



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

**Αλλαγές σε δείκτες αιμόστασης ασθενών με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση
του ήπατος μετά από εξάμηνη παρέμβαση τροποποίησης του τρόπου ζωής**

Διπλωματική Εργασία

ΤΣΙΓΚΑΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΠΑΝΤΕΛΗΣ



ΑΘΗΝΑ, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τριμελής Εξεταστική επιτροπή

Μερόπη Κοντογιάννη (Επιβλέπουσα)

**Επίκουρη καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

**Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Ελισάβετ Φραγκοπούλου

**Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Ο Αλέξανδρος Παντελής Τσίγκας

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.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κα Μερόπη Κοντογιάννη, Επίκουρη Καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής, για την υπέροχη συνεργασία που είχαμε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας μου, για τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις της, καθώς και για τη δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με έναν τομέα, που με συναρπάζει και θα ήθελα να με συντροφεύει στη μετέπειτα επαγγελματική μου πορεία, την Κλινική Διατροφή.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην κα Ελισάβετ Φραγκοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, για την άψογη συνεργασία και την καθοδήγησή της στη διεξαγωγή και επεξεργασία των εργαστηριακών αναλύσεων καθώς και στην κα Σμαραγδή Αντωμοπούλου, Καθηγήτρια Βιοχημείας, για τη συμμετοχή της στην εξεταστική επιτροπή και την αξιολόγηση της παρούσας διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες αξίζουν στην κα Χριστίνα Κατσαγώνη, Διδάκτωρ του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για την πολύτιμη βοήθειά της στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και φυσικά για τη διάθεση του απαραίτητων δεδομένων, αποτέλεσμα πολύωρης ενασχόλησης κατά την εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής, χωρίς το οποίο δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί η παρούσα εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την παρούσα διατριβή στους φίλους μου, την οικογένεια μου και την Ελένη, για τη συνεχή συμπαράσταση τους, την υπομονή που έδειξαν για το χρόνο που τους στέρησα και τη δύναμη που μου έδωσαν να προσπαθήσω για την επιτυχή ολοκλήρωση της σε μια δύσκολη και πιεστική χρονική περίοδο. Σας ευχαριστώ όλους ξεχωριστά.

Τσίγκας Αλέξανδρος

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1.1 Μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος	14
1.1.1 Ορισμός και Φυσική Εξέλιξη	14
1.1.2 Επιδημιολογία	16
1.1.3 Παράγοντες κινδύνου	16
1.1.4 Κλινική εικόνα-συμπτώματα	20
1.1.5. Διάγνωση	20
1.1.6 Παθοφυσιολογία της NAFLD.....	21
1.1.7 Αντιμετώπιση.....	24
1.2 Αιμόσταση	28
1.2.1 Συσσώρευση αιμοπεταλίων	28
1.2.2 Πήξη-Θρόμβωση	29
1.2.3 Αντιπηκτικοί μηχανισμοί.....	30
1.2.4 Το σύστημα της ινωδόλυσης	31
1.2.5 Σύστημα ινωδόλυσης και νοσήματα.....	34
1.2.6 Διατροφή και ινωδόλυση	40
2. ΣΚΟΠΟΣ	46
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	47
3.1 Πληθυσμός της μελέτης	47
3.2 Σχεδιασμός της μελέτης	48
3.3 Εξεταζόμενες παράμετροι	49

3.3.1 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά	49
3.3.2 Κοινωνικοδημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά και συνήθειες τρόπου ζωής	49
3.3.3 Αξιολόγηση προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή	50
3.3.4 Αξιολόγηση Φυσικής Δραστηριότητας	50
3.3.5 Αιματολογικές αναλύσεις	51
3.3.6 Δείκτες ινωδόλυσης	51
3.3.7 Αξιολόγηση ελαστογραφίας (Fibroscan)	54
3.4 Στατιστική ανάλυση	54
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	56
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	70
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	72

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Τα τελευταία χρόνια, η Μεσογειακή διαίτα διερευνάται ως τρόπος διαχείρισης της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος, στο πλαίσιο της τροποποίησης του τρόπου ζωής. Παράλληλα, εξετάζονται παράγοντες, όπως οι δείκτες ινωδόλυσης, που πιθανώς εμπλέκονται στην εξέλιξη της νόσου και τη συσχέτισή της με χρόνια νοσήματα.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η αξιολόγηση κλινικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένων δεικτών ινωδόλυσης, σε ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος έπειτα από εξαμήνη παρέμβαση τροποποίησης του τρόπου ζωής.

Μεθοδολογία: Σχεδιάστηκε μία μονά-τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη κλινική δοκιμή διάρκειας 6 μηνών, κατά την οποία 63 υπέρβαροι ή παχύσαρκοι ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος, διαγνωσμένη μέσω υπερήχου, τυχαιοποιήθηκαν σε τρεις ομάδες, την ομάδα ελέγχου (OE), την ομάδα Μεσογειακής διαίτας (ΜΔ) και την ομάδα Μεσογειακού τρόπου ζωής (MTZ). Οι ομάδες παρέμβασης έλαβαν, μέσω ενός εντατικοποιημένου προγράμματος παρέμβασης 7 συνεδριών, κατευθύνσεις για αύξηση της προσκόλλησης στη ΜΔ, παράλληλα με απώλεια σωματικού βάρους, ενώ η ομάδα MTZ έλαβε επιπλέον οδηγίες για αύξηση της φυσικής δραστηριότητας και βελτίωσης του ύπνου. Η OE έλαβε ένα υπόδειγμα διαιτολογίου κατά την ένταξη στη μελέτη και γραπτές οδηγίες για έναν ισορροπημένο τρόπο ζωής. Στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης οι εθελοντές αξιολογήθηκαν ως προς κοινωνικοοικονομικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, πραγματοποιήθηκε διατροφική αξιολόγηση και εκτίμηση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή διαίτα, μέσω του δείκτη MedDietScore, αξιολόγηση της ηπατικής ακαμψίας και προσδιορισμός βιοχημικών δεικτών, συμπεριλαμβανομένων και δεικτών ινωδόλυσης και συγκεκριμένα της δραστηριότητας του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Plasminogen Activator Inhibitor-1, PAI-1) και του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Tissue Plasminogen Activator, tPA).

Αποτελέσματα: Με το πέρας της εξαμήνης παρέμβασης, οι ασθενείς των ομάδων ΜΔ και MTZ αύξησαν σημαντικά την προσκόλληση στη ΜΔ ($p<0,001$) και μείωσαν το σωματικό τους βάρος ($p=0,01$) συγκριτικά με την OE, στην οποία φάνηκε μικρή απώλεια βάρους ($\sim 2\%$). Οι ομάδες παρέμβασης δε διέφεραν σημαντικά ως προς αυτούς τους παράγοντες [Προσαρμοσμένη διαφορά: 1,66, (95% Διάστημα Εμπιστοσύνης-ΔΕ: -1,28, 4,61) και -0.85, (95% ΔΕ: -0,45, 1,6), αντίστοιχα]. Επιπλέον, στις ομάδες παρέμβασης συγκριτικά με την OE παρατηρήθηκε βελτίωση της ηπατικής ακαμψίας ($p=0.002$) μετά από διόρθωση για την απώλεια βάρους, ενώ μείωση του ΔΜΣ και βελτίωση παραμέτρων του λιπιδαιμικού προφίλ φάνηκαν μόνο στην ομάδα ΜΔ συγκριτικά με την

OE ($p < 0,05$), χωρίς σημαντικές διαφορές σε σχέση με την ομάδα MTZ. Όσον αφορά τους δείκτες ινωδόλυσης, δεν φάνηκε να υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων στις δραστηριότητες των PAI, tPA, καθώς και στον λόγο αυτών ($p > 0,05$).

Συμπεράσματα: Εξάμηνη παρέμβαση με στόχο την αύξηση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή δίαιτα είτε στον Μεσογειακό τρόπο ζωής, παράλληλα με απώλεια σωματικού βάρους, φάνηκε να βελτιώνει σημαντικά την ηπατική ακαμψία ασθενών με NAFLD. Ωστόσο, δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές στους δείκτες ινωδόλυσης PAI και tPA μεταξύ των ομάδων στο τέλος της παρέμβασης.

Λέξεις-Κλειδιά

Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, Μεσογειακή δίαιτα, Μεσογειακός τρόπος ζωής, Ινωδόλυση, PAI-1, tPA.

ABSTRACT

Introduction: Currently, the possible role of the Mediterranean diet in the management of non-alcoholic fatty liver disease is being investigated. Meanwhile, research data shows that fibrinolytic factors are possibly being involved in the disease progression and its association with other chronic diseases.

Purpose: The aim of this thesis was the evaluation of clinical and biochemical markers, including fibrinolytic factors, in patients with non-alcoholic fatty liver disease after an intervention based on lifestyle changes.

Methodology: A 6 month single blind randomized controlled clinical trial was designed, in which 63 overweight or obese patients, with ultrasonography proven non-alcoholic fatty liver disease, were randomly assigned to three groups, a control group (CG), a Mediterranean diet group (MDG) and a Mediterranean lifestyle group (MLG). Participants of intervention groups attended 7 intensive sessions, aiming at increasing adherence to the MD, as well as at weight loss, while the MLG received additional guidance for increasing physical activity and improving sleep habits. Participants of the CG received an indicative diet regimen while entering the study and written recommendations for a healthy lifestyle. Both at baseline and at the end of the intervention, anthropometric data, socioeconomic data and liver stiffness were assessed, and biochemical markers were measured, including fibrinolytic factors and specifically Plasminogen Activator

Inhibitor-1 (PAI-1) and Tissue Plasminogen Activator (tPA) activities. Level of adherence to the MD was assessed by MedDietScore.

Results: At the end of the six months intervention, patients of MDG and MLG increased adherence to the MD ($p<0,001$) and showed a greater weight loss compared to CG ($p=0,01$), which showed less weight loss ($\sim 2\%$). The difference between intervention groups was not statistically significant [Adjusted difference: 1,66, (95% Confidence Interval-CI: -1.28, 4.61) and -0.85, (95% CI:-0.45, 1.6), respectively]. Moreover, intervention groups showed an improvement in liver stiffness compared to CG ($p<0,05$), after weight loss adjustment, while only MDG showed statistically significant improvement in lipid profile compared to CG ($p<0,05$), although the difference compared to MLG was not significant. Regarding PAI-1 and tPA activities, no differences between the three groups ($p>0,05$) were observed at the end of the intervention.

Conclusion: A six month intervention, aiming at weight loss, along with increasing the adherence either to the MD or the Mediterranean lifestyle, showed a significant improvement in liver stiffness of patients with non-alcoholic fatty liver disease. However, no significant differences between groups, with regard to PAI-1 and tPA activities were observed.

Key words

Non-alcoholic fatty liver disease, Mediterranean diet, Mediterranean Lifestyle, Fibrinolysis, PAI-1, tPA

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Θεωρία πολλαπλών χτυπημάτων.....	21
Εικόνα 2: Ενδογενής και εξωγενής οδός πήξης... ..	29
Εικόνα 3: Σύστημα ινωδόλυσης.....	31
Εικόνα 4: Σύστημα ινωδόλυσης με τα αντιγόνα.....	33
Εικόνα 5: Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί συσχέτισης της NAFLD με τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και κίρρωσης του ήπατος.....	39

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 3.1: Προετοιμασία μίγματος της αντίδρασης.....σελ 51	σελ 51
Πίνακας 3.2: Διαδικασία προετοιμασίας του plate της αντίδρασης.....σελ 51	σελ 51
Πίνακας 3.3: Διαδικασία προετοιμασίας των plates των αραιώσεων και της αντίδρασης....σελ 53	σελ 53
Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης.....σελ 55-56	σελ 55-56
Πίνακας 4.2: Βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης...σελ 57-58	σελ 57-58
Πίνακας 4.3: Χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης.....σελ 59	σελ 59
Πίνακας 4.4: Κατανάλωση τροφίμων στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης.....σελ 60-62	σελ 60-62
Πίνακας 4.5: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης.....σελ 64	σελ 64
Πίνακας 4.6: Κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης.....σελ 65-67	σελ 65-67
Πίνακας 4.7: Δείκτες ινωδόλυσης των εθελοντών πριν και μετά το πέρας της παρέμβασης.....σελ 68	σελ 68

ΓΔ	Glycemic index	Γλυκαιμικός δείκτης
ΓΦ	Glycemic load	Γλυκαιμικό φορτίο
γ-GT	Gamma-Glutamyl Transferase	γ-γλουταρυλο-τρανσπεπτιδάση
ΔΜΣ	Body Mass Index	Δείκτης μάζας σώματος
ΗΚΚ	Hepatocellular carcinoma	Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα
ΜΔ	Mediterranean diet	Μεσογειακή Διατροφή
ΜΤΖ	Mediterranean lifestyle	Μεσογειακός τρόπος ζωής
ΜΣ	Metabolic syndrome	Μεταβολικό Σύνδρομο
ΣΔτ2	Diabetes Mellitus type 2	Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2
AASLD	American Association for the Study of Liver Disease	Αμερικανική εταιρεία μελέτης νοσημάτων του ήπατος
ADP	Adenosine diphosphate	Διφωσφορική αδενοσίνη
ALT	Alanine aminotransferase	Αμινοτρανσφεράση της αλανίνης
ANCOVA	Analysis of Covariance	Ανάλυση συνδιακύμανσης
AST	Aspartate aminotranferase	Αμινοτρανσφεράση του ασπαραγινικού οξέος
CRP	C Reactive Protein	C αντιδρώσα πρωτεΐνη
DNL	De novo lipogenesis	De novo λιπογένεση
EASL	European Association for the Study of the Liver	Ευρωπαϊκή εταιρεία μελέτης του ήπατος
ECM	Extracellular Matrix	Εξωκυττάρια θεμέλια ουσία
FFA	Free Fatty Acids	Ελεύθερα λιπαρά οξέα
FFQ	Food Frequency Questionnaire	Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων
H-MRS	Proton magnetic resonance Spectroscopy	Μαγνητική φασματοσκοπία συντονισμού πρωτονίων
IL-6	Interleukine-6	Ιντερλευκίνη-6
IL-1B	Interleukine-1B	Ιντερλευκίνη 1B
IRAS	Insulin Resistance Atherosclerosis Study	Μελέτη ινσουλινοαντίστασης και αθηροσκλήρωσης
LDL	Low Density Lipoprotein	Πρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
MedDietScore	Mediterranean Diet Score	Δείκτης υιοθέτησης της μεσογειακής δίαιτας

MMP	Matrix metalloproteinase	Μεταλλοπρωτεϊνάση εξωκυττάριας ουσίας
MTP	Microsomal triglyceride transfer protein	Μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς των τριακυλογλυκερολών
MUFA	Monounsaturated Fatty Acids	Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα
NAFLD	Non Alcoholic Fatty Liver Disease	Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος
NASH	Non Alcoholic Steatohepatitis	Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα
PAF	Platelets Activating Factor	Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
PAI	Plasminogen Activator Inhibitor	Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου
ROS	Rapid Oxygen Species	Δραστικές μορφές οξυγόνου
SFA	Saturated Fatty Acids	Κορεσμένα λιπαρά οξέα
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor	Αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα
TG	Triglycerides	Τριακυλογλυκερόλες
TGF-β	Transforming Growth Factor-β	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας β
TNF-α	Tumor Necrosis Factor-α	Παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α
tPA	Tissue Plasminogen Activator	Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου
UDCA	Ursodeoxycholic acid	Ουρσοδεοξυχολικό οξύ
uPA	urokinase Plasminogen Activator	Ενεργοποιητής πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης
VLDL	Very Low Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας έχει στραφεί τόσο στην πρόληψη όσο και στην αντιμετώπιση νοσημάτων, ο επιπολασμός των οποίων φαίνεται να αυξάνεται και τα κλινικά τους αποτελέσματα απειλούν τη δημόσια υγεία. Μεταξύ αυτών, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (Non Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) έχει αποδειχθεί, πλέον, ως μια κλινικοϊστοπαθολογική οντότητα, η οποία αποτελεί τη συχνότερη αιτία ηπατικής νόσου στις Δυτικού τύπου κοινωνίες (Ratzliff et al., 2010, Masuoka and Chalasani, 2013), τη δεύτερη πιο κοινή αιτία ηπατικής μεταμόσχευσης (Wong et al., 2015), ενώ αναμένεται τα επόμενα χρόνια να αναδειχθεί σε πρωταρχική αιτία, και την πιο κοινή αιτία ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (ΗΚΚ), τόσο στις ΗΠΑ (Yu et al., 2013) όσο και στο Ηνωμένο Βασίλειο (Dyson et al., 2014).

Η πρώτη αναφορά στη NAFLD έγινε στις αρχές του 1980 από τους Ludwig και συν. (Ludwig et al., 1980). Από τότε μέχρι σήμερα έχει διεξαχθεί πλήθος μελετών, οι οποίες καταδεικνύουν τη σημασία της τόσο ως ηπατική νόσο όσο και ως νόσημα, που συσχετίζεται με την εμφάνιση άλλων παθολογικών καταστάσεων. Έτσι, αποτελεί μια ομπρέλα που περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα νοσημάτων του ήπατος και εκτείνεται από την απλή στεάτωση έως τη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα και την κίρρωση του ήπατος (Chalasani et al., 2012). Παρόλα αυτά, την τελευταία περίπου δεκαετία, υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα, σύμφωνα με τα οποία μπορεί να χαρακτηριστεί ως πολυσυστηματική νόσος (Byrne and Targher, 2015), επηρεάζοντας και άλλα όργανα εκτός του ήπατος, αφού έχει φανεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις (Miele and Targher, 2015), σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2) (Musso et al., 2011) και χρόνια νεφρική νόσο (Musso et al., 2014).

1.1.1 Ορισμός και Φυσική Εξέλιξη

Η λιπώδης διήθηση του ήπατος, ως όρος, μπορεί να διακριθεί σε δύο κατηγορίες βάσει της αιτιολογίας της, στην πρωτοπαθή και δευτεροπαθή. Στην πρώτη, η συσσώρευση λίπους στο ήπαρ ή όπως καλείται το λιπώδες ήπαρ, φαίνεται να σχετίζεται με τις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου, δηλαδή την κοιλιακή παχυσαρκία, τη διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας, την αρτηριακή

πίεση και τη δυσλιπιδαιμία. Από την άλλη πλευρά, στη δευτεροπαθή, ενδέχεται να οδηγήσουν παράγοντες όπως η ολική παρεντερική διατροφή, η ασιτία και η χρήση φαρμακευτικής αγωγής, όπως για παράδειγμα τα κορτικοστεροειδή (Kneeman et al., 2012).

Το 2016, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος (European Association for the Study of the Liver, EASL) εξέδωσε κατευθυντήριες οδηγίες για τη διαχείριση της NAFLD, στις οποίες αναφέρεται ο ορισμός της νόσου και συγκεκριμένα ορίζεται ως «η συσσώρευση λίπους στο ήπαρ (στεάτωση), που σχετίζεται με την παρουσία ινσουλινοαντίστασης, σε ποσοστό $>5\%$ των ηπατοκυττάρων, έτσι όπως διαγιγνώσκεται ιστολογικά, ή σε ποσοστό $>5,6\%$, όπως διαγιγνώσκεται μέσω μαγνητικής φασματοσκοπίας συντονισμού πρωτονίων ($^1\text{H-MRS}$) ή ποσοτικά μέσω μαγνητικής τομογραφίας» (EASL, 2016).

Παλαιότερα, η αντίστοιχη Αμερικανική εταιρεία μελέτης του ήπατος (American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD) ανέφερε ότι για τη διάγνωση της νόσου πρέπει να υπάρχει αποδεδειγμένη, απεικονιστικά ή ιστολογικά, ηπατική στεάτωση, έχοντας αποκλείσει τη δευτεροπαθή συσχέτιση με σημαντική κατανάλωση αλκοόλ, γενετικούς παράγοντες και τη χρήση φαρμακευτικής αγωγής, που μπορούν να συμβάλλουν στη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ (Chalassani et al, 2012). Και οι δύο εταιρείες, υποστηρίζουν πως για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ της NAFLD και της αλκοολικής αιτιολογίας στεάτωση, θα πρέπει να μην καταναλώνονται >20 g αιθανόλης από τις γυναίκες (ισοδύναμο με 2 μερίδες αλκοολούχου ποτού) και >30 g από τους άνδρες (ισοδύναμο με 3 μερίδες αλκοολούχου ποτού) ανά ημέρα.

Όσον αφορά την εξέλιξη της νόσου, τα δεδομένα προέρχονται από επιδημιολογικές μελέτες, οι οποίες δείχνουν πως η νόσος θα εξελιχθεί στο 30% των ασθενών με ηπατική στεάτωση και NASH, ενώ το 20% αυτών θα εμφανίσει κίρρωση του ήπατος (Calzadilla Bertot and Adams, 2016). Οι ασθενείς με απλή στεάτωση εμφανίζουν χαμηλό ρυθμό εξέλιξης της νόσου, με πρόσφατη μετα-ανάλυση 11 προοπτικών μελετών να καταλήγει σε μέση εξέλιξη ενός σταδίου στα 14 χρόνια για τους ασθενείς με ηπατική στεάτωση και στα 7 χρόνια για τους ασθενείς με NASH (Singh et al., 2015). Ωστόσο, ο ρυθμός εξέλιξης είναι διπλάσιος στους ασθενείς με NASH, ενώ μπορεί να υπάρξουν άτομα, στα οποία η νόσος θα εξελιχθεί ταχύτατα, από την απουσία ίνωσης σε προχωρημένη ίνωση, περίπου σε διάστημα έξι χρόνων (McPherson et al., 2015). Επιπλέον, οι ασθενείς με NAFLD φαίνεται να έχουν αυξημένο κίνδυνο για ΗΚΚ, ωστόσο πιθανώς περιορίζεται σε άτομα με προχωρημένη ίνωση και κίρρωση (Yasui et al., 2011).

1.1.2 Επιδημιολογία

Τα δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό και την επίπτωση της νόσου είναι δύσκολο να εκτιμηθούν, καθώς στις υπάρχουσες μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικά διαγνωστικά εργαλεία, με διαφορετική διαγνωστική αξία το καθένα, και επιπλέον αρκετοί ασθενείς παραμένουν ασυμπτωματικοί. Πρόσφατη μετα-ανάλυση 86 μελετών, που συμπεριέλαβε δείγμα 8.515.431 ατόμων από 22 χώρες παγκοσμίως, εκτίμησε τον επιπολασμό της νόσου στο 25% παγκοσμίως, με τα μεγαλύτερα ποσοστά να εμφανίζονται στους πληθυσμούς της Νότιας Αμερικής (31%) και της Μέσης Ανατολής (32%), ενώ τα χαμηλότερα ποσοστά εκτιμήθηκαν στην Αφρική (14%) (Younossi et al., 2012). Από την ίδια μελέτη, το ποσοστό της νόσου στην Ευρώπη φάνηκε να ανέρχεται στο 24%.

Όπως προαναφέρθηκε, η NAFLD αποτελεί τη συχνότερη αιτία ηπατικής νόσου στις Δυτικού τύπου κοινωνίες, με τον επιπολασμό της νόσου σύμφωνα με την EASL να κυμαίνεται μεταξύ 17-46%, με την διακύμανση να ερμηνεύεται βάσει του φύλου, της ηλικίας και της εθνικότητας του πληθυσμού που μελετάται. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός, πως τα ποσοστά αυξάνονται, παράλληλα με την αύξηση των ποσοστών της παχυσαρκίας και του ΣΔτ2, όπως φάνηκε και στην προαναφερθείσα μελέτη των Younossi και συν. (2012), στην οποία κατέδειξαν μια αύξηση του επιπολασμού της νόσου, από το 15% το 2005 στο 25% το 2010. Οι ίδιοι ερευνητές, έδειξαν ότι ποσοστό της τάξης του 51% των ασθενών με NAFLD και το 82% των ασθενών με NASH είναι παχύσαρκοι. Επιπλέον, όσον αφορά την παρουσία NAFLD σε ασθενείς με ΣΔτ2, το ποσοστό φαίνεται να φτάνει το 70% (Blachier et al., 2013).

Η νόσος φαίνεται, πως είναι παρούσα σε ένα ποσοστό της τάξης του 7% σε άτομα φυσιολογικού βάρους και νεαρής ηλικίας (Younossi et al, 2012), οι οποίοι παρουσιάζονται με φυσιολογικές τιμές ηπατικών ενζύμων, εμφανίζοντας, ωστόσο, αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σοβαρής ηπατικής νόσου και εξωηπατικών εκδηλώσεων (Fracanzani et al., 2008).

1.1.3 Παράγοντες κινδύνου

1.1.3.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες

Ηλικία-Φύλο

Ο επιπολασμός της NAFLD έχει φανεί σημαντικά πιο αυξημένος στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, καθώς το ποσοστό από το 20% σε νεαρά άτομα φαίνεται να ξεπερνάει το 40% στα άτομα άνω των 60 ετών (Brea and Puzo, 2013). Επιπλέον, η επίπτωση της NASH καθώς και της κίρρωσης

αυξάνονται στους ασθενείς άνω των 50 ετών συγκριτικά με τα πιο νεαρά άτομα (Sayiner et al., 2016). Όσον αφορά το φύλο, πρόσφατη ανασκόπηση επιδημιολογικών δεδομένων έδειξε, πως η NAFLD είναι περισσότερο συχνή στους άνδρες, με τα μεγαλύτερα ποσοστά να εμφανίζονται μέχρι τα 50-60 έτη, ακολουθούμενα από μια μείωση ύστερα από την ηλικία αυτή. Αντίθετα, όσον αφορά το γυναικείο φύλο, η νόσος είναι πιο διαδεδομένη στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, με αύξηση της επίπτωσης μετά την ηλικία των 50 ετών και την πλειονότητα των μελετών να καταδεικνύουν σοβαρότερη ιστολογία της NASH σε σύγκριση με τους άνδρες (Lonardo et al., 2015).

Εθνικότητα

Ο επιπολασμός της νόσου φαίνεται αυξημένος στους Ισπανόφωνους πληθυσμούς σε σχέση με τους Αφροαμερικανούς και τους Λευκούς και επιπλέον παρουσιάζουν μεγαλύτερη επίπτωση της NASH και της κίρρωσης (Kalia and Gaglio, 2016, Satapathy and Sanyal, 2015), αναδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο του γενετικού υποβάθρου.

