κλινική δοκιμή. Έχει αρχικό στόχο τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της συμπληρωματικής, εξάμηνης χορήγησης μαστίχας Χίου στη δόση των 2.1γρ. ημερησίως, σε κάψουλες των 350 mg/κάψουλα, σε ασθενείς με NAFLD/NASH και την αξιολόγηση τιμών διαφόρων βιοχημικών, κλινικών, γενετικών και διατροφικών παραμέτρων. Επιπλέον στοχεύει στην εύρεση και καθιέρωση μίας νέας και μη-φαρμακολογικής προσέγγισης των ασθενών με διαγνωσμένη NAFLD/NASH, εξασφαλίζοντας στους επιστήμονες ισχυρά «εργαλεία» για τη διαχείριση των συγκεκριμένων ατόμων.

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης MAST4HEALTH είναι ο προσδιορισμός του προφίλ των ασθενών που ανταποκρίνονται καλύτερα στη θεραπεία της συμπληρωματικής χορήγησης μαστίχας Χίου. Πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης MAST4HEALTH είναι οι μεταβολές των LIF scores πριν και μετά την παρέμβαση. Δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία είναι οι μεταβολές σε κλινικά χαρακτηριστικά, στα επίπεδα της γονιδιακής έκφρασης, σε επιγενετικές τροποποιήσεις, στα επίπεδα φλεγμονής και οξειδωτικού στρες καθώς και στο μεταβολομικό και μεταγενομικό προφίλ.

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

6.2. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η MAST4HEALTH είναι εστιασμένη σε ενήλικες, παχύσαρκους ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD/NASH. Η ασφάλεια και αποτελεσματικότητα του χορηγούμενου συμπληρώματος έχει διαπιστωθεί σε ενήλικα άτομα. Επομένως, για τους σκοπούς της μελέτης, στρατολογούνται

άνδρες και γυναίκες ηλικίας άνω των 18 ετών, με δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) μεγαλύτερο από 30kg/m² και επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH με τη βοήθεια της μαγνητικής τομογραφίας ήπατος και συγκεκριμένα με τη χρήση της τεχνολογίας LiverMultiScan.

6. 3. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Για την έγκυρη και σωστή διεξαγωγή της μελέτης, γίνεται τυφλοποίηση των τεσσάρων ομάδων που εμπλέκονται στην κλινική δοκιμή (συμμετέχοντες, κλινικοί ιατροί, άτομα που εμπλέκονται στη συλλογή και άτομα που εμπλέκονται στην ανάλυση των δειγμάτων). Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση πανομοιότυπων ως προς την εμφάνιση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κάψουλων τόσο στην ομάδα του verum όσο και του placebo. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε κατάλληλο λογισμικό, όπου οι διαγνωσμένοι με NAFLD/NASH ασθενείς κατανέμονται ένας προς έναν είτε στην ομάδα του verum είτε του placebo.

Μετά την επιβεβαίωση της ικανότητας συμμετοχής τους στο πρωτόκολλο και την τυχαιοποίησή τους σε μία εκ των δύο ομάδων, κάθε συμμετέχοντας λαμβάνει μία κάρτα ασθενούς με τον τίτλο της μελέτης, τον αριθμό συμμετοχής του σε αυτή, λεπτομέρειες σχετικά με το χορηγούμενο σε αυτόν προϊόν (Μαστίχα Χίου), τα στοιχεία επικοινωνίας με τον επικεφαλής ερευνητή και στοιχεία επικοινωνίας σε περίπτωση ανάγκης.

Η προσέλκυση των υποψήφιων εθελοντών έγινε με την ενημέρωσή τους για τη διεξαγωγή της μελέτης από σχετικές ανακοινώσεις σε στοχευμένα σημεία της Αττικής, καθώς και στο διαδίκτυο, ενώ συγχρόνως υπάρχει συνεργασία της ομάδας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και με ιατρούς σε δημόσιους ή ιδιωτικούς φορείς για τον εντοπισμό και παραπομπή υποψήφιων, κατάλληλων προς συμμετοχή στο πρωτόκολλο. Τέλος, υποψήφιοι εθελοντές επιλέχθηκαν και από βάση προηγούμενης ερευνητικής εργασίας, που είχε πραγματοποιηθεί στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, η οποία απευθυνόταν σε ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD.

Στη μελέτη εντάχθηκαν 22 ασθενείς με NAFLD/NASH. Με τυχαιοποιημένο τρόπο χωρίστηκαν στις ομάδες Α (n=10) και Β (n=12), που διαχωρίζουν την ομάδα ελέγχου από αυτήν της παρέμβασης. Τα αρχικά κριτήρια ένταξης ήταν:

- 18 έτη < ηλικία < 67 έτη
- Επιβεβαιωμένη NAFLD/NASH
- ΔΜΣ > 30 kg/m²

- LIF score > 2 ή LIF score >1 μαζί με 2 ή περισσότερες τομές MRI με LIF 2-3 σε ποσοστό > 30% και ταυτόχρονη παρουσία ηπατικού λίπους σε ποσοστό >5.6%

Εξαίρεση από τη μελέτη αποτέλεσαν άτομα με τα εξής χαρακτηριστικά:

- Λήψη ηπατοτοξικής φαρμακευτικής αγωγής, συνυπάρχουσα ηπατική νόσος
- Αρρύθμιστος σακχαρώδης διαβήτης
- Υπερ/υποθυρεοειδισμός, υποφυσιακή ανεπάρκεια , σύνδρομο Cushing
- Κατάχρηση αλκοόλ ή ουσιών
- Κλινικά ή βιοχημικά επιβεβαιωμένη συστηματική νόσος
- Εγκυμοσύνη, θηλασμός
- Αυστηρή χορτοφαγία, γαλακτο-χορτοφαγία, ωο-γαλακτο-χορτοφαγία
- Ψυχιατρική ή πνευματική διαταραχή
- Πρόσφατη σημαντική απώλεια σωματικού βάρους ή σε εξέλιξη πρόγραμμα απώλειας σωματικού βάρους
- Λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ή συμπληρωμάτων πλούσιων σε φυτοχημικά συστατικά, προβιοτικών ή πρεβιοτικών τους τελευταίους 3 μήνες
- Λήψη αντιβιοτικής αγωγής τους τελευταίους 2 μήνες
- Αλλαγές σε θεραπεία 3 μήνες πριν την παρέμβαση ή κατά τη διάρκεια της παρέμβασης π.χ. υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης

Όσον αφορά τους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, η συμμετοχής τους στο πρωτόκολλο εγκρίνεται με την προϋπόθεση ότι ο σακχαρώδης διαβήτης είναι ρυθμισμένος με τιμές της $HbA1c \leq 7\%$ (σύμφωνα με την Αμερικάνικη Ένωση για το Σακχαρώδη Διαβήτη) και η φαρμακευτική δοσολογία είναι σταθερή σε είδος και δοσολογία, για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 3 μηνών πριν την έναρξη της μελέτης. Οι ασθενείς με υπέρταση εγκρίνονται εφόσον έχουν ρυθμισμένη υπέρταση υπό σταθερή αντιυπερτασική φαρμακευτική αγωγή για τουλάχιστον 3 μήνες πριν την παρέμβαση και κατά τη διάρκεια αυτής. Ρυθμισμένη θεωρείται η υπέρταση όταν οι τιμές της συστολικής πίεσης δεν ξεπερνούν την τιμή των 140mmHg και διαστολική την τιμή των 90mmHg στο γενικό πληθυσμό και στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Εξαίρεση αποτελούν τα άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών για τους οποίους τα ανώτερα όρια είναι 150 mmHg για τη συστολική και 90 mmHg για τη διαστολική πίεση. Αναφορικά με τις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, σε περίπτωση εγκυμοσύνης, συστήνεται η διακοπή λήψης του συμπληρώματος και η παρακολούθηση της κύησης μέχρι την ολοκλήρωσή της, ενώ οφείλει να ενημερωθεί και η αντίστοιχη επιτροπή Βιοηθικής. Από όλους τους εθελοντές έχει ληφθεί γραπτή συγκατάθεση για την εθελοντική τους συμμετοχή στην εξάμηνη παρέμβαση.

Η συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο ολοκληρώθηκε μετά από 6 μήνες. Στο τέλος της παρέμβασης επαναλήφθηκαν: ανθρωπομετρικές μετρήσεις, MRI, μέτρηση αρτηριακής πίεσης και καρδιακής συχνότητας καθώς και όλες οι εργαστηριακές αναλύσεις (

Πίνακας 1).

Στον επανέλεγχο του εξαμήνου επαναξιολογήθηκαν 17 άτομα από τα 22, καθώς 5 άτομα επέλεξαν να αποχωρήσουν για προσωπικούς λόγους από το πρωτόκολλο. Οι 7 από αυτούς ανήκαν στην ομάδα Α και 10 από αυτούς στην ομάδα Β.

Πίνακας 1 Σχεδιάγραμμα του Ερευνητικού Πρωτοκόλλου

	1 ^η Συνάντηση	2 ^η Συνάντηση	Παρακολούθηση				4 ^η Συνάντηση
		1M	2M	3M Συνάντηση	4M	5M	Τέλος της μελέτης
Υπογεγραμμένο έντυπο συγκατάθεσης	x						
Χορήγηση κουτιών vegum/placebo		x					
Ιατρικό ιστορικό	x						x
Δημογραφικά δεδομένα	x						
Οικογενειακό ιστορικό	x						
Καπνιστικές συνήθειες	x						x
Ανθρωπομετρικά	x			x			x
MRI		x					x
Διατροφική Συμβουλευτική		x					
Βιοχημικό προφίλ		x					x
OGTT		x					x
NFS, FIB-4 scores	x						x
Αιμοληψία		x					x
Συλλογή κοπράνων		x					x
FINDRISK	x						x
69-item FFQ		x					
4 ημέρες καταγραφή		x		x			x
IPAQ long		x					x
IPAQ phone short				x			
Συμμόρφωση στο πρωτόκολλο			x	x	x	x	x
Ανεπιθύμητες ενέργειες/ τοξικότητα			x	x	x	x	x

6.3.1 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις περιλαμβάνουν τη μέτρηση του ύψους και του σωματικού βάρους για τον υπολογισμό του ΔΜΣ και την μέτρηση των περιμέτρων μέσης και ισχίων για τον υπολογισμό του λόγου αυτών. Η μέτρηση του σωματικού βάρους και η ανάλυση σύστασης σώματος γίνεται με χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας (TANITA SC-330). Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε ως βάρος(Kg)/ύψος(m²). Η παχυσαρκία ορίστηκε ως ΔΜΣ >29.9 Kg/m², σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ). Οι περίμετροι μέσης και ισχίων επίσης μετρήθηκαν σύμφωνα με τις σχετικές συστάσεις του ΠΟΥ.

6.3.2. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

1. Ιατρικό Ιστορικό - Δημογραφικά Χαρακτηριστικά – Καπνιστικές Συνήθειες

Σε αυτό το ερωτηματολόγιο λαμβάνονται πληροφορίες σχετικά με το ατομικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό, ιστορικό εμμηνορρυσίας για τις γυναίκες, πιθανή φαρμακευτική αγωγή, καπνιστικές συνήθειες και δημογραφικά χαρακτηριστικά.

2. Αξιολόγηση Φυσικής Δραστηριότητας

Η αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας πραγματοποιείται με τη συμπλήρωση του επικυρωμένου ερωτηματολογίου IPAQ (International Physical Activity Questionnaire) (237) το οποίο περιλαμβάνει ερωτήσεις σχετικές με τη φυσική δραστηριότητα του εκάστοτε συμμετέχοντα και αφορούν τις τελευταίες 7 ημέρες. Το ερωτηματολόγιο IPAQ-Long (εκτενής μορφή 7 ημερών) συμπληρώνεται στην έναρξη και στη λήξη της παρέμβασης. Επιπλέον, συμπληρώνεται και το IPAQ-Short (σύντομη τηλεφωνική μορφή τελευταίων 7 ημερών) 3 μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης.

3. Αξιολόγηση Διατροφικών Συνηθειών – Διατροφικές Συστάσεις

Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών πραγματοποιείται με τη συμπλήρωση ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 69 ερωτήσεων (69-item FFQ) (238) το οποίο αφορά το τελευταίο 6μηνο και με μία ανάκληση 24ώρου, ενώ συμμετέχοντας λαμβάνει οδηγίες για τη συμπλήρωση μίας 3ήμερης καταγραφής τροφίμων, έτσι ώστε να γίνεται συνολική καταγραφή της διαιτητικής του πρόσληψης για 4 ημέρες (2 καθημερινές και 2 Σαββατοκύριακου). Η ανάλυση της διαιτητικής πρόσληψης γίνεται με τη χρήση του λογισμικού Nutritionist Pro. Επιπλέον, καθένας από τους συμμετέχοντες λαμβάνει καθοδήγηση από εξειδικευμένους διαιτολόγους-διατροφολόγους, μέλη της ερευνητικής ομάδας, για απώλεια σωματικού βάρους σε ποσοστό μέχρι 5% του αρχικού τους βάρους.

4. Ερωτηματολόγιο FINDRISK

Με τη χρήση του ερωτηματολογίου FINDRISK (238), εκτιμάται για κάθε συμμετέχοντα στη μελέτη ο κίνδυνος εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.

6.3.3. ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (MRI)

Τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας αξιολογούνται για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου μέσω του υπολογισμού του LIF score. Ως κριτήριο ένταξης στη μελέτη θεωρείται όταν η τιμή του LIF score βρίσκεται μεταξύ 2 και 3. Πιο συγκεκριμένα ο ασθενής θεωρείται κατάλληλος, εάν τα εξεταζόμενα τμήματα (slices) του ήπατος έχουν LIF score ≥ 2 , σε ποσοστό $>30\%$, με ταυτόχρονη παρουσία ηπατικού λίπους, σε ποσοστό $>5.6\%$.