Γενετικοί παράγοντες

Αρκετές μελέτες αναδεικνύουν μια σειρά γονιδίων, τα οποία φαίνεται να εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την εξέλιξη της NAFLD. Η μελέτη των Romeo και συν. (2008) κατέδειξε τη σχέση ενδοηπατικής συσσώρευσης τριακυλογλυκερολών και του γονιδίου PNPLA3 (Patatin-like phospholipase domain containing 3) και συγκεκριμένα του αλληλίου I148M, οι πολυμορφισμοί του οποίου, όπως φάνηκε μετέπειτα, οδηγούν στη σύνθεση πρωτεΐνης με μειωμένη λιπολυτική δράση, με αποτέλεσμα την ενδοηπατική στεάτωση (Vernon et al., 2011). Επιπροσθέτως, πρόσφατα, το γονίδιο TM6SF2 (Transmembrane 6 superfamily member 2), φάνηκε να συσχετίζεται αρνητικά με την έκκριση των ενδοηπατικών τριακυλογλυκερολών (Kozlitina et al., 2014), αυξάνοντας, παράλληλα, τον κίνδυνο για ηπατική στεάτωση (Sookoian et al., 2015) και ίνωση (Dongiovanni et al., 2015). Τέλος, πολυμορφισμοί των γονιδίων GCKR και PPP1R3B έχει φανεί πως συσχετίζονται θετικά με την ηπατική στεάτωση, διαγνωσμένη μέσω υπερήχου (Hernaez et al., 2013).

1.1.3.2 Κλινικοί παράγοντες

Παχυσαρκία

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ένα σημαντικό ποσοστό ατόμων με NAFLD και NASH εμφανίζουν παχυσαρκία (Younossi et al., 2016). Πρόσφατη μετα-ανάλυση από τους Pang και συν. (2015) κατέδειξε πως η κεντρικού τύπου παχυσαρκία και συγκεκριμένα η μέτρηση της περιφέρειας

μέσης, του λόγου περιφέρειας μέσης προς περιφέρειες ισχίων καθώς και ο ΔΜΣ, συσχετίζονται ανεξάρτητα με την εμφάνιση της NAFLD. Επιπλέον, μετα-ανάλυση 21 προοπτικών μελετών από τους Li και συν. (2016), κατέληξε πως οι παχύσαρκοι έχουν 3,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD σε σχέση με άτομα φυσιολογικού βάρους, και βρήκε μια δόσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) και του κινδύνου για NAFLD, αναδεικνύοντάς τη ως ανεξάρτητο παράγοντα ανάπτυξης της νόσου.

Μεταβολικό σύνδρομο, δυσλιπιδαιμία

Η NAFLD έχει χαρακτηριστεί ως η ηπατική εκδήλωση του Μεταβολικού συνδρόμου (ΜΣ) (Marchesini et al., 2001) και πράγματι υπολογίζεται πως σχεδόν το 90% των ασθενών παρουσιάζει τουλάχιστον ένα από τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου, ενώ το 33% εμφανίζει όλους τους παράγοντες. Επιπλέον, παρατηρείται πως τα άτομα με ΜΣ παρουσιάζουν σημαντικά πιο αυξημένα επίπεδα ενδοηπατικού λίπους, όταν συγκρίνονται με υγιή άτομα, ανεξάρτητα από το φύλο, την ηλικία και το ΔΜΣ (Kotronen et al., 2007). Όσον αφορά τη δυσλιπιδαιμία, έχει φανεί πως το ποσοστό παρουσίας της NAFLD σε δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς φτάνει περίπου το 50% (Chalasani et al, 2012), ενώ πρόσφατη συγχρονική μελέτη κατέδειξε τη σημασία της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (Low Density Lipoprotein, LDL) στην αύξηση του κινδύνου εμφάνισης NAFLD σε άτομα που εξετάστηκαν μέσω υπερήχου (Sun et al., 2016).

Σακχαρώδης διαβήτης, αντίσταση στην ινσουλίνη

Συγκρινόμενοι με μη διαβητικά άτομα, οι ασθενείς με ΣΔτ2 παρουσιάζουν αυξημένα ποσοστά ηπατικής στεάτωσης (Lonardo et al, 2015). Επιπλέον, το 18-33% των ασθενών με NAFLD φαίνεται να πάσχει από ΣΔτ2 και παράλληλα το 66-83% ανιχνεύεται με αντίσταση στην ινσουλίνη (Browning et al., 2004, Lopez-Velazquez et al., 2014). Οι πάσχοντες από ΣΔτ2 φαίνεται, επιπλέον, να εμφανίζουν δύο με τέσσερις φορές μεγαλύτερη πιθανότητα επιπλοκών εξαιτίας της ηπατικής στεάτωσης (Sung et al., 2014).

1.1.3.3 Συμπεριφορικοί παράγοντες

Διατροφή

Η συσχέτιση μεταξύ των διατροφικών συνηθειών και της πιθανότητας εμφάνισης NAFLD έχει μελετηθεί σε επίπεδο θρεπτικών συστατικών, ομάδων τροφίμων καθώς και προτύπων διατροφής.

Όσον αφορά τα θρεπτικά συστατικά, η σχετική πληροφόρηση προέρχεται κυρίως από επιδημιολογικές μελέτες αναδρομικού σχεδιασμού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους, οι ασθενείς με NAFLD φαίνεται να καταναλώνουν μια δίαιτα αυξημένη σε λιπίδια και υδατάνθρακες (de Piano et al., 2007, Thuy et al., 2008), αυξημένη σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (Musso et al., 2003), ω-6 λιπαρά οξέα (Cortez-Pinto et al., 2006), σάκχαρα και κυρίως φρουκτόζη (Abdelmalek et al., 2010) και μειωμένη σε ω-3 λιπαρά οξέα (Allard et al., 2008) και βιταμίνες A, C και E (Musso et al., 2003, (Musso et al., 2007), χωρίς ωστόσο, να καταδεικνύεται ξεκάθαρη επιβαρυντική σχέση μεταξύ της κατανάλωσής τους και της εμφάνισης NAFLD.

Σε επίπεδο τροφίμων, τα δεδομένα προέρχονται κυρίως από συγχρονικές μελέτες. Έχει φανεί πως οι ασθενείς με NAFLD καταναλώνουν μεγαλύτερες ποσότητες τροφίμων, όπως κόκκινο κρέας (Zelber-Sagi et al., 2007), ροφήματα υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα, γλυκά (Assy et al., 2008, Katsagoni et al., 2017a) καθώς και επεξεργασμένα δημητριακά (Georgoulis et al., 2014), σε σύγκριση με υγιή άτομα. Αντίθετα, φαίνεται να καταναλώνουν μικρότερες ποσότητες ευεργετικών για τη νόσο τροφίμων, όπως ολικής άλεσης προϊόντα (Georgoulis et al., 2014), λαχανικά, φρούτα και καφέ (Birerdinc et al., 2012, Oliveira et al., 2016).

Όσον αφορά τα πρότυπα διατροφής, δεδομένα από «εκ των υστέρων» αναλύσεις έχουν καταδείξει ότι ένα πρότυπο που περιλαμβάνει υψηλή ποσότητα υδατανθράκων με τη μορφή σακχάρων συσχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα παρουσίας NAFLD (Jia et al., 2015). Αντίθετα, η προσκόλληση σε μία δίαιτα, που περιλαμβάνει φρούτα, λαχανικά και τρόφιμα υψηλής περιεκτικότητας σε διαιτητικές ίνες έχει συσχετιστεί αρνητικά με την παρουσία της νόσου (Adriano et al., 2016). Επιπλέον, η υιοθέτηση ενός προτύπου, το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, λαχανικών και ψαριών έχει συσχετιστεί με χαμηλότερα επίπεδα αντίστασης στην ινσουλίνη και ηπατικής ακαμψίας, παράλληλα βέβαια με ιδανική διάρκεια ύπνου (Katsagoni et al., 2017c). Επιπλέον, η Μεσογειακή διατροφή έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας τα τελευταία χρόνια και μελέτες έχουν δείξει πως η μεγαλύτερη προσκόλληση συσχετίζεται με μειωμένα επίπεδα αντίστασης στην ινσουλίνη (Kontogianni et al., 2014), καθώς και με μειωμένη πιθανότητα παρουσίας ΜΣ σε ασθενείς με NAFLD (Georgoulis et al., 2015).

Φυσική δραστηριότητα και ύπνος

Μεταξύ των παραγόντων που έχουν μελετηθεί για την επίδρασή τους στην πιθανότητα εμφάνισης NAFLD είναι η φυσική δραστηριότητα και οι συνήθειες ύπνου. Αρχικά, υπάρχει μικρός αριθμός μελετών, οι οποίες δείχνουν πως οι ασθενείς με NAFLD αφιερώνουν περισσότερο χρόνο σε καθιστικές δραστηριότητες (Ryu et al., 2015), ενώ από την άλλη πλευρά, συγχρονικές μελέτες

φανερώνουν χαμηλότερα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας (Perseghin et al., 2007, St George et al., 2009) και μεγαλύτερη επιρρέπεια στην κόπωση (Newton et al., 2008) σε ασθενείς με NAFLD συγκριτικά με υγιείς.

Όσον αφορά τον ύπνο, τα ερευνητικά δεδομένα είναι περιορισμένα και παρουσιάζονται αντιφατικά, καθώς υπάρχουν επιδημιολογικές μελέτες που συσχετίζουν τη μικρή διάρκεια ύπνου με την πιθανότητα παρουσίας της NAFLD (Kim et al., 2013), ενώ υπάρχουν και δεδομένα που δεν επιβεβαιώνουν την σχέση αυτή στα δύο φύλα (Hsieh et al., 2011, Imaizumi et al., 2015). Επιπλέον, πρόσφατη μετα-ανάλυση επιδημιολογικών μελετών κατέδειξε πως η διάρκεια του ύπνου δεν φάνηκε να επηρεάζει την πιθανότητα παρουσίας NAFLD (Shen et al., 2016).

1.1.4 Κλινική εικόνα-συμπτώματα

Οι περισσότεροι ασθενείς με NAFLD παρουσιάζονται χωρίς συμπτώματα, ωστόσο υπάρχουν άτομα που παραπονιούνται για πόνο στο άνω δεξί τεταρτημόριο, δυσπεψία και κόπωση. Ήδη από την αρχή της νόσου, μπορεί να εμφανιστεί ηπατομεγαλία κατά τη φυσική εξέταση (Torres and Harrison, 2013). Οι ασθενείς με προχωρημένη ίνωση ενδέχεται να παρουσιάσουν με κλινικές εκδηλώσεις της κίρρωσης, που περιλαμβάνουν σπληνομεγαλία, θρομβοπενία, ασκίτη και ίκτερο (Rinella, 2015). Επιπλέον, οι ασθενείς συχνά παρουσιάζονται με διάγνωση παχυσαρκίας ή/και ΣΔτ2, προδιαβήτη, υπέρταση και δυσλιπιδαιμία (Milic et al., 2014, Rinella, 2015).

1.1.5. Διάγνωση

Οι περισσότερες περιπτώσεις ασθενών με NAFLD ανευρίσκονται τυχαία κατά την αξιολόγηση των ηπατικών δεικτών στις βιοχημικές εξετάσεις, καθώς και κατά τη διάρκεια υπερήχων, οι οποίοι πραγματοποιούνται συνήθως για άλλους λόγους. Στους ασθενείς αυτούς, παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων και συγκεκριμένα των αμινοτρανσφερασών (τρανσαμινάση της αλανίνης, ALT και τρανασμινάση του ασπαραγινικού οξέος, AST), εύρημα, το οποίο αποτελεί συχνά το μόνο κλινικό σύμπτωμά τους. Η ALT εμφανίζεται, συνήθως, ελαφρώς πιο αυξημένη σε σχέση με την AST (Dowman et al., 2011) και ο λόγος AST/ALT υπολογίζεται μικρότερος της μονάδας (Rinella et al, 2015), σε αντίθεση με την λιπώδη διήθηση αλκοολικής αιτιολογίας, στην οποία εμφανίζεται λόγος AST/ALT > 1,5 (Sattar et al., 2014).

Η NAFLD μπορεί να διαγνωσθεί μέσω μη παρεμβατικών μεθόδων, όπως είναι ο υπέρηχος, η αξονική τομογραφία και η μαγνητική τομογραφία. Στις μεθόδους αυτές μπορεί να απεικονιστεί η

συσσώρευση του λίπους στο ήπαρ (Tuyama and Chang, 2012). Ωστόσο, η μέθοδος, η οποία θεωρείται μέθοδος αναφοράς για τη διάγνωση της νόσου είναι η βιοψία ήπατος (Chalasani et al, 2012). Η βιοψία δίνει τη δυνατότητα διαφορικής διάγνωσης μεταξύ της απλής στεάτωσης και της NASH, καθώς μπορεί να διακρίνει τα στάδια και το βαθμό της ηπατικής ίνωσης. Ωστόσο, χαρακτηρίζεται ως επεμβατική μέθοδος, παρουσιάζει, συνεπώς, κίνδυνο επιπλοκών, συμπεριλαμβανομένου του πόνου και της αιμορραγίας (Bedossa, 2016, Chalasani et al., 2012).

Τα τελευταία χρόνια καταβάλλονται προσπάθειες για την εύρεση μη επεμβατικών μεθόδων αξιολόγησης της ηπατικής ίνωσης. Υπάρχουν διάφορες μη επεμβατικές μετρήσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ωστόσο δεν υπάρχουν επαρκείς επιστημονικές ενδείξεις για την επιλογή κάποιου. Οι κατευθυντήριες οδηγίες από την AASLD προτείνουν τη χρήση του NAFLD Fibrosis Score (NFS) (Chalasani et al, 2012), ενώ το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας και Φροντίδας της Μεγάλης Βρετανίας (National Institute for Health and Care Excellence, NICE) θεωρεί ως πιο οικονομικό και αποτελεσματικό το δείκτη Enhanced Liver Fibrosis (ELF) (Glen et al., 2016). Επιπλέον, υπάρχουν και άλλοι δείκτες, χωρίς, ωστόσο, να έχουν ελεγχθεί για την εγκυρότητά τους (Chalasani et al, 2012).

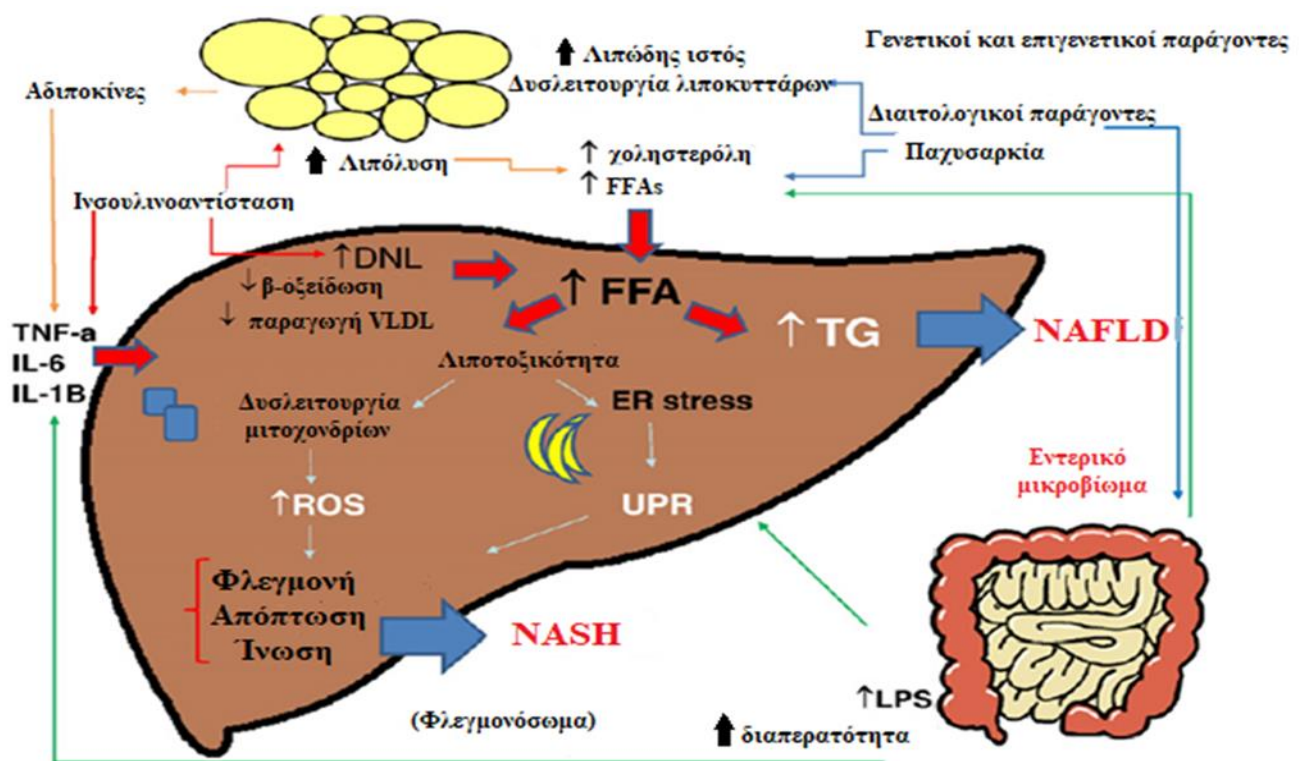
Ιδιαίτερα σημαντική και πολλά υποσχόμενη μέθοδος είναι, επιπλέον, η ελαστογραφία ήπατος, η οποία μπορεί να αξιολογήσει την ηπατική ακαμψία (Liver Stiffness). Αποτελεί ένα μη επεμβατικό εργαλείο, το οποίο έχει αποδειχθεί ότι έχει υψηλό βαθμό ακρίβειας στην πρόβλεψη της προχωρημένης ίνωσης, με 95% ευαισθησία και 90% ειδικότητα (Cassinotto et al., 2016, Chan et al., 2015), ωστόσο παρουσιάζει σφάλμα καθώς αυξάνεται ο ΔΜΣ (Ratzliff et al, 2010).

1.1.6 Παθοφυσιολογία της NAFLD

Οι υποκείμενοι μηχανισμοί που περιγράφουν την παθογένεια της NAFLD, την ανάπτυξη και την εξέλιξη της είναι πολύπλοκοι και μη πλήρως κατανοητοί. Στην προσπάθεια εντόπισής τους, έχουν προταθεί αρκετές θεωρίες, με την «υπόθεση των δύο χτυπημάτων» (Day and James, 1998) να είναι η επικρατέστερη για τουλάχιστον μια δεκαετία. Παρόλα αυτά, αποδείχθηκε ιδιαίτερα απλοποιημένη, ώστε να κατορθώσει να εξηγήσει την πολυπλοκότητα της παθογένειας της NAFLD. Στην προσπάθεια, επομένως, περαιτέρω κατανόησης των πολύπλοκων αυτών μηχανισμών προτάθηκε η θεωρία των «πολλαπλών χτυπημάτων» (**Εικόνα 1**) κατά την οποία ποικίλοι παράγοντες, οι οποίοι προέρχονται από τον λιπώδη ιστό και το έντερο, επιδρούν συνεργιστικά σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα και εμπλέκονται τελικά στην ανάπτυξη και την εξέλιξη της ασθένειας (Tilg and Moschen, 2010). Επιπλέον, οι διατροφικές συνήθειες, διάφοροι περιβαλλοντικοί καθώς και γενετικοί παράγοντες μπορούν να οδηγήσουν σε μεταβολές στο

εντερικό μικροβίωμα καθώς και στην ανάπτυξη παθολογικών καταστάσεων, που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη της αντίστασης στην ινσουλίνη, όπως ο ΣΔτ2, η παχυσαρκία, η δυσλιπιδαιμία και η υπέρταση (Buzzetti et al., 2016).

Η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί έναν από τους βασικούς παράγοντες-κλειδιά, που διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη της ηπατικής στεάτωσης και στην εξέλιξη της νόσου (Polyzos et al., 2010a, Krawczyk et al., 2010). Κατά την κατάσταση αυτή παρατηρείται αύξηση της de novo λιπογένεσης, εξαιτίας της αυξημένης παροχής γλυκόζης στο ήπαρ καθώς και αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (Free Fatty Acids, FFA), ως αποτέλεσμα της αυξημένης λιπόλυσης στον λιπώδη ιστό. Συνέπεια αυτού, παρατηρείται αυξημένη ροή FFA στο ήπαρ (Bugianesi et al., 2010). Παράλληλα, παρατηρείται αναστολή της β-οξειδωσης και διαταραχή της έκκρισης των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (Very Low Density Lipoprotein, VLDL), με τελικό αποτέλεσμα τη συσσώρευση λίπους στα ηπατοκύτταρα (Musso et al., 2010).



Εικόνα 1: Θεωρία πολλαπλών χτυπημάτων (Buzzetti et al, 2016), **DNL:** de novo λιπογένεση, **FFAs:** ελεύθερα λιπαρά οξέα, **VLDL:** λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας, **TNF-α:** Παράγοντας νέκρωσης όγκων α, **IL-1B:** Ιντερλευκίνη 1B, **IL-6:** Ιντερλευκίνη 6, **NAFLD:** Non alcoholic fatty liver disease, **NASH:** Μη Αλκοολική Στεατοηπατίδα, **ROS:** Δραστικές Μορφές Οξυγόνου, **TG:** Τριγλυκερίδια, **UPR:** Unfolded Protein Response, **LPS:** Λιποπολυσακχαρίτης

Ο συνδυασμός των ανωτέρω έχει συσχετιστεί με αυξημένη λιποτοξικότητα, εξαιτίας των υψηλών επιπέδων FFA, της ελεύθερης χοληστερόλης και άλλων λιποειδικών μεταβολιτών. Ως αποτέλεσμα, παρατηρείται διαταραχή στη λειτουργία και τη δομή των μιτοχονδρίων, παράλληλα με την εμφάνιση οξειδωτικού stress μέσω της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) και την ενεργοποίηση μηχανισμών που σχετίζονται με τη δημιουργία περιβάλλοντος stress στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Cusi, 2009).

Ο λιπώδης ιστός, η συσσώρευση FFA και η επακόλουθη λιποτοξικότητα καθώς και οι μεταβολές στο εντερικό μικροβίωμα μπορούν να οδηγήσουν στην απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Ο λιπώδης ιστός, πλέον, δεν χαρακτηρίζεται μόνο ως μια αποθήκη ενέργειας αλλά και ως ένα ενδοκρινές όργανο, από το οποίο εκκρίνεται ένας σημαντικός αριθμός κυτταροκινών, που φαίνεται να επιδρούν και να επηρεάζουν τη λειτουργία τόσο του ίδιου του λιπώδους ιστού, όσο και του ήπατος (Gregor and Hotamisligil, 2007). Από τα διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα, η πλειονότητα αναδεικνύει τον επιβαρυντικό ρόλο κυτταροκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (Tumor Necrosis Factor-α, TNF-α) και η ινερλευκίνη 6 (interleukine-6, IL-6), καθώς και τον προστατευτικό ρόλο της αδιπονεκτίνης στην ανάπτυξη και την εξέλιξη της νόσου. Δεδομένα που προέρχονται από μελέτες σε ζωικά μοντέλα καταδεικνύουν την επίδραση των κυτταροκινών σε ιστολογικές αλλαγές του ήπατος, όπως η νέκρωση και η απόπτωση των ηπατοκυττάρων, καθώς και η ενεργοποίηση αστεροειδών κυττάρων (Tomita et al., 2006), ενώ οι Crespo και συν. (2001) έδειξαν πως τα αυξημένα επίπεδα του TNF-α σε ασθενείς με NASH συσχετίστηκαν με τη βαρύτητα της ηπατικής δυσλειτουργίας. Επιπλέον, χαμηλές συγκεντρώσεις αδιπονεκτίνης και υψηλές TNF-α έχουν συσχετιστεί με αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης NAFLD και μάλιστα ανεξάρτητα της παρουσίας ινσουλινοαντίστασης (Polyzos et al., 2010b).

Όσον αφορά τις μεταβολές στο εντερικό μικροβίωμα, φαίνεται πως μπορούν συμβάλλουν με τη σειρά τους στην παραγωγή λιπαρών οξέων στο έντερο, στην αύξηση της διαπερατότητας του εντέρου και επομένως στην ύπαρξη στην κυκλοφορία αυξημένων επιπέδων μορίων που μπορούν να ενεργοποιήσουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως ο TNF-α και η IL-6 (Kirpich et al., 2015).

Οι ανωτέρω παράγοντες μπορούν να επιδράσουν σημαντικά στην περιεκτικότητα του ηπατοκυττάρου σε λίπος καθώς και στο επίπεδο φλεγμονής, ιδιαίτερα σε άτομα προδιατεθειμένα από γενετικούς παράγοντες ή επιγενετικές μεταβολές. Συνέπεια αυτών είναι η ύπαρξη μιας χρόνιας ηπατικής φλεγμονής, που πιθανώς να οδηγήσει σε ηπατοκυτταρικό θάνατο, την ενεργοποίηση των ηπατικών κυττάρων Kupffer και την εναπόθεση πλέγματος ινώδους (Buzzetti et al, 2016).

1.1.7 Αντιμετώπιση

Η υπάρχουσα βιβλιογραφία δεν αναδεικνύει κάποια συγκεκριμένη θεραπεία, συνεπώς μέχρι στιγμής, η πλέον αποδεδειγμένη στρατηγική αντιμετώπισης της νόσου είναι η τροποποίηση του τρόπου ζωής, που περιλαμβάνει σταδιακή απώλεια σωματικού βάρους και αύξηση της φυσικής δραστηριότητας. Στη φαρέτρα για την θεραπεία της, περιλαμβάνονται, επιπλέον, η χρήση φαρμακευτικής αγωγής καθώς και η βαριατρική χειρουργική. Οι ασθενείς με NASH αντιμετωπίζονται πιο επιθετικά, εξαιτίας της σοβαρότητας της νόσου, ενώ οι ασθενείς με ηπατική στεάτωση αντιμετωπίζονται με συμβουλευτική για αλλαγή του τρόπου ζωής (Marchesini et al., 2016, Chalasani et al., 2012).

1.1.7.1 Αλλαγή του τρόπου ζωής

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός, πως δεν υπάρχει εγκεκριμένη φαρμακευτική αγωγή για τη θεραπεία της νόσου, οι αλλαγές στον τρόπο ζωής, και συγκεκριμένα τη διατροφή και τη φυσική δραστηριότητα, αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο για την αντιμετώπιση της NAFLD.

Απώλεια βάρους

Ο θερμιδικός περιορισμός και κατά συνέπεια η απώλεια σωματικού βάρους, αποτελούν πρωταρχικό στόχο για τη διαχείρισή της. Αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει την αποτελεσματικότητα της απώλειας βάρους στη βελτίωση παραμέτρων της NAFLD (Promrat et al., 2010, Vilar-Gomez et al., 2015). Παλαιότερη μετα-ανάλυση από τους Musso και συν. (2012), η οποία συμπεριέλαβε τέσσερις τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές κατέληξε πως απώλεια σωματικού βάρους $\geq 5\%$ φαίνεται να βελτιώνει την ηπατική στεάτωση, ενώ μία μεγαλύτερη απώλεια $\geq 7\%$ είναι απαραίτητη για τη βελτίωση του δείκτη NAS. Οι συστάσεις της AASLD προτείνουν απώλεια 3-5% του σωματικού βάρους για τη βελτίωση της ηπατικής στεάτωσης, ενώ απαιτείται μεγαλύτερη απώλεια έως 10% του σωματικού βάρους για τη βελτίωση της φλεγμονής του ήπατος (Chalasani et al, 2012). Ωστόσο, αν και δεν υπάρχουν σαφείς συστάσεις σχετικά με το θερμιδικό έλλειμμα που απαιτείται, οι παρεμβάσεις που στοχεύουν στην απώλεια σωματικού βάρους μέσω της δίαιτας, έχουν εφαρμόσει θερμιδικό έλλειμμα της τάξης των 500-750 kcal (Hannah and Harrison, 2016). Αξίζει, επιπλέον, να αναφερθεί ότι θα πρέπει να δοθεί έμφαση στην αποφυγή απώλειας σωματικού βάρους > 2 kg ανά εβδομάδα, καθώς ενδέχεται να συνεισφέρει στην επιδείνωση της ηπατικής ιστολογίας (Rafiq and Younossi, 2008).