6.3.4. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ – ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες για τη γενική εξέταση αίματος και για τον προσδιορισμό του βιοχημικού προφίλ για κάθε έναν από τους συμμετέχοντες στην έναρξη και τη λήξη της 6μηνης παρέμβασης. Οι εργαστηριακές εξετάσεις/δείκτες που προσδιορίστηκαν είναι οι εξής:

- Γενική αίματος
- Λιπιδαιμικό προφίλ: ολική χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια ορού
- Δοκιμασία ανοχής γλυκόζης (OGTT)
- Ηπατικά ένζυμα: γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση (γGT), αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT), αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού (AST), αλβουμίνη
- Γλυκόζη νηστείας, ινσουλίνη, HOMA-IR, Σίδηρος ορού, Φερριτίνη

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

Επίσης μετρήθηκαν η αρτηριακή πίεση και οι καρδιακοί παλμοί με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο.

Τέλος υπολογίστηκαν τα μοντέλα πρόβλεψης της NAFLD, NFS (Lindström J, 2003) και FIB-4 (Angulo, 2007) scores σύμφωνα με τις αντίστοιχες εξισώσεις:

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

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

6.5. ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗΣ

Ως συμμόρφωση στο πρωτόκολλο ορίζεται ο αριθμός των ημερών της μελέτης κατά τις οποίες το εξεταζόμενο φαρμακευτικό προϊόν πραγματικά λήφθηκε από το συμμετέχοντα στο συνολικό αριθμό των ημερών της παρέμβασης. Ως διακοπή της θεραπείας ορίζεται η παράλειψη της λήψης του συμπληρώματος για διάστημα τουλάχιστον 7 συνεχόμενων ημερών. Η συμμόρφωση του κάθε συμμετέχοντα εκτιμάται μέσω των δια ζώσης και τηλεφωνικών επικοινωνιών που πραγματοποιούνται με τον εκάστοτε υπεύθυνο διαιτολόγο.

Συγχρόνως καταγράφεται η συχνότητα λήψης συγκεκριμένων παράλληλων φαρμακευτικών αγωγών που μπορεί να λαμβάνει ο κάθε εθελοντής.

Επιπλέον καταγράφονται και συνοψίζονται ο αριθμός και το ποσοστό των ασθενών που παρατήρησαν οποιοδήποτε δυσάρεστο συμβάν ή παρενέργεια που μπορεί να προέκυψε κατά τη λήψη του χορηγούμενου συμπληρώματος και ο αριθμός των ασθενών που διέκοψαν τη συμμετοχή τους στη μελέτη εξαιτίας κάποιου δυσάρεστου συμβάντος ή για άλλο λόγο.

6.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΚΑΙ TNF- α

Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων αντιπονεκτίνης και TNF- α στον ορό χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική δοκιμασία ELISA. Η αρχή της δοκιμασίας αυτής στηρίζεται στη φυσική ιδιότητα των αντιγόνων και των αντισωμάτων να ενώνονται μεταξύ τους με εξαιρετικά μεγάλη συνάφεια και ειδικότητα στην ανίχνευση του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος (AgAb) με τη χρησιμοποίηση συγκεκριμένου συμπλέγματος, το οποίο αποτελείται από ομόλογο αντίσωμα και ένα ένζυμο.

Η ELISA διακρίνεται σε ανταγωνιστική, έμμεση και τύπου sandwich. Η τεχνική της sandwich ELISA χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό αντιγόνων που δεσμεύονται μεταξύ δύο στρωμάτων αντισωμάτων, ειδικών για το συγκεκριμένο αντιγόνο.

Πιο συγκεκριμένα ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για το προς μελέτη αντιγόνο βρίσκεται καθηλωμένο σε ένα πλακίδιο εργασίας. Προστίθεται το αντιγόνο και ακολουθεί επώαση προκειμένου να γίνει η ειδική σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος. Μετά την έκπλυση των μη-δεσμευμένων ουσιών, προστίθεται στα πηγάδια ένα μονοκλωνικό αντίσωμα συνδεδεμένο με ένα ένζυμο. Ακολουθεί επώαση και πλύση και στη συνέχεια προστίθεται ένα διάλυμα

υποστρώματος προκαλώντας την παραγωγή χρώματος ανάλογου της αρχικής ποσότητας του αντιγόνου που δεσμεύτηκε στο αρχικό στάδιο. Η ανάπτυξη χρώματος διακόπτεται και μετράται η ένταση του χρώματος

6.6.1. ANTIPIONEKTINH

Στη συγκεκριμένη περίπτωση η μέτρηση της συγκέντρωσης της αντιπνεκτίνης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής του ποσοτικού ανοσοπροσδιορισμού ενζύμου τύπου sandwich και του kit Quantikine® ELISA, Human Total Adiponectin/Acrp30 Immunoassay, R&D Systems.

Πρωτόκολλο

1. Αραίωση των δειγμάτων 1:100
2. Προσθήκη 100μL διαλύματος Assay Diluent σε κάθε πηγάδι
3. Προσθήκη 50μL δείγματος, standard και control σε κάθε πηγάδι. Κάλυψη με κολλητική ταινία και επώαση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου
4. Ξέπλυμα του πλακιδίου εργασίας 3 φορές με 400μL Wash Buffer σε κάθε πηγάδι
5. Προσθήκη 200μL Human Adiponectin Conjugate σε κάθε πηγάδι. Κάλυψη με κολλητική ταινία και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου
6. Επανάληψη του ξεπλύματος όπως στο βήμα 4
7. Προσθήκη 200μL Substrate Solution σε κάθε πηγάδι και επώαση 30 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου
8. Προσθήκη 50μL Stop Solution σε κάθε πηγάδι
9. Μέτρηση οπτικής πυκνότητας στα 450nm

6.6.2. TNF- α

Στη συγκεκριμένη περίπτωση η μέτρηση της συγκέντρωσης του TNF- α πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής του ποσοτικού ανοσοπροσδιορισμού ενζύμου τύπου sandwich και του kit Quantikine® ELISA, Human TNF- α Immunoassay, R&D Systems.

Πρωτόκολλο

1. Αραίωση των δειγμάτων 1:100
2. Προσθήκη 50μL διαλύματος Assay Diluent σε κάθε πηγάδι

3. Προσθήκη 200μL δείγματος, standard και control σε κάθε πηγάδι. Κάλυψη με κολλητική ταινία και επώαση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου
4. Ξέπλυμα του πλακιδίου εργασίας 3 φορές με 400μL Wash Buffer σε κάθε πηγάδι
5. Προσθήκη 200μL συμπλόκου TNF-α σε κάθε πηγάδι. Κάλυψη με κολλητική ταινία και επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου
6. Επανάληψη του ξέπλυματος όπως στο βήμα 4
7. Προσθήκη 200μL Substrate Solution σε κάθε πηγάδι και επώαση 20 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου
8. Προσθήκη 50μL Stop Solution σε κάθε πηγάδι
9. Μέτρηση οπτικής πυκνότητας στα 450nm

6.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι ποσοτικές και με κανονική κατανομή μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τυπική απόκλιση (SD), ενώ όσες δεν ακολουθούν κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως διάμεση τιμή (25^ο, 75^ο εκατοστημόριο) και οι κατηγορικές μεταβλητές ως συχνότητες. Η κανονικότητα των ποσοτικών μεταβλητών αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας τη δοκιμή Shapiro-Wilk. Για την αξιολόγηση των διαφορών στα ανθρωπομετρικά, κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στις ομάδες της μελέτης χρησιμοποιήθηκε το t-test για τις συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή, ενώ για όσες δεν ακολουθούν κανονική κατανομή εφαρμόστηκε η δοκιμή Mann-Whitney U test. Οι διαφορές στις κατηγορικές μεταβλητές διερευνήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού κριτηρίου χ^2 (chi-square). Πραγματοποιήθηκε έλεγχος συσχετίσεων κατά Pearson και κατά Spearman, ανάλογα με την κανονικότητα της κάθε μεταβλητής. Για τη συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων του δείγματος πριν και μετά το τέλος της παρέμβασης και των επιπέδων των κυτταροκινών εφαρμόστηκε Paired Sample t-Test. Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση συνδιακύμανσης (ANCOVA) για την αξιολόγηση διαφορών στα επίπεδα των κυτταροκινών μετά το τέλος της παρέμβασης μεταξύ των ομάδων της μελέτης. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το 5%. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό εργαλείο SPSS 23.0.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στο πλαίσιο της συγκεκριμένης μελέτης αξιολογήθηκαν 22 ασθενείς με διαγνωσμένη NAFLD/NASH (με βάση τα κριτήρια ένταξης της MAST4HEALTH). Από αυτούς 8 (36.4%) ήταν γυναίκες και 14 (63.6%) άντρες. Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών κατά την ένταξη στη μελέτη, καθώς και ανά ομάδα παρέμβασης παρουσιάζονται στον **Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε..**

Πίνακας 2. Περιγραφικά χαρακτηριστικά συνόλου εθελοντών και ανά ομάδα παρέμβασης

Παράμετροι	M4H_Baseline (n=22)	Ομάδα Α (n=7)	Ομάδα Β (n=10)	P-value
Age (years)	48.3 ± 8.1	49.3 ± 9.6	49.6 ± 7.2	0.94
Male, n (%)	14(63.6%)	3 (42.9%)	9 (90.0%)	0.04
BMI (kg/m ²)	37.1 ± 5.8	36.5 ± 4.8	37.9 ± 6.5	0.62
Fat Mass (%)	39.7 ± 7.4	42.0 ± 6.7	37.6 ± 7.7	0.23
Muscle Mass (%)	56.9 ± 7.0	55.1 ± 6.4	59.3 ± 7.3	0.23
Bone Mass (%)	3.0 ± 0.4	2.9 ± 0.3	3.1 ± 0.4	0.28
WC (cm)	119.4 ± 13.2	117.0 ± 10.7	124.4 ± 11.4	0.19
HC (cm)	122.1 ± 9.4	121.9 ± 10.5	123.8 ± 9.4	0.70
WHR	1.0(0.9,1.0)	1.0(0.9, 1.0)	1.0(1.0, 1.0)	0.27
FINDRISK Score	12.3±2.6	12.6 ± 1.9	12.2 ± 3.1	0.77
SBP (mmHg)	130.2 ± 16.5	138.4 ± 16.4	128.0 ± 11.9	0.18
DBP(mmHg)	78.2 ± 8.0	81.7 ± 1.7	76.8 ± 9.1	0.25
NFS Score	-2.4 ± 1.0	-1.8 ± 1.1	-2.6 ± 0.9	0.13
FIB-4 Score	0.6 (0.5,0.9)	0.58 (0.6, 1.1)	0.59 (0.5, 0.6)	0.50
LIF Score	2.5 ± 0.8	2.6 ± 0.7	2.6 ± 0.9	0.96
Liver Fat (%)	13.9 ± 8.4	12.9 ± 6	16.2 ± 9	0.37
Adiponectin (μg/ml)	5.0 (3.4,7.8)	6.1 (3.5, 11.3)	5.0 (2.7, 5.9)	0.44
TNF-α (pg/ml)	4.2 ± 1.4	3.9 ± 1.5	4.4 ± 1.4	0.54

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως η μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για τις παραμέτρους με κανονική κατανομή, ως διάμεση τιμή(1^ο, 3^ο τεταρτημόριο) για τις παραμέτρους με μη κανονική κατανομή ή ως αριθμός ατόμων (%).

WHR=Λόγος Περιφέρειας Μέσης/Ισχίου

Έντονη γραφή για διαφορές μεταξύ των ομάδων Α και Β στατιστικώς σημαντικές

Στην πλειοψηφία των παραμέτρων το δείγμα φαίνεται να μην έχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στις 2 ομάδες εκτός από το φύλο που η πλειοψηφία των συμμετεχόντων είναι άνδρες, επιβεβαιώνοντας όμως έτσι τον επιπολασμό της νόσου στο ανδρικό φύλο.

Όσον αφορά στα δημογραφικά χαρακτηριστικά και τις συνήθειες του τρόπου ζωής, η πλειονότητα των εθελοντών έχει υψηλό μορφωτικό επίπεδο καθώς το 59% αυτών έχει ανώτερη εκπαίδευση ενώ μόνο το 5% ανήκει στην κατηγορία χαμηλού μορφωτικού επιπέδου. Το είδος της εργασιακής απασχόλησης των συμμετεχόντων ποικίλει, με την πλειονότητα αυτών να απασχολούνται στον ιδιωτικό τομέα σε ποσοστό 55%, ενώ ένα ποσοστό αυτών ήταν άνεργοι (10%) ή συνταξιούχοι (9%). Αναφορικά με τις καπνιστικές συνήθειες των συμμετεχόντων, στην πλειονότητά τους δήλωσαν καπνιστές (32%) ή πρώην καπνιστές (36%).

Σε σχέση με τους άνδρες της μελέτης, οι γυναίκες είχαν υψηλότερα επίπεδα αντιπνεκτίνης ορού [6.4(4.7, 18.6), $p=0.03$]. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε αναφορικά με τις συγκεντρώσεις του TNF- α (3.7 ± 1.0 έναντι 4.2 ± 1.5 , $p=0.453$).