Σύσταση της δίαιτας

Εκτός, όμως, από το ενεργειακό έλλειμμα αυτό καθαυτό, διερευνάται και η σύσταση της δίαιτας που θα πρέπει να εφαρμόζεται για τη βελτίωση των παραμέτρων της νόσου. Ο αριθμός των σχετικών μελετών είναι περιορισμένος και έχουν χρησιμοποιήσει μικρό αριθμό εθελοντών. Αρχικά, όσον αφορά τη σύγκριση μεταξύ των παρεμβάσεων με δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες και δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια, παράλληλα με απώλεια βάρους (Haufe et al., 2011, de Luis et al., 2010), φαίνεται πως μπορούν να βελτιώσουν εξίσου την λειτουργία του ήπατος, χωρίς να υπάρχει ξεκάθαρη υπεροχή της μίας έναντι της άλλης (Hannah and Harisson, 2016). Αυτό επιβεβαιώνεται από παλαιότερη μετα-ανάλυση των Musso και συν. (2012), η οποία κατέδειξε παρόμοια αποτελέσματα μεταξύ των διαιτών αυτών στα επίπεδα ηπατικής στεάτωσης και ALT καθώς και από πρόσφατη μετα-ανάλυση, στην οποία φάνηκε πως δεν υπήρξε διαφορά στην αποτελεσματικότητα διαιτών μέτριας περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες συγκριτικά με χαμηλής ή μέτριας περιεκτικότητας σε λίπος (Katsagoni et al., 2017b). Παράλληλα, μία μικρή πιλοτική μελέτη εξέτασε την αποτελεσματικότητα κετογονικής δίαιτας (<20 g υδατανθράκες) για διάστημα 6 μηνών σε μόλις 5 ασθενείς με NAFLD και κατέδειξε βελτίωση της ηπατικής στεάτωσης, της φλεγμονής και της ίνωσης, ωστόσο οι βελτιώσεις μπορεί να οφείλονταν στην απώλεια βάρους παρά στη δίαιτα (Tendler et al., 2007). Τέλος, όσον αφορά τις πρωτεΐνες, δεν υπάρχουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα, ώστε να υπάρξει μια σαφής σύσταση (McCarthy and Rinella, 2012).

Μεσογειακή δίαιτα

Η σημασία της Μεσογειακής δίαιτας στην αντιμετώπιση της νόσου αποτελεί, τα τελευταία χρόνια, πεδίο ενδιαφέροντος, ωστόσο οι σχετικές κλινικές μελέτες είναι περιορισμένες. Στην τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική μελέτη των Ryan και συν. (2013) η αυξημένη προσκόλληση στη Μεσογειακή δίαιτα συγκριτικά με δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια για διάστημα 6 εβδομάδων, χωρίς περιορισμό των θερμίδων, φάνηκε να βελτιώνει στατιστικά σημαντικά το βαθμό ηπατικής στεάτωσης και ίνωσης καθώς και την ινσουλινοευαισθησία. Επιπλέον, πρόσφατη κλινική μελέτη των Trovato και συν. (2015) κατέδειξε πως η αύξηση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή δίαιτα για διάστημα 6 μηνών, 90 ασθενών με NAFLD διαγνωσμένη μέσω υπερήχου, μείωσε σημαντικά το ενδοηπατικό λίπος. Επιπρόσθετα, πρόσφατη μονά-τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή σε 28 υπέρβαρους/παχύσαρκους ασθενείς με NAFLD, διαγνωσμένη μέσω υπερήχου για διάστημα 6 μηνών, κατέδειξε τη σημασία της απώλειας βάρους, που μπορεί να επιτευχθεί μέσω της προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή, σε δείκτες ηπατικής λειτουργίας (Katsagoni et al., 2016).

Άσκηση

Η άσκηση φαίνεται πως είναι λιγότερο σημαντική στην προσπάθεια απώλειας σωματικού βάρους, καθώς το θερμιδικό έλλειμμα που μπορεί να επιτευχθεί μέσω αυτής είναι μικρότερο σε σχέση με το εκείνο μιας υποθερμιδικής δίαιτας (Marchesini et al, 2016). Ωστόσο, έχει φανεί πως η άσκηση μπορεί από μόνη της να συμβάλλει στη μείωση του σωματικού βάρους και της κοιλιακής παχυσαρκίας (Villanova et al., 2006) καθώς και στη βελτίωση της ινσουλινοευσαισμίας (Ross et al., 2013). Παράλληλα, δύο παλαιότερες μετα-αναλύσεις (Keating et al., 2012, Musso et al., 2012) κατέδειξαν πως η άσκηση μπορεί να βελτιώσει τα επίπεδα της ηπατικής στεάτωσης, ενώ στη μία (Musso et al, 2012) αναδείχθηκε όφελος και στα επίπεδα της ALT. Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση των Katsagoni και συν. (2017b) φάνηκε, πως η άσκηση μπορεί να βελτιώσει τα επίπεδα του ενδοηπατικού λίπους ανεξάρτητα από την απώλεια βάρους. Σχετικά με το είδος της, η αερόβια άσκηση δεν φάνηκε να οδηγεί σε μεγαλύτερη βελτίωση των ηπατικών παραμέτρων σε σχέση με την άσκηση αντιστάσεων, ενώ η συνεχής άσκηση μέτριας έντασης και μέτριας προς υψηλής διάρκειας, φάνηκε να είναι πιο ωφέλιμη σε σχέση με τη συνεχή άσκηση μέτριας έντασης και χαμηλής προς μέτριας διάρκειας ή την υψηλής έντασης διαλειμματική άσκηση. Έτσι, φαίνεται πως μπορεί να αποτελέσει σύμμαχο στη διαχείριση των ασθενών με NAFLD, οι οποίοι δεν μπορούν να υιοθετήσουν τις διαιτητικές αλλαγές που τους προτείνονται.

Συνδυασμός δίαιτας και άσκηση

Όπως προαναφέρθηκε, ο ακρογωνιαίος λίθος στη διαχείριση της NAFLD είναι μια πιο ολοκληρωμένη προσέγγιση, η οποία συνδυάζει δίαιτα και άσκηση με στόχο την επίτευξη της απώλειας σωματικού βάρους. Παλαιότερη μετα-ανάλυση από τους Wu και συν. (2009) κατέδειξε πως οι παρεμβάσεις συνδυασμού δίαιτας και άσκησης σε υπέρβαρα/παχύσαρκα άτομα, μπορούν να αποδειχθούν περισσότερο αποτελεσματικές στην διατήρηση της απώλειας βάρους σε σχέση με παρεμβάσεις που περιλαμβάνουν δίαιτα μεμονωμένα, ενώ παράλληλα πρόσφατη μετα-ανάλυση κατέδειξε βελτίωση του βαθμού ενεργότητας της νόσου και μείωση των επιπέδων της ALT (Katsagoni et al., 2017b). Η υπεροχή του συνδυασμού δίαιτας και άσκησης επιβεβαιώθηκε και σε ασθενείς με NAFLD, καθώς πρόσφατη ανασκόπηση (Bradford et al., 2014), η οποία συμπεριέλαβε 14 κλινικές δοκιμές εφαρμογής δίαιτας και άσκησης, κατέληξε σε σημαντικότερη βελτίωση των καταληκτικών σημείων της νόσου συγκριτικά με τις παρεμβάσεις που εφάρμοσαν μόνο άσκηση. Συνολικά, ο συνδυασμός δίαιτας και άσκησης έχει φανεί πως μπορεί να επιτύχει σημαντική απώλεια σωματικού βάρους παράλληλα με βελτιώσεις σε ιστολογικά χαρακτηριστικά σε ασθενείς με NAFLD, όπως προκύπτει από περιορισμένο αριθμό μικρών μελετών (Eckard et al., 2013, Ueno et al., 1997, Vilar Gomez et al., 2009).

Συνολικά, αν και δεν υπάρχουν επίσημες συστάσεις, φαίνεται πως μια υποθερμιδική δίαιτα με θερμιδικό έλλειμμα της τάξης των 500-750 kcal/ημέρα σε συνδυασμό με μέτριας έντασης άσκηση τουλάχιστον 150 λεπτά/εβδομάδα, μπορεί να συμβάλλει στην απώλεια σωματικού βάρους και βελτίωση των χαρακτηριστικών της NASH (Hannah and Harisson, 2016).

1.1.7.2 Συμπληρώματα διατροφής

Τα επιστημονικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση συμπληρωμάτων διατροφής στην αντιμετώπιση της νόσου είναι ανεπαρκή για την πλειονότητα των συστατικών. Ένα από τα καλά μελετημένα συστατικά είναι η βιταμίνη E, ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό, το οποίο έχει φανεί πως μπορεί να βελτιώσει την ηπατική στεάτωση, να μειώσει την ηπατική φλεγμονή και τις διαδικασίες ηπατοκυτταρικού τραύματος και να βελτιώσει τις συγκεντρώσεις αμινοτρανσφερασών (Benedict and Zhang, 2017). Παράλληλα, τα δεδομένα σχετικά με την επίδρασή της στην ηπατική ίνωση είναι ασαφή, καθώς η μετα-ανάλυση των Sato και συν. (2015) κατέδειξε βελτίωση της ίνωσης ενώ η μετα-ανάλυση των Singh και συν. (2015) δεν επιβεβαίωσε το παραπάνω εύρημα. Σχετικά με τη βιταμίνη E, η AASLD προτείνει τη χορήγηση 800 IU/ημέρα ως θεραπεία πρώτης γραμμής για την αντιμετώπιση μη διαβητικών ασθενών με αποδεδειγμένη, μέσω βιοψίας, NASH. Αντίθετα, δεν συστήνεται σε διαβητικούς ασθενείς, σε ασθενείς με NAFLD χωρίς διενεργούμενη βιοψία ήπατος και NASH με κίρρωση, εξαιτίας της έλλειψης σχετικών δεδομένων (Chalasani et al, 2012).

Παράλληλα, τα ω-3 λιπαρά οξέα έχουν εξεταστεί ως τρόπος διαχείρισης της NAFLD, εξαιτίας της μείωσης της ηπατικής λιπογένεσης, της ρύθμισης του μεταβολισμού των τριακυλυκερολών και της αντιφλεγμονώδους δράσης τους (Calder, 2018, Scorletti and Byrne, 2013). Παλαιότερη ανασκόπηση κατέδειξε ορισμένες ενδείξεις σχετικά με τη χρήση τους, υποστηρίζοντας, ωστόσο, την ύπαρξη μελετών μικρού δείγματος και μεθοδολογικών προβλημάτων (Masterton et al., 2010). Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει σαφής σύσταση για τη χρήση τους στη διαχείριση της NAFLD, ωστόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην θεραπεία της υπερτριγλυκεριδαιμίας στους ασθενείς αυτούς (Chalasani et al, 2012).

Για τη διαχείριση της NAFLD, έχει διερευνηθεί, επίσης, το ουρσοδεοξυχολικό οξύ (Ursodeoxycholic acid, UDCA), το οποίο παρά την ύπαρξη ορισμένων ενδείξεων για τη βελτίωση της ηπατικής στεάτωσης (Ratzliff et al, 2011), παρουσιάζει ασαφή αποτελέσματα (Chalasani et al, 2012). Επίσης, τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά διερευνώνται σχετικά, με τα δεδομένα μέχρι στιγμής να είναι περιορισμένα (Buss et al., 2014).

1.1.7.3 Φαρμακευτική αγωγή-Βαριατρική χειρουργική

Όπως προαναφέρθηκε, τα μέχρι τώρα επιστημονικά δεδομένα δεν υποστηρίζουν τη χρήση κάποιας ειδικής φαρμακευτικής αγωγής για τη θεραπεία της νόσου και όσα χρησιμοποιούνται, στοχεύουν στην βελτίωση παραγόντων καρδιομεταβολικού κινδύνου. Επιπλέον, όσον αφορά τη βαριατρική χειρουργική, φαίνεται ότι μπορεί να αποτελέσει λύση για ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία (Gloy et al., 2013), αλλά και μετρίου βαθμού στην οποία έχουν φανεί θετικές επιδράσεις (Ikramuddin et al., 2013).

1.2 Αιμόσταση

Η έννοια της αιμόστασης αναφέρεται στη φυσιολογική διαδικασία ανάσχεσης της αιμορραγίας στο σημείο τραυματισμού ενός αγγείου, παράλληλα με τη διατήρηση της φυσιολογικής ροής του αίματος στην κυκλοφορία. Η απώλεια αίματος αναστέλλεται από τη δημιουργία του αιμοπεταλιακού αιμοστατικού βύσματος. Το ενδοθήλιο των αγγείων παραμένει μια αντιπηκτική επιφάνεια, η οποία προσφέρει τη δυνατότητα στο αίμα να ρέει φυσιολογικά. Κατά τη διατάραξη του ενδοθηλίου, τα υποκείμενα μόρια κολλαγόνου που βρίσκονται στο υποενδοθήλιο, εκτίθενται στα συστατικά του αίματος. Το γεγονός αυτό αποτελεί το έναυσμα για την ενεργοποίηση των δύο βασικών διαδικασιών της αιμόστασης, της πρωτογενούς αιμόστασης που αναφέρεται στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και τη δημιουργία του αιμοστατικού βύσματος και της δευτερογενούς αιμόστασης που αναφέρεται στο σχηματισμό πύργου από αδιάλυτο ινώδες (Boron W.F., 2006).

1.2.1 Συσσώρευση αιμοπεταλίων

Η ενεργοποίηση και η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο σημείο του τραύματος αποτελεί την εναρκτήρια αντίδραση της διαδικασίας της αιμόστασης. Η έκθεση των μορίων κολλαγόνου που βρίσκονται στο υποενδοθήλιο, έχει ως αποτέλεσμα την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, για την επίτευξη της οποίας απαιτείται η παρουσία του παράγοντα von Willebrand (vWF). Ο παράγοντας αυτός αποτελεί μια πρωτεΐνη, η οποία εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μεγαρυοκύτταρα. Από τη στιγμή που θα συνδεθεί με τις εκτεθειμένες ίνες κολλαγόνου, μεταβάλλει τη δομή της και με αυτόν τον τρόπο δεσμεύεται με τα αιμοπετάλια μέσω ειδικών υποδοχέων, σχηματίζοντας μια γέφυρα μεταξύ του κατεστραμμένου αγγειακού τοιχώματος και των αιμοπεταλίων (Boron W.F., 2006)).

Η δέσμευση των αιμοπεταλίων με τις ίνες κολλαγόνου καθώς και η επίδραση άλλων μορίων, που σχετίζονται με την ενεργοποίησή τους όπως η θρομβίνη, ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) και η διφωσφορική αδενοσίνη (Adenosine diphosphate, ADP) εκκινούν διαδικασίες μεταγωγής ενδοκυττάρων σημάτων, με τελικό αποτέλεσμα τη μετακίνηση του ασβεστίου, που είναι αποθηκευμένο στα ενδοκυττάρια οργανίδια των αιμοπεταλίων, στο κυτταρόπλασμα και την ενεργοποίησή τους. Στη συνέχεια, ξεκινά μια σειρά αιμοπεταλιακών αντιδράσεων, όπως η αλλαγή του σχήματός τους, η έκκριση του περιεχομένου τους και τελικά η συσσώρευσή τους.

1.2.2 Πήξη-Θρόμβωση

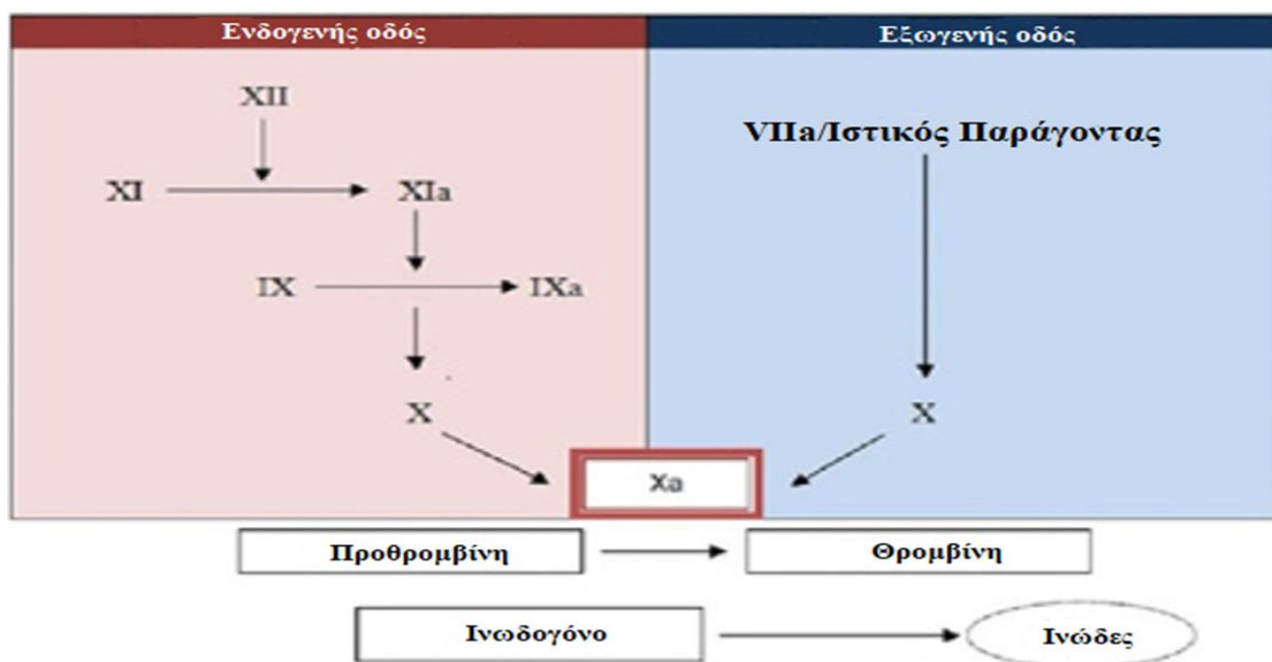
Ο δεύτερος σημαντικός αιμοστατικός μηχανισμός περιλαμβάνει την πήξη του αίματος, δηλαδή τη «μετατροπή του αίματος σε ένα συμπαγές κολλοειδές πήγμα, το οποίο αποτελείται από ένα πρωτεϊνικό πολυμερές, το ινώδες» (Boron W.F., 2006)). Ο όρος πήξη, περιγράφει την παραπάνω διαδικασία που μπορεί να συμβεί και εκτός του οργανισμού, ενώ για τη διαδικασία που πραγματοποιείται ενδοαγγειακά, χρησιμοποιείται ο όρος θρόμβωση.

Πρόκειται για μια περίπλοκη διαδικασία, που περιλαμβάνει έναν καταρράκτη αντιδράσεων, σε κάθε μία από τις οποίες ένας ανενεργός παράγοντας μετατρέπεται στην ενεργή του μορφή, δρώντας ως ένζυμο ή ως συμπαράγοντας στην αλληλουχία των αντιδράσεων. Σκοπός της είναι η παραγωγή θρομβίνης και η μετατροπή της διαλυτής πρωτεΐνης ινωδογόνου στο αδιάλυτο ινώδες, το οποίο σχηματίζει ένα πλέγμα, που ενσωματώνεται εντός και γύρω από το αιμοπεταλιακό βύσμα. Το πλέγμα αυτό χρησιμεύει για την ενίσχυση και τη σταθεροποίηση του θρόμβου. Κατά τη μελέτη της διαδικασίας, συναντάμε δύο οδούς (**Εικόνα 2**), οι οποίες συμβαίνουν διαδοχικά με κοινό τελικό σημείο τη θρομβίνη (Gale, 2011). Στην ενδογενή οδό, οι παράγοντες που εμπλέκονται, βρίσκονται στο πλάσμα και στα κύτταρα του αίματος, ενώ στην εξωγενή οδό απελευθερώνονται από τους τραυματισμένους ιστούς.

Όσον αφορά το ενδογενές σύστημα, η πρώτη πρωτεΐνη του καλείται παράγοντας XII, ο οποίος μπορεί να ενεργοποιηθεί σε παράγοντα XIIa. Ο παράγοντας XIIa καταλύει, στη συνέχεια, τη μετατροπή και ενεργοποίηση του παράγοντα XI σε XIa, ο οποίος με τη σειρά του, ενεργοποιεί τον παράγοντα IX προς IXa. Ο τελευταίος, μετατρέπει και ενεργοποιεί τον παράγοντα X προς Xa (Vander et al, 2011).

Από την άλλη πλευρά, όταν το αγγειακό σύστημα τραυματιστεί, εκτίθεται σε εξωαγγειακούς ιστούς με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού, ο πρώτος παράγοντας της οποίας

είναι μια πρωτεΐνη που καλείται ιστικός παράγοντας, ο οποίος δεσμεύει μια πρωτεΐνη του πλάσματος, τον παράγοντα VII (Kirchhofer and Nemerson, 1996) και καταλύει την ενεργοποίηση του σε παράγοντα VIIa. Το σύμπλοκο αυτό καταλύει, κατόπιν, την ενεργοποίηση του παράγοντα X σε Xa. Κοινό σημείο των δύο οδών αποτελεί η ενεργοποίηση του παράγοντα IX σε IXa, ο οποίος, όπως προαναφέρθηκε, ενεργοποιεί τον παράγοντα X προς Xa. Στη συνέχεια, ο παράγοντας Xa καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη, η οποία διασπά το ινωδογόνο σε ινώδες. Επιπλέον, η θρομβίνη συμμετέχει στην ενεργοποίηση του παράγοντα XI και των συμπαραγόντων VIII και V (Lane et al., 2005).



Εικόνα 2: Ενδογενής και εξωγενής οδός πήξης (Mingarro-de-Leon and Chaveli-Lopez, 2013)

Ιδιαίτερα σημαντικός διατροφικός παράγοντας, απαραίτητος για τη διαδικασία της πήξης είναι η βιταμίνη K, η οποία συμμετέχει στην παραγωγή της προθρομβίνης, των παραγόντων πήξης X, IX και VII καθώς και των αντιπηκτικών πρωτεϊνών C και S από το ήπαρ (Boron W.F., 2006)).

1.2.3 Αντιπηκτικοί μηχανισμοί

Από τη στιγμή που θα ενεργοποιηθεί ο μηχανισμός της πήξης, απαιτείται ο περιορισμός του στο σημείο της αγγειακής βλάβης, προκειμένου να αποφευχθεί η πήξη του αίματος σε όλο το αγγειακό σύστημα. Υπάρχουν τρεις μηχανισμοί, οι οποίοι αντιτάσσονται στη δημιουργία του θρόμβου και

με αυτόν τον τρόπο αποτρέπουν την επέκτασή του. Η ισορροπία μεταξύ του προπηκτικού και αντιπηκτικού συστήματος είναι ιδιαίτερα σημαντική για την βέλτιστη αιμόσταση και την αποφυγή παθολογικής αιμορραγίας ή θρόμβωσης (Vander et al, 2011).

Ο πρώτος περιλαμβάνει τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI), ο οποίος δεσμεύεται στο σύμπλοκο ιστικού παράγοντα-παράγοντα VIIa με αποτέλεσμα να αποτρέπει την ενεργοποίηση του παράγοντα X σε Xa. Ο δεύτερος περιλαμβάνει τη δράση της πρωτεΐνης C, η οποία ενεργοποιείται σε Ca από το σύμπλεγμα θρομβίνης-θρομβοδουλίνης (Esmon and Owen, 1981) και κατόπιν διασπά με πρωτεόλυση τους παράγοντες VIIIa και Va, με συμπαράγοντα την πρωτεΐνη S. Ο τρίτος μηχανισμός περιλαμβάνει τη δράση της αντιθρομβίνης III, η οποία αφού ενεργοποιηθεί με δέσμευσή της στην ηπαρίνη, έχει την ικανότητα να αναστέλλει τη θρομβίνη και άλλους παράγοντες πήξης.

1.2.4 Το σύστημα της ινωδόλυσης

Το ινωδολυτικό σύστημα αποτελεί τον κύριο μηχανισμό, που χρησιμοποιείται από τον οργανισμό, προκειμένου να προστατεύσει την κυκλοφορία από την ενδοαγγειακή δημιουργία ινώδους και την εκτεταμένη θρόμβωση. Η λειτουργία του είναι ανάλογη του συστήματος πήξης, καθώς είναι αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενεργοποιητών και αναστολέων, αποτελούμενο από έναν καταρράκτη ενζύμων, που δρουν με σκοπό τη διάσπαση του ινώδους (Vander et al, 2011). Η κύρια αντίδραση του συστήματος είναι η μετατροπή ενός προενζύμου, του πλασμινογόνου, στην ενεργή του μορφή, την πλασμίνη. Αφού δημιουργηθεί, η πλασμίνη προωθεί τη διάσπαση του ινώδους, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο την πρωτεολυτική διάσπαση του θρόμβου (Boron W.F., 2006)).

Το πλασμινογόνο είναι παρόν στο πλάσμα και συντίθεται κυρίως στο ήπαρ. Παρόλα αυτά, πειράματα που διεξήχθησαν σε ζωικά μοντέλα ποντικών, έδειξαν πως το mRNA του βρέθηκε σε αρκετούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των νεφρών, των όρχεων, των πνευμόνων, του σπλήνα, του εντέρου, των επινεφριδίων, του εγκεφάλου, της καρδιάς, της μήτρας και του θύμου αδένος, υποστηρίζοντας τον ιδιαίτερα σημαντικό λειτουργικό ρόλο που διαδραματίζει (Zhang et al., 2002).

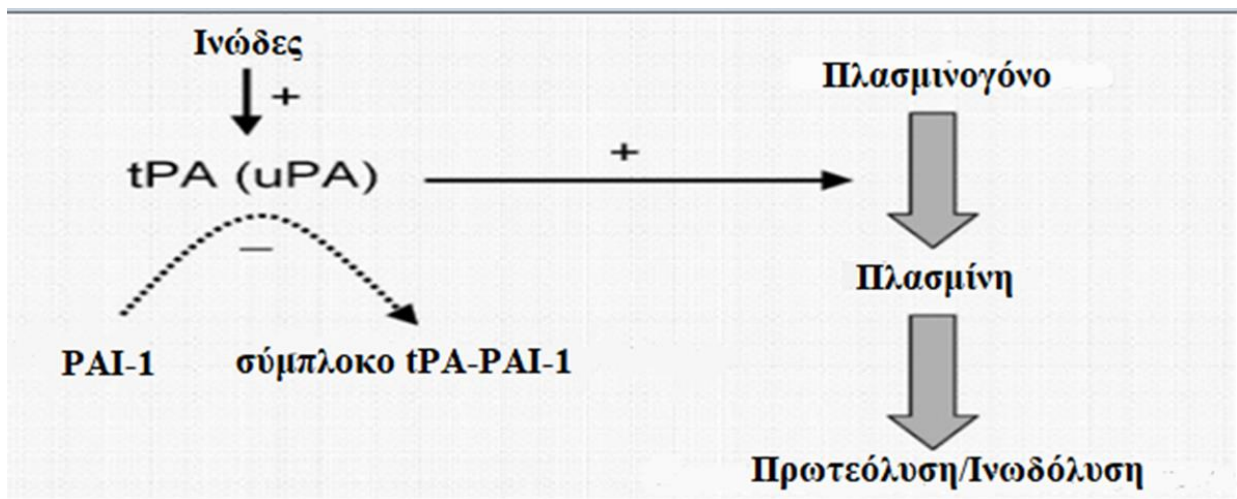
Η ενεργοποίηση και μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη διεξάγεται, όπως προαναφέρθηκε, από ειδικές πρωτεάσες, ενεργοποιητές και συγκεκριμένα μέσω δύο τύπων ενεργοποιητών, του ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (urokinase-type plasminogen activator, uPA) και του ιστικού ενεργοποιητή (tissue-type plasminogen activator, tPA) (Cesari et al., 2010). Σε αντίθεση με τον tPA, ο οποίος εμπλέκεται στο ενδοαγγειακό

ινωδολυτικό σύστημα, ο uPA ασκεί τόσο τις πρωτεολυτικές του δράσεις όσο και λειτουργίες ενδοκυτταρικής σηματοδότησης, ύστερα από τη σύνδεσή του με τον υψηλής συγγένειας υποδοχέα του, στην επιφάνεια των κυττάρων.

Πιο συγκεκριμένα, ο tPA είναι μια πρωτεάση σερίνης, η οποία αποτελείται από 530 αμινοξέα, έχει μοριακό βάρος 68kDA και η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι 3-10 ng/mL (Oliver et al., 2005). Παράγεται, κυρίως, από τα κύτταρα του ενδοθηλίου, ως απάντηση σε μια σειρά παραγόντων, όπως ο παράγοντας Χα και η θρομβίνη, ύστερα από την έναρξη δημιουργίας του θρόμβου. Κατά τη διαδικασία της θρόμβωσης, τόσο ο tPA όσο και το πλασμινογόνο δεσμεύονται στο ινώδες, γεγονός που έχει ιδιαίτερη σημασία, αφού ο tPA παρουσιάζει ασθενή ενζυμική δραστηριότητα απουσία του ινώδους. Παρουσία του, ωστόσο, αυξάνεται σημαντικά η ικανότητά του να καταλύει την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου προς πλασμίνη (Vander et al, 2011).

Όπως και η πήξη του αίματος, έτσι και το σύστημα της ινωδολύσης ελέγχεται μέσω μηχανισμών, οι οποίοι περιλαμβάνουν τον περιορισμό της δράσης του tPA στην επιφάνεια του ινώδους, καθώς και την έκκριση ενζύμων-αναστολέων της δράσης του tPA. Διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ομοιόσταση, αφού παύουν αποτελεσματικά την πιθανότητα αυξημένης αιμορραγίας, ύστερα από κάποιον τραυματισμό του αγγείου (Ghosh and Vaughan, 2012). Το γεγονός αυτό φαίνεται να τεκμηριώνεται μέσω πειραμάτων σε ζωικά μοντέλα, στα οποία η έλλειψη του καθοριστικού αναστολέα του tPA, συσχετίστηκε με αυξημένη αγγειακή ινωδολύση και αυξημένη αιμορραγία.

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Plasminogen Activator Inhibitor, PAI) αποτελεί τον κύριο αναστολέα του συστήματος της ινωδολύσης. Οι κύριοι τύποι του είναι ο τύπος 1 (PAI-1), που είχε ονομαστεί αρχικά PAI των ενδοθηλιακών κυττάρων, ο PAI-2, γνωστός και ως PAI του πλακούντα καθώς και ο τύπος 3 (PAI-3), που ομοιάζει με τον αναστολέα της πρωτεΐνης C (Cesari et al, 2010). Μεταξύ αυτών, ο ταχείας δράσης PAI-1 είναι ο σημαντικότερος αναστολέας τόσο του tPA όσο και του uPA (**Εικόνα 3**). Είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μονής αλυσίδας, που αποτελείται από 379 αμινοξέα με μοριακό βάρος 48 kDA και ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των αναστολέων σερίνης-πρωτεάσης, οι οποίοι καλούνται και σερίνες (PAI-1 ή σερίνη E1).



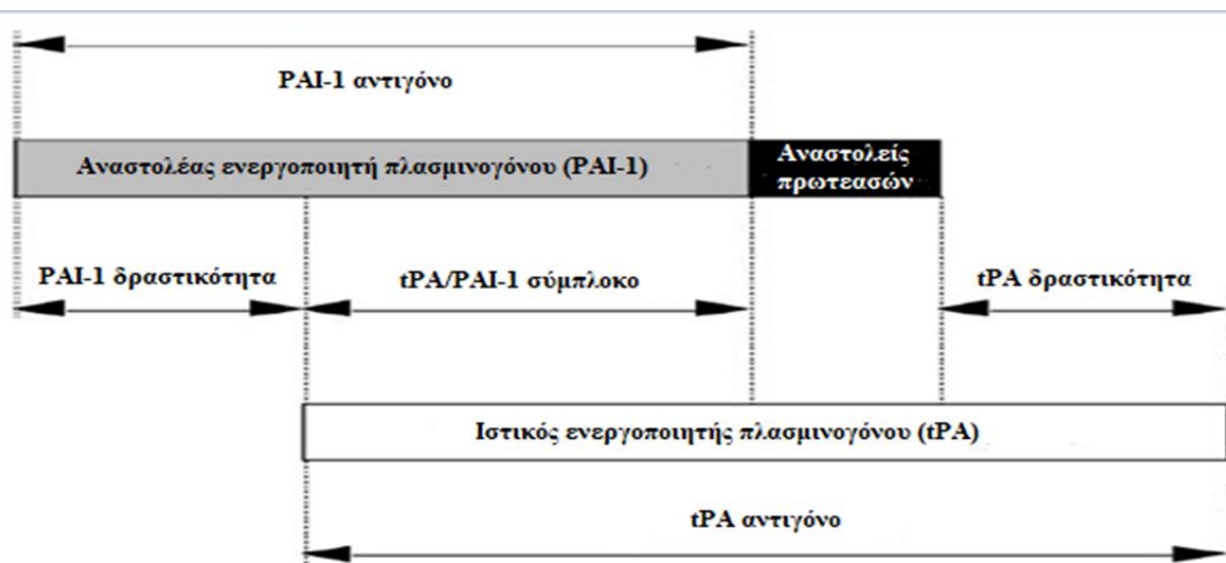
Εικόνα 3: Σύστημα ινωδόλυσης (Wanhainen et al., 2007)

Ο PAI-1 παράγεται από τα κύτταρα του ενδοθηλίου, τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα μεγαρυοκύτταρα, τα μακροφάγα, τους ινοβλάστες, τα λιποκύτταρα, το περιτόναιο, το ενδομήτριο, τα ηπατικά, τα μεσοθηλιακά και τα καρδιακά κύτταρα (Cesari et al., 2010). Αφού συντεθεί, αποθηκεύεται κυρίως στα αιμοπετάλια ή εναποτίθεται στην υποενδοθηλιακή μήτρα, ενώ μπορεί να εκκρίνεται απευθείας στη ροή του αίματος. Ύστερα από την έκκρισή του, βρίσκεται είτε στην ενεργή του μορφή, είτε παρουσιάζεται συχνότερα ως σύμπλοκο με τον tPA ή τη βιτρονεκτίνη, μια γλυκοπρωτεΐνη που έχει την ιδιότητα να σταθεροποιεί και να μετατρέπει τον PAI-1 στη δραστική του μορφή.

Ο PAI-1, υπό φυσιολογικές συνθήκες, είναι παρών στο πλάσμα σε χαμηλές συγκεντρώσεις, που κυμαίνονται μεταξύ 5-20 ng/mL. Φαίνεται πως είναι, τουλάχιστον εν μέρει, γενετικά καθοριζόμενες, καθώς μελέτες έχουν καταδείξει τη σχέση τους με τον πολυμορφισμό του υποκινητή -675 4G/5G στην αλληλουχία του DNA του PAI-1 γονιδίου στον άνθρωπο (Kohler and Grant, 2000). Επιπλέον, φαίνεται πως διαφοροποιούνται ανάλογα με τη φυλή, την εθνικότητα και το φύλο, ενώ παράλληλα η σύσταση του σώματος αλλά και η κατανομή του λιπώδους ιστού φαίνεται πως μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τα επίπεδά του (Cesari et al., 2010). Επιπρόσθετα, μελέτες έχουν καταδείξει την επίδραση κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων και ορμονών στις συγκεντρώσεις του. Έτσι, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων α (Tumor Necrosis Factor α, TNF-α) έχει φανεί πως αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της έκφρασης PAI-1 από το λιπώδη ιστό (Sawdey and Loskutoff, 1991), ενώ η C αντιδρώσα πρωτεΐνη (C Reactive Protein, CRP) έχει δείχθει πως ρυθμίζει τη σύνθεση και τη δραστηριότητά του σε ανθρώπινα κύτταρα στεφανιαίων αρτηριών (Devaraj et al., 2003). Τα γλυκοκορτικοειδή, η ινσουλίνη, η αγγειοτενσίνη II, η υποξία και οι ελεύθερες ρίζες, αποτελούν παράγοντες που μπορούν να προωθήσουν την έκφρασή του (Healy and Gelehrter, 1994, Koike et al., 1996, Seki and Gelehrter, 1996).

Ο μηχανισμός της ινωδόλυσης εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των ελεύθερων μορφών tPA και PAI-1, που εκφράζουν τη δραστικότητά τους. Η διαταραχή του συστήματος μπορεί να παρατηρηθεί στις περιπτώσεις είτε μειωμένης ενδογενούς παραγωγής tPA με φυσιολογική παραγωγή PAI-1 είτε φυσιολογικής παραγωγής tPA παράλληλα με αυξημένη παραγωγή PAI-1 είτε συνδυασμού τους, οδηγώντας σε αύξηση του συμπλόκου tPA/PAI-1 και μείωση της δραστικότητας του tPA (Nilsson et al., 1985, Wiman et al., 1985). Αντίθετα, η μείωση ή η έλλειψη της δραστικότητας του PAI-1 μπορεί να σχετίζεται είτε με μειωμένη συγκέντρωση ή έλλειψη του PAI-1 είτε σε αυξημένες συγκεντρώσεις του tPA είτε σε συνδυασμό τους.

Για τη διαφορική διάγνωση των παραπάνω περιπτώσεων χρησιμοποιούνται οι μετρήσεις των αντιγόνων του tPA και PAI-1 (**Εικόνα 4**). Ο όρος tPA αντιγόνο αναφέρεται συνολικά στον ενεργό tPA, που αντιπροσωπεύει ένα μικρό ποσοστό του και το σύμπλεγμα tPA/αναστολέων του, όπως ο PAI-1 (Lundblad et al., 2005). Στην περίπτωση, λοιπόν που αυξηθεί η συγκέντρωση του PAI-1, σχηματίζεται ταχύτατα το σύμπλοκο tPA/PAI-1, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη συγκέντρωση του tPA αντιγόνου και μειώνοντας την ινωδολυτική δραστηριότητα. Επιπλέον, έχει φανεί η ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ tPA αντιγόνου και δραστικότητας του tPA (Nilsson et al, 1989).



Εικόνα 4: Σύστημα ινωδόλυσης με τα αντιγόνα (Oliver et al, 2005)

1.2.5 Σύστημα ινωδόλυσης και νοσήματα

Η πλειονότητα των μελετών που έχουν διεξαχθεί προκειμένου να αξιολογήσουν τη σχέση παραγόντων του ινωδολυτικού συστήματος και παθολογικών καταστάσεων, έχουν δώσει έμφαση

στην αξιολόγηση των επιπέδων και της δραστικότητας του PAI-1 και σε μικρότερο βαθμό στον tPA.

Παχυσαρκία

Όπως προαναφέρθηκε, ο PAI-1 παράγεται σε σημαντικό βαθμό από τα λιποκύτταρα. Παλαιότερες μελέτες, οι οποίες διεξήχθησαν σε ανθρώπινα κύτταρα, κατέδειξαν μεγαλύτερη έκφραση και έκκριση του PAI-1, από τα λιποκύτταρα παχύσαρκων ατόμων σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ατόμων φυσιολογικού βάρους (Cigolini et al., 1996, Gottschling-Zeller et al., 2000)), και μάλιστα σε διπλάσια ποσότητα (Eriksson et al., 2000). Το αποτέλεσμα αυτό έδειξε, πως η αύξηση του λιπώδους ιστού μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά στην αύξηση των συγκεντρώσεων του PAI-1 και να διαταράξει το μηχανισμό της ινωδόλυσης. Πράγματι, τις δύο τελευταίες δεκαετίες, αρκετές κλινικές μελέτες έχουν καταδείξει την παραπάνω σχέση και συσχετίζουν τα επίπεδα του PAI-1 με δείκτες παχυσαρκίας, όπως η περιφέρεια μέσης και ο ΔΜΣ (Mertens et al., 2005, Oishi, 2009, Cesari et al., 2010).

Παράλληλα, η σχέση μεταξύ των διαφορετικών τύπων λιπώδους ιστού και της έκφρασης του PAI-1 παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η πλειονότητα των ερευνητικών δεδομένων συγκλίνει στη παραγωγή μεγαλύτερων ποσοτήτων PAI-1 από το σπλαγχνικό λιπώδη ιστό, συγκριτικά με τον υποδόριο λιπώδη ιστό. Παρόλα αυτά, υπάρχουν μελέτες που αποδεικνύουν τη σημαντικότητα του υποδόριου λιπώδους ιστού στην παραγωγή του, καθιστώντας έτσι τα δεδομένα ασαφή. Πρόσφατη ανασκόπηση από τους Barnard και συν. (2016) καταλήγει πως παράγοντες όπως το φύλο, η εθνικότητα και πιθανώς το γενετικό προφίλ συνεισφέρουν στον καθορισμό της παραγόμενης ποσότητας PAI-1 από το εκάστοτε είδος του λιπώδους ιστού.

Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί που αιτιολογούν την παραπάνω σχέση περιλαμβάνουν τη χαμηλού βαθμού φλεγμονή, που παρατηρείται στα παχύσαρκα άτομα και την παραγωγή κυτταροκινών από τον λιπώδη ιστό (Aso, 2007, Lijnen, 2009). Η παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με αύξηση των επιπέδων παραγόντων, όπως ο TNF-α και η IL-6, μέσω αύξησης της έκφρασής τους από το λιπώδη ιστό. Έχει αποδειχθεί μέσω μελετών σε ζωικά μοντέλα και ανθρώπινα λιποκύτταρα, πως οι κυτταροκίνες αυτές σχετίζονται με την έκφραση του PAI-1 (Sawdey and Loskutoff, 1991, Rega et al., 2005). Παράλληλα, υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν την σχέση μεταξύ του TNF-α και της έκφρασης του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα-β (Transforming Growth Factor-β, TGF-β), ο οποίος αποτελεί με τη σειρά του σημαντικό ρυθμιστή της βιοσύνθεσης PAI-1. Σε άτομα χαρακτηρισμένα ως σοβαρά παχύσαρκα, έχει φανεί η ύπαρξη άμεσης συσχέτισης μεταξύ PAI-1 και της έκφρασης του mRNA του TGF-β στον λιπώδη ιστό (Alessi et al., 2000).

Η σχέση μεταξύ της παχυσαρκίας και των μηχανισμών της ινωδόλυσης αναδεικνύεται και από μελέτες που εξετάζουν την επίδραση της απώλειας βάρους. Έτσι, η απώλεια σωματικού βάρους, μέσω θερμιδικού περιορισμού, φαίνεται πως σχετίζεται με μείωση των επιπέδων και της δραστηριότητας του PAI-1 (Petemel P., 1994, Brzezinska-Kolarz et al., 2014) καθώς και μείωση του συμπλόκου tPA/PAI-1 (Calles-Escandon et al., 1996), οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο στην αύξηση των επιπέδων του ελεύθερου tPA και ενίσχυση της ινωδόλυσης.

Μεταβολικό Σύνδρομο και Σακχαρώδη διαβήτης τύπου 2

Το ΜΣ έχει χαρακτηριστεί ως προθρομβωτική κατάσταση εξαιτίας της παρατηρούμενης αναστολής του ινωδολυτικού μηχανισμού (Franchini et al., 2008). Η σχέση μεταξύ του PAI-1 και του ΜΣ φαίνεται καλά εδραιωμένη και μάλιστα έχει φανεί πως αυξημένης της σοβαρότητάς του, αυξάνονται και οι συγκεντρώσεις του PAI-1 (Vague et al., 1986, Juhan-Vague et al., 2003, Bilgili et al., 2008). Παρόμοιο αποτέλεσμα, φάνηκε από τους You και συν. (2008) σε συγχρονική μελέτη, που διεξήχθη σε ηλικιωμένα άτομα με ΜΣ, καθώς φάνηκε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας ΜΣ και του αριθμού των συνιστωσών του με τις συγκεντρώσεις του PAI-1, αποτέλεσμα που βρέθηκε ανεξάρτητο από την ύπαρξη παχυσαρκίας. Επιπλέον, σε συγχρονική μελέτη των Meigs και συν. (2000) σε δείγμα περίπου 3000 εθελοντών της μελέτης Framingham, χωρίς διαγνωσμένο σακχαρώδη διαβήτη και καρδιαγγειακή νόσο, παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις του συμπλέγματος tPA/PAI-1.

Οι παρατηρούμενες αυξημένες συγκεντρώσεις του PAI-1 που χαρακτηρίζουν το ΜΣ φαίνεται ότι σχετίζονται με τις παθολογικές συνιστώσες του. Έτσι, όπως προαναφέρθηκε, η κοιλιακή παχυσαρκία και η αύξηση των κυτταροκινών συσχετίζονται με αύξηση της σύνθεσης του PAI-1. Επιπλέον, σε δείγμα της μελέτης Family Heart Study, οι Kraja και συν. (2007) παρατήρησαν πως οι συγκεντρώσεις του PAI-1 συσχετίστηκαν ισχυρά με συνιστώσες του ΜΣ, συγκεκριμένα τον ΔΜΣ, τις τριακυλογλυκερόλες και την αντίσταση στην ινσουλίνη.

Όσον αφορά το γλυκαιμικό έλεγχο, παλαιότερες συγχρονικές μελέτες έδειξαν την ύπαρξη αυξημένων συγκεντρώσεων PAI-1 σε άτομα με αντίσταση στην ινσουλίνη και διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (Festa et al., 1999, Meigs et al., 2000) καθώς και ΣΔτ2 (Al-Hamodi et al., 2011). Επίσης, στην προοπτική μελέτη Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS), φάνηκε πως οι αυξημένες συγκεντρώσεις του PAI-1 αποτέλεσαν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ΣΔτ2 σε υγιή άτομα, ύστερα από περίπου 5 χρόνια παρακολούθησης (Festa et al., 2002). Από την άλλη πλευρά, η δραστηριότητα του tPA και η ικανότητα απόκρισης των ενδοθηλιακών κυττάρων σε ερέθισμα για την παραγωγή του, φαίνεται να είναι μειωμένες στα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη (Colwell et al., 1976).

Πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση, η οποία συμπεριέλαβε 52 επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης, κατέληξε στην ύπαρξη μέτριας θετικής συσχέτισης μεταξύ των συγκεντρώσεων του PAI-1 και του κινδύνου εμφάνισης ΣΔτ2, ανεξάρτητα από σχετικούς παράγοντες κινδύνου, αναδεικνύοντας έτσι τον σημαντικό ρόλο του (Yarmolinsky et al., 2016).

Καρδιαγγειακά νοσήματα

Όντας ο κύριος αναστολέας του ινωδολυτικού συστήματος, ο PAI-1 μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων μέσω συμμετοχής στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και της θρόμβωσης (Dunn and Grant, 2005). Πράγματι, οι αυξημένες συγκεντρώσεις του φαίνεται να διαταράσσουν τη διαδικασία της διάσπασης του θρόμβου από το αγγειακό τοίχωμα μετά από τραυματισμό και έχει, επιπλέον, φανεί αυξημένη έκφρασή του σε αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις (Sobel, 1999), αν και τα σχετικά δεδομένα παραμένουν ασαφή (Diebold et al., 2008).

Οι διαταραχές στην έκφραση και στις συγκεντρώσεις του PAI-1 έχουν συσχετιστεί, όπως προαναφέρθηκε, με ένα ευρύ φάσμα καταστάσεων θρόμβωσης και καρδιομεταβολικών παραγόντων κινδύνου. Αν και υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τη θετική συσχέτιση των συγκεντρώσεων του και της πιθανότητας εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, η σχέση δεν παραμένει σημαντική, ύστερα από προσαρμογή για καρδιομεταβολικούς παράγοντες, κυρίως τις συνιστώσες του ΜΣ. Αυτό υποδηλώνει, πως πιθανώς το ΜΣ αποτελεί απαραίτητη παθολογική κατάσταση για την αύξηση των συγκεντρώσεων του σε ασθενείς με κίνδυνο για θρόμβωση (Tofler et al., 2016, Meltzer et al., 2010, Thogersen et al., 2009, Smith et al., 2005). Παρόλα αυτά, πρόσφατη μετα-ανάλυση των διαθέσιμων επιδημιολογικών μελετών από τους Song και συν. (2017), κατέληξε στην ύπαρξη θετικής συσχέτισης μεταξύ των συγκεντρώσεων του PAI-1 και της επίπτωσης στεφανιαίας νόσου, αποτέλεσμα ανεξάρτητο από εγκατεστημένους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου. Παράλληλα, μελέτες καταδεικνύουν την ύπαρξη αυξημένης δραστηριότητας του PAI-1 και μειωμένης δραστηριότητας του tPA στο πλάσμα και στα κύτταρα του ενδοθηλίου, σε ασθενείς με υπέρταση (Tjarnlund-Wolf et al., 2012).

NAFLD

Την τελευταία δεκαετία, ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν την αύξηση της πιθανότητας καρδιαγγειακής θνησιμότητας και θνητότητας σε ασθενείς με NAFLD, ανεξάρτητα από την ύπαρξη καρδιομεταβολικών παραγόντων κινδύνου (Targher et al., 2007a, Targher et al., 2010, Potze et al., 2015). Στην προσπάθεια διερεύνησης πιθανής άμεσης συσχέτισης της νόσου με την

αύξηση του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, έχουν διεξαχθεί μελέτες, οι οποίες καταδεικνύουν διαταραχές σε δείκτες αιμόστασης σε ασθενείς με NAFLD.

Αν και η πλειονότητα των μελετών, υποστηρίζει την ύπαρξη διαταραγμένων επιπέδων σε μια σειρά παραγόντων αιμόστασης, τα αποτελέσματα παραμένουν ασαφή. Το γεγονός αυτό μπορεί να ερμηνευθεί εξαιτίας των διαφορετικών χρησιμοποιούμενων μεθοδολογικών παραμέτρων. Αρχικά, πρόκειται για μελέτες αναδρομικού ή συγχρονικού σχεδιασμού, οι οποίες στην πλειονότητά τους συμπεριέλαβαν μικρό αριθμό ασθενών. Παράλληλα, χρησιμοποίησαν διαφορετικά εργαλεία για τη διάγνωση, καθώς και την αξιολόγηση του σταδίου της NAFLD. Έτσι, ορισμένες μελέτες χρησιμοποίησαν τις αυξημένες συγκεντρώσεις των ηπατικών ενζύμων, άλλες υπέρηχο ή μαγνητική τομογραφία, ενώ η βιοψία ήπατος, η μέθοδος αναφοράς, εφαρμόστηκε σε λίγες μελέτες.

Τα μέχρι στιγμής ερευνητικά δεδομένα καταδεικνύουν, στην πλειονότητά τους, διαταραγμένο μηχανισμό ινωδόλυσης με αύξηση των συγκεντρώσεων και της δραστηριότητας του PAI-1 στους ασθενείς με NAFLD, ωστόσο υπάρχουν και αντιφατικά δεδομένα. Στη συγχρονική μελέτη των Targher και συν. (2005), στην οποία εξετάστηκαν 35 άτομα με ένδειξη ηπατικής στεάτωσης μέσω υπερήχου, παρατηρήθηκε αυξημένη δραστηριότητα του PAI-1 συγκριτικά με την αντίστοιχη 65 υγιών ατόμων, ωστόσο δεν συσχετίστηκε άμεσα με τη νόσο, όταν έγινε διόρθωση με τον σπλαγγικό λιπώδη ιστό. Επιπλέον, στις συγχρονικές μελέτες των Sookoian και συν. (2010), κατά την οποία διεξήχθη βιοψία σε 113 ασθενείς με NAFLD και έγινε σύγκριση με 102 υγιείς, και των Cigolini και συν. (1996), κατά την οποία αξιολογήθηκαν 38 ασθενείς με ηπατική στεάτωση συγκριτικά με 33 υγιείς, οι αυξημένες συγκριτικά με τους υγιείς συγκέντρωση και δραστηριότητα του PAI-1, αντίστοιχα, απώλεσαν τη στατιστική σημαντικότητα, ύστερα από προσαρμογή για μεταβολικές παραμέτρους, όπως οι τριακυλογλυκερόλες του πλάσματος και οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης.

Από την άλλη πλευρά, στη μελέτη των Barbato και συν. (2009), η σχέση μεταξύ αυξημένων συγκεντρώσεων PAI-1 και NAFLD, όπως διαγνώστηκε σε 254 άνδρες ασθενείς, δείγμα της μελέτης Olivetti Heart Study, μέσω υπερήχου, παρέμεινε στατιστικά σημαντική ύστερα από προσαρμογή για μεταβολικές παραμέτρους. Στη συγχρονική μελέτη των Targher και συν. (2007b) αξιολογήθηκαν τα επίπεδα δραστηριότητας του PAI-1 σε 85 ασθενείς με NAFLD, οι οποίοι διαγνώστηκαν μέσω βιοψίας, και φάνηκε πως η νόσος σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας PAI-1, οι ασθενείς με NASH έχουν υψηλότερα επίπεδα δραστηριότητας σε σχέση με τους ασθενείς με απλή στεάτωση, και η σοβαρότητα της ιστολογίας συσχετίζεται με τη δραστηριότητά του ανεξάρτητα από άλλους συγχυτικούς μεταβολικούς παράγοντες. Οι ερευνητές αναφέρουν πως το αποτέλεσμα, της ανεξάρτητης από παράγοντες μεταβολικού συνδρόμου

σχέσης, αποδεικνύει ισχυρά έναν άμεσο ρόλο του λιπώδους ήπατος στην αύξηση της δραστηριότητας του PAI-1.