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 2**, συγκριτικά με την ομάδα A, ένα μεγαλύτερο ποσοστό ανδρών συμμετείχε στην ομάδα B, ωστόσο, τα άτομα των δύο ομάδων δε διέφεραν ως προς την ηλικία, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά (BMI, Fat Mass, Muscle mass, Bone mass, Waist circumference, Hip circumference, WHR), τους κλινικούς παράγοντες (Systolic blood pressure, Diastolic blood pressure), τους δείκτες πρόβλεψης και βαρύτητας της νόσου (NFS score, FIB-4 score, LIF score, Liver fat) και τα επίπεδα της αντιπνεκτίνης και του TNF- α . Αναφορικά με τις συγκεντρώσεις του TNF- α και της αντιπνεκτίνης στον ορό, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A και B.

Στον

Πίνακας 3 παρουσιάζονται οι συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων αντιγονεκτίνης και TNF-α με ανθρωπομετρικές, κλινικές και διατροφικές παραμέτρους των συμμετεχόντων στη μελέτη κατά την έναρξη της παρέμβασης. Όπως αναμενόταν, οι συγκεντρώσεις αντιγονεκτίνης στον ορό συσχετίζονταν αρνητικά με δείκτες παχυσαρκίας όπως η περίμετρος μέσης ($\rho = -0.591$, $p = 0.004$) και ο λόγος WHR ($\rho = -0.525$, $p = 0.012$) ενώ εντοπίστηκε στατιστικώς σημαντική αρνητική συσχέτιση και με τη μυϊκή μάζα ($\rho = -0.512$, $p = 0.0125$), γεγονός μη αναμενόμενο. Όσον αφορά τα επίπεδα του TNF-α, δε βρέθηκε σημαντική συσχέτιση με κάποιον από τους δείκτες παχυσαρκίας.

Στις περισσότερες κλινικές παραμέτρους δεν παρουσιάστηκε σημαντική συσχέτιση με κάποια από τις δύο κυτταροκίνες με εξαίρεση τα αναμενόμενα αποτελέσματα για την αρνητική συσχέτιση των επιπέδων αντιγονεκτίνης με το ομοιοστατικό μοντέλο HOMA-IR ($\rho = -0.482$, $p = 0.023$) και την ινσουλίνη ($\rho = -0.495$, $p = 0.019$). Από την άλλη πλευρά, η HDL χοληστερόλη είχε θετική συσχέτιση ($\rho = 0.568$, $p = 0.006$) με τα επίπεδα αντιγονεκτίνης ορού γεγονός που οφείλεται στην προστατευτική δράση και των δύο. Στα επίπεδα του TNF-α δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική συσχέτιση.

Τέλος, σχετικά με τις διατροφικές παραμέτρους δε βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις με καμία από τις δύο κυτταροκίνες εκτός από δύο οριακές συσχετίσεις. Βρέθηκε οριακή θετική συσχέτιση μεταξύ της συνολικής πρόσληψης υδατανθράκων(γρ.) ($\rho = 0.452$, $p = 0.052$) και των επιπέδων TNF-α, ενώ η αντιγονεκτίνη φάνηκε να έχει οριακή αρνητική συσχέτιση με τη συνολική πρωτεϊνική πρόσληψη(γρ.) ($\rho = -0.453$, $p = 0.052$).

Σημειώνεται ότι οι συγκεντρώσεις TNF-α δε συσχετίζονται με τις συγκεντρώσεις αντιγονεκτίνης ορού ($p = 0.773$).

Πίνακας 3. . Συντελεστής συσχέτισης Pearson και Spearman μεταξύ των επιπέδων TNF-α και Adiponectin ορού με κλινικές και διατροφικές παραμέτρους του δείγματος.

	TNFα (pg/ml)		ADIPONECTIN (μg/ml)	
	Συντελεστής συσχέτισης	P-value	Συντελεστής συσχέτισης	P-value
<i>Anthropometric parameters</i>				
BMI (kg/m²)	-0.056	0.806	-0.331	0.132
WC(cm)	-0.118	0.602	-0.591	0.004
HC(cm)	0.009	0.968	-0.207	0.355
WHR	0.282	0.274	-0.525	0.012
Fat Mass %	-0.247	0.269	-0.092	0.684
Fat Mass (kg)	-0.012	0.957	0.215	0.336
Muscle Mass %	0.248	0.267	-0.092	0.684
Muscle Mass (kg)	0.225	0.315	-0.512	0.015
<i>Clinical parameters</i>				
LIF score	0.116	0.608	-0.152	0.498
Liver Fat %	0.139	0.536	-0.336	0.126
T-CHOL (mg/dl) ^a	-0.034	0.880	0.344	0.117
TG (mg/dl)	-0.250	0.263	-0.258	0.247
HDL (mg/dl) ^a	-0.024	0.917	0.568	0.006
LDL (mg/dl)	0.079	0.728	0.183	0.415
GLU (mg/dl)	-0.097	0.667	-0.169	0.452
INS (μU/ml) ^a	-0.169	0.452	-0.495	0.019
HOMA-IR ^a	-0.180	0.486	-0.482	0.023
γ-GT (iu/l)	0.157	0.670	-0.043	0.849
SGOT (iu/l)	0.237	0.289	-0.244	0.274
SGPT (iu/l)	0.245	0.271	-0.150	0.504
NFS	-0.270	0.225	-0.041	0.855
FIB-4 ^a	0.045	0.841	-0.029	0.899
<i>Dietary parameters</i>				
Energy Intake (kcal)	0.222	0.361	-0.296	0.218
Carbohydrates %	0.235	0.332	0.433	0.064
Carbohydrates (g)	0.452	0.052	-0.039	0.875
Protein %	-0.311	0.208	-0.222	0.376
Protein (g)	0.035	0.886	-0.453	0.052
Fat %	-0.024	0.921	-0.227	0.351
Fat (g) ^a	0.233	0.336	-0.272	0.260

^a Για τις παραμέτρους με κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson

* Στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις παρουσιάζονται με έντονη γραφή.

Τα επίπεδα των υπό μελέτη κυτταροκινών πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση με φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας Χίου, παρουσιάζονται στον Πίνακας 4. Όπως παρατηρούμε, δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης πριν και μετά την

παρέμβαση σε καμία από τις δύο ομάδες (Α και Β). Ωστόσο φαίνεται για τα επίπεδα του TNF-α να παρουσιάζουν μία τάση μείωσης στην ομάδα Β μετά το τέλος της παρέμβασης χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P = 0.006$).

Στον **Πίνακα 4** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης συνδιακύμανσης (ANCOVA) για τη διερεύνηση διαφορών στα επίπεδα αντιπονεκτίνης και TNF-α μεταξύ των ομάδων Α και Β στο τέλος της παρέμβασης. Συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους των 2 ομάδων.

Πίνακας 4. Σύγκριση επιπέδων TNF-α και Αντιπονεκτίνης μετά την παρέμβαση στις ομάδες Α και Β και ANCOVA

	ΟΜΑΔΑ Α (n=7)			ΟΜΑΔΑ Β (n=10)			P^a
	<i>Time_0</i>	<i>Time_6</i>	<i>P- value *</i>	<i>Time_0</i>	<i>Time_6</i>	<i>P-value*</i>	
TNF-α (pg/ml)	3.9 ± 1.5	3.1±1.2	0.397	4.4 ± 1.4	2.95 ± 1.5	0.063	0.926
Αντιπονεκτίνη (μg/ml)	6.7 ± 4.5	6.1 ± 4.7	0.699	4.6 ± 2.2	5.5 ± 4.2	0.360	0.505

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως η μέση τιμή ± τυπική απόκλιση

** επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που προκύπτει από Paired Sample t-test εντός των ομάδων Α και Β*

^a επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που προκύπτει από την ANCOVA για τις διαφορές μεταξύ των ομάδων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) είναι η πλέον διαδεδομένη μορφή χρόνιας ηπατικής νόσου στον κόσμο. Η νόσος παρουσιάζει ένα ιστολογικό φάσμα, που κυμαίνεται από την ήπια στεάτωση έως την πιο επιθετική φλεγμονώδη μορφή, τη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH) η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε ίνωση και κίρρωση του ήπατος. Η ίνωση, είναι ο σημαντικότερος ιστολογικός προγνωστικός δείκτης ηπατικής βλάβης (239). Το μεταβολικό σύνδρομο και οι συννοσηρότητές του έχουν βασικό ρόλο στην ιστολογική εξέλιξη της NAFLD. Ωστόσο, γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορεί επίσης να επηρεάσουν τη φυσική εξέλιξη της νόσου.

Με την αυξανόμενη συχνότητα εμφάνισης της NAFLD στον κόσμο, ο ρόλος της πρόληψής της είναι υψίστης ανάγκης. Οι συνήθειες οδηγίες για τη γενική πρόληψη της NAFLD περιλαμβάνουν την τροποποίηση των παραγόντων κινδύνου για τη νόσο, όπως το βάρος, η αντίσταση στην ινσουλίνη και το μεταβολικό σύνδρομο. Εντούτοις, ο συνδυασμός απουσίας στοχευμένης φαρμακευτικής αγωγής και εξειδικευμένου διαγνωστικού εργαλείου της νόσου, έχει στρέψει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στην εύρεση εναλλακτικών θεραπευτικών προσεγγίσεων. Έτσι λοιπόν στην μελέτη MAST4HEALTH, διερευνάται η επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης μαστίχας Χίου σε ασθενείς με NAFLD/NASH.

Η μαστίχα Χίου είναι φυσική ρητίνη πλούσια σε τερπενοειδή, έχει αντιοξειδωτική, καρδιοπροστατευτική, αντινεοπλασματική και αντιμικροβιακή δράση. Η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας οφείλεται στη μεγάλη ποικιλία των τερπενίων που περιέχει όπως είναι το ολεανόνιο, το ευφάνιο, η λουπεόλη, η α-τοκοφερόλη και οι πολυφαινόλες.

Οι δύο υπό μελέτη κυτταροκίνες αυτής της εργασίας, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α και η αντιπονεκτίνη είναι δύο παράγοντες που φαίνεται να σχετίζονται με την κατάσταση φλεγμονής στην οποία βρίσκεται ένας παχύσαρκος ασθενής με NAFLD/NASH. Ο TNF-α είναι μία προφλεγμονώδης κυτταροκίνη που χαρακτηρίζεται από διάφορες βιολογικές επιδράσεις, εκφράζεται στο λιπώδη ιστό και στα ηπατοκύτταρα και έχει μελετηθεί ως πιθανός βιοδείκτης της NASH, αφού τα αυξημένα επίπεδα έχουν συσχετισθεί θετικά με την πιθανότητα εμφάνισης NAFLD σε υγιή άτομα. Από την άλλη πλευρά, η αντιπονεκτίνη είναι μία προστατευτική λιποκυτταροκίνη, η οποία εμπλέκεται τόσο στη ρύθμιση της γλυκόζης και του μεταβολισμού των λιπιδίων, όσο και στη φλεγμονή. Τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης στο πλάσμα του αίματος φαίνεται να μειώνονται σε ασθενείς με NAFLD, γεγονός που εξηγείται από την ευαισθησία της στην ινσουλίνη και την αντιφλεγμονώδη δράση της.

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μέτρηση των αλλαγών στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης και του TNF-α σε συμμετέχοντες της μελέτης MAST4HEALTH με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος μετά από εξάμηνη παρέμβαση με χορήγηση συμπληρώματος φυσικής μαστίχας Χίου.

Από το δείγμα των 22 εθελοντών που συμμετείχαν στη μελέτη, το 63,6% ήταν άνδρες, γεγονός που συνάδει με τη βιβλιογραφία αφού σε παγκόσμιες επιδημιολογικές μελέτες έχει φανεί ότι οι άνδρες είναι πιο επιρρεπείς στην ανάπτυξη NAFLD σε σχέση με τις γυναίκες (240) (37), ενώ σε μελέτη με 26527 ασιάτες ο επιπολασμός της NAFLD ήταν 31% στους άνδρες και 16% στις γυναίκες (4).

Σχετικά με τις καπνιστικές συνήθειες των εθελοντών, φάνηκε ότι το 32% αυτών είναι καπνιστές και το 36% αυτών δήλωσαν πρώην καπνιστές γεγονός που φαίνεται να συνάδει με τη βιβλιογραφία καθώς σε αποτελέσματα από τη μελέτη των Koehler και συνεργατών φάνηκε ότι δεν υπήρχε συσχέτιση ανάμεσα στο κάπνισμα και τη NAFLD, βρέθηκε όμως ότι τα πακετο-έτη που έχει καπνίσει κάποιος συνδέονταν με υψηλότερο επιπολασμό της νόσου ανεξάρτητα από το αν κάποιος ήταν πρώην καπνιστής ή αν καπνίζει τώρα (241). Παρόλα αυτά το κάπνισμα ως παράγοντας κινδύνου για την παρουσία και την εμφάνιση της NAFLD δεν έχει μελετηθεί εκτενώς. Στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι η πλειοψηφία των συμμετεχόντων (59%) ανήκουν σε υψηλότερο μορφωτικό επίπεδο σε αντίθεση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα όπως η ιταλική μελέτη «Διόνυσος» που υποστηρίζει ότι οι ασθενείς με κάθε βαθμό λιπώδους διήθησης χαρακτηρίζονταν από χαμηλότερο μορφωτικό επίπεδο σε σχέση με τους υγιείς (242). Το δείγμα των 22 ατόμων δεν είναι αρκετά αντιπροσωπευτικό του γενικού πληθυσμού και γι' αυτό το λόγο τα δεδομένα μας στην προκειμένη περίπτωση δε συνάδουν με τη βιβλιογραφία.