Πρόσφατα, οι Verrijken και συν. (2014) πραγματοποίησαν μια συγχρονική μελέτη, με σκοπό να εξετάσουν κατά πόσο η παρουσία ηπατικής στεάτωσης και NASH, όπως διαγνώστηκε μέσω βιοψίας, σχετίζονται με προθρομβωτικό στάδιο και εάν συνδέονται ανεξάρτητα από την ύπαρξη μεταβολικών παραγόντων κινδύνου. Από μια σειρά παραγόντων που αξιολόγησαν σε 273 ασθενείς με NAFLD, εκ των οποίων η πλειονότητα ήταν παχύσαρκοι, κατέληξαν πως η βαρύτητα της NAFLD, στους παχύσαρκους ασθενείς, παρουσίασε ανεξάρτητη θετική συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις μόνο του PAI-1. Οι συγκεντρώσεις του PAI-1 αξιολογήθηκαν στατιστικά σημαντικά πιο αυξημένες στους ασθενείς με NASH συγκριτικά με τους ασθενείς με απλή στεάτωση. Σε μοντέλο πολλαπλής παλινδρόμησης που διεξήγαγαν, η στεάτωση ήταν ο πιο σημαντικός παράγοντας, αναδεικνύοντας πως ακόμα και στους ασθενείς με απλή στεάτωση παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις του PAI-1. Επίσης, η ίνωση αρχικά φάνηκε να συσχετίζεται ανεξάρτητα με τις συγκεντρώσεις του PAI-1, αποτέλεσμα που έπαψε να υπάρχει μετά από προσαρμογή για μεταβολικούς παράγοντες, πιθανώς εξαιτίας της ύπαρξης μικρού αριθμού ασθενών με προχωρημένη ίνωση.

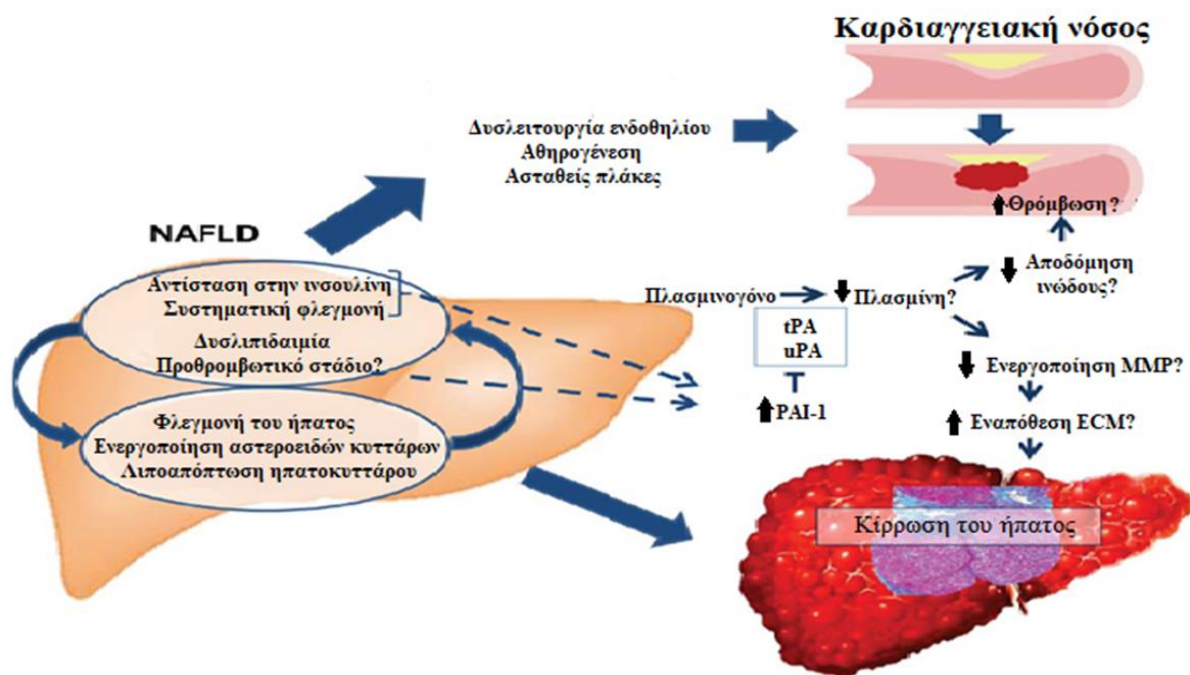
Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι συγχρονικές μελέτες των Potze και συν. (2016) και Ajmera και συν. (2017). Στην πρώτη παρατηρήθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις του PAI-1 σε ασθενείς με NAFLD, οι οποίοι διαγνώστηκαν μέσω βιοψίας, συμπεραίνοντας, επιπλέον, πως η αύξηση αυτή ήταν ανάλογη της βαρύτητας της νόσου και της ηπατικής στεάτωσης. Στη δεύτερη, φάνηκε, επίσης, πως οι αυξημένες συγκεντρώσεις του PAI-1 συσχετίστηκαν ισχυρά με την παρουσία NASH, σε δείγμα ασθενών με NASH, διαγνωσμένη μέσω βιοψίας.

Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί στην προσπάθεια ερμηνείας της σχέσης μεταξύ NAFLD/NASH και αυξημένων συγκεντρώσεων και/ή αυξημένης δραστηριότητας του PAI-1 (**Εικόνα 5**). Αρχικά, όπως περιγράφεται στα ανωτέρω, αυξημένες συγκεντρώσεις του έχουν συσχετιστεί με την παχυσαρκία και δείκτες της, όπως ο ΔΜΣ και η περιφέρεια μέσης, καθώς και με τους παράγοντες, που συνολικά περιγράφουν το ΜΣ, και συγκεκριμένα με τη βασική παθολογική αιτιολογία της NAFLD, την αντίσταση στην ινσουλίνη, καθώς επίσης με τη διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη, τη δυσλιπιδαιμία και την υπέρταση. Παράλληλα, έχει φανεί αύξηση της έκφρασής του PAI-1 μέσω μονοπατιών που προωθούνται από φλεγμονώδεις παράγοντες καθώς και μέσω του οξειδωτικού stress και των ελευθέρων ριζών.

Παλαιότερες μελέτες που διεξήχθησαν σε ζωικά μοντέλα, πρότειναν πως ο PAI-1 σχετίζεται με την ηπατική στεάτωση, μέσω αναστολής της μικροσωμικής πρωτεΐνης μεταφορέα των

τριακυλογλυκερολών (Microsomal Triglyceride Transfer Protein, MTP), με αποτέλεσμα παρεμπόδιση της έκκρισης των VLDL και συνεπώς συσσώρευση των τριακυλογλυκερολών στο ήπαρ (Holzberg et al., 2016). Επιπλέον, έχει φανεί πως ποντίκια με έλλειψη του PAI-1 προστατεύονται από την προωθούμενη μέσω φρουκτόζης ηπατική στεάτωση και την ανεπάρκεια του ήπατος, μέσω επίδρασής του στη μεταφορά των λιπιδίων από το ήπαρ (Ma et al., 2004).

Όσον αφορά την ηπατική ίνωση, ο πιθανός ρόλος του PAI-1 στηρίζεται σε μια σημαντική λειτουργία του, την αναστολή της ενεργοποίησης μέσω της πλασμίνης ειδικών μεταλλοπρωτεϊνών (Matrix Metalloproteinases, MMP). Με αυτόν τον τρόπο, συμμετέχει στη ρύθμιση της καθαρής εναπόθεσης εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (Extracellular Matrix, ECM), που αντικατοπτρίζει την ισορροπία μεταξύ παραγωγής και αποδόμησης του κολλαγόνου (Beier and Arteel, 2012). Η αύξηση των συγκεντρώσεων του PAI-1 συσχετίζεται με μειωμένη αποδόμηση του κολλαγόνου και προώθηση της εναπόθεσης ECM (Ghosh et al, 2012).



Εικόνα 5: Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί συσχέτισης της NAFLD με τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και κίρρωσης του ήπατος (Barrera and George, 2014)

1.2.6 Διατροφή και ινωδόλυση

Η επίδραση διατροφικών παραγόντων σε διαδικασίες της αιμόστασης αναγνωρίστηκε στο διάστημα του δευτέρου παγκοσμίου πολέμου, κατά το οποίο φάνηκε, πως η μεταβολή από μια πιο ισορροπημένη διατροφή κατά τη διάρκειά του σε μια λιγότερο ισορροπημένη μετά το πέρας του, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των θρομβωτικών επεισοδίων. Έκτοτε, υπάρχει πλήθος μελετών, οι οποίες έχουν αξιολογήσει την επίδραση της διαίτας, είτε σε επίπεδο θρεπτικών συστατικών είτε

ομάδων τροφίμων και προτύπων διατροφής, στην πρωτογενή και δευτερογενή αιμόσταση καθώς και στο σύστημα ινωδόλυσης (Pieters and de Maat, 2015). Στην παρούσα εργασία, εξετάσαμε παράγοντες του συστήματος ινωδόλυσης, συνεπώς παρακάτω περιγράφεται η επίδραση της διαίτας σε αυτό, είτε σε επίπεδο θρεπτικών συστατικών είτε ομάδων τροφίμων και προτύπων διατροφής.

1.2.6.1 Θρεπτικά συστατικά

Λιπίδια

Τα αποτελέσματα συγχρονικών μελετών φαίνεται να καταδεικνύουν την ύπαρξη θετικής συσχέτισης μεταξύ της κατανάλωσης διαιτητικού λίπους και των αντιγόνων των tPA και PAI-1 (Rankinen et al., 1994, Byberg et al., 2001). Ωστόσο, τα αποτελέσματα, όσον αφορά την επίδραση του είδους των λιπαρών οξέων δεν είναι σαφή. Αν και υπάρχουν δεδομένα που δεν υποστηρίζουν την ύπαρξη διαφοράς μεταξύ μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (Monounsaturated Fatty Acids, MUFA) και κορεσμένων λιπαρών οξέων (Saturated Fatty Acids, SFA) (Mezzano and Leighton, 2003, Byberg et al., 2001), υπάρχουν μελέτες που δείχνουν μείωση των συγκεντρώσεων του PAI-1 με την κατανάλωση διαίτας υψηλής περιεκτικότητας σε MUFA (Perez-Jimenez et al., 2002, Lopez-Segura et al., 1996), ιδιαίτερα συγκρινόμενη με τα SFA (Perez-Jimenez et al., 1999).

Όσον αφορά την επίδραση των ω-3 λιπαρών οξέων, όταν καταναλώνονται είτε διατροφικά είτε ως συμπλήρωμα, τα αποτελέσματα είναι ασαφή, καθώς υπάρχουν μελέτες οι οποίες δεν καταδεικνύουν κάποια επίδραση, ενώ άλλες υποστηρίζουν μια αύξηση της δραστηριότητας του PAI-1 (Lee and Lip, 2003). Σε συγχρονική μελέτη των Scarabin και συν. (2001) σε 283 άτομα της Προοπτικής Επιδημιολογικής Μελέτης για το Έμφραγμα του Μυοκαρδίου (PRIME study), φάνηκε πως τα ω-3 λιπαρά οξέα, που λαμβάνονται από την κατανάλωση ψαριού, μείωσαν τις συγκεντρώσεις του tPA αντιγόνου. Στην συστηματική ανασκόπηση των Hansen και συν. (2000), στην οποία συμπεριλήφθηκαν 17 μελέτες και 935 άτομα, με την πλειοψηφία αυτών να είναι υγιή, φάνηκε αύξηση κατά 17% στη δραστηριότητα του PAI-1 ως αποτέλεσμα της συμπληρωματικής χορήγησης ω-3 λιπαρών οξέων, ωστόσο μόνο δύο από τις μελέτες είχαν δείξει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, συμπεραίνοντας πως δεν παρατηρείται κάποια σημαντική επίδραση.

Όσον αφορά τα ω-6 λιπαρά οξέα, πρόσφατη συγχρονική μελέτη των Lee και συν. (2012), η οποία συμπεριέλαβε 926 άνδρες, η πλειονότητα των οποίων ήταν υπέρβαροι, έδειξε την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ των συγκεντρώσεων PAI-1 και της συγκέντρωσης ω-6 λιπαρών

οξέων στο αίμα . Ωστόσο τα δεδομένα φαίνονται αντιφατικά, εξαιτίας της ύπαρξης μελετών που δεν υποστηρίζουν κάποια σχέση (Phelan M, 2014).

Διαιτητικές ίνες

Υπάρχουν δεδομένα κλινικών μελετών, που καταδεικνύουν τη θετική επίδραση διαιτών υψηλής περιεκτικότητας σε διαιτητικές ίνες στο σύστημα ινωδόλυσης. Ωστόσο, εφαρμόστηκαν παράλληλα με δίαιτα χαμηλή σε λίπος, η οποία μπορεί να επιδράσει στους μηχανισμούς. Οι Marckmann και συν. (1993) έδειξαν ότι η κατανάλωση μίας δίαιτας χαμηλή σε λίπος (26% της συνολικής ενέργειας) και υψηλή σε διαιτητικές ίνες για διάστημα 8 μηνών συγκριτικά με την τυπική Δανέζικη διατροφή, που περιελάμβανε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε συνολικό λίπος και SFA, αύξησε σημαντικά τη δραστηριότητα του tPA. Επιπλέον, οι Lindahl και συν. (1999) έδειξαν πως παρόμοιου τύπου δίαιτα (20% της ενέργειας πρόσληψη λίπους) ακολουθούμενη για ένα χρόνο από 186 άτομα, που εμφάνιζαν παχυσαρκία και διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη, μείωσε τις συγκεντρώσεις των tPA και PAI-1, παράλληλα, ωστόσο, με απώλεια σωματικού βάρους, στην οποία μπορεί να αποδοθεί η παρατηρούμενη μείωση.

Μικροθρεπτικά συστατικά

Δεδομένα από συγχρονικές μελέτες καταδεικνύουν την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ της βιταμίνης C του ορού και των συγκεντρώσεων του PAI-1 (Woodhouse et al., 1997). Ωστόσο η συμπληρωματική χορήγησή της δεν φαίνεται να επιβεβαιώνει το παραπάνω εύρημα, καθώς δύο τυχαιοποιημένες διασταυρούμενες κλινικές δοκιμές, δεν βρήκαν σημαντική επίδραση στις συγκεντρώσεις του PAI-1. Η πρώτη (Tofler et al., 2000) χορήγησε ποσότητα 2 g βιταμίνης C σε 18 υγιείς άνδρες και η δεύτερη ποσότητα 500 mg βιταμίνης C μαζί με άλλα μικροθρεπτικά συστατικά σε 25 άτομα με δυσλιπιδαιμία για 8 εβδομάδες (Loots et al., 2004).

Όσον αφορά τη βιταμίνη E, η συμπληρωματική χορήγησή της σε ασθενείς με ΣΔτ2 φαίνεται να δίνει αντιφατικά αποτελέσματα, όσον αφορά την επίδρασή της στις συγκεντρώσεις των tPA και PAI-1. Στη κλινική μελέτη παρέμβασης των Skrha και συν. (1999), η χορήγηση 600 mg βιταμίνης E σε 11 παχύσαρκους ασθενείς με ΣΔτ2 για χρονικό διάστημα 3 μηνών μείωσε τη συγκέντρωση του tPA ενώ η συγκέντρωση του PAI-1 παρέμεινε αμετάβλητη, οδηγώντας σε διαταραχή του συστήματος της ινωδόλυσης. Αντίθετα, ασθενείς με ΣΔτ2 με ή χωρίς μακροαγγειακές επιπλοκές και υγιή άτομα, οι οποίοι έλαβαν 744 mg βιταμίνης E για 3 μήνες, μείωσαν τις συγκεντρώσεις του PAI-1 και μάλιστα η μείωση ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με επιπλοκές (Devaraj et al., 2002).

Ασαφής είναι και τα επιστημονικά δεδομένα για τη σχέση επιπέδων βιταμίνης D και ινωδολύσης, καθώς συγχρονικές μελέτες έχουν αναδείξει την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων της και των επιπέδων των tPA και PAI-1 αντιγόνων (Jorde et al., 2007, Hyrpponen et al., 2010). Ωστόσο, κλινική παρέμβαση σε 158 υπέρβαρα/παχύσαρκα άτομα, στους οποίους δόθηκε συμπληρωματική χορήγηση 40000 IU/εβδομάδα ή placebo, για ένα χρόνο, φάνηκε, πως παρά την αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης D στον ορό της ομάδας παρέμβασης, δεν υπήρξε διαφορά στις συγκεντρώσεις των αντιγόνων tPA και PAI-1 (Jorde et al., 2010).

Αλκοόλ

Επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν πως αν και η κατανάλωση μιας μερίδας αλκοολούχου ποτού δεν φαίνεται να επιδρά στη συγκέντρωση του PAI-1, η κατανάλωση μεγαλύτερων ποσοτήτων σχετίζεται με αύξηση της συγκέντρωσης και της δραστικότητάς του. Οι παρεμβάσεις, που έχουν διεξαχθεί σχετικά με το αλκοόλ, διακρίνονται σε μακροπρόθεσμες και μεταγευματικές. Όσον αφορά τις πρώτες, οι Avellone και συν. (2006) έδειξαν πως η επίδραση της κατανάλωσης 250 mL κόκκινου κρασιού για διάστημα 4 εβδομάδων αύξησε τις συγκεντρώσεις των PAI-1 και tPA αλλά μείωσε παράλληλα το σύμπλοκο tPA/PAI-1. Επιπλέον, οι Pikaar και συν. (1987) έδειξαν πως η κατανάλωση κόκκινου κρασιού, σε διαφορετικές δόσεις, από 11 υγιείς νεαρούς άνδρες για διάστημα 5 εβδομάδων, η κάθε δόση, έδειξε μια δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του κρασιού και των επιπέδων πλασμινογόνου, ενώ φάνηκε μείωση των επιπέδων του tPA. Επίσης, οι Dimmitt και συν. (1998) εξέτασαν την επίδραση του αλκοόλ, χορηγώντας σε άνδρες, που κατανάλωναν μύρα, το ίδιο ποτό με μικρότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Παρατήρησαν μείωση του tPA και του PAI-1, ενώ ο λόγος των επιπέδων tPA/PAI-1 αυξήθηκε. Αναφορικά με τις μεταγευματικές μελέτες, φαίνεται να καταδεικνύουν την αύξηση της δραστικότητας του PAI-1 έπειτα από τη χορήγηση αλκοόλ (van de Wiel et al., 2001, Xanthopoulou et al., 2017). Επιπλέον οι Hendriks και συν. (1994) έδειξαν πως ύστερα από την κατανάλωση 40 γραμμαρίων κόκκινου κρασιού, τζιν ή μύρας, αυξάνονται οι μεταγευματικές συγκεντρώσεις του tPA αντιγόνου, ενώ μειώνεται, παράλληλα, η δραστικότητα του tPA, η οποία παρόλα αυτά φάνηκε αυξημένη το επόμενο πρωί.

1.2.6.2 Τρόφιμα και Ομάδες Τροφίμων

Τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση τροφίμων και ομάδων τροφίμων στο σύστημα της ινωδολύσης είναι περιορισμένα και προέρχονται κυρίως από επιδημιολογικές μελέτες και κλινικές δοκιμές μικρού αριθμού ατόμων. Οι μελέτες αυτές έχουν εξετάσει τα ολικής άλεσης και επεξεργασμένα δημητριακά, τα φρούτα και τα λαχανικά, τα όσπρια, το ψάρι και το κρέας.

Δημητριακά, βρώμη και όσπρια

Όσον αφορά τα δημητριακά, συγχρονική μελέτη, η οποία εξέτασε 1088 άτομα χωρίς ΣΔτ2 από την μελέτη IRAS, κατέληξε στο συμπέρασμα, πως η κατανάλωση ολικής άλεσης προϊόντων συσχετίστηκε αρνητικά με τις συγκεντρώσεις του PAI-1, ανεξάρτητα από δημογραφικούς, διαιτητικούς και παράγοντες του τρόπου ζωής. Αντίθετα, η κατανάλωση επεξεργασμένων δημητριακών ανέδειξε θετική συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις του PAI-1, επίσης ανεξάρτητα από τους ανωτέρω παράγοντες (Masters et al., 2010). Επιπλέον, η τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη μελέτη των Andersson και συν. (2007) ενσωμάτωσε στη διατροφή 30 υπέρβαρων ατόμων είτε ολικής άλεσης είτε επεξεργασμένα προϊόντα για δύο διαστήματα των 6 εβδομάδων. Εξετάστηκαν οι συγκεντρώσεις της CRP, της IL-6 και του PAI-1, χωρίς να βρεθεί σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων στο τέλος της παρέμβασης. Επίσης, οι Mackay και συν. (2012) διεξήγαγαν μια τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική μελέτη, στην οποία ενσωμάτωσαν στη διατροφή 24 υπέρβαρων ατόμων με φυσιολογικές συγκεντρώσεις γλυκόζης και ινσουλίνης, καθώς και 24 παχύσαρκων ατόμων με διαταραγμένα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης, ολικής άλεσης ψωμί με προζύμι και λευκό ψωμί, για δύο διαστήματα των 6 εβδομάδων το καθένα. Μεταξύ των παραγόντων που μελετήθηκαν, ήταν η δραστηριότητα και το αντιγόνο του PAI-1. Μετά το πέρας της παρέμβασης, δεν παρατηρήθηκε επίδραση σε κανέναν από τους δύο παράγοντες.

Στη διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη μελέτη, διάρκειας δυο διαστημάτων των 2 εβδομάδων, των Kristensen και συν. (2011), φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μείωση των επιπέδων του PAI-1 στην ομάδα, που πρόσθεσε 102 g βρώμης σε μία δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε ίνες σε σχέση με την ίδια δίαιτα χωρίς την προσθήκη βρώμης. Επιπλέον, στην κλινική μελέτη των Sundell και συν. (1993) η κατανάλωση 10 g βρώμης/ημέρα για δύο εβδομάδες μείωσε τη δραστηριότητα του PAI-1 σε 11 υγιείς εθελοντές, η οποία, ωστόσο επανήλθε 6 εβδομάδες μετά το πέρας της παρέμβασης.

Στην τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική παρέμβαση των Oosthuizen και συν. (2000), η κατανάλωση 110 g φασολιών ημερησίως για 4 εβδομάδες από δυσλιπιδαιμικούς άνδρες μείωσε στατιστικά σημαντικά τη συγκέντρωση του PAI-1 σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Φρούτα-Λαχανικά

Σε πρόσφατη τυχαιοποιημένη κλινική παρέμβαση (Jarvi et al., 2016) 16 εβδομάδων, 34 υπέρβαρα άτομα έλαβαν γενικές οδηγίες ισορροπημένης διατροφής, ενώ στην ομάδα της παρέμβασης δίνονταν, για αυτό το διάστημα, 500 g φρούτων και λαχανικών καθημερινά. Μεταξύ των

παραγόντων που αξιολογήθηκαν, η δραστηριότητα του PAI-1 δεν φάνηκε να διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ομάδων.

Ψάρι-Κρέας

Σε παρέμβαση των Marckmann και συν. (1991), 12 υγιείς άνδρες κατανάλωσαν για 10 ημέρες 210 g λιπαρού ψαριού ημερησίως και στη συνέχεια, έπειτα από δύο εβδομάδες επιστροφής στις διαιτητικές τους συνήθειες, κατανάλωσαν την ίδια ποσότητα κρέατος ημερησίως. Κατά τη σύγκριση μεταξύ των δύο διαιτών, φάνηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις των αντιγόνων των tPA και PAI-1 στην ομάδα κατανάλωσης ψαριού.

1.2.6.3 Υιοθέτηση διατροφικών προτύπων

Τα δεδομένα κλινικών μελετών φαίνεται να καταδεικνύουν θετική επίδραση των διαιτών χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος, χαμηλού Γλυκαιμικού δείκτη (ΓΔ) και Γλυκαιμικού φορτίου (ΓΦ). Στη τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη μελέτη των Rizkalla και συν. (2004) η κατανάλωση δίαιτας χαμηλού ΓΔ από 12 άνδρες με ΣΔτ2 μείωσε σημαντικά τις συγκεντρώσεις του PAI-1 σε σύγκριση με δίαιτα υψηλού ΓΔ. Αντίστοιχα, οι Jensen και συν. (2008) παρατήρησαν μείωση της δραστηριότητας του PAI-1 με την κατανάλωση χαμηλού ΓΔ και χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος (<30%) δίαιτας. Στη μελέτη των Heggen συν. (2012), 180 υπέρβαρα και παχύσαρκα (ΔΜΣ 28-40 kg/m²) άτομα με έναν ή περισσότερα χαρακτηριστικά του ΜΣ ακολούθησαν για χρονικό διάστημα 3 μηνών είτε υποθερμιδική δίαιτα χαμηλή σε λίπος είτε υποθερμιδική δίαιτα χαμηλού ΓΦ. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην απώλεια βάρους μεταξύ των ομάδων και επίσης οι συγκεντρώσεις του PAI-1 μειώθηκαν σημαντικά και στις δύο παρεμβάσεις, ωστόσο χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Πρόσφατη μελέτη από τους Kim και συν. (2017), οι οποίοι διεξήγαγαν μια τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή δύο διαστημάτων των 4 εβδομάδων, σε 51 μη διαβητικά άτομα με μέσο ΔΜΣ 27.7 ± 6.9 kg/m², κατέδειξαν πως η συμμόρφωση σε μία δίαιτα, υψηλής περιεκτικότητας σε κόκκινο και επεξεργασμένο κρέας, χαμηλής περιεκτικότητας σε διαιτητικές ίνες, μετρίου ΓΔ και ΓΦ, παράλληλα με διατήρηση του σωματικού βάρους, αύξησε στατιστικά σημαντικά τις συγκεντρώσεις του PAI-1 συγκριτικά με δίαιτα αυξημένης περιεκτικότητας σε γαλακτοκομικά και ολικής άλεσης προϊόντα, ξηρούς καρπούς, όσπρια, χαμηλού ΓΔ και ΓΦ. Αξίζει, ωστόσο, να αναφερθεί πως δεν εξετάστηκαν τα δεδομένα συγκριτικά με ομάδα ελέγχου.

Επιπλέον, περιορισμένος αριθμός μελετών, έχει εξετάσει την επίδραση της Μεσογειακής δίαιτας. Σε Στη μελέτη των Richard και συν. (2013), 26 άνδρες με χαρακτηριστικά του ΜΣ κατανάλωσαν

αρχικά μία μεσογειακού τύπου διαίτα για διάστημα 5 εβδομάδων στο οποίο διατήρησαν το σωματικό τους βάρος και έπειτα κατανάλωσαν την ίδια διαίτα παράλληλα με απώλεια σωματικού βάρους. Και στις δύο περιπτώσεις, δεν φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τις συγκεντρώσεις του PAI-1. Ομοίως, στην παρέμβαση των Mansvelt και συν. (2007) δεν φάνηκε σημαντική επίδραση στις συγκεντρώσεις των PAI-1 και tPA, ύστερα από την κατανάλωση Μεσογειακού τύπου διαίτας με ή χωρίς κόκκινο κρασί, για 4 εβδομάδες αντίστοιχα, από 12 ασθενείς με διάγνωση ΜΣ. Αντίθετα, η διασταυρούμενη κλινική μελέτη των Avellone και συν. (1997) έδειξε πως η αντικατάσταση μιας δυτικού τύπου διαίτας από τη Μεσογειακή διαίτα μειώνει τις συγκεντρώσεις του PAI-1, ενώ η επιστροφή στην δυτικού τύπου διαίτα επαναφέρει τα επίπεδά του στα αρχικά.

2. ΣΚΟΠΟΣ

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος αποτελεί μια από τις πιο διαδομένες και ανησυχητικές ασθένειες στη σύγχρονη εποχή, καθώς φαίνεται πως σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα από ηπατικά και μη νοσήματα. Τα επιστημονικά δεδομένα καταδεικνύουν την σχέση της νόσου με την πιθανότητα εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακών νοσημάτων, ανεξάρτητα από καρδιομεταβολικούς παράγοντες. Τα ευρήματα αυτά έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, η οποία αναζητά τους μηχανισμούς, που μπορούν να οδηγήσουν σε αυτή την σχέση. Ένας εκ των προτεινόμενων παραγόντων κινδύνου, είναι η διαταραχή στο σύστημα ινωδόλυσης και συγκεκριμένα ο ρόλος του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1), του οποίου η αύξηση των συγκεντρώσεων και της δραστηριότητας έχουν συσχετιστεί με πλήθος νοσημάτων. Ειδικότερα, όσον αφορά τη NAFLD, τα επιδημιολογικά δεδομένα καθίστανται ασαφή, αν και φαίνεται να συγκλίνουν στην ύπαρξη αυξημένων συγκεντρώσεων και δραστηριότητας του PAI-1.

Οι αλλαγές του τρόπου ζωής, με υιοθέτηση ισορροπημένης διατροφής και αύξηση της φυσικής δραστηριότητας, παραμένουν ο ακρογωνιαίος λίθος στην αντιμετώπιση της NAFLD. Τα τελευταία χρόνια η Μεσογειακή διαίτα ερευνάται για την πιθανή επίδρασή της στη νόσο. Κατά την αναζήτηση, ωστόσο, της βιβλιογραφίας δεν βρέθηκε κάποια κλινική μελέτη, που να εξετάζει την επίδρασή της σε δείκτες αιμόστασης, όπως ο PAI-1.

Για το σκοπό αυτό, σχεδιάστηκε μία τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη κλινική δοκιμή, η οποία διερεύνησε τα πιθανά οφέλη της τροποποίησης του τρόπου ζωής, μέσω μίας παρέμβασης, που βασίστηκε είτε στη Μεσογειακή διαίτα είτε στον Μεσογειακό τρόπο ζωής, συγκριτικά με τη συνήθη κλινική αντιμετώπιση, σε ασθενείς με NAFLD.

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία αποτελεί μέρος αυτής της κλινικής δοκιμής, εστιάζοντας σε αλλαγές, που πιθανώς επέφερε η παρέμβαση, σε δείκτες ινωδόλυσης και συγκεκριμένα στις δραστηριότητες των PAI-1 και tPA.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Πληθυσμός της μελέτης

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε ως τυχαιοποιημένη, μονά-τυφλή, ελεγχόμενη κλινική δοκιμή, η οποία ξεκίνησε το Μάιο του 2013 και έλαβε τέλος τον Ιούνιο του 2016. Συμμετείχαν, συνολικά, 63 ασθενείς με NAFLD, οι οποίοι συμπεριλήφθησαν προοπτικά, από την Πανεπιστημιακή Γαστρεντερολογική Κλινική του Γ.Ν.Α «Λαϊκό» και τη Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Γ.Ν.Α «Ιπποκράτειο», αφού εμφάνιζαν υπέρβαρο-παχυσαρκία ($\Delta\text{ΜΣ} \geq 25\text{-}40 \text{ kg/m}^2$).

Τα κριτήρια διάγνωσης της νόσου, που εφαρμοστήκαν, περιελάμβαναν την αξιολόγηση αυξημένων τιμών ηπατικών ενζύμων (αυξημένη τρανσαμινάση της αλανίνης, ALT με ή χωρίς αυξημένη γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάση, γGT), παρουσίας ηπατικής στεάτωσης, η οποία διαγιγνώσκεται μέσω υπερήχου ή/και βιοψίας του ήπατος, επί απουσίας άλλης αιτιολογίας, που οδηγεί σε ηπατική στεάτωση ή βλάβη.

Πιο συγκεκριμένα, τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη ήταν:

- Ηλικία 18-65 ετών
- Τρανσαμινάση της αλανίνης (ALT) μεγαλύτερη από 1,5 φορά από την ανώτερη φυσιολογική τιμή με ή χωρίς αυξημένη γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάση (γGT)
- Ηπατική στεάτωση σε υπέρηχο του ήπατος
- $\Delta\text{ΜΣ} \geq 25\text{-}40 \text{ kg/m}^2$.

Από την άλλη πλευρά, τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν:

- Κατανάλωση αλκοόλ σε ποσότητα > 210 και $> 140 \text{ g/εβδομάδα}$ για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα
- Λήψη δυνητικά ηπατοτοξικού φαρμάκου
- Ανίχνευση αντιγόνου επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας Β (HBsAg) ή αντισωμάτων έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (anti-HCV) ή αντισωμάτων έναντι του HIV

- Παρουσία νοσημάτων με πιθανή ηπατική συμμετοχή
- Πρόσφατη μεταβολή του σωματικού βάρους ή αλλαγή διατροφικών συνηθειών
- Σακχαρώδης Διαβήτης

Κάθε συμμετέχων ενημερωνόταν σχετικά με τις διαδικασίες που θα ακολουθούνταν και συμφωνούσε εγγράφως για τη συμμετοχή του.

3.2 Σχεδιασμός της μελέτης

Η συγκεκριμένη κλινική δοκιμή ήταν τυχαιοποιημένη, μονά-τυφλή και ελεγχόμενη και διήρκησε για διάστημα 6 μηνών.

Οι εθελοντές, υποβάλλονταν κατά την πρώτη συνεδρία σε πλήρη κλινική εξέταση, συνήθη βιοχημικό έλεγχο καθώς και διατροφική αξιολόγηση. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε τυχαία κατάταξη των ασθενών σε μία από τις ακόλουθες ομάδες: ομάδα ελέγχου (ΟΕ), η οποία έλαβε γενικές οδηγίες, γραπτώς, σχετικά με έναν υγιεινό τρόπο ζωής και δεν έλαβε άλλου είδους παρέμβαση μέχρι το πέρας της, ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) και ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ). Οι ομάδες παρέμβασης ακολούθησαν ένα πιο εντατικοποιημένο πρόγραμμα, το οποίο αποτελούνταν από 60λεπτες συνεδρίες των 3-5 ατόμων, οι οποίες πραγματοποιούνταν κάθε δύο εβδομάδες για τους πρώτους 2 μήνες και κάθε μήνα για τους επόμενους 4 μήνες. Πέρα από ένα υποθερμιδικό διαιτολόγιο, το οποίο δόθηκε στις ομάδες παρέμβασης και βασιζόταν στη Μεσογειακή διατροφή, στην ομάδα ΜΔ δόθηκε έμφαση στα τρόφιμα που περιέχονται σε αυτή, ενώ δεν έλαβε κάποια άλλη κατεύθυνση για αλλαγή του τρόπου ζωής. Στην ομάδα MTZ, δόθηκαν, επιπλέον των διατροφικών οδηγιών και οδηγίες σχετικά με την αύξηση της φυσικής δραστηριότητας, μέσω μέτριας προς έντονης έντασης προγράμματα, διάρκειας τουλάχιστον 30 λεπτών/ημέρα (γρήγορο ή πολύ γρήγορο περπάτημα, αργό ή γρήγορο τρέξιμο, χορός, τένις κ.α.), καθώς και οδηγίες για βελτίωση της διάρκειας ύπνου (≥ 7 και ≤ 9 ώρες/ημέρα) και αφιέρωση χρόνου για μεσημεριανή ξεκούραση.

Η διαδικασία της παρέμβασης και της παρακολούθησης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Διατροφής και Κλινικής Διαιτολογίας του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου Αθηνών από έμπειρους διαιτολόγους. Η συμβουλευτική βασίστηκε στη θεωρία θέσπισης στόχων.

3.3 Εξεταζόμενες παράμετροι

3.3.1 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Οι πληροφορίες σχετικά με το φύλο, την εθνικότητα και την ηλικία ήταν αυτοαναφερόμενες.

Το ύψος των εθελοντών μετρούνταν μία φορά με τη χρήση αναστημόμετρου τύπου Seca ακρίβειας $\pm 0,5$ cm. Οι εθελοντές στέκονταν χωρίς παπούτσια, με χαλαρούς ώμους, χέρια ελεύθερα, ίσια πλάτη και με τα μάτια να κοιτάζουν στην ευθεία. Ακολουθούσε μέτρηση στρογγυλοποιημένη στο πλησιέστερο 0,5 cm του μέτρου.

Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρούνταν με τη χρήση ψηφιακού ζυγού με ακρίβεια ± 100 g, χωρίς να φορούν παπούτσια και βρισκόμενοι σε κατάσταση νηστείας. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε δύο φορές σε όλους τους συμμετέχοντες και ειδικότερα μία στην αρχή και μία στο τέλος της παρέμβασης (6 μήνες). Επιπλέον, το σωματικό βάρος των ατόμων των ομάδων ΜΔ και ΜΤΖ μετρούνταν και σε κάθε συνεδρία.

Έπειτα, με τη χρήση των ανωτέρω παραμέτρων, υπολογίστηκε ο ΔΜΣ, ως το πηλίκο του σωματικού βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m²).

Η περιφέρεια μέσης υπολογίστηκε στο μέσο μεταξύ της 12^{ης} πλευράς και της λαγόνιας ακρολοφίας και η περιφέρεια των ισχίων μετρήθηκε γύρω από τους γλουτούς, στο σημείο της μέγιστης έκτασης. Για της μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε μη εκτατή ταινία (Seca) με ακρίβεια $\pm 0,1$ cm. Έπειτα, υπολογίστηκε ο λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρειας ισχίων.

3.3.2 Κοινωνικοδημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά και συνήθειες τρόπου ζωής

Το μορφωτικό επίπεδο των εθελοντών καθορίστηκε από τα χρόνια εκπαίδευσης. Οι συμμετέχοντες διακρίνονταν σε τρεις κατηγορίες:

- <9 έτη σχολείου
- Έως το λύκειο και τεχνικές σχολές (10-14 έτη)
- Πανεπιστημιακές ή ανώτερες/ανώτατες σχολές

Συγκεντρώνονταν, επιπλέον, πληροφορίες σχετικά με την οικογενειακή κατάσταση (έγγαμος, άγαμος, διαζευγμένος ή χηρεία).

Για την αξιολόγηση του καπνίσματος, θεωρήθηκαν καπνιστές όσοι κάπνιζαν τουλάχιστον ένα τσιγάρο/ημέρα, πρώην καπνιστές εκείνοι, που διέκοψαν το κάπνισμα τουλάχιστον ένα χρόνο πριν τη μελέτη, ενώ μη καπνιστές τα άτομα που δεν κάπνισαν ούτε ένα τσιγάρο κατά τη διάρκεια της ζωής τους.

Η κατανάλωση αλκοόλ αξιολογήθηκε μέσω ερωτήσεων σχετικά με τον αριθμό των ποτών που καταναλώνονταν ανά εβδομάδα. Στη συνέχεια η κατηγοριοποίηση αναφερόταν στα άτομα που δεν καταναλώναν αλκοόλ (ποτέ ή σπάνια, 0-1 ποτό/εβδομάδα) και στα άτομα που καταναλώναν αλκοόλ (>1 ποτό/εβδομάδα).

Η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης (ΑΠ) αξιολογούνταν στο δεξί χέρι, με τους εθελοντές καθιστούς και σε ήρεμη κατάσταση. Πραγματοποιούνταν σε όλους τους εθελοντές τόσο στην αρχή της μελέτης (baseline) όσο και στους 6 μήνες. Επιπλέον, η μέτρηση της ΑΠ στους εθελοντές των ομάδων ΜΔ και ΜΤΖ πραγματοποιούνταν και σε κάθε συνεδρία.

3.3.3 Αξιολόγηση προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή

Κατά την εισαγωγή και μετά το πέρας της παρέμβασης, πραγματοποιήθηκε αποτίμηση των διαιτητικών συνηθειών των εθελοντών μέσω ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (Food Frequency Questionnaire, FFQ) και δύο ανακλήσεων 24ώρου, η μία πραγματοποιούμενη μέσω τηλεφώνου και η άλλη κατά την αξιολόγηση στις αντίστοιχες συνεδρίες. Όσον αφορά το FFQ, αποτελούνταν από 76 ερωτήσεις, εκ των οποίων οι 69 αφορούσαν τη συχνότητα κατανάλωσης των κύριων ομάδων τροφίμων και ποτών, ενώ 7 ερωτήσεις αφορούσαν τις διατροφικές συμπεριφορές.

Σύμφωνα με αυτό, οι εθελοντές ανέφεραν, σύμφωνα με μία εξαβάθμια κλίμακα, πόσες φορές, κατά τους δύο τελευταίους μήνες, κατανάλωσαν την ποσότητα των τροφίμων που αναφερόταν στο ερωτηματολόγιο. Οι επιλογές, που δίνονταν από το ερωτηματολόγιο ήταν «ποτέ/ σπάνια», «1-3 φορές/ μήνα», «1-2 φορές/ εβδομάδα», «3-6 φορές/ εβδομάδα», «1 φορά/ ημέρα» και «≥2 φορές/ ημέρα». Οι πληροφορίες αυτές, έπειτα, χρησιμοποιήθηκαν για να αξιολογηθεί ο βαθμός προσκόλλησης των εθελοντών στη Μεσογειακή δίαιτα, με τη χρήση του σχετικού δείκτη MedDietScore (Panagiotakos et al., 2006).

3.3.4 Αξιολόγηση Φυσικής Δραστηριότητας

Για τον προσδιορισμό της φυσικής δραστηριότητας των εθελοντών, χρησιμοποιήθηκε το ερωτηματολόγιο APAQ (Athens Physical Activity Questionnaire), το οποίο αποτελεί ένα δείκτη ενεργειακής κατανάλωσης/εβδομάδα, που εκτιμά τη δραστηριότητα κατά τον ελεύθερο χρόνο, την εργασία και τις οργανωμένες σωματικές δραστηριότητες.

Συμπληρώθηκε από όλους τους εθελοντές τόσο στην αρχή όσο και στο 6μηνο, αξιολογώντας τη φυσική δραστηριότητα κατά το διάστημα των προηγούμενων 7 ημερών. Αποτελούνταν από τρεις ενότητες, ανάλογα με τη συμμετοχή του εθελοντή σε δραστηριότητες στο πλαίσιο της εργασίας

τους (χρόνος περπατήματος από και προς τη δουλειά), του σπιτιού (ελαφριές ή βαριές δουλειές) και για ψυχαγωγία. Επιπλέον, εκτίμησε το συνολικό χρόνο εργασίας την εβδομάδα που πέρασε καθώς και το κύριο μέσο μετακίνησής τους.

Τα δεδομένα από το APAQ αναλύθηκαν με τη χρήση ενός εργαλείου, που δημιουργήθηκε για το σκοπό αυτό σε πρόγραμμα Excel. Στα πλαίσια αυτού, υπολογίστηκαν τα MET για κάθε δραστηριότητα και έπειτα υπολογίστηκαν οι συνολικές δαπανώμενες θερμίδες/εβδομάδα και ο μέσος όρος για κάθε μέρα.

3.3.5 Αιματολογικές αναλύσεις

Στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες. Οι διαδικασίες της φλεβοκέντησης και της συλλογής των δειγμάτων για κάθε ασθενή, πραγματοποιούνταν από έμπειρη αιμολήπτρια νωρίς το πρωί από τις 9.00 π.μ. έως τις 11.00 π.μ., αφού είχε προηγηθεί 12ωρη νηστεία. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση του αίματος και συλλέχθηκε ο ορός. Τα δείγματα των εθελοντών χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό δεικτών μεταβολισμού της γλυκόζης και ηπατικής λειτουργίας. Συγκεκριμένα, τα δείγματα ορού και πλάσματος καταψύχθηκαν άμεσα στους -80 °C.

Τα επίπεδα της γλυκόζης αναλύθηκαν με τη χρήση χρωματογραφικής ενζυμικής μεθόδου (Cobas® 8000 analyzer, Roche). Η ινσουλίνη αναλύθηκε με τη μέθοδο χημειοφωταύγειας (αναλυτής E170 modular, Roche). Έπειτα, η αξιολόγηση της αντίστασης στην ινσουλίνη πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του τύπου από του Matthews και συν. (Matthews et al., 1985). Η τρανσαμινάση της αλανίνης (ALT), η τρανσαμινάση του ασπαργινικού οξέος (AST) και η γ-γλουταμυλο τρανσπεπτιδάση (γ-GT) αναλύθηκαν, επίσης, με τη χρήση ενζυματικής χρωματομετρικής μεθόδου (Cobas® 8000 analyzer, Roche).

3.3.6 Δείκτες ινωδόλυσης

Δραστικότητα PAI-1

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός της δραστικότητας του PAI-1 στα δείγματα πλάσματος των εθελοντών πραγματοποιήθηκε μέσω κινητικής φασματοφωτομετρικής μεθόδου. Σύμφωνα με τη μέθοδο, προστίθεται στα δείγματα ποσότητα tPA σε περίσσεια, η οποία επιτρέπει τη δέσμευση του tPA με τον PAI-1 και τη δημιουργία ανενεργού συμπλόκου. Στη διαδικασία χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια που περιέχουν tPA, πλασμινογόνο και ένα συνθετικό εξειδικευμένο υπόστρωμα πλασμίνης (Human PAI-1 Chromogenic Activity Kit, AssayPro). Η αντίδραση στηρίζεται στη διάσπαση του υποστρώματος της πλασμίνης από την παραγόμενη πλασμίνη, με αποτέλεσμα την

απελευθέρωση ενός κίτρινου χρωμοφόρου, της παρανιτροανιλίνης (pNA). Η απορρόφηση της, μετρούμενη στα 405 nm συσχετίζεται αρνητικά με τη δραστηριότητα του PAI-1.

Διαλύματα

- Διάλυμα προτύπου tPA (40 IU/mL): Αναδιάλυση σε 750 μ L ρυθμιστικού διαλύματος, το οποίο αναδεύτηκε ήπια και παρέμεινε για διάστημα 10 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου.
- Διάλυμα πλασμίνης: Αναδιάλυση σε 550 μ L αποσταγμένου νερού
- Διάλυμα πλασμινογόνου: Αναδιάλυση σε 1200 μ L αποσταγμένου νερού

Πορεία

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα με διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος tPA 40 IU/mL, με εύρος συγκεντρώσεων tPA 20 IU/mL-0 IU/mL. Μια μονάδα (AU, Arbitrary Unit) PAI ορίζεται ως η ποσότητα που αναστέλλει μια μονάδα IU/ml tPA στις συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης.

Για την προετοιμασία του μίγματος των αντιδραστηρίων υπολογίστηκε ποσότητα αντίστοιχη με τον αριθμό των προς υπολογισμό δειγμάτων (n) συν 1 (n+1) βάσει του **Πίνακα 3.1**, σε πλαστικό σωλήνα των 15 mL.

Πίνακας 3.1: Προετοιμασία μίγματος της αντίδρασης

Αντιδραστήρια μίγματος	Ποσότητα για n=1
Ρυθμιστικό διάλυμα	60 μ L
Πλασμινογόνο	10 μ L
Υπόστρωμα Πλασμίνης	10 μ L

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η προετοιμασία του plate, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για φωτομέτρηση (plate αντίδρασης), στο οποίο προστέθηκαν οι ποσότητες που φαίνονται στον **Πίνακα 3.2**.

Πίνακας 3.2: Διαδικασία προετοιμασίας του plate της αντίδρασης

Plates	Ποσότητες
Plate αντίδρασης	5 μ L ρυθμιστικού διαλύματος, 5 μ L από κάθε δείγμα πλάσματος και 10 μ L από το πρότυπο διάλυμα 20 IU/mL στα αντίστοιχα πηγαδάκια, παραμονή για 10 λεπτά
	20 μ L πρότυπων διαλυμάτων στα αντίστοιχα πηγαδάκια
	80 μ L μίγματος με τη χρήση πολυκάναλης πιπέτας σε όλα τα πηγαδάκια

Τέλος, πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση στα 405 nm (χρόνος 0 min) και αφού το plate της αντίδρασης καλύφθηκε με ειδική μεμβράνη, τοποθετήθηκε σε επωαστήρα στους 37° C. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν ανά μία ώρα μέχρι και τις 10 ώρες.

Ο υπολογισμός της δραστικότητας στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με βάση την πρότυπη καμπύλη που κατασκευάστηκε, $\log(\Delta A/\text{min})$ συναρτήσει της συγκέντρωσης του $\log([PAI])$, λαμβάνοντας υπόψη την αραίωση που πραγματοποιήθηκε (1:4).

Δραστικότητα tPA

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός της δραστικότητας του tPA στα δείγματα πλάσματος των εθελοντών πραγματοποιήθηκε, επίσης, μέσω κινητικής φασματοφωτομετρικής μεθόδου. Στη διαδικασία χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια που περιέχουν tPA, πλασμινογόνο και ένα συνθετικό εξειδικευμένο υπόστρωμα πλασμίνης (Human tPA Chromogenic Activity Kit, AssayPro). Αξιολογεί την ικανότητα του tPA να ενεργοποιεί το πλασμινογόνο και να το μετατρέπει σε πλασμίνη, η οποία διασπά το υπόστρωμα της πλασμίνης, απελευθερώνοντας ένα κίτρινο χρωμοφόρο, την παρανιτροανιλίνη (pNA). Η απορρόφηση της, μετρούμενη στα 405 nm συσχετίζεται θετικά με τη δραστικότητα του tPA.

Διαλύματα

- Διάλυμα προτύπου tPA (40 IU/mL): Αναδιάλυση σε 800 μL ρυθμιστικού διαλύματος, το οποίο αναδεύτηκε ήπια και παρέμεινε για διάστημα 10 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου.
- Διάλυμα πλασμίνης: Αναδιάλυση σε 550 μL αποσταγμένου νερού
- Διάλυμα πλασμινογόνου: Αναδιάλυση σε 1200 μL αποσταγμένου νερού

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα με διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος tPA 40 IU/mL με εύρος συγκεντρώσεων tPA 40 IU/mL-0 IU/mL.

Για την προετοιμασία του μίγματος των αντιδραστηρίων υπολογίστηκε ποσότητα αντίστοιχη με τον αριθμό των προς υπολογισμό δειγμάτων (n) συν 1 (n+1) βάσει του **Πίνακα 3.1**, σε πλαστικό σωλήνα των 15 mL.

Στη συνέχεια προετοιμάστηκαν δύο plates, ένα για τις απαραίτητες αραιώσεις (plate αραιώσεων) και ένα για τη φωτομέτρηση (plate αντίδρασης). Οι προστιθέμενες ποσότητες φαίνονται στον **Πίνακα 3.3**.

Πίνακας 3.3: Διαδικασία προετοιμασίας των plates των αραιώσεων και της αντίδρασης

Plates	Ποσότητες
Plate αραιώσεων	60 μ L ρυθμιστικού διαλύματος με χρήση πολυκάναλης πιπέτας
	20 μ L από κάθε δείγμα πλάσματος
Plate αντίδρασης	80 μ L μίγματος με τη χρήση πολυκάναλης πιπέτας
	20 μ L δείγματος από το plate των αραιώσεων ή 20 μ L από τα πρότυπα διαλύματα

Τέλος, πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση στα 405 nm (χρόνος 0 min) αφού το plate της αντίδρασης καλύφθηκε με ειδική μεμβράνη και έπειτα τοποθετήθηκε σε επωαστήρα στους 37° C. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν ανά μία ώρα μέχρι και τις 10 ώρες, ενώ πραγματοποιήθηκε και μία μέτρηση στις 23 ώρες.

Ο υπολογισμός της δραστηρότητας στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με βάση την πρότυπη καμπύλη που κατασκευάστηκε, $\log(\Delta A/\text{min})$ συναρτήσει της συγκέντρωσης του $\log([tPA])$, λαμβάνοντας υπόψη την αραιώση που πραγματοποιήθηκε (1:4).

3.3.7 Αξιολόγηση ελαστογραφίας (Fibroscan)

Ο βαθμός της ηπατικής ακαμψίας μετρήθηκε σε kiloPascals (kPA) μέσω ελαστογραφίας του ήπατος [(Transient elastography (TE; Fibroscan® Echosens, Paris, France)]. Η μέθοδος λειτουργούσε χρησιμοποιώντας το σύστημα υπερήχων Aixplorer® MultiWave™ (Supersonic Imagine S.A., Aix-en-Provence, France), με ενιαίο κρυσταλλικό καθετήρα συχνότητας 1-6 MHz. Η εξέταση θεωρήθηκε αξιόπιστη, εάν είχαν ληφθεί τουλάχιστον 5 έγκυρες μετρήσεις, με λόγο ενδοεταρτημοριακού εύρους προς μέση ηπατική ακαμψία < 25% (μέση τιμή όλων των έγκυρων μετρήσεων ανά εξέταση).

3.4 Στατιστική ανάλυση

Βάσει εκτίμησης, ότι το κύριο καταληκτικό σημείο της παρέμβασης, δηλαδή η κλινικά ωφέλιμη μείωση της ALT εντός φυσιολογικών ορίων, θα μπορούσε να επιτευχθεί στο 50% των ασθενών με NAFLD, που τυχαιοποιήθηκαν στις ομάδες της παρέμβασης και στο 10% της ομάδας ελέγχου, υπολογίστηκε, πως χρειαζόνταν 21 ασθενείς ανά θεραπευτική ομάδα (συμπεριλαμβανομένου ενός 10% των ασθενών, που πιθανώς να εγκατέλειπε τη μελέτη), προκειμένου να παρατηρηθεί

στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (με 5% και 10% πιθανότητες στατιστικού σφάλματος τύπου I και II, αντίστοιχα).

Οι συνεχείς παραμετρικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τις τυπικές αποκλίσεις (mean $\pm$ SD), ενώ οι συνεχείς μη παραμετρικές μεταβλητές ως διάμεσοι (25^ο τεταρτημόριο, 75^ο τεταρτημόριο). Επιπλέον, οι ποιοτικές-κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες (n) και σχετικές συχνότητες (%). Ο έλεγχος της κανονικότητας των μεταβλητών έγινε μέσω της δοκιμασίας Shapiro-Wilk, καθώς και γραφικά μέσω ιστογραμμάτων.