Παρόλα αυτά δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης και του TNF-α μεταξύ των ομάδων Α και Β γεγονός που επιβεβαιώνει την ύπαρξη τυχαιοποίησης στον τρόπο χορήγησης placebo ή verum σκευάσματος.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά των επιπέδων αντιπονεκτίνης μεταξύ ανδρών και γυναικών με τις γυναίκες να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές της λιποκυτταροκίνης (75) (243). Στη δική μας μελέτη δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα ανδρών και γυναικών γεγονός που μπορεί να οφείλεται στο μικρό δείγμα της μελέτης.

Τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης και του TNF-α σχετίζονται με την παρουσία της NAFLD (180) (179). Η αντιπονεκτίνη φαίνεται να μειώνεται σε ασθενείς με NAFLD, γεγονός που εξηγείται

από την ευαισθησία της στην ινσουλίνη και την αντιφλεγμονώδη δράση της (243). Αντιθέτως τα επίπεδα του TNF-α εμφανίζονται μειωμένα αφού αναστέλλεται η παραγωγή από τα μακροφάγα και μέσω της αντιπονεκτίνης (180). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 363 άτομα, 106 από τα οποία ήταν ασθενείς με NAFLD, φάνηκε ότι υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P=0.016$) μεταξύ τους ως προς τα επίπεδα του TNF-α με τους νοσούντες να έχουν μέση τιμή 3.65 ± 1.79 pg/mL έναντι των υγιών που είχαν 3.15 ± 1.78 pg/mL (175). Η μέση τιμή των επιπέδων του TNF-α στην παρούσα εργασία ήταν $4,2 \pm 1,4$ pg/mL. Από άλλη μελέτη που είχε σκοπό τη συσχέτιση των επιπέδων αντιπονεκτίνης με το μεταβολικό σύνδρομο φάνηκε ότι τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο είχαν συγκέντρωση αντιπονεκτίνης $7,38 \pm 3,64$ μg/ml ενώ ο υγιής πληθυσμός είχε συγκεντρώσεις $11,51 \pm 6,31$ μg/ml ενώ συγχρόνως είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι οι ασθενείς με NAFLD εμφανίζουν συγκεντρώσεις 20-60% χαμηλότερες σε σχέση με τους υγιείς (244) (245).

Αναφορικά με τη θετική συσχέτιση που φάνηκε να υπάρχει μεταξύ της HDL χοληστερόλης και των επιπέδων αντιπονεκτίνης, επιβεβαιώνεται και από μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 1349 άτομα για τη διερεύνηση παραγόντων που σχετίζονται με την αντιπονεκτίνη. Φάνηκε λοιπόν ότι η HDL χοληστερόλη έχει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης γεγονός που εξηγείται από την άμεση δράση της αντιπονεκτίνης στον καταβολισμό της αποπρωτεΐνης α-1 (246) (247). Παρόμοια συσχέτιση επιβεβαιώνεται και από άλλη μελέτη σε δείγμα 174 ασθενών με NAFLD (180). Αρνητική και στατιστικά σημαντική συσχέτιση έχουν και η περίμετρος μέσης και ο WHR με τα επίπεδα αντιπονεκτίνης στην παρούσα εργασία, ενώ βιβλιογραφικά φαίνεται να ισχύει με στατιστικώς σημαντική συσχέτιση σε δείγμα που περιλαμβάνει ασθενείς με NAFLD και υγιή άτομα (180). Ένα ακόμη στοιχείο που εξάγεται από την παρούσα μελέτη είναι η αρνητική συσχέτιση του δείκτη HOMA-IR και της ινσουλίνης με τα επίπεδα αντιπονεκτίνης. Τα επίπεδα αντιπονεκτίνης σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη γεγονός που επιβεβαιώνεται από μελέτη με 488 συμμετέχοντες όπου τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης είχαν αρνητική συσχέτιση με τον δείκτη HOMA-IR (248).

Μετά την εξάμηνη παρέμβαση με φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας Χίου δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα των υπό μελέτη κυτταροκινών όμως δεν μπορούμε να γνωρίζουμε εάν αυτό οφείλεται στο μικρό μέγεθος του δείγματος, γεγονός που δεν επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων μεταξύ των ομάδων Α και Β που πήραν αντίστοιχα τις κάψουλες Α και Β. Ωστόσο διακρίνεται μία τάση μείωσης των επιπέδων του TNF-α στην ομάδα Β χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική ($P = 0.06$).

Στα πλεονεκτήματα της μελέτης Mast4Health περιλαμβάνεται το γεγονός ότι αποτελεί μια διπλά τυφλή ελεγχόμενη κλινική μελέτη και διερευνά την επίδραση μιας εναλλακτικής μη φαρμακολογικής προσέγγισης της NAFLD/NASH. Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης η συγκεκριμένη διερεύνηση εστιάστηκε κυρίως στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης και του TNF-α. Υπάρχουν ωστόσο κάποιοι περιορισμοί. Πρώτον, το μικρό μέγεθος δείγματος περιορίζει τη γενίκευση των συμπερασμάτων μας και δεύτερον, δεν υπάρχει ξεκάθαρη εικόνα σχετικά με την επίδραση της μαστίχας Χίου στην νόσο. Προτείνεται ότι στο μέλλον με την ενίσχυση του δείγματος τόσο στο κέντρο της Αθήνας όσο και στα άλλα συνεργαζόμενα κέντρα του εξωτερικού να προκύψουν στατιστικώς σημαντικά και αξιόπιστα αποτελέσματα σχετικά με τη δράση της μαστίχας Χίου στα επίπεδα των υπό διερεύνηση κυτταροκινών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Chalasani Naga, Zobair Younossi, MD, Facg, Joel E. Lavine, MD, PhD, Anna Mae Diehl, MD,.** 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*. June 2012, Vol. 142, 7, pp. 1592–609.
2. **Hassan K, Bhalla V, El Regal ME, Kader HH.** Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, Vol. 20, 34, pp. 12082-101.
3. **Sattar N, Forrest E, Preiss D.** Non-alcoholic fatty liver disease. *British Medical Journal*. 2014, Vol. 349, p. 4596.
4. **Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. b.** 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, Vol. 55, 6, pp. 2005-23.
5. **Younossi ZM, Reyes MJ, Mishra A, Mehta R, Henry L.** Systematic review with meta-analysis: non-alcoholic steatohepatitis - a case for personalised treatment based on pathogenic targets. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2014, Vol. 39, 1, pp. 3-14.
6. **Byrne CD, Targher G.** EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: is universal screening appropriate? *Diabetologia*. 2016, Vol. 59, 6, pp. 1141-4.
7. **Saadeh S, Younossi ZM.** The spectrum of nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2000, Vol. 67, 2, pp. 101-4.
8. **Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH.** Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*. 2011, Vol. 332, 6037, pp. 1519-23.
9. **Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA.** Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology*. 2010, Vol. 51, 5, pp. 1820-32.
10. **Argo CK, Caldwell SH.** Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clinics in Liver Disease*. 2009, Vol. 13, 4, pp. 511-31.
11. **Sherif Zaki A., Saeed Armana, Ghavimi Shima, Nourai Seyed Mehdi.** Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Perspectives on US Minority Populations. *Digestive Diseases and Science*. 2016, Vol. 61, 5, pp. 1214-25.
12. **Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH.** Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single-topic conference. *Hepatology*. 536, Vol. 38, 2, pp. 1202-19.
13. **Geoffrey C. Farrell, Arthur J. Mc Cullough, Christopher P .Day.** *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Practical Guide*. 1st. s.l. : John Wiley & Sons, Ltd, 2013.
14. **Sanjaya, Satapathy K, Arun, Sanyal J.** Epidemiology and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Seminars in Liver Disease*. 2015, Vol. 35, 3, pp. 221-35.

15. **Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N.** The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of Internal Medicine*. 2005, Vol. 143, 10, pp. 722-8.
16. **Suzuki A., Angulo P., Lymp J.,** Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology*. 2005, Vol. 41, 1, pp. 64-71.
17. **Whalley S., Puvanachandra P., Desai A., Kennedy H.** Hepatology outpatient service provision in secondary care: a study of liver disease incidence and resource costs. 2007, Vol. 7, 2, pp. 119-24.
18. **Bedogni G, Miglioli L, Masutti F.** Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study. *Hepatology*. 2007, Vol. 46, 5, pp. 1387-91.
19. **Masarone M, Federic A, Abenavoli L, Loguercio C, Persico M.** Non alcoholic fatty liver: epidemiology and natural history. *Reviews on Recent Clinical Trials*. 2014, Vol. 9, 3, pp. 126-33.
20. **Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Mir H, Srishord M.** Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2011, Vol. 9, 6 , pp. 524-30.
21. **Alberti KG, Zimmet P, IDF Epidemiology Task Force Consensus.** The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. 2005, Vol. 366, 9491, pp. 1059-62.
22. **Asrih M, Jornayvaz FR.** Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2015, Vol. 1, pp. 55-65.
23. **Marchesini G, Forlani G.** NASH: from liver diseases to metabolic disorders and back to clinical hepatology. *Hepatology*. 2002, Vol. 35, 2, pp. 497-9.
24. **Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A.** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013, Vol. 5, 5, pp. 1544-60.
25. **Gómez-Ambrosi J, Silva C, Galofré JC, Escalada J, Santos S, Millán D, Vila N, Ibañez P, Gil MJ, Valentí V, Rotellar F, Ramírez B, Salvador J, Frühbeck G.** Body mass index classification misses subjects with increased cardiometabolic risk factors related to elevated adiposity. *International Journal of Obesity*. 2012, Vol. 36, 2, pp. 286-94.
26. **Aron-Wisnewsky J, Minville C, Tordjman J, Lévy P, Bouillot JL, Basdevant A, Bedossa P, Clément K, Pépin JL.** Chronic intermittent hypoxia is a major trigger for non-alcoholic fatty liver disease in morbid obese. *Journal of Hepatology*. 2012, Vol. 56, 1, pp. 225-33.
27. **National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III).** Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) nal report. *Circulation*. 2002, Vol. 106, 25, pp. 3143-421.
28. **Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M.** Nonalcoholic fatty liver, statopatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003, Vol. 38, 2, p. 536.

29. **Lonardo A, Bellentani S, Argo CK, Ballestri S, Byrne CD, Caldwell SH, Cortez-Pinto H, Grieco A, Machado MV, Miele L, Targher G.** Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Digestive and Liver Disease*. 2015, Vol. 47, 12, pp. 997-1006.
30. **Adams LA, Harmsen S, St Sauver JL, Charatcharoenwitthaya P, Enders FB, Therneau T, Angulo P.** Nonalcoholic fatty liver disease increases risk of death among patients with diabetes: a community-based cohort study. *American Journal of Gastroenterology*. 2010, Vol. 105, 7, pp. 1567-73.
31. **Ballestri S, Zona S, Targher G, Romagnoli D, Baldelli E, Nascimbeni F, Roverato A, Guaraldi G, Lonardo A.** Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016, Vol. 31, 5, pp. 936-44.
32. **Tilg H, Moschen AR, Roden M.** NAFLD and diabetes mellitus. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2017, Vol. 14, 1, pp. 32-42.
33. **Gariani K, Philippe J, Jornayvaz F.** Non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance: from bench to bedside. *Diabetes and Metabolism*. 2013, Vol. 39, 1, pp. 16-26.
34. **Cotrim HP, Parise ER, Oliveira CP, Leite N, Martinelli A, Galizzi J, Silva Rde C, Mattos A, Pereira L, Amorim W, Ivantes C, Souza F, Costa M, Maia L, Pessoa M, Oliveira F.** Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Annals of Hepatology*. 2011, Vol. 10, 1, pp. 33-7.
35. **Dixon JB, Bhathal PS, O'brien PE.** Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001, Vol. 121, 1, pp. 91-100.
36. **Hsiao P J, Kuo KK, Shin S J, Yang YH, Lin WY, Yang JF, Chiu CC, Chuang WL, Tsai TR and Yu, M. L.** Significant correlations between severe fatty liver and risk factors for metabolic syndrome. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2007, Vol. 22, 12, pp. 2118-23.
37. **Zhu JZ, Dai YN, Wang YM, Zhou QY, Yu CH, Li YM.** Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Economy. *Digestive Diseases and Diseases*. 2015, Vol. 60, 11, pp. 3194-202.
38. **Klair JS, Yang JD, Abdelmalek MF, Guy CD, Gill RM, Yates K, Unalp-Arida A, Lavine JE, Clark JM, Diehl AM, Suzuki A, Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network.** A longer duration of estrogen deficiency increases fibrosis risk among postmenopausal women with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2016, Vol. 64, 1, pp. 85-91.
39. **Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, Baijal R, Lala S, Chaudhary D, Deshpande A.** Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Annals of Hepatology*. 2007, Vol. 161, 3, pp. 161-3.
40. **Li H, Wang YJ, Tan K, Zeng L, Liu L, Liu FJ, Zhou TY, Chen EQ, Tang H.** Prevalence and risk factors of fatty liver disease in Chengdu, Southwest China. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. 2009, Vol. 84, pp. 377-82.
41. **Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, Sung IK, Sohn CI, Keum DK, Kim BI.** Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2006, Vol. 21, 1, pp. 138-43.

42. **Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamimi TA, Feldstein AF, Zein NN.** The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2010, Vol. 51, 6, pp. 1972-8.
43. **Ong JP., Pitts A, Younossi ZM.** Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2008, Vol. 49, 4, pp. 608-12.
44. **Strauss RS, Barlow SE, Dietz WH.** Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents. *Journal of Pediatrics*. 2000, Vol. 136, 6, pp. 727-33.
45. **Vernon G, Baranova A, Younossi Z.** Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011, Vol. 34, 3, pp. 274-85.
46. **Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH.** Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004, Vol. 40, 6, pp. 1387-95.
47. **Jeffrey B. Schwimmer, Manuel a. Celedon, Joel e. Lavine, Rany Salem, Nzali Campbell, Nicholas J. Schork, Masoud Shieh morteza, Takeshi Yokoo, Alyssa Chavez, Michael S. Middleton, and Claude B. Sirlin.** Heritability of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2009, Vol. 136, 5, pp. 1585-92.
48. **Stefano Romeo, Julia Kozlitina, Chao Xing, Alexander Pertsemlidis, David Cox, Len A. Pennacchio, Eric Boerwinkle, Jonathan C. Cohen, and Helen H. Hobbs¹.** Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Genetics*. December 2008, Vol. 40, 12, pp. 1461-5.
49. **Paola Dongiovanni, Benedetta Donati, Roberta Fares, Rosa Lombardi, Rosellina Margherita Mancina, Stefano Romeo, Luca Valenti.** PNPLA3 I148M polymorphism and progressive liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2013, Vol. 19, 41, pp. 6969-78.
50. **Amit G. Singal, MD, MS, Hema Manjunath , BS , Adam C. Yopp , MD , Muhammad S. Beg , MD , Jorge A. Marrero , MD, MS, Purva Gopal , MD, MS and Akbar K. Waljee , MD, MS.** The Effect of PNPLA3 on Fibrosis Progression and Development of Hepatocellular Carcinoma: A Meta-analysis. *American Journal of Gastroenterology*. 2014, Vol. 109, pp. 325-34.
51. **Y.L. Liu, G.L. Patman, J.B.S. Leathart, A.C. Piguet, A.D. Burt, J.F. Dufour, C.P. Day, A.K. Daly, H.L. Reeves, Q.M. Anstee.** Carriage of the PNPLA3 rs738409 C >G polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*. 2014, Vol. 61, pp. 75-81.
52. **Yongcheng Huang, Jonathan C. Cohen, and Helen H. Hobbs.** Expression and Characterization of a PNPLA3 Protein Isoform (I148M) Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2011, Vol. 286, 43, pp. 37085-93.
53. **Piero Pingitore, Carlo Pirazzi, Rosellina M. Mancina, Benedetta M. Motta, Cesare Indiveri, Arturo Pujia, Tiziana Montalcini, Kristina Hedfalk, Stefano Romeo.** Recombinant PNPLA3 protein shows triglyceride hydrolase activity and its I148M mutation results in loss of function. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014, Vol. 1841, 4, pp. 574-80.

54. **Carlo Pirazzi, Luca Valenti, Benedetta Maria Motta, Piero Pingitore, Kristina Hedfalk, Rosellina Margherita Mancina, Maria Antonella Burza, Cesare Indiveri, Yvelise Ferro, Tiziana Montalcini, Cristina Maglio, Paola Dongiovanni.** PNPLA3 has retinyl-palmitate lipase activity in human hepatic stellate cells. *Human Molecular Genetics*. 2014, Vol. 23, 15, pp. 4077-85.
55. **Piero Pingitore, Paola Dongiovanni, Benedetta Maria Motta, Marica Meroni, Saverio Massimo Lepore, Rosellina Margherita Mancina, Serena Pelusi, Cristina Russo, Andrea Caddeo, Giorgio Rossi, Tiziana Montalcini, Arturo Pujia, Olov Wiklund, Luca Valen, Stefano Romeo.** PNPLA3 overexpression results in reduction of proteins predisposing to fibrosis. *Human Molecular Genetics*. 2016, Vol. 25, 23, pp. 5212-22.
56. **Julia Kozlitina, Eriks Smagris, Stefan Stender, Børge G Nordestgaard, Heather H Zhou, Anne Tybjærg-Hansen, Thomas F Vogt, Helen H Hobbs & Jonathan C Cohen.** Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Genetics*. 2014, Vol. 46, 4, pp. 352–6.
57. **Oddgeir L Holmen, He Zhang, Yanbo Fan, Daniel H Hovelson, Ellen M Schmidt, Wei Zhou, Yanhong Guo, Ji Zhang, Arnulf Langhammer, Maja-Lisa Løchen, Santhi K Ganesh, Lars Vatten.** Systematic evaluation of coding variation identifies a candidate causal variant in TM6SF2 influencing total cholesterol and myocardial infarction risk. *Nature Genetics*. 2014, Vol. 46, 4, pp. 345–51.
58. **Dongiovanni P., Petta S., Maglio C., Fracanzani A. L., Pipitone R., Mozzi E., Valenti L.** Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology*. 2015, Vol. 61, 2, pp. 506-14.
59. **Liu Y.-L., Reeves H. L., Burt A. D., Tiniakos D., McPherson S., Leathart J. B. S., Anstee Q. M.** TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nature*. 2014, Vol. 5, p. 4309.
60. **Luukkonen P. K., Zhou Y., Nidhina Haridas P. A., Dwivedi O. P., Hyötyläinen T., Ali A., Yki-Järvinen H.** Impaired hepatic lipid synthesis from polyunsaturated fatty acids in TM6SF2 E167K variant carriers with NAFLD. *Journal of Hepatology*. 2017, Vol. 67, 1, pp. 128–36.
61. **Kim D. S., Jackson A. U., Li Y. K., Stringhay H. M., Kuusisto J., Kangas A. J., Elizabeth K.** Novel association of TM6SF2 rs58542926 genotype with increased serum tyrosine levels and decreased apolipoprotein B-100 particles in Finns. *Journal of Lipid Research*. 2017, Vol. 58, 7, pp. 1471-81.
62. **Speliotes E. K., Yerges-Armstrong L. M., Wu J., Hernaez R., Kim L. J., Palmer C. D., Borecki I. B.** Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genetics*. 2011, Vol. 7, 3.
63. **Santoro N., Zhang C. K., Zhao H., Andrew J., Kim G., Kursawe R., Caprio S.** A Variant in the Glucokinase Regulatory Protein (GCKR) Gene is Associated with Fatty Liver in Obese Children and Adolescents. *NIH Public Access*. 2013, Vol. 55, 3, pp. 781-789.
64. **Petta S., Miele L., Bugianesi E., Cammà C., Rosso C., Boccia S., Craxì A.** Glucokinase regulatory protein gene polymorphism affects liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS ONE*. 2014, Vol. 9, 2, pp. 1-7.

65. **Valenti L., Alisi A., Nobili V.** Unraveling the genetics of fatty liver in obese children: Additive effect of P446L GCKR and I148M PNPLA3 polymorphisms. *Hepatology*. 2012, Vol. 55, 3, pp. 661–3.
66. **Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burt NP, de Bakker PI, Chen H, Roix JJ, Kathiresan S, Hirschhorn JN, Daly MJ, Hughes TE, Groop L, Altshuler D, Almgren P, Florez JC, Meyer J, Ardlie K, Bengtsson Boström K, Isomaa B, Lettre G, Lindblad U, Lyon HN, Melander P.S.** Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*. 2007, Vol. 316, 5829, pp. 1331–6.
67. **Beer N. L., Tribble N. D., McCulloch L. J., Roos C., Johnson P. R. V., Orho-Melander M., Gloyn A. L.** The P446L variant in GCKR associated with fasting plasma glucose and triglyceride levels exerts its effect through increased glucokinase activity in liver. *Human Molecular Genetics*. 2009, Vol. 18, 21, pp. 4081–8.
68. **Valenti, L., Alisi, A., & Nobili, V.** Unraveling the genetics of fatty liver in obese children: Additive effect of P446L GCKR and I148M PNPLA3 polymorphisms. *Hepatology*. 2012, Τόμ. 55, 3, σσ. 661–3.
69. **Miele L., Valenza V., La Torre G., Montalto M., Cammarota G., Ricci R., Grieco A.** Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009, Vol. 49, 6, pp. 1877–87.
70. **Umano G., Martino M., Santoro N.** The Association between Pediatric NAFLD and Common Genetic Variants. *Children*. 2017, Vol. 4, 6, p. 49.
71. **Valenti L., Fracanzani A. L., Dongiovanni P., Santorelli G., Branchi A., Fiorelli G., Taioli E.** Tumor necrosis factor α promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002, Vol. 122, 2, pp. 274–80.
72. **Wang J.K., Feng Z.W. Li, Y.-C. Li Q.Y., Tao X.Y.** Association of tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphism at sites -308 and -238 with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2012, Vol. 27, 4, pp. 670–6.
73. **Eslam M., Valenti L., Romeo S.** Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *Journal of Hepatology*. 2018, Vol. 68, 2, pp. 268–79.
74. **Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN.** Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Oxford Journal of Medicine*. 2010, Vol. 103, 2, pp. 71-83.
75. **Dowman J.K., J. Tomlinson, P. Newsome.** Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Quarterly Journal of Medicine*. 2010, Vol. 103, 2, pp. 71-83.
76. **Tilg H., A.R. Moschen.** Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*. 2010, Vol. 52, 5, pp. 1836-46.
77. **Buzzetti E., Pinzani M., Tsochatzis E. A.** The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism: Clinical and Experimental*. 2016, Vol. 65, 8, pp. 1038–148.
78. **Tiniakos D.G., M.B. Vos, E.M. Brunt.** Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annual Review of Pathological Mechanical Disease*. 2010, Vol. 5, pp. 145-71.

79. **Ouyang, X., Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, Johnson RJ, Abdelmalek MF.** Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2008, Vol. 48, 6, pp. 993-9.
80. **Assy N., Nasser G, Kamayse I, Nseir W, Beniashvili Z, Djibre A, Grosovski M.** Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2008, Vol. 22, 10, pp. 811-6.
81. **Zelber-Sagi S., Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, Oren R.** Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *Journal of hepatology*. 2007, Vol. 47, 5, pp. 711-7.
82. **Machado M.V., et al.** Blood oxidative stress markers in non-alcoholic steatohepatitis and how it correlates with diet. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2008, Vol. 43, 1, pp. 95-102.
83. **Lambert J.E., Ramos-Roman MA, Browning JD, Parks EJ.** Increased de novo lipogenesis is a distinct characteristic of individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2014, Vol. 146, 3, pp. 726-35.
84. **Hudgins L.C., Parker TS, Levine DM, Hellerstein MK.** Dual sugar challenge test for lipogenic sensitivity to dietary fructose. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011, Vol. 96, 3, pp. 861-8.
85. **Parks E.J., Skokan LE, Timlin MT, Dingfelder CS.** Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. *The Journal of nutrition*. Vol. 138, 6, pp. 1039-46.
86. **Abdelmalek M.F, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, Diehl AM.** Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010, Vol. 51, 6, pp. 1961-71.
87. **Lin J., Yang R, Tarr PT, Wu PH, Handschin C, Li S, Yang W, Pei L, Uldry M, Tontonoz P, Newgard CB, Spiegelman BM.** Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1 β coactivation of SREBP. *Cell*. 2005, Vol. 120, 2, pp. 261-73.
88. **Mancina R.M., Matikainen N, Maglio C, Söderlund S, Lundbom N, Hakkarainen A, Rametta R, Mozzi E, Fargion S, Valenti L, Romeo S, Taskinen MR, Borén J.** Paradoxical dissociation between hepatic fat content and de novo lipogenesis due to PNPLA3 sequence variant. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015, Vol. 100, 5, pp. 821-5.
89. **Simonen P., Kotronen A, Hallikainen M, Sevastianova K, Makkonen J, Hakkarainen A, Lundbom N, Miettinen TA, Gylling H, Yki-Järvinen H.** Cholesterol synthesis is increased and absorption decreased in non-alcoholic fatty liver disease independent of obesity. *Journal of hepatology*. 2011, Vol. 54, 1, pp. 153-9.
90. **Malhi H., Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ.** Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. *Journal of Biological Chemistry*. 2006, Vol. 281, 17, pp. 12093-101.
91. **Sharifnia T., Antoun J, Verriere TG, Suarez G, Wattacheril J, Wilson KT, Peek RM Jr, Abumrad NN, Flynn CR.** Hepatic TLR4 signaling in obese NAFLD. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2015, Vol. 309, 4, pp. 270-8.

92. **Serviddio G., Bellanti F, Tamborra R, Rollo T, Romano AD, Giudetti AM, Capitanio N, Petrella A, Vendemiale G, Altomare E.** Alterations of hepatic ATP homeostasis and respiratory chain during development of non-alcoholic steatohepatitis in a rodent model. *European journal of clinical investigation*. 2008, Vol. 38, 4, pp. 245-252.
93. **Jiang Y., M. Zhao, W. An.** Increased hepatic apoptosis in high-fat diet-induced NASH in rats may be associated with downregulation of hepatic stimulator substance. *Journal of molecular medicine*. 2011, Vol. 89, 12, pp. 1207-17.
94. **Day C.** Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2002, Vol. 16, 5, pp. 663-78.
95. **Kujoth G., Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Morrow JD, Van Remmen H, Sedivy JM, Yamasoba T.** Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*. 2005, Vol. 309, 5733, pp. 481-4.
96. **Hotamisligil G.S.** Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*. 2010, Vol. 140, 6, pp. 900-17.
97. **Lee J., Ozcan U.** Unfolded protein response signaling and metabolic diseases. *Journal of Biological Chemistry*. 2014, Vol. 289, 3, pp. 1203-11.
98. **Hetz C.** The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2012, Vol. 13, 2, pp. 89-102.
99. **Koek G., P. Liedorp, A. Bast.** The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clinica chimica acta*. 2011, Vol. 412, 15-16, pp. 1297-305.
100. **Novo E., Busletta C, Bonzo LV, Povero D, Paternostro C, Mareschi K, Ferrero I, David E, Bertolani C, Caligiuri A, Cannito S, Tamagno E, Compagnone A, Colombatto S.** Intracellular reactive oxygen species are required for directional migration of resident and bone marrow-derived hepatic pro-fibrogenic cells. *Journal of hepatology*. 2011, Vol. 54, 5, pp. 964-74.
101. **Johnson A.R., J. Justin Milner, L. Makowski.** The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunological reviews*. 2012, Vol. 249, 1, pp. 218-38.
102. **Puri P., Matherly S.C.** Mechanisms of simple hepatic steatosis: not so simple after all. *Clinics in liver disease*. 2012, Vol. 16, 3, pp. 505-24.
103. **Barbuio R., Milanski M, Bertolo MB, Saad MJ, Velloso LA.** Infliximab reverses steatosis and improves insulin signal transduction in liver of rats fed a high-fat diet. *Journal of Endocrinology*. 2007, Vol. 194, 3, pp. 539-50.
104. **Hasenour C.M., E.D. Berglund, D.H. Wasserman.** Emerging role of AMP-activated protein kinase in endocrine control of metabolism in the liver. *Molecular and cellular endocrinology*. 2013, Vol. 366, 2, pp. 152-62.
105. **Compare D., Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Cartenì M, Nardone G.** Gut–liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2012, Vol. 22, 6, pp. 471-6.