Η πλειονότητα των αναλύσεων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο «πρόθεση για θεραπεία» (Intention To Treat, ITT), εκτός από τους δείκτες ινωδόλυσης, οι οποίοι αναλύθηκαν «βάσει πρωτοκόλλου» (Per Protocol Analysis, PPA), κατά την οποία δεν αναλύθηκαν τα άτομα, τα οποία εγκατέλειψαν τη μελέτη από την ΟΕ, n=7/33%).

Οι συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων στην αρχή της παρέμβασης πραγματοποιήθηκαν με το Kruskal-Wallis τεστ για τις συνεχείς μεταβλητές, που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, η μέθοδος ANOVA για τις συνεχείς μεταβλητές, οι οποίες ακολουθούν κανονική κατανομή και το τεστ χ^2 για τις κατηγορικές μεταβλητές. Οι συγκρίσεις των συνεχών παραμετρικών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων, στο τέλος της παρέμβασης, πραγματοποιήθηκαν μέσω του μοντέλου της ανάλυσης συνδιακύμανσης (Analysis of Covariance, ANCOVA), κατά την οποία η κάθε ομάδα τοποθετούνταν ως ανεξάρτητος παράγοντας (Fixed Effect), η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στο τέλος της παρέμβασης, ως εξαρτημένη μεταβλητή (Dependent Variable) και η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στην αρχή της παρέμβασης καθώς και η % απώλεια σωματικού βάρους ως συμμεταβλητές (Covariates). Αντίστοιχα, οι συγκρίσεις των συνεχών μη παραμετρικών μεταβλητών, μεταξύ των ομάδων, πραγματοποιήθηκαν με τον ίδιο τρόπο, αφού πρώτα υπολογίστηκε ο λογάριθμός τους (log). Τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται ως απολογαριθμοποιημένος αριθμός.

Οι αλλαγές στις κατηγορικές δίτιμες μεταβλητές υπολογίστηκαν με τη χρήση της λογιστικής παλινδρόμησης, χρησιμοποιώντας τις ίδιες ανεξάρτητες μεταβλητές και συμμεταβλητές, όπως στην ανάλυση της ANCOVA.

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%. Όπου υπολογίστηκαν, παρουσιάζονται τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης. Η διόρθωση του Bonferroni χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση ανά ζεύγη μεταξύ των τριών ομάδων της παρέμβασης. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πακέτο STATA.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αφού πραγματοποιήθηκε η τυχαιοποίηση των ασθενών στις ομάδες, κάθε ομάδα αποτελούνταν από 21 ασθενείς. Μετά το πέρας της παρέμβασης, στους 6 μήνες, 7 άτομα από την ομάδα ελέγχου εγκατέλειψαν τη μελέτη. Από τις ομάδες της ΜΔ και του MTZ, όλοι οι εθελοντές ολοκλήρωσαν την παρέμβαση.

Στον **Πίνακα 4.1** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα σχετικά με τα χαρακτηριστικά των ασθενών όλων των ομάδων, όπως αξιολογήθηκαν κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη. Όπως φαίνεται, οι εθελοντές της ομάδας του MTZ διέφεραν σημαντικά αναφορικά με το δείκτη MedDietScore συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες ($p = 0,007$).

Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης

Μεταβλητές	Ομάδα Ελέγχου (ΟΕ) N=21	Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ)	Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21	p value
Φύλο (άνδρες) N (%)	13 (61,9)	13 (61,9)	17 (81)	0,31
Ηλικία (έτη)	47 (42-60)	44 (41-60)	48 (38-60)	0,9
Εκπαίδευση (έτη)	16 (12-16,5)	16 (12-16)	16 (12-16,5)	0.95
Οικογενειακή κατάσταση (παντρεμένοι) N (%)	15 (71,4)	20 (95,2)	13 (61,9)	0,1
Κάπνισμα (ναι) N (%)	3 (14,3)	5 (23,8)	5 (23,8)	0.67
Κατανάλωση αλκοόλ	0,07 (0-0,53)	0,14 (0,04-0,57)	0,21 (0,04-0,56)	0,94
Συνήθης διάρκεια ύπνου (ώρες/ημέρα)	7,1 ± 1,25	7,1±1,3	6,2±1,30	0,061
Επίπεδο Σωματικής Δραστηριότητας (PAL)	1,3 ± 0,14	1,3 ± 0,16	1,29 ± 0,2	0,97
MedDietScore (0-55)	31 ± 4,6	32 ± 3,9	35 ± 3,6	0,007

Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης (συνέχεια)

Μεταβλητές	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21	Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21	Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21	p value
Σωματικό Βάρος (kg)	89,3 (79,4-95,2)	96,7 (79,6-101)	96 (82-104)	0,7
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m ²)	30,04 (28,23-33,1)	31,67 (27,4-33,6)	32,44 (28,4-31,5)	0,69
Μη φυσιολογική Περιφέρεια Μέσης (%)	90,5	76,2	71,4	0,39
Συστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	129 (118-132)	127 (114-143)	129 (118-152)	0,53
Διαστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	83 (77-89)	82 (75-89)	82 (76-92)	0,91

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεσος (διατερταμοριακό εύρος, 25^ο-75^ο)

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5% (το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σημειώνεται με έντονο μαύρο).

Για τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων (p value) πραγματοποιήθηκε το Kruskal-Wallis τεστ για τις συνεχείς μεταβλητές, που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, η μέθοδος ANOVA για τις συνεχείς μεταβλητές, οι οποίες ακολουθούν κανονική κατανομή και το τεστ χ^2 για τις κατηγορικές μεταβλητές.

Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ITT μέθοδος.

Στον **Πίνακα 4.2** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα σχετικά με τα βιοχημικά χαρακτηριστικά των ασθενών όλων των ομάδων, όπως αξιολογήθηκαν κατά την εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη. Όπως φαίνεται, δεν υπήρξε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Πίνακας 4.2: Βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης

Μεταβλητές	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21	Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21	Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21	p value
Γλυκόζη (mg/dL)	90 ± 7,9	92 ± 11,5	89 ± 9,5	0,56
Ινσουλίνη (μL/ml)	11,9 (8,0-17,0)	16,2 (10,0-20,6)	14,0 (9,0-20,5)	0,59
HOMA-IR	2,5 (1,7-4,0)	3,4 (1,9-5,1)	3,3 (2,0-5,0)	0,66
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	203 ± 39	197 ± 50	200 ± 36	0,95
TG (mg/dL)	134 ± 69	132 ± 90	164 ± 83	0,19
HDL (mg/dL)	41 (36-58)	40 (36-58)	42 (35-49)	0,82
LDL (mg/dL)	127 ± 35	124 ± 37	122 ± 31	0,89
Non-HDL (mg/dL)	153 ± 43	150 ± 47	155 ± 39	0,94
Λόγος TG/HDL	2,1 (1,4-4,9)	2,4 (1,3-4,4)	3,9 (1,5-4,6)	0,32
ALT (IU/L)	44 (24-64)	51 (30-73)	54 (39-81)	0,23
GGT (IU/L)	64 (34-170)	65 (28-96)	71 (37-178)	0,27
AST (IU/L)	28 (20,5-36,5)	29 (23-38)	32 (27-43,5)	0,4
Ηπατική Ακαμψία (kPa)	7,8 (5,5-10,9)	6,6 (5,5-9,8)	7,1 (6,3-8,8)	0,72

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεσος (διατερταμοριακό εύρος, 25°-75°). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%. Για τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων (p value) πραγματοποιήθηκαν το Kruskal-Wallis τεστ για τις συνεχείς μεταβλητές, που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, η μέθοδος ANOVA για τις συνεχείς μεταβλητές, οι οποίες ακολουθούν κανονική κατανομή και το τεστ χ^2 για τις κατηγορικές μεταβλητές. Οι αναλύσεις των βιοχημικών δεικτών πραγματοποιήθηκαν με ITT ανάλυση

ALT: τρανσαμινάση της αλανίνης, **GGT:** γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση **AST:** τρανσαμινάση του ασπαραγινικού οξέος, **HOMA-IR:** Ομοιοστατικό μοντέλο αξιολόγησης αντίστασης στην ινσουλίνη, **TG:** τριάκυλογλυκερόλες, **HDL:** λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, **LDL:** λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, **Non HDL:** Ολική χοληστερόλη - HDL

Πίνακας 4.2: Βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης (συνέχεια)

Μεταβλητές	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=14	Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=20	Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21	p value
Δραστικότητα PAI-1 (AU/mL)	79 (57-102)	78 (60-107)	78 (60-107)	0,83
Δραστικότητα tPA (IU/mL)	0,22 (0,16 – 0,34)	0,27 (0,18 – 0,36)	0,19 (0,07 – 0,33)	0,34
PAI-1/tPA	339 (207-426)	270 (180-634)	508 (220-990)	0,48

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως διάμεσος (διατεταγμένο εύρος, 25^ο-75^ο). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%. Για τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων (p value) πραγματοποιήθηκαν το Kruskal-Wallis τεστ για τις συνεχείς μεταβλητές, που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, η μέθοδος ANOVA για τις συνεχείς μεταβλητές, οι οποίες ακολουθούν κανονική κατανομή και το τεστ Χ² για τις κατηγορικές μεταβλητές. Οι αναλύσεις των δεικτών ινωδόλυσης πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο PPA. **PAI-1:** Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1, **tPA:** ενεργοποιητής του πλασμινογόνου

Σχετικά με τα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής, μετά το πέρας της παρέμβασης, μετά από διόρθωση για την απώλεια βάρους, τόσο η ομάδα του MTZ, όσο και η ομάδα της ΜΔ, φάνηκαν να αυξάνουν σημαντικά την προσκόλληση τους στη Μεσογειακή διαίτα, η οποία εκτιμήθηκε με το δείκτη MedDietScore ($P < 0,001$), σε σύγκριση με την ΟΕ (**Πίνακας 4.3**) Μεταξύ των ομάδων MTZ και ΜΔ, ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά [Προσαρμοσμένη διαφορά: 1,66 (95% Διάστημα Εμπιστοσύνης-ΔΕ: -1,28, 4,61]. Στο τέλος της εξάμηνης παρέμβασης, μόνο η ομάδα MTZ αύξησε σημαντικά τα επίπεδα έντονης φυσικής δραστηριότητας συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες της μελέτης ($P < 0,001$). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς το συνολικό επίπεδο φυσικής δραστηριότητας (PAL) ($P = 0,27$). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σχετικά με τις συνήθειες ώρες ύπνου ($P = 0,41$). Εντούτοις, η μέση ημερήσια ανάπαυση (σιέστα) αυξήθηκε μόνο στην ομάδα MTZ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου ($P = 0,04$).

Όσον αφορά την κατανάλωση τροφίμων πριν και μετά την παρέμβαση (**Πίνακας 4.4**), φάνηκε πως και οι δύο ομάδες παρέμβασης αύξησαν την κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών, φρούτων και ξηρών καρπών, ενώ μείωσαν την κατανάλωση επεξεργασμένων δημητριακών, πατάτας, κόκκινου κρέατος, σακχαρούχων αναψυκτικών και γλυκών, συγκριτικά με την ΟΕ. Επιπλέον, στατιστικά σημαντική αύξηση στην κατανάλωση οσπρίων και μείωση της κατανάλωσης προστιθέμενων σακχάρων παρατηρήθηκε στην ομάδα MTZ συγκριτικά με την ΟΕ, εύρημα που δεν ήταν σημαντικό συγκριτικά με την ομάδα ΜΔ.

Πίνακας 4.3: Χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
MedDietScore (0-55)	31 ± 4,6	32 ± 4,9	32 ± 3,9	38 ± 4	35 ± 3,6	41 ± 3	<0,001	5,3 (2,3 , 8,3)	6,9 (3,7 , 10,1)
Επίπεδο Σωματικής Δραστηριότητας (PAL)	1,3 ± 0,14	1,29 ± 0,15	1,3 ± 0,16	1,34 ± 0,18	1,29 ± 0,2	1,37 ± 0,21	0,27	0,03 (-0,08 , 0,1)	0,07 (-0,04 , 0,2)
Συνήθεις ώρες ύπνου (ώρες/ημέρα)	7,1 ± 1,25	7,1±1,35	7,1 ± 1,3	6,9 ± 1	6,2 ± 1,3	6,8 ± 1,25	0,41	-0,2 (-0,9 , 0,4)	0,1 (-0,5 , 0,8)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεσος (διατερταμοριακό εύρος, 25^ο-75^ο). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5% (το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σημειώνεται με έντονο μαύρο). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο ITT. Οι συγκρίσεις των συνεχών παραμετρικών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων πραγματοποιήθηκαν μέσω του μοντέλου της ανάλυσης συνδιακύμανσης (Analysis of Covariance, ANCOVA), κατά την οποία η κάθε ομάδα τοποθετούνταν ως ανεξάρτητος παράγοντας (Fixed Effect), η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στο τέλος της παρέμβασης, ως εξαρτημένη μεταβλητή (Dependent Variable) και η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στην αρχή της παρέμβασης και η % απώλεια σωματικού βάρους ως συµμεταβλητές (Covariate). Αντίστοιχα, οι συγκρίσεις των συνεχών μη παραμετρικών μεταβλητών, μεταξύ των ομάδων, πραγματοποιήθηκαν με τον ίδιο τρόπο, αφού πρώτα υπολογίστηκε ο λογάριθμός τους (log). Τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται ως απολογαριθμοποιημένος αριθμός.

Πίνακας 4.4: Κατανάλωση τροφίμων στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
Μερίδες/ημέρα	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
Μη επεξεργασμένα δημητριακά	0,73 (0,2-1)	0,56 (0,08-1,1)	0,49 (0,04-2,5)	4,6 (2,5-5)	0,75 (0,08-3,4)	4,6 (4,3-4,9)	<0,001	2,6 (1,3, 3,8)	2,9 (1,6, 4,1)
Επεξεργασμένα δημητριακά	5,5 (3,2-6,9)	5,6 (3,2-7)	5,4 (2,2-7,1)	1,4 (1,1-2,7)	3,3 (2,5-5,6)	1,8 (1,2-2,7)	<0,001	-2,8 (-4, -1,5)	-2,8 (-4, -1,6)
Πατάτες	0,26 (0,12-0,6)	0,64 (0,21-0,74)	0,26 (0,21-0,52)	0,21 (0,07-0,3)	0,26 (0,21-0,3)	0,21 (0,07-0,26)	<0,001	-0,26 (-0,44, -0,09)	-0,28 (-0,46, -0,11)
Φρούτα	1,06 (0,7-2)	1,28 (0,7-3)	1,49 (0,7-2,5)	3,13 (2-3,6)	1,78 (1,3-2,7)	2,64 (2,3-3,7)	<0,001	1,5 (0,7, 2,4)	1,3 (0,4, 2,1)
Λαχανικά	2,01 (1,4-2,5)	2,38 (1,7-3)	1,59 (1,4-2,1)	2,66 (2-3,6)	1,98 (1,5-2,5)	2,72 (2,3-3)	0,06	0,72 (-0,07, 1,5)	0,58 (-0,19, 1,4)
Όσπρια	0,52 (0,17-0,52)	0,52 (0,17-0,53)	0,52 (0,52-0,52)	0,52 (0,3-0,5)	0,51 (0,2-0,5)	0,66 (0,52-0,52)	0,02	0,13 (-0,12, 0,38)	0,31 (0,05, 0,55)
Ψάρι	0,7 (0,3-0,9)	0,7 (0,3-0,9)	0,52 (0,3-0,9)	0,87 (0,5-1,1)	0,70 (0,5-0,9)	0,87 (0,61-1,22)	0,06	0,16 (-0,16, 0,47)	0,32 (-0,02, 0,63)

Πίνακας 4.4: Κατανάλωση τροφίμων στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης (συνέχεια)

	Ομάδα Ελέγχου (ΟΕ) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs ΟΕ	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs ΟΕ
Μερίδες/ημέρα	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
Κόκκινο κρέας	1,45 (0,7-1,7)	1,29 (0,98-1,5)	1,64 (1,1-2)	0,66 (0,5-1,3)	1,12 (0,94-1,4)	0,59 (0,3-0,8)	0,003	-0,47 (-0,88, -0,07)	-0,53 (-0,93, -0,13)
Πουλερικά	0,52 (0,52-1,60)	0,52 (0,52-1,60)	0,52 (0,52-0,52)	0,52 (0,52-1,06)	0,62 (0,17-0,52)	0,52 (0,52-0,52)	0,92	-0,03 (-0,40, 0,34)	-0,06 (-0,44, 0,32)
Πλήρη γαλακτοκομικά	1,28 (0,46-2,5)	1,28 (0,64-1,8)	1,49 (1,1-2,2)	0,85 (0,24-1,4)	0,85 (0,49-1,8)	0,64 (0,21-1)	0,22	-0,35 (-0,95, 0,25)	-0,39 (-1, 0,21)
Ξηροί καρποί	0,07 (0-0,4)	0,07 (0-0,4)	0,07 (0-0,21)	0,64 (0,21-1)	0,07 (0,03-0,21)	0,64 (0,21-0,82)	0,002	0,49 (0,14, 0,84)	0,4 (0,05, 0,75)
Αλκοόλ	0,07 (0-0,53)	0,21 (0,06-0,63)	0,14 (0,03-0,56)	0,14 (0-0,35)	0,21 (0,03-0,45)	0,14 (0,07-0,28)	0,3	-0,08 (-0,25, 0,08)	-0,09 (-0,27, 0,07)

Πίνακας 4.4: Κατανάλωση τροφίμων στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης (συνέχεια)

	Ομάδα Ελέγχου (ΟΕ) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs ΟΕ	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs ΟΕ
	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
Προστιθέμενα σάκχαρα (μερίδες/ημέρα)	2 (0,42-2)	2 (0,64-2)	2 (0,6-2)	0,64 (0,21-1)	1 (0,21-2)	0,64 (0,07-1)	0,01	-0,55 (-1,0, 0,05)	-0,56 (-1,1, -0,05)
Σακχαρούχα αναψυκτικά (μερίδες/ημέρα)	0 (0-0,04)	0,25 (0-0,53)	0 (0-0,18)	0 (0-0,04)	0,09 (0-0,09)	0 (0-0,04)	0,002	-0,22 (-0,38, -0,05)	-0,21 (-0,38, -0,04)
Γλυκά (μερίδες/ημέρα)	0,78 (0,45-1,59)	0,7 (0,35-1,16)	1,07 (0,84-1,52)	0,35 (0,14-0,99)	0,49 (0,24-1,42)	0,28 (0,17-0,52)	0,02	-0,32 (-0,69, -0,04)	-0,4 (-0,77, -0,03)
Καφές (φορές/ημέρα)	2 (1,1-2,6)	2 (1-3)	2 (0,6-2)	2 (1-2)	1 (0,8-2)	1 (1-2)	0,8	-0,17 (-0,44, 0,28)	0 (-0,36, 0,36)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως διάμεσος (διατετακτομενικό εύρος, 25^ο-75^ο). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%. (το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σημειώνεται με έντονο μαύρο). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο ITT. Οι συγκρίσεις μεταξύ των τριών ομάδων, πραγματοποιήθηκαν μέσω του μοντέλου της ανάλυσης συνδιακύμανσης (Analysis of Covariance, ANCOVA), κατά την οποία η κάθε ομάδα τοποθετούνταν ως ανεξάρτητος παράγοντας (Fixed Effect), το μελετούμενο τρόφιμο, όπως μετρήθηκε στο τέλος της παρέμβασης, ως εξαρτημένη μεταβλητή (Dependent Variable) και όπως μετρήθηκε στην αρχή της παρέμβασης ως συμμεταβλητή (Covariate), αφού πρώτα υπολογίστηκε ο λογάριθμός τους (log). Τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται ως απολογαριθμοποιημένος αριθμός

Τα αποτελέσματα της κατανάλωσης τροφίμων παρουσιάζονται ως μερίδες/ημέρα ή φορές/ημέρα.

Όσον αφορά τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, μετά το πέρας της παρέμβασης, οι ομάδες παρέμβασης παρουσίασαν μεγαλύτερη μείωση στην % απώλεια σωματικού βάρους ($P=0,01$) συγκριτικά με την ΟΕ, η οποία παρουσίασε μικρή απώλεια σωματικού βάρους της τάξης του 2,1% (-3,6, 0,3) (Πίνακας 4.5). Αναφορικά με τον ΔΜΣ, φάνηκε σημαντική μείωση μόνο στην ομάδα ΜΔ ($P=0,008$) συγκριτικά με την ΟΕ. Ωστόσο, οι αλλαγές αυτές δεν φάνηκαν να διαφέρουν μεταξύ της ομάδας ΜΤΖ συγκριτικά με την ομάδα ΜΔ [% απώλεια βάρους: Προσαρμοσμένη διαφορά: -0,85 (95% ΔΕ: -0,45, 1,6 και ΔΜΣ: Προσαρμοσμένη διαφορά: -1,01, (96% ΔΕ: -0,97, 1,05)].

Αναφορικά με τα ηπατικά χαρακτηριστικά, αφού πραγματοποιήθηκε διόρθωση για την απώλεια βάρους, οι δύο ομάδες παρέμβασης φάνηκε πως βελτίωσαν σημαντικά την ηπατική ακαμψία, όπως εκτιμήθηκε μέσω ελαστογραφίας ($P=0,002$) σε σύγκριση με την ΟΕ (Πίνακας 4.6). Μεταξύ των ομάδων παρέμβασης δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά [ΜΤΖ συγκριτικά με ΜΔ: Προσαρμοσμένη διαφορά: -0,95 (95% ΔΕ: -0,8, 1,12)].

Όσον αφορά, τα βιοχημικά χαρακτηριστικά, αφού πραγματοποιήθηκε διόρθωση για την απώλεια σωματικού βάρους, φάνηκε στατιστικά σημαντική μείωση της LDL χοληστερόλης καθώς και της non-HDL στους εθελοντές της ομάδας ΜΔ συγκριτικά με την ΟΕ (Πίνακας 4.6), ενώ δεν φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά από την ομάδα του ΜΤΖ.

Αναφορικά με τους δείκτες ινωδόλυσης (Πίνακας 4.7), έπειτα από διόρθωση για την απώλεια σωματικού βάρους, δεν φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων μετά το πέρας της παρέμβασης στις δραστηρότητες PAI-1 ($p=0,73$) και tPA ($p=0,2$), καθώς και στην ποσοστιαία αλλαγή τους ($p=0,97$ και $p=0,09$ αντίστοιχα) και το λόγο PAI-1/tPA ($p=0,32$).

Πίνακας 4.5: Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
Σωματικό Βάρος (kg)	91 ± 16	89 ± 15	93 ± 13	87 ± 14	95 ± 14	90 ± 14	0,14	-2,7 (-6,1 , 0,68)	-1,9 (-5,3 , 1,5)
Απώλεια σωματικού βάρους (%)	-2,1 (-3,6, 0,3)		-5,4 (-8,2 , -3,3)		-6,3 (-8,2 , -1,1)		0,01	-2,1 (-1,1 , -4,1)	-1,8 (-1,02 , -3,5)
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m²)	30,04 (28,2-33,1)	29,49 (27,8-32,9)	31,67 (27,4-33,6)	28,21 (25,9-31,5)	32,44 (28,4-31,5)	30,55 (26,6-33,3)	0,008	-0,95 (-0,92 , -0,99)	-0,96 (-0,93 , 1)
Μη φυσιολογική Περιφέρεια Μέσης (%)	90,5	76,2	76,2	47,6	71,4	61,9	0,36	0,42 (0,07 , 2,3)	0,29 (0,05 , 1,8)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεσος (διατερταμοριακό εύρος, 25°-75°). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%. (το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σημειώνεται με έντονο μαύρο). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο ΙΤΤ. Οι συγκρίσεις των συνεχών παραμετρικών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων, πραγματοποιήθηκαν μέσω του μοντέλου της ανάλυσης συνδιακύμανσης (Analysis of Covariance, ANCOVA), κατά την οποία η κάθε ομάδα τοποθετούνταν ως ανεξάρτητος παράγοντας (Fixed Effect), η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στο τέλος της παρέμβασης, ως εξαρτημένη μεταβλητή (Dependent Variable) και όπως μετρήθηκε στην αρχή της παρέμβασης ως συμμεταβλητή (Covariate). Αντίστοιχα, οι συγκρίσεις των συνεχών μη παραμετρικών μεταβλητών, μεταξύ των ομάδων πραγματοποιήθηκαν με τον ίδιο τρόπο, αφού πρώτα υπολογίστηκε ο λογάριθμός τους (log). Τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται ως απολογαριθμοποιημένος αριθμός.

Πίνακας 4.6: Κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
ALT (IU/L)	44 (24-64)	44 (32-58)	51 (30-73)	34 (24-46)	54 (39-81)	32 (21-41)	0,09	-0,79 (-0,57 , 1,1)	-0,75 (-0,53 , 1,04)
GGT (IU/L)	64 (34-170)	73 (31-166)	65 (28-96)	40 (23-64)	71 (37-178)	51 (26-173)	0,24	-0,79 (-0,54 , 1,15)	-0,82 (-0,57 , 1,17)
AST (IU/L)	28 (20,5-36,5)	26 (22,5-35,5)	29 (23-38)	24 (20,5-30,5)	32 (27-43,5)	25 (21-34)	0,92	-0,96 (-0,74, 1,24)	-0,98 (-0,76 , 1,27)
Ηπατική Ακαμψία (kPa)	7,8 (5,5-10,9)	8 (6,1-11,1)	6,6 (5,5-9,8)	6,2 (5,1-9,9)	7,1 (6,3-8,8)	6,1 (5-7,6)	0,002	-0,83 (-0,7, -0,98)	-0,78 (-0,66, -0,93)
Γλυκόζη (mg/dL)	91 ± 7,9	91 ± 8,3	92 ± 11,5	91 ± 13,6	89 ± 9,5	87 ± 9,4	0,75	0,7 (-7,2 , 5,7)	-1,9 (-8,2 , 4,3)
HOMA- IR	2,5 (1,7-4)	2,5 (1,4-3,6)	3,4 (1,9-5,1)	2,6 (1,7-4,1)	3,3 (2-5)	2,7 (1,4-3,8)	0,6	-1,1 (-0,74 , 1,5)	-0,9 (-0,6 , 1,3)

Πίνακας 4.6: Κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης (συνέχεια)

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
Ινσουλίνη (μL/ml)	11,9 (8-17)	11 (6,7-16,9)	16,2 (10-20,6)	11,9 (8,5-17,7)	14 (9-20)	12 (7,4-17)	0,78	-1 (-0,7, 1,4)	-0,9 (-0,7, 1,3)
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	203 ± 39	216 ± 47	197 ± 50	187 ± 47	200 ± 36	203 ± 44	0,08	-0,9 (-0,7, 1)	-0,9 (-0,8, 1,1)
TG (mg/dL)	134 ± 69	136 ± 66	132 ± 90	107 ± 51	164 ± 83	132±58	0,28	-0,8 (-0,7, 1,1)	-0,9 (-0,7, 1,1)
HDL (mg/dL)	41 (36-58)	42 (35-64)	40 (36-58)	43 (39-62)	42 (35-49)	42 (35-51)	0,04	1,1 (-0,9, 1,2)	-0,9 (-0,9, 1,1)
LDL (mg/dL)	127 ± 35	140 ± 40	124 ± 37	113 ± 34	122 ± 31	124 ± 37	0,04	- 0,8 (-0,7, -0,9)	-0,9 (-0,8, 1,1)

Πίνακας 4.6: Κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης (συνέχεια)

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=21		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=21		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
	Αρχή της παρέμβασης	6μηνο	Αρχή της παρέμβασης	6μηνο	Αρχή της παρέμβασης				
Non-HDL (mg/dL)	153 ± 43	167 ± 48	150 ± 47	135 ± 42	155 ± 39	157 ± 50	0,06	-1,5 (-2,2, -1)	-1,2 (-1,7, 1,2)
Συστολική πίεση (mmHg)	129 (118-132)	127 (119-131)	127 (114-143)	118 (111- 134)	129 (118-152)	124 (114-135)	0,59	-0,93 (-0,98, 1,08)	1 (-0,93, 1,08)
Διαστολική πίεση (mmHg)	83 (77-89)	82 (72-89)	82 (75-89)	77 (74-84)	82 (76-92)	80 (77-87)	0,57	-0,99 (-0,93, 1,06)	1,02 (-0,96, 1,09)
Λόγος TG/HDL	2,1 (1,4-4,9)	2,2 (1,4-4,7)	2,4 (1,3-4,4)	1,8 (1,3-4,9)	3,9 (1,5-4,6)	3,3 (1,2-4,7)	0,16	-1,64 (-3,1, 1,1)	-1,32 (-2,4, 1,4)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεσος (διατεταμοριακό εύρος, 25°-75°).