106. **Yu J., Sharon M., Junbo H, Wenke F., Chaodong W.** The pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: interplay between diet, gut microbiota, and genetic background. *Gastroenterology research and practice*. 2016.
107. **Mc Cullough AJ.** Clinical features, diagnosis and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis*. 2004, Vol. 8, 3, pp. 521-33.
108. **Wilkins T, Tadmok A, Hepburn I, Schade RR.** Nonalcoholic fatty liver disease: diagnosis and management. *American Family Physician*. 2013, Vol. 88, 1, pp. 35-42.
109. **Adams L. A., Sanderson S., Lindor K. D., Angulo P.** The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: A longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *Journal of Hepatology*. 2005, Vol. 42, 1, pp. 132–8.
110. **Townsend S. A., Newsome P. N.** Non-alcoholic fatty liver disease in 2016. *British Medical Bulletin*. 2016, Vol. 119, 1, pp. 143–56.
111. **Everhart JE, Ruhl CE.** Burden of digestive diseases in the United States Part III: Liver, biliary tract, and pancreas. *Gastroenterology*. 2009, Vol. 136, 4, pp. 1134-44.
112. **Sass DA, Chang P, Chopra KB.** Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Digestive Diseases and Sciences*. 2005, Vol. 50, 1, pp. 171-80.
113. **Nalbantoglu IL, Brunt EM.** Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, Vol. 20, 27, pp. 9026–37.
114. **Koplay M, Sivri M, Erdogan H, Nayman A.** Importance of imaging and recent developments in diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Hepatology*. 2015, Vol. 7, 5, pp. 769-76.
115. **Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G.** A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *Journal of Hepatology*. 2010, Vol. 53, 2, pp. 372-84.
116. **Lassailly G, Caiazzo R, Hollebecque A, Buob D, Leteurtre E, Arnalsteen L, Louvet A, Pigeyre M, Raverdy V, Verkindt H, Six MF, Eberle C, Patrice A, Dharancy S, Romon M, Pattou F, Mathurin P.** Validation of noninvasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest, and NashTest) for prediction of liver injury in patients with morbid obesity. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2011, Vol. 23, 6, pp. 499-506.
117. **Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ and Group., European Liver Fibrosis.** Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004, Vol. 127, 6, pp. 1704-13.
118. **Calès P, Lainé F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, Hunault G, Rousselet MC, Hubert I, Laafi J, Ducluzeaux PH, Lunel F.** Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *Journal of Hepatology*. 2009, Vol. 50, 1, pp. 165-73.
119. **Anty R, Iannelli A, Patouraux S, Bonnafous S, Lavallard VJ, Senni-Buratti M, Amor IB, Staccini-Myx A, Saint-Paul MC, Berthier F, Huet PM, Le Marchand-Brustel Y, Gugenheim J, Gual P, Tran A.** New composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2010, Vol. 32, 11-12, pp. 1315-22.

120. **Poynard T, Ratzu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Massard J, Bonyhay L, Tahiri M, Thabut D, Cadranet JF, Le Bail B, de Ledinghen V, Group, LIDO Study and group., CYTOL study.** Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterology*. 2006, Vol. 10, 6, p. 34.
121. **Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F.** Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *Journal of Hepatology*. 2009, Vol. 51, 3, pp. 433-45.
122. **De Lédininghen V, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W, le Bail B.** Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver International*. 2012, Vol. 32, 6, pp. 911-8.
123. **Saaddeh S., Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, Mullen KD, Cooper JN, Sheridan MJ.** The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002, Vol. 123, 3, pp. 745-50.
124. **Roldan-Valadez E., Favila R, Martínez-López M, Uribe M, Méndez-Sánchez N.** Imaging techniques for assessing hepatic fat content in nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of Hepatology*. 2008, Vol. 7, 3, pp. 212-20.
125. **Hepburn M.J., Vos JA, Fillman EP, Lawitz EJ.** The accuracy of the report of hepatic steatosis on ultrasonography in patients infected with hepatitis C in a clinical setting: a retrospective observational study. *BMC gastroenterology*. 2005, Vol. 5, p. 14.
126. **Fleishaker H., Rofsky N.M.** CT and MRI of diffuse liver disease. *CT and MRI*. 1995, Vol. 29, 6, p. 14.
127. **Kaswala D.H., M. Lai, N.H. Afdhal.** Fibrosis assessment in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in 2016. *Digestive diseases and sciences*. 2016, Vol. 61, 5, pp. 1356-64.
128. **Banerjee R, Pavlides M, Tunnicliffe EM, Piechnik SK, Sarania N, Philips R, Collier JD, Booth JC, Schneider JE, Wang LM, Delaney DW, Fleming KA, Robson MD, Barnes E, Neubauer S.** Multiparametric magnetic resonance for the non-invasive diagnosis of liver disease. *Journal of Hepatology*. 2014, Vol. 60, 1, pp. 69-77.
129. **Pavlides M, Banerjee R, Sellwood J, Kelly CJ, Robson MD, Booth JC, Collier J, Neubauer S, Barnes E.** Multiparametric magnetic resonance imaging predicts clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *Journal of Hepatology*. 2016, Vol. 60, 1, pp. 69-77.
130. **Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA.** Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial. *Hepatology*. 2009, Vol. 49, 1, pp. 80-6.
131. **Maitreyi Raman, Johane Allard.** Nonalcoholic fatty liver disease: A clinical approach and review. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2006, Vol. 20, 5, pp. 345-9.
132. **EASO, EASL- EASD -. EASL- EASD - EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease.** 2016. *Journal of Hepatology*, Vol. 64, 6, pp. 1388-402.
133. **Rusu E., Enache G., Jinga M., Dragut R., Nan R., Popesch H., Parpala C., Homentcovschi C., Nitescu M., Stoian M., Costach A., Posea M., Rusu F., Jinga V., Mischianu D., Radulian G.** Medical nutrition

- therapy in non-alcoholic fatty liver disease. A review of literature. *Journal of medicine and life*. 2015, Vol. 8, 3, pp. 258–62.
134. **Ngu J. H., Goh G. B. B., Poh Z., Soetikno, R.** Managing non-alcoholic fatty liver disease. *Singapore Medical Journal*. 2016, Vol. 57, 7, pp. 368–71.
135. **Zein C. O., Unalp A., Colvin R., Liu Y., Arthur J.** Smoking and Severity of Hepatic Fibrosis in Nonalcoholic Fatty. *Journal of Hepatology*. 2012, Vol. 54, 4, pp. 753–9.
136. **Rinella ME, Sanyal AJ.** Management of NAFLD: a stage-based approach. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016, Vol. 13, 4, pp. 196–205.
137. **Li Q., Li HJ, Xu T, Du H, Huan Gang CL, Fan G2, Zhang Y.** Herbal medicines and nonalcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Pharmacology*. 2018, Vol. 22, 30, pp. 6890–905.
138. **Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A.** Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014, Vol. 99, 3, pp. 535–42.
139. **Dimas K.S., Pantazis P., Ramanujam.** Chios mastic gum: a plant-produced resin exhibiting numerous diverse pharmaceutical and biomedical properties. *In Vivo*. 2012, Vol. 26, 5, pp. 777–85.
140. **Vasiliki, Galani-Moutafi.** A Regionally Distinctive Product and the Construction of Place Identity: The Case of Chios Mastiha. *Anatolia*. 2004, pp. 19–38.
141. Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου. [Ηλεκτρονικό] 2018. <http://www.gummastic.gr/el/mastixa-chiou/polytimo-dakry>.
142. **Kaliora A., Mylona A., Chiou A., Petsios D.G., Andrikopoulos N.K.** Detection and identification of simple phenolics in Pistacia lentiscus resin. *Journal of liquid chromatography & related technologies*. Vol. 27, 2, pp. 289–300.
143. **Mohammad S. S., Stuart L. H.** Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of Mastic, Kurdica, Mutica and Cabolica gums from genus Pistacia. *Global Journal of Health Science*. 2012, Vol. 4, 1, pp. 217–28.
144. Chios Shop. <https://www.masticha.gr/>. [Online] 2018. <https://www.masticha.gr/>.
145. **Savvidis Th.** *Το μαστιχόνδενδρο της Χίου (Pistacia lentiscus var. Chia)*. ISBN: 960-343-528-7. Ελλάδα : Αδελφών Κυριακίδης Α.Ε., 2000.
146. **Andrikopoulos N.K., Kaliora AC, Assimopoulou AN, Papapeorgiou VP.** Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytotherapy research*. 2003, Vol. 17, 5, pp. 501–7.
147. **Shan H, Wilson WK, Castillo DA, Matsuda SP.** Are Isoursenol and γ-Amyrin Rare Triterpenes in Nature or Simply Overlooked by Usual Analytical Methods? *Organic Letters*. 2015, Vol. 17, 16, pp. 3986–9.
148. **Ovaskainen ML, Törrönen R, Koponen JM, Sinkko H, Hellström J, Reinivuo H, Mattila P.** Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish adults. *The Journal of Nutrition*. 2008, Vol. 138, 3, pp. 562–6.

149. **Papageorgiou V. P., Bakola-Christianopoulou M. N., Apazidou K. K., Psarros E. E.** Gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. *Journal of Chromatography A*. 1997, Vol. 769, 2, pp. 263–73.
150. **Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., Tattini M.** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*. 2002, Vol. 13, 2, pp. 79–86.
151. **Kaliora A. C., Mylona A., Chiou A., Petsios D. G., Andrikopoulos N. K.** Detection and identification of simple phenolics in *Pistacia lentiscus* resin. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2004, Vol. 27, 2, pp. 289–300.
152. **Sharifi M. S., Ebrahimi D., Ebrahimi D., Hibbert D. B., Hibbert D. B., Hook J., Hook J., Hazell S. L., Hazell S. L.** Bio-Activity of Natural Polymers from the Genus *Pistacia*: A Validated Model for Their Antimicrobial Action. *Global Journal of Health Science*. 2011, Vol. 4, 1, pp. 149–61.
153. **Abdel-Rahman A.H. Y., Youssef Soad A.M.** Mastich as an antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. October 1975, Vol. 52, 10, p. 423.
154. **Al-Merie H., Janakat S.** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002, Vol. 83, 1-2, pp. 135–8.
155. **Rauf A., Patel S., Uddin G., Siddiqui B. S., Ahmad B., Muhammad N., Mabkhot Y. N., Hadda T. Ben.** Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017, Vol. 86, pp. 393–404.
156. **Abdelwahed A., Bouhlel I., Skandrani I., Valenti K., Kadri M., Guiraud P., Steiman R., Mariotte A. M., Ghedira K., Laporte F., Dijoux-Franca M. G. Chekir-Ghedira L.** Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*. 2007, Vol. 165, 1, pp. 1–13.
157. **Jaap G. Neels, Manjula Pandey, Gokhan S. Hotamisligil, and Fahumiya Samad.** Autoamplification of Tumor Necrosis Factor- α . A Potential Mechanism for the Maintenance of Elevated Tumor Necrosis Factor- α in Male but Not Female Obese Mice. *American Journal of Pathology*. 2006, Vol. 168, 2, pp. 435-45.
158. **J. Eduardo Caminos, Rube'n Nogueiras, Rosali'a Gallego, Susana Bravo, Sulay Tovar, Toma's Garcia-Caballero, Felipe F. Casanueva, Carlos Dieguez.** Expression and Regulation of Adiponectin and Receptor in Human and Rat Placenta. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005, Vol. 90, 7, pp. 4276-87.
159. **Kaliora A.C., Stathopoulou M.G., Triantafyllidis J.K., Dedoussis G.V., Andrikopoulos N.K.** Alterations in the function of circulating mononuclear cells derived from patients with Crohn's disease treated with mastic. *World journal of gastroenterology*. 13, 2007, Vol. 45, pp. 6031–6.
160. **Paraschos S., Magiatis P., Mitakou S., Petraki K., Kalliaropoulos A., Maragkoudakis P., Mentis A., Sgouras D., Skaltsounis A. L.** In vitro and in vivo activities of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007, Vol. 51, 2, pp. 551–9.

161. **Triantafyllou A, Chaviaras N, Sergentanis TN, Protopapa E, Tsaknis J.** Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007, Vol. 111, 1, pp. 43-9.
162. **Balan K. V., Prince J., Han Z., Dimas K., Cladaras M., Wyche J. H., Sitaras N.M., Pantazis P.** 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, Vol. 14, 4, pp. 263–72.
163. **Kang J. S., Wanibuchi H., Salim E. I., Kinoshita A. and Fukushima S.** Evaluation of the toxicity of mastic gum with 13 weeks dietary administration to F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2007, Vol. 45, 3, pp. 494–501.
164. **Lim S, Quon MJ, Koh KK.** Modulation of adiponectin as a potential therapeutic strategy. *Atherosclerosis*. 2014, Vol. 233, 2, pp. 721-8.
165. **Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, Bianco A, Daniele A.** New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *BioMed Research International*. 2014.
166. **Daniele A, Cammarata R, Masullo M, Nerone G, Finamore F, D'Andrea M, Pilla F, Oriani G.** Analysis of adiponectin gene and comparison of its expression in two different pig breeds. *Obesity*. 2008, Vol. 16, 8, pp. 1869-74.
167. **De Rosa A, Monaco ML, Capasso M, Forestieri P, Pilone V, Nardelli C, Buono P, Daniele A.** Adiponectin oligomers as potential indicators of adipose tissue improvement in obese subjects. *European Journal of Endocrinology*. 2013, Vol. 169, 1, pp. 37-43.
168. **C. Caselli, A. D'Amico, M. Cabiati, T. Prescimone, S. Del Ry, and D. Giannessi.** Back to the heart: the protective role of adiponectin. *Pharmacological Research*. April 2014, Vol. 82, pp. 9–20.
169. **Ken Kishida, Nagaretani H, Kondo H, Kobayashi H, Tanaka S, Maeda N, Nagasawa A, Hibuse T, Ohashi K, Kumada M, Nishizawa H, Okamoto Y, Ouchi N, Maeda K, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y.** Disturbed secretion of mutant adiponectin associated with the metabolic syndrome. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003, Vol. 1, 20, p. 306.
170. **Kadowaki T, Yamauchi T.** Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocrine Reviews*. 2005, Vol. 26, 3, pp. 439-51.
171. **Leandro C.Freitas Lima, Valdi rde Andra de Braga, Maria do Socorro de FrançaSilva.** Adipokines,diabetes and atherosclerosis: an inflammatory association. *Frontiers in Physiology*. 2015, Vol. 3, 6, p. 304.
172. **PE, Scherer.** The Multifaceted Roles of Adipose Tissue-Therapeutic Targets for Diabetes and Beyond: The 2015 Banting Lecture. *Diabetes*. 2016, Vol. 65, 6, pp. 1452–61.
173. **Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C.** Nonlinear Distribution of Adiponectin in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Limits Its Use in Linear Regression Analysis. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2010, Vol. 44, 3, pp. 229-30.

174. **Tenenbaum E. Z., Fisman and A.** Adiponectin: a manifold therapeutic target for metabolic syndrome, diabetes, and coronary disease? *Cardiovasc. Diabetol.* June 2014, p. 103.
175. **Leandro C. Freitas Lima, Valdir de Andrade Braga, Maria do Socorro de França Silva, Josiane de Campos Cruz, Sérgio H. Sousa Santos,, Matheus M. de Oliveira Monteiro Camille de Moura Balarini.** Adipokines, diabetes and atherosclerosis: an inflammatory association. *Frontiers in Physiology.* 2015, Vol. 3, 6, p. 304.
176. **Scherer PE, Philipp E.** The Multifaceted Roles of Adipose Tissue—Therapeutic Targets for Diabetes and Beyond: The 2015 Banting Lecture. *Diabetes.* 2016, Vol. 65, 6, pp. 1452–61.
177. **Giby V. G., Ajith T. A.** Role of adipokines and peroxisome proliferator-activated receptors in nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Hepatology.* 2014, Vol. 6, 8, pp. 570-9.
178. **Berlanga A, Guiu-Jurado E, Porras JA, Auguet T.** Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical and Experimental Gastroenterology.* 2014, pp. 221-39.
179. **Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS.** Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2016, Vol. 65, 8, pp. 1062-79.
180. **Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, Gambino R, Cassader M, Baldi S, Ponti V, Pagano G, Ferrannini E, Rizzetto M.** Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia.* 2005, Vol. 48, 4, pp. 634-42.
181. **Gastaldelli A, Harrison S, Belfort-Aguilar R, Hardies J, Balas B, Schenker S, Cusi K.** Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010, Vol. 46, 9, pp. 836-44.
182. **Fantuzzi G.** Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2008, Vol. 121, 2, pp. 326-30.
183. **S. Lim, M. J. Quon, K. K. Koh.** Modulation of adiponectin as a potential therapeutic strategy. *Atherosclerosis.* April 2014, Vol. 233, 2, pp. 721–8.
184. **Rezvani R, Cianflone K, McGahan JP, Berglund L, Bremer AA, Keim NL, Griffen SC, Havel PJ, Stanhope KL.** Effects of sugar-sweetened beverages on plasma acylation stimulating protein, leptin and adiponectin: relationships with metabolic outcomes. *Obesity (Silver Spring).* 2013, Vol. 21, 12, pp. 2471-80.
185. **Anize D von Frankenberg, corresponding author, Filipe V do Nascimento, Lucas Eduardo Gatelli, Bárbara L Nedel, Sheila P Garcia, Carolina SV de Oliveira, Pedro Saddi-Rosa, André F Reis, Luis H Canani, Fernando Gerchman.** Major components of metabolic syndrome and adiponectin levels: a cross-sectional study. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 2014, Vol. 6, p. 26.
186. **Swarbrick MM, Havel PJ.** Physiological, pharmacological, and nutritional regulation of circulating adiponectin concentrations in humans. *Metabolic Syndrome and Related Disorders.* 2008, Vol. 6, 2, pp. 87-102.
187. **Golbidi S, Laher I.** Exercise induced adipokine changes and the metabolic syndrome. *Journal of Diabetes Research.* 2014, Vol. 2014, 18.

188. **Ahmadi N., Eshaghian S., Huizenga R., Sosnin K., Ebrahimi R., Siegel.** Effects of intense exercise and moderate caloric restriction on cardiovascular risk factors and inflammation. *American Journal of Medicine*. 2011, Vol. 124, 10, pp. 978–82.
189. Uniprot. <http://www.uniprot.org/uniprot/P01375>. [Online]
<http://www.uniprot.org/uniprot/P01375>.
190. **Lever E., Sheer, D.** TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology*. 2010, Vol. 214, 2, pp. 149-60.
191. **Beutler B., Cerami A.** Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature*. 1986, Vol. 320, 6063, pp. 584–8.
192. **Lin E., Calvano S. E., Lowry S. F.** Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*. 2000, Vol. 127, 2, pp. 117–26.
193. **Tracey D., Klareskog L., Sasso E. H., Salfeld J. G., Tak P. P.** Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. *Pharmacology and Therapeutics*. 2008, Vol. 117, 2, pp. 244–79.
194. **Stow J. L., Ching Low P., Offenhäuser C., Sangermani D.** Cytokine secretion in macrophages and other cells: Pathways and mediators. *Immunobiology*. 2009, Vol. 214, 7, pp. 601–12.
195. **J., MacEwan D.** TNF receptor subtype signalling: Differences and cellular consequences. *Cellular Signalling*. 2002, Vol. 14, 6, pp. 477–92.
196. **Hehlgans T., Männel D. N.** The TNF – TNF Receptor System. *New York*. 2002, Vol. 383, 10, pp. 1581–5.
197. **Black, R. A., Rauch, C. T., Kozlosky, C. J., Peschon, J. J., Slack, J. L., Wolfson, M. F., ... Cerretti, D. P.** A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- α from cells. *Nature*. 1997, Vol. 385, 6618, pp. 729-33.
198. **Friedmann E., Hauben E., Maylandt K., Schleegeer S., Vreugde S., Lichtenthaler S. F., Martoglio B.** SPPL2a and SPPL2b promote intramembrane proteolysis of TNF α in activated dendritic cells to trigger IL-12 production. *Nature Cell Biology*. 2006, Vol. 8, 8, pp. 843–8.
199. **Roach D. R., Bean A. G. D., Demangel C., France M. P., Briscoe H., Britton W. J.** TNF Regulates Chemokine Induction Essential for Cell Recruitment, Granuloma Formation, and Clearance of Mycobacterial Infection. *The Journal of Immunology*. 2002, Vol. 168, 9, pp. 4620–7.
200. **Sethi G., Shanmuga M. K., Ramachandran L., Kumar A. P., Tergaonkar V.** Multifaceted link between cancer and inflammation. *Bioscience Reports*. 2012, Vol. 32, 1, pp. 1-15.
201. **Balkwill F. R., Mantovani A.** Cancer- related inflammation: Common themes and therapeutic opportunities. *Seminars in Cancer Biology*. 2012, Vol. 22, 1, pp. 33-40.
202. **Feldmann M., Maini R. N.** Anti-TNF Therapy, from Rationale to Standard of Care: What Lessons Has It Taught Us? *The Journal of Immunology*. 2010, Vol. 185, 2, pp. 791–4.

203. **Weisberg S., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R., Ferrante Jr A.** Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*. 2003, Vol. 112, 12, pp. 1796–808.
204. **Fain JN, Bahouth SW M. A.** TNF α release by the nonfat cells of human adipose tissue. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*. 2004, Vol. 28, 4, pp. 616–22.
205. **Hube F., Hauner H.** The role of TNF- α in human adipose tissue: prevention of weight gain at the expense of insulin resistance? *Hormone and Metabolic Research*. 1999, Vol. 31, 12, pp. 626–31.
206. **Hoffman C., Lorenz K., Braithwaite S., Colca J., Palazuk B., Hotamisligil G., Spiegelman B. M.** Altered gene expression for tumor necrosis factor- α and its receptors during drug and dietary modulation of insulin resistance. *Endocrinology*. 2015, Vol. 134, 1, pp. 264-70.
207. **Wang B., Trayhurn P.** Acute and prolonged effects of TNF- α on the expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. 2006, Vol. 452, 4, pp. 418–427.
208. **Neels, J. G., Pandey, M., Hotamisligil, G. S., & Samad, F.** Autoamplification of tumor necrosis factor- α : A potential mechanism for the maintenance of elevated tumor necrosis factor- α in male but not female obese mice. *American Journal of Pathology*. 2006, Vol. 168, 2, pp. 435–44.
209. **Caminos J. E., Nogueiras R., Gallego R., Bravo S., Tovar S., García-Caballero T., Diéguez, C.** Expression and regulation of adiponectin and receptor in human and rat placenta. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005, Vol. 90, 7, pp. 4276–86.
210. **Saito K., Tobe T., Minoshima S., Asakawa S., Sumiya J., Yoda M., Tomita M.** Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene*. 1999, Vol. 229, 1-2, pp. 67–73.
211. **Xu A., Wang Y., Keshaw H., Xu L. Y., Lam K. S. L., Cooper G. J. S.** The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2003, Vol. 112, 1, pp. 91–100.
212. **Charles H. Lang, Cornel Dobrescu, and Gregory J. Bagby.** Tumor Necrosis Factor Impairs Insulin Action on Peripheral Glucose Disposal and Hepatic Glucose Output. *Endocrinology*. 1992, Vol. 130, 1, pp. 43-52.
213. **Uysalbk. T., Wiesbrock S. M., Marino M. W., Hotamisligil G. S.** Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature*. 1997, Vol. 389, 6651, pp. 610–4.
214. **Seo Y. Y., Cho Y. K., Bae J., Seo M. H., Park S. E., Rhee E.** Tumor Necrosis Factor- α as a Predictor for the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease : A 4-Year Follow-Up Study. *Endocrinology and Metabolism*. 2013, Vol. 28, 1, pp. 41-5.
215. **Hui J. M., Hodge A., Farrell G. C., Kench J. G., Kriketos A., George, J.** Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin? *Hepatology*. 2004, Vol. 40, 1, pp. 46-54.
216. **Tokushige K., Takakura M., Tsuchiya-Matsushita N., Taniai M., Hashimoto E., Shiratori K.** Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *Journal of Hepatology*. 2007, Vol. 46, 6, pp. 1104–10.

217. **Abiru S., Migita K., Maeda Y., Daikoku M., Ito M., Ohata K., Ishibashi H.** Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver International*. 2006, Vol. 26, 1, pp. 39–45.
218. **Crespo J., Cayón A., Fernández-Gil P., Hernández-Guerra M., Mayorga M., Domínguez-Díez A., Pons-Romero, F.** Gene expression of tumor necrosis factor α and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology*. 2001, Vol. 34, 6, pp. 1158–63.
219. **Manco M., Marcellini M., Giannone G., Nobili V.** Correlation of serum TNF- α levels and histologic liver injury scores in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *American Journal of Clinical Pathology*. 2007, Vol. 127, 6, pp. 954–60.
220. **Alaaeddine N., Sidaoui J., Hilal G., Serhal R., Abdelrahman A., Khoury S.** TNF-alpha messenger ribonucleic acid (mRNA) in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *European Cytokine Network*. 2012, Vol. 23, 3, pp. 107–11.
221. **Spruss A., Kanuri G., Wagnerberger S., Haus S., Bischoff S. C., Bergheid I.** Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology*. 2009, Vol. 50, 4, pp. 1094–104.
222. **Haub S., Kanuri G., Volynets V., Brune T., Bischoff S. C., Bergheim I.** Serotonin reuptake transporter (SERT) plays a critical role in the onset of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2010, Vol. 298, 3, pp. 335–44.
223. **Volynets V., Spruss A., Kanuri G., Wagnerberger S., Bischoff S. C., Bergheim I.** Protective effect of bile acids on the onset of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Journal of Lipid Research*. 2010, Vol. 51, 12, pp. 3414–24.
224. **Kanuri G., Spruss A., Wagnerberger S., Bischoff S. C., Bergheim I.** Role of tumor necrosis factor α (TNF α) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011, Vol. 22, 6, pp. 527–34.
225. **Alisi A., Manco M., Devito R., Piemonte, F., Nobili V.** Endotoxin and plasminogen activator inhibitor-1 serum levels associated with nonalcoholic steatohepatitis in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2010, Vol. 50, 6, pp. 645–9.
226. **Guerra Ruiz A., Casafont F., Crespo J., Cayón A., Mayorga M., Estebanez A., Pons-Romero,.** Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels and liver TNF-alpha gene expression in obese patients: Evidence for the potential role of endotoxin in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Obesity Surgery*. 2007, Vol. 17, 10, pp. 1374–80.
227. **Endo M., Masaki T., Seike M, Y. H.** TNF-alpha induces hepatic steatosis in mice by enhancing gene expression of sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c). *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007, Vol. 232, 5, pp. 614–22.
228. **Wang J.K., Feng Z.W., Li Y.C., Li Q.Y., Tao X.-Y.** Association of tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphism at sites -308 and -238 with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2012, Vol. 27, 4, pp. 670–676.

229. **Hu ZW, Luo HB, Xu YM, Guo JW, Deng XL, Tong YW, T. X.** Tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphisms in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver diseases. *Acta Gastroenterol Belg.* 2009, Vol. 72, 2, pp. 215–21.
230. **Kwok R., Tse Y.K., Wong G. L.H., Ha Y., Lee A. U., Ngu M. C., Wong V. W.S.** Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease - the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 2014, Vol. 39, 3, pp. 254-69.
231. **Pirvulescu I., Gheorghe L., Csiki I., Becheanu G., Dumbrava M., Fica S., Copăescu C.** Noninvasive Clinical Model for the Diagnosis of Nonalcoholic Steatohepatitis in Overweight and Morbidly Obese Patients undergoing Bariatric Surgery. *Chirurgia.* 2012, Vol. 107, 6, pp. 772–9.
232. **Leite N. C., Salles G. F., Cardoso C. R. L., Villela-Nogueira C. A.** Serum biomarkers in type 2 diabetic patients with non-alcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis. *Hepatology Research.* 2013, Vol. 43, 5, pp. 508–15.
233. **Kim Y. C., Cho Y. K., Lee W. Y., Kim H. J., Park J. H., Park D. Il, Ryu S. H.** Serum adipocyte-specific fatty acid-binding protein is associated with nonalcoholic fatty liver disease in apparently healthy subjects. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2011, Vol. 22, 3, pp. 289–92.
234. **Tomita K., Tamiya G., Ando S., Ohsumi K., Chiyo T., Mizutani A., Hibi T.** Tumour necrosis factor α signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Gut.* 2006, Vol. 55, 3, pp. 415–24.
235. **Genc H, Dogru T, Kara M, Tapan S, Ercin CN, Acikel C, Karslioglu Y.** Association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol.* 2013, Vol. 12, 4, pp. 548–55.
236. **Nobili V., Siotto M., Bedogni G., Ravà L., Pietrobattista A., Panera N., Squitti R.** Levels of serum ceruloplasmin associate with pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2013, Vol. 56, 4, pp. 370–5.
237. **IPAQ.** [Online] <https://sites.google.com/site/theipaq/home>.
238. **Bountziouka V, Bathrellou E, Giotopoulou A, Katsagoni C, Bonou M, Vallianou N, Barbetseas J, Avgerinos PC, Panagiotakos DB.** Development, repeatability and validity regarding energy and macronutrient intake of a semi-quantitative food frequency questionnaire: methodological considerations. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2012, Vol. 22, 8.
239. **Calzadilla Bertot L, Adams LA.** The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences.* 2016, Vol. 17, 5, p. 774.
240. **Mc Pherson S., et al.** Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.* 2010, Vol. 59, 9, pp. 1265-9.
241. **Chen ZW, Chen LY, Dai HL, Chen JH, Fang LZ.** Relationship between alanine aminotransferase levels and metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Zhejiang University.* 2008, Vol. 9, 8, pp. 616-22.

242. **Koehler EM, Schouten JN, Hansen BE, van Rooij FJ, Hofman A, Stricker BH, Janssen HL.** Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in the elderly: results from the Rotterdam study. *Hepatology*. 2012, Vol. 57, 6, pp. 1305-11.
243. **Michael K Hui, Kevin Au, Henry Fock.** Empowerment effects across cultures. *Journal of International Business Studies*. 2004, Vol. 35, 1, pp. 46-60.
244. **Buechler C, Wanninger J, Neumeier M.** Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 2011, Vol. 17, 23, pp. 2801–11.
245. **Marion Flechtner-Mors¹, Samuel N George², Suemeyra Oeztuerk, Mark M Haenle, Wolfgang Koenig, Armin Imhof³, Bernhard O Boehm, Tilmann Graeter, Richard A Mason, Wolfgang Kratzer², Atilla S Akinli, EMIL-Study group.** Association of adiponectin with hepatic steatosis:a study of 1,349 subjects in a random population sample. *BMC Research Notes*. 2014, Vol. 7, p. 207.
246. **Vergès B, Petit JM, Duvillard L, Dautin G, Florentin E, Galland F, Gamber P.** Adiponectin is an important determinant of apoA-I catabolism. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006, Vol. 26, 6, pp. 1364-9.
247. **Marion Flechtner-Mors, Samuel N George, Suemeyra Oeztuerk, Mark M Haenle, Wolfgang Koenig, Armin Imhof.** Association of adiponectin with hepatic steatosis:a study of 1,349 subjects in a random population sample. *BMC Research Notes*. 2014, Vol. 7, p. 207.
248. **Akinobu Nakamura, Hideaki Miyoshi, Shigekazu Ukawa, Koshi Nakamura, Takafumi Nakagawa, Takafumi Nakagawa, Akiko Tamakoshi, Tatsuya Atsumi.** Serum adiponectin and insulin secretion: a direct or inverse association? *Journal of Diabetes Investigation*. 2018.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Ανάκληση 24ώρου και ημερολόγιο καταγραφής διαιτητικής πρόσληψης

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

2. Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 69 ερωτήσεων

Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων:

Τρόφιμα και ροφήματα, μεγέθη μερίδων και συχνότητα κατανάλωσης

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

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 τηχ., 2φέτες (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
Θαλασσινό (χταπόδι, καλαμαράκια, γαρίδες)	150g	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΟΣΠΡΙΑ, ΠΑΡΑΛΙΟΣΙΑΚΑ ΦΑΓΗΤΑ		
Όσπρια (φακές, φασόλια, ρεβίθια, φαβές)	1 μερίδα (300g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Σπανακόρουζο / λαχανόρουζο	1μερίδα (250g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Παστίτσιο/ μουσακάς/ παπουτσάκια	1μερίδα (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΛΑΧΑΝΙΚΑ		
Αρακάς, φασολάκια, μπάμιες, σπινάκια	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
Μπανάνια	1μέτρια (100g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Άλλα καλοκαιρινά φρούτα	1κομμάτι, 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 (άλλες)	1 κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Τοστ, σάντουιτς	1 κομμάτι (200g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΓΛΥΚΑ, ΑΙΜΙΤΥΡΑ SNACKS		
Γλυκά δίσκου	1 κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Γλυκά του κουταλιού, κομπόστα φρούτων, ζελέ φρούτων	1μερίδα (100g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Gateau, τάρτα	1κομμάτι (150g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Κρουασάν, γκοφρέτα, κέικς, μπισκότα	1τεμάχιο, 1 κομμάτι, 3- 4τηχ	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Σοκολάτα	1μέτρια (60g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Παγωτό, milk-shake, κρέμα, ροζόγαλο	1 κομμάτι	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Πατατάκια, ποπ-κορν	1σακοδόμα (70g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μέλι, μαρμελάδα, ζάχαρη	1κγ (5g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Ελιές	10 μικρές/ 5 μεγάλες	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΡΟΦΗΜΑΤΑ		
Κρασί	1 ποτήρι (125ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μπίρα	1 ποτήρι (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Άλλα αλκοολούχα ποτά	1 ποτήρι (30ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Αναψυκτικά	1 κουτάκι (330ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Αναψυκτικά light	1 κουτάκι (330ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Καφές	1 κούπα (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Τσάι / άλλα αφενήματα	1 κούπα (240ml)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
ΛΠΠΗ		
Μαγιονέζα, σως	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Light μαγιονέζα, light σως	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Ελαιόλαδο	3κ.σ (45g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Σπορέλαιο	3κ.σ (45g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Μαργαρίνη	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ
Βούτυρο	1κ.σ (15g)	Ποτέ/σπάνια, 1-3φ/μήνα, 1-2φ/εβδ, 3-6 φ/εβδ, 1φ/ημ, ≥ 2 φ/ημ

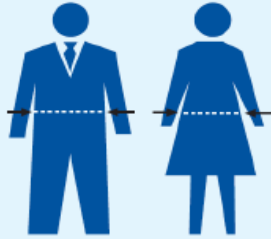
φ/μήνα: φορές στο μήνα; φ/εβδ: φορές στην εβδομάδα; φ/ημ: φορές στην ημέρα; τηχ: τεμάχιο

3. Ερωτηματολόγιο FINDRISK για την αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ2

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	6. Έχετε λάβει ποτέ συστηματικά φαρμακευτική αγωγή για την υψηλή αρτηριακή πίεση; 0 βαθμοί Όχι 2 βαθμοί Ναι
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	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
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	8. Έχει κάποιος 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 εξώτελος (αλλά όχι γονέας, αδελφός, αδελφή ή παιδί) 5 βαθμοί Ναι: γονέας, αδελφός, αδελφή ή παιδί



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

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

4. Φύλλο Ιστορικού MAST4HEALTH

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:

Συνγυμνέα στοιχεία στην κλινική καταχώρηση:

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.	

1

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 απολογία.....)
- 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	Απολογία	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 Νόσος	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Σταθερή Στηθάγχη	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Ασταθής Στηθάγχη	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Έμφραγμα του Μυοκαρδίου	1. ☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ:..... ☐ ΟΧΙ 2. ☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ:..... ☐ ΟΧΙ
Καρδιακή Ανεπάρκεια	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Καρδιακή Αρρυθμία	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Θρόμβωση	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Εγκεφαλικό Επείσπδιο	☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ:..... ☐ ΟΧΙ
Υπερλιπιδαιμία	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Αρτηριακή Υπέρταση	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Σακχ. Διαβήτη Τύπου I	☐ ΝΑΙ ΗΛΙΚΙΑ:..... ☐ ΟΧΙ
Σακχ. Διαβήτη Τύπου II	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ

2

Αυχενικό Σύνδρομο	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Ηπατική ανεπάρκεια	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Νεφρική ανεπάρκεια	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Άσθμα	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Χρόνιο άγχος, Κατάθλιψη	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Ψωρίαση	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Αλλεργία	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Οστεοπόρωση	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκος	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Γαστρικά Έλκη	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Γαστροοισοφαγική Παλινδρόμηση	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Φλεγμονώδη Νόσος του Εντέρου	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Υποθυρεοειδισμός	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Υπερθυρεοειδισμός	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Καρκίνος	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Τύπος-προσδιορίστε:	
Άλλο- παρακαλώ προσδιορίστε:	

6. Βρίσκονται οι γονείς σας εν ζωή?

Πατέρας	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ
Μητέρα	☐ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ

Εάν ΟΧΙ

Ηλικία θανάτου	Αιτία θανάτου
Πατέρας	
Μητέρα	

7. Οικογενειακό Ιστορικό:

Ασθενείς	1	2	3	4	5	Πατέρας	Μητέρα
Μη Αλκοολική Λιπώδη Νόσος του ήπατος (NAFLD)							
Μη Αλκοολική Στεατοηπατίτιδα (NASH)							
Στεφανιαία Νόσος							
Σταθερή Στηθάγχη							
Ασταθής Στηθάγχη							
Έμφραγμα του Μυοκαρδίου							
Καρδιακή Ανεπάρκεια							
Καρδιακή Αρρυθμία							
Θρόμβωση							
Εγκεφαλικό Επείσπδιο							
Υπερλιπιδαιμία							
Αρτηριακή Υπέρταση							
Σακχ. Διαβήτης Τύπου I							
Σακχ. Διαβήτης Τύπου II							
Γαστρικά Έλκη							
Γαστροοισοφαγική Παλινδρόμηση							
Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου							
Υποθυρεοειδισμός							
Υπερθυρεοειδισμός							
Καρκίνος							
Είδος-προσδιορίστε:							
Άλλο- παρακαλώ προσδιορίστε:							

3

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

1. Σωματικό Βάρος (Kg)

Παρόν Σωματικό Βάρος:

Νηστείας: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Σύνθηες 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 καπνισα ποτέ ☐

5 Σε ποια ηλικία ξεκινήσατε το κάπνισμα;

6 Εάν συνηθίζατε να καπνίζετε 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.....

5. 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.

1

Διεθνές ερωτηματολόγιο σωματικής δραστηριότητας IPAQ

Οι ερωτήσεις αφορούν στο χρόνο που περάσατε σωματικά δραστήριους 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 αμεβόμωνα επαγγέλματα, αγροτικές εργασίες, εθελοντική εργασία, σπουδές και διάβασμα και όποια άλλη μη αμεβόμωνα εργασία που κάνετε εκτός σπιτιού. Μην συμπεριλάβετε κάποια μη αμεβόμωνα 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-αμεβόμωνα 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 αμεβόμωνα ή μη-αμεβόμωνα 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 σκάψετε, 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

2

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 σωματικής δραστηριότητας 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

3

Τώρα σκεφτείτε μόνο την ποδηλασία και το περπάτημα που μπορεί να κάνατε για να πάτε από και προς τη δουλειά, για να κάνατε 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 κάνατε 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

4

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 σωματ. 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 αερόβικη, 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 Αφοράν 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 ξεπλωμένος 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

6. Ερωτηματολόγιο IPAQ short για την αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας

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 πολιτιστική 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 "μείωση 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 IPAQ 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 αναπνεύουμε πολύ πιο έντονα από το κανονικό και μπορεί να περιλαμβάνουν άρση βαρών 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 [VWHS; 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 σπίτι, 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