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5% (το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σημειώνεται με έντονο μαύρο). Οι συγκρίσεις των συνεχών παραμετρικών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων πραγματοποιήθηκαν μέσω του μοντέλου της ανάλυσης συνδιακύμανσης (Analysis of Covariance, ANCOVA), κατά την οποία η κάθε ομάδα τοποθετούνταν ως ανεξάρτητος παράγοντας (Fixed Effect), η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στο τέλος της παρέμβασης, ως εξαρτημένη μεταβλητή (Dependent Variable) και η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στην αρχή της παρέμβασης και η % απώλεια σωματικού βάρους ως συμμεταβλητές (Covariate). Αντίστοιχα, οι συγκρίσεις των συνεχών μη παραμετρικών μεταβλητών, μεταξύ των ομάδων, πραγματοποιήθηκαν με τον ίδιο τρόπο, αφού πρώτα υπολογίστηκε ο λογάριθμός τους (log). Τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται ως απολογαριθμοποιημένος αριθμός.

ALT: τρανσαμινάση της αλανίνης, **GGT:** γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση **AST:** τρανσαμινάση του ασπαργινικού οξέος, **HOMA-IR:** Ομοιοστατικό μοντέλο αξιολόγησης αντίστασης στην ινσουλίνη, **TG:** τριάκυλογλυκερόλες, **HDL:** λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, **LDL:** λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, **Non HDL:** Ολική χοληστερόλη - HDL

Πίνακας 4.7: Δείκτες ινωδόλυσης των εθελοντών πριν και μετά το πέρας της παρέμβασης

	Ομάδα Ελέγχου (OE) N=14		Ομάδα Μεσογειακής Δίαιτας (ΜΔ) N=20		Ομάδα Μεσογειακού Τρόπου Ζωής (MTZ) N=21		P value	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) ΜΔ vs OE	Προσαρμοσμένη διαφορά (95% ΔΕ) MTZ vs OE
	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο	Αρχή παρέμβασης	6μηνο			
PAI (AU/mL)	79 (57-102)	71 (62-90)	78 (60-107)	73 (56-105)	79 (53-99)	64 (57-89)	0,73	1 (-0,8, 1,26)	-0,95 (-0,76, 1,18)
% αλλαγή PAI	95 (83-127)		88 (81-126)		96 (73-111)		0,97	1 (-0,76, 1,32)	-0,98 (-0,75, 1,28)
tPA (IU/mL)	0,22 (0,16 – 0,34)	0,24 (0,15 – 0,31)	0,27 (0,18 – 0,36)	0,28 (0,15–0,30)	0,19 (0,07 – 0,33)	0,21 (0,09 – 0,47)	0,2	-0,89 (-0,59, 1,34)	1,15 (-0,77, 1,73)
% αλλαγή tPA	96 (70-120)		94 (65-123)		97 (89-154)		0,09	-0,87 (-0,56, 1,34)	1,21 (-0,79, 1,86)
PAI/tPA	339 (207-426)	305 (213-547)	270 (180-634)	269 (207-760)	508 (220-990)	365 (132 – 860)	0,32	1,1 (-0,67, 1,8)	-0,85 (-0,53, 1,37)
% αλλαγή PAI/tPA	103 (79-136)		99 (72 – 170)		82 (58 – 117)		0,2	1,12 (-0,66, 1,91)	-0,81 (-0,48, 1,35)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεσος (διατετραμοριακό εύρος, 25°-75°). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%. (το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα σημειώνεται με έντονο μαύρο). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο PPA. Οι συγκρίσεις των συνεχών παραμετρικών μεταβλητών μεταξύ των τριών ομάδων, πραγματοποιήθηκαν μέσω του μοντέλου της ανάλυσης συνδιακύμανσης (Analysis of Covariance, ANCOVA), κατά την οποία η κάθε ομάδα τοποθετούνταν ως ανεξάρτητος παράγοντας (Fixed Effect), η μελετούμενη μεταβλητή, όπως μετρήθηκε στο τέλος της παρέμβασης, ως εξαρτημένη μεταβλητή (Dependent Variable) και όπως μετρήθηκε στην αρχή της παρέμβασης ως συμμεταβλητή (Covariate). Αντίστοιχα, οι συγκρίσεις των συνεχών μη παραμετρικών μεταβλητών, μεταξύ των ομάδων πραγματοποιήθηκαν με τον ίδιο τρόπο, αφού πρώτα υπολογίστηκε ο λογάριθμός τους (log). Τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται ως απολογαριθμοποιημένος αριθμός.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια, η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας παρεμβάσεων του τρόπου ζωής, όπως η προσκόλληση στη Μεσογειακή δίαιτα, στη διαχείριση ασθενών με NAFLD, έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Παράλληλα, στην προσπάθεια εντόπισης των εμπλεκόμενων παραγόντων, ένας εκ των διερευνούμενων πιθανών μηχανισμών κατά τη διαδικασία εξέλιξης της NAFLD καθώς και της συσχέτισής της με αύξηση της πιθανότητας χρόνιων νοσημάτων, όπως τα καρδιαγγειακά και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, είναι η διαταραχή στο σύστημα της ινωδόλυσης. Σκοπός, λοιπόν, της παρούσας τυχαιοποιημένης, μονά-τυφλής κλινικής μελέτης ήταν να διερευνήσει και να αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα μίας εξάμηνης παρέμβασης, που είχε στόχο την τροποποίηση του τρόπου ζωής, είτε μέσω αύξησης της προσκόλλησης μόνο στη Μεσογειακή δίαιτα είτε μέσω υιοθέτησης ενός Μεσογειακού τρόπου ζωής, παράλληλα με απώλεια σωματικού βάρους, σε κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά ασθενών με NAFLD συγκριτικά με τη συνήθη κλινική αντιμετώπιση. Στις βιοχημικές εκβάσεις συμπεριλήφθηκαν και δείκτες ινωδόλυσης και συγκεκριμένα η δραστικότητα των PAI-1 και tPA.. Μετά το πέρας της παρέμβασης, φάνηκε στατιστικά σημαντική βελτίωση της ηπατικής ακαμψίας και βιοχημικών παραμέτρων στις ομάδες παρέμβασης συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, ανεξάρτητα από την απώλεια βάρους, ωστόσο δεν αναδείχθηκε σημαντική διαφορά στους δείκτες ινωδόλυσης μεταξύ των τριών ομάδων.

Αναφορικά με τους στόχους της παρέμβασης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του δείκτη MedDietScore, δηλαδή του δείκτη υιοθέτησης της Μεσογειακής δίαιτας, μεταξύ των ομάδων παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση της κατανάλωσης τροφίμων, όπως τα φρούτα, τα μη επεξεργασμένα δημητριακά, τα όσπρια και οι ξηροί καρποί, καθώς και στη μείωση της κατανάλωσης τροφίμων, όπως κόκκινο κρέας, επεξεργασμένα δημητριακά, σακχαρούχα αναψυκτικά και γλυκά. Παράλληλα, μόνο η ομάδα MTZ αύξησε σημαντικά τα επίπεδα έντονης φυσικής δραστηριότητας συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες, ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ως προς το συνολικό επίπεδο φυσικής δραστηριότητας (PAL). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σχετικά με τις συνήθειες ώρες ύπνου. Εντούτοις, η μέση ημερήσια ανάπαυση (σιέστα) αυξήθηκε μόνο στην ομάδα MTZ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Όσον αφορά την απώλεια σωματικού βάρους, και οι τρεις ομάδες φάνηκαν να επιτυγχάνουν απώλεια, ωστόσο στις ομάδες παρέμβασης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (~6% στις ομάδες παρέμβασης έναντι ~2% στην ομάδα ελέγχου).

Αν και η μελέτη δεν μπόρεσε να αναδείξει κάποια σημαντική διαφορά, μεταξύ των ομάδων παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου, σε συνιστώσες του ΜΣ, κατάφερε να καταδείξει στατιστικά σημαντική βελτίωση σε ηπατικά χαρακτηριστικά και συγκεκριμένα στην ηπατική ακαμψία, έτσι όπως αξιολογήθηκε μέσω της ελαστογραφίας ήπατος, ανεξάρτητα από την απώλεια σωματικού βάρους. Τα ανωτέρω δεδομένα, σχετικά με την θετική επίδραση της Μεσογειακής δίαιτας στα ηπατικά χαρακτηριστικά έχουν επιβεβαιωθεί από περιορισμένο αριθμό παλαιότερων μελετών. Συγκεκριμένα, σε τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή, διεξαχθείσα στην Αυστραλία σε 12 ασθενείς με NAFLD, φάνηκε, πως η αύξηση της προσκόλλησης σε μία Μεσογειακού τύπου δίαιτα συγκριτικά με μία δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια για διάστημα 6 εβδομάδων, συσχετίστηκε με σημαντική βελτίωση του βαθμού ηπατικής στεάτωσης και ίνωσης (Ryan et al, 2013). Επιπλέον, πρόσφατη κλινική δοκιμή των Trovato και συν. κατέδειξε πως η αύξηση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή σε δείγμα 90 μη διαβητικών ασθενών με NAFLD, φάνηκε να συσχετίζεται με βελτίωση των επιπέδων ενδοηπατικού λίπους, ύστερα από 6 μήνες εφαρμογής της (Trovato et al, 2014).

Για την αξιολόγηση της πιθανής συσχέτισης αλλαγών σε δείκτες ινωδόλυσης και της παρατηρούμενης βελτίωσης στην ηπατική υγεία, μετρήθηκαν οι δραστηρότητες των PAI-1 και tPA. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα δεν φάνηκε να υπάρχει κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων, τόσο για τον PAI-1 όσο και για τον tPA. Τα αποτελέσματα αυτά δεν μπορούν να συγκριθούν, καθώς κατά την αναζήτηση της βιβλιογραφίας δεν φάνηκε να έχει διεξαχθεί αντίστοιχη μελέτη σε δείγμα ασθενών με NAFLD. Παρόλα αυτά, δύο κλινικές παρεμβάσεις αξιολόγησαν την επίδραση μίας Μεσογειακού τύπου δίαιτας σε δείγματα ασθενών διαγνωσμένων με συνιστώσες του ΜΣ, το οποίο έχει συνδεθεί ισχυρά με τη NAFLD (Marchesini et al, 2001), ωστόσο εξετάζοντας τις συγκεντρώσεις των PAI-1 και tPA και όχι τη δραστηρότητά τους. Στην παρέμβαση των Mansvelt και συν. (2007), που διεξήχθη στη Νότια Αφρική, μόλις 12 άτομα με τουλάχιστον δύο συνιστώσες του ΜΣ, κατανάλωσαν μία δίαιτα αυξημένης περιεκτικότητας σε λαχανικά, δημητριακά, φρούτα, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (με τη μορφή ελαιολάδου και κραμβέλαιου) και μειωμένης περιεκτικότητας σε κόκκινο κρέας και γαλακτοκομικά προϊόντα για 4 εβδομάδες χωρίς την προσθήκη κόκκινου κρασιού και 4 εβδομάδες με την προσθήκη 250 mL (26 g αιθανόλης) και 180 mL (19 g αιθανόλης) κόκκινου κρασιού/ημέρα για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα. Δεν φάνηκε να υπάρχει σημαντική διαφορά μετά το πέρας κάποιας από τις δυο περιόδους στις συγκεντρώσεις PAI-1 και tPA, ωστόσο οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του PAI-1 φάνηκαν μετά την περίοδο κατανάλωσης του κόκκινου κρασιού. Επιπλέον, η μελέτη των Richards και συν. (2013), εξέτασε την επίδραση της προσκόλλησης σε μία Μεσογειακού τύπου δίαιτα, με ή χωρίς απώλεια σωματικού βάρους για διάστημα 5

εβδομάδων, στις συγκεντρώσεις του PAI-1 26 ανδρών με ΜΣ. Δεν φάνηκε, ωστόσο, να υπάρχει σημαντική διαφορά συγκριτικά με δίαιτα ελέγχου, μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα. Επιπρόσθετα, παρόμοιες παρεμβάσεις έχουν διεξαχθεί και σε υγιή άτομα. Έτσι, οι Perez-Himenez και συν. (1998) έδειξαν πως η κατανάλωση μίας Μεσογειακού τύπου δίαιτας-υψηλής περιεκτικότητας σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα για 28 ημέρες από 25 υγιείς άνδρες, μείωσε τις συγκεντρώσεις του PAI-1. Επιπλέον, οι Mezzano και συν. (2003) έδειξαν πως η κατανάλωση Μεσογειακής δίαιτας χωρίς την προσθήκη κρασιού δεν άλλαξε τις συγκεντρώσεις του PAI-1, ωστόσο όταν καταναλώνονταν επιπρόσθετα 240 mL κόκκινου κρασιού ημερησίως για 30 ημέρες, φάνηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις PAI-1 και tPA.

Στην παρούσα μελέτη υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί. Αρχικά, ένα σχετικά μεγάλο ποσοστό ατόμων εγκατέλειψε την ομάδα ελέγχου πριν την ολοκλήρωση της εξάμηνης μελέτης. Ωστόσο, η ανάλυση της πλειονότητας των δεδομένων πραγματοποιήθηκε μέσω της μεθόδου «πρόθεση για θεραπεία», συμπεριλαμβάνοντας όλο το δείγμα, ώστε να μην υπάρξει απώλεια στατιστικής ισχύος κατά τη διαδικασία εξαγωγής των αποτελεσμάτων. Παρόλα αυτά, οι αναλύσεις σχετικά με τους δείκτες ινωδόλυσης πραγματοποιήθηκαν μέσω της μεθόδου «βάσει πρωτοκόλλου», κατά την οποία δεν συμπεριλήφθηκαν οι εθελοντές, που εγκατέλειψαν την ομάδα ελέγχου, γεγονός που καθιστά τον αριθμό της ομάδας μικρό και πιθανώς να συμβάλλει στην απώλεια στατιστικής ισχύος. Επιπρόσθετα, η χρήση του FFQ, το οποίο περιλαμβάνει το σφάλμα ανάκλησης, μπορεί να αποτελέσει επιπλέον περιορισμό. Τέλος, η μελέτη χρησιμοποίησε, ως μέθοδο αξιολόγησης της βαρύτητας της νόσου, την ελαστογραφία ήπατος αντί της μεθόδου αναφοράς, της βιοψίας, αν και έχει φανεί πως μπορεί να αποτελέσει ένα αρκετά ακριβές εργαλείο (Paragianni et al., 2015). Παρόλα αυτά, η παρούσα μελέτη έχει σημαντικά πλεονεκτήματα. Σχεδιάστηκε ως μονά-τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή, γεγονός που μας επιτρέπει να εξάγουμε συμπεράσματα αιτίου-αποτελέσματος. Επιπλέον, φαίνεται πως αποτελεί την πρώτη κλινική δοκιμή, η οποία διερεύνησε την αποτελεσματικότητα παρεμβάσεων, που περιλαμβάνουν Μεσογειακή διατροφή και συνολικά Μεσογειακό τρόπο ζωής, παράλληλα με απώλεια βάρους, σε κλινικά χαρακτηριστικά και βιοχημικούς δείκτες, συμπεριλαμβανομένων των δεικτών ινωδόλυσης

Συμπερασματικά, εξάμηνη παρέμβαση, που περιλαμβάνει είτε την αύξηση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή δίαιτα αυτή καθ' αυτή είτε στον Μεσογειακό τρόπο ζωής, παράλληλα με απώλεια σωματικού βάρους, φάνηκε να βελτιώνει σημαντικά την ηπατική ακαμψία ασθενών με NAFLD, ενώ παρουσίασε τάσεις μείωσης των ηπατικών ενζύμων, συγκριτικά με τη συνήθη κλινική αντιμετώπιση. Ωστόσο, δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές στους δείκτες δραστηριότητας PAI-1 και tPA μεταξύ των ομάδων της μελέτης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ABDELMALEK, M. F., SUZUKI, A., GUY, C., UNALP-ARIDA, A., COLVIN, R., JOHNSON, R. J., DIEHL, A. M. & NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS CLINICAL RESEARCH, N. 2010. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 51, 1961-71.
- ADRIANO, L. S., SAMPAIO, H. A., ARRUDA, S. P., PORTELA, C. L., DE MELO, M. L. P., CARIOCA, A. A. & SOARES, N. T. 2016. Healthy dietary pattern is inversely associated with non-alcoholic fatty liver disease in elderly. *Br J Nutr*, 115, 2189-95.
- AJMERA, V., PERITO, E. R., BASS, N. M., TERRAULT, N. A., YATES, K. P., GILL, R., LOOMBA, R., DIEHL, A. M., AOUIZERAT, B. E. & NETWORK, N. C. R. 2017. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 65, 65-77.
- AL-HAMODI, Z., ISMAIL, I. S., SAIF-ALI, R., AHMED, K. A. & MUNIANDY, S. 2011. Association of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue plasminogen activator with type 2 diabetes and metabolic syndrome in Malaysian subjects. *Cardiovasc Diabetol*, 10, 23.
- ALESSI, M. C., BASTELICA, D., MORANGE, P., BERTHET, B., LEDUC, I., VERDIER, M., GEEL, O. & JUHAN-VAGUE, I. 2000. Plasminogen activator inhibitor 1, transforming growth factor-beta1, and BMI are closely associated in human adipose tissue during morbid obesity. *Diabetes*, 49, 1374-80.
- ALLARD, J. P., AGHDASSI, E., MOHAMMED, S., RAMAN, M., AVAND, G., ARENDT, B. M., JALALI, P., KANDASAMY, T., PRAYITNO, N., SHERMAN, M., GUINDI, M., MA, D. W. & HEATHCOTE, J. E. 2008. Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a cross-sectional study. *J Hepatol*, 48, 300-7.
- ANDERSSON, A., TENGBLAD, S., KARLSTROM, B., KAMAL-ELDIN, A., LANDBERG, R., BASU, S., AMAN, P. & VESSBY, B. 2007. Whole-grain foods do not affect insulin sensitivity or markers of lipid peroxidation and inflammation in healthy, moderately overweight subjects. *J Nutr*, 137, 1401-7.
- ASO, Y. 2007. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis. *Front Biosci*, 12, 2957-66.
- ASSY, N., NASSER, G., KAMAYSE, I., NSEIR, W., BENIASHVILI, Z., DJIBRE, A. & GROSOVSKI, M. 2008. Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *Can J Gastroenterol*, 22, 811-6.
- AVELLONE, G., DI GARBO, V., CAMPISI, D., DE SIMONE, R., RANELI, G., SCAGLIONE, R. & LICATA, G. 2006. Effects of moderate Sicilian red wine consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr*, 60, 41-7.
- AVELLONE, G., DI GARBO, V., CORDOVA, R., PANNO, A. V., VERGA, S. & BOMPIANI, G. 1997. [Food habits and cardiovascular risk factors in 2 population samples of western Sicily]. *Ann Ital Med Int*, 12, 210-6.
- BARBATO, A., IACONE, R., TARANTINO, G., RUSSO, O., SORRENTINO, P., AVALLONE, S., GALLETTI, F., FARINARO, E., DELLA VALLE, E., STRAZZULLO, P. & OLIVETTI HEART STUDY RESEARCH, G. 2009. Relationships of PAI-1 levels to central obesity and liver steatosis in a sample of adult male population in southern Italy. *Intern Emerg Med*, 4, 315-23.
- BARNARD, S. A., PIETERS, M. & DE LANGE, Z. 2016. The contribution of different adipose tissue depots to plasma plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. *Blood Rev*, 30, 421-429.

- BARRERA, F. & GEORGE, J. 2014. Prothrombotic factors and nonalcoholic fatty liver disease: an additional link to cardiovascular risk? *Hepatology*, 59, 16-8.
- BEDOSSA, P. 2016. Histological Assessment of NAFLD. *Dig Dis Sci*, 61, 1348-55.
- BEIER, J. I. & ARTEEL, G. E. 2012. Alcoholic liver disease and the potential role of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrin metabolism. *Exp Biol Med (Maywood)*, 237, 1-9.
- BENEDICT, M. & ZHANG, X. 2017. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol*, 9, 715-732.
- BILGILI, S., CELEBILER, A. C., DOGAN, A. & KARACA, B. 2008. Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients. *Endocr Regul*, 42, 63-8.
- BIRERDINC, A., STEPANOVA, M., PAWLOSKI, L. & YOUNOSSI, Z. M. 2012. Caffeine is protective in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 35, 76-82.
- BLACHIER, M., LELEU, H., PECK-RADOSAVLJEVIC, M., VALLA, D. C. & ROUDOT-THORAVALL, F. 2013. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*, 58, 593-608.
- BORON W.F., B. E. L. 2006. Αίμα-Αιμόσταση-Ανοσοποιητικό Σύστημα. In: M., K. (ed.) *Ιατρική Φυσιολογία', Κυτταρική και Μοριακή Προσέγγιση*. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.
- BRADFORD, V., DILLON, J. & MILLER, M. 2014. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepat Med*, 6, 1-10.
- BREA, A. & PUZO, J. 2013. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *Int J Cardiol*, 167, 1109-17.
- BROWNING, J. D., SZCZEPANIAK, L. S., DOBBINS, R., NUREMBERG, P., HORTON, J. D., COHEN, J. C., GRUNDY, S. M. & HOBBS, H. H. 2004. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 40, 1387-95.
- BRZEZINSKA-KOLARZ, B., KOLARZ, M., WALACH, A. & UNDAS, A. 2014. Weight reduction is associated with increased plasma fibrin clot lysis. *Clin Appl Thromb Hemost*, 20, 832-7.
- BUGIANESI, E., MOSCATIELLO, S., CIARAVELLA, M. F. & MARCHESINI, G. 2010. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des*, 16, 1941-51.
- BUSS, C., VALLE-TOVO, C., MIOZZO, S. & ALVES DE MATTOS, A. 2014. Probiotics and synbiotics may improve liver aminotransferases levels in non-alcoholic fatty liver disease patients. *Ann Hepatol*, 13, 482-8.
- BUZZETTI, E., PINZANI, M. & TSOCHATZIS, E. A. 2016. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 65, 1038-48.
- BYBERG, L., SMEDMAN, A., VESSBY, B. & LITHELL, H. 2001. Plasminogen activator inhibitor-1 and relations to fatty acid composition in the diet and in serum cholesterol esters. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 2086-92.
- BYRNE, C. D. & TARGHER, G. 2015. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*, 62, S47-64.
- CALDER, P. C. 2018. Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future. *Proc Nutr Soc*, 77, 52-72.
- CALLES-ESCANDON, J., BALLOR, D., HARVEY-BERINO, J., ADES, P., TRACY, R. & SOBEL, B. 1996. Amelioration of the inhibition of fibrinolysis in elderly, obese subjects by moderate energy intake restriction. *Am J Clin Nutr*, 64, 7-11.
- CALZADILLA BERTOT, L. & ADAMS, L. A. 2016. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*, 17.
- CASSINOTTO, C., BOURSIER, J., DE LEDINGHEN, V., LEBIGOT, J., LAPUYADE, B., CALES, P., HIRIART, J. B., MICHALAK, S., BAIL, B. L., CARTIER, V., MOURIES, A., OBERTI, F., FOUCHARD-HUBERT, I., VERGNIOL, J. & AUBE, C. 2016. Liver

- stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of supersonic shear imaging, FibroScan, and ARFI with liver biopsy. *Hepatology*, 63, 1817-27.
- CESARI, M., PAHOR, M. & INCALZI, R. A. 2010. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc Ther*, 28, e72-91.
- CHALASANI, N., YOUNOSSI, Z., LAVINE, J. E., DIEHL, A. M., BRUNT, E. M., CUSI, K., CHARLTON, M., SANYAL, A. J., AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER, D., AMERICAN COLLEGE OF, G. & AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL, A. 2012. 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. *Am J Gastroenterol*, 107, 811-26.
- CHAN, W. K., NIK MUSTAPHA, N. R. & MAHADEVA, S. 2015. A novel 2-step approach combining the NAFLD fibrosis score and liver stiffness measurement for predicting advanced fibrosis. *Hepatol Int*, 9, 594-602.
- CIGOLINI, M., TARGHER, G., AGOSTINO, G., TONOLI, M., MUGGEO, M. & DE SANDRE, G. 1996. Liver steatosis and its relation to plasma haemostatic factors in apparently healthy men--role of the metabolic syndrome. *Thromb Haemost*, 76, 69-73.
- COLWELL, J. A., HALUSHKA, P. V., SARJI, K., LEVINE, J., SAGEL, J. & NAIR, R. M. 1976. Altered platelet function in diabetes mellitus. *Diabetes*, 25, 826-31.
- CORTEZ-PINTO, H., JESUS, L., BARROS, H., LOPES, C., MOURA, M. C. & CAMILO, M. E. 2006. How different is the dietary pattern in non-alcoholic steatohepatitis patients? *Clin Nutr*, 25, 816-23.
- CRESPO, J., CAYON, A., FERNANDEZ-GIL, P., HERNANDEZ-GUERRA, M., MAYORGA, M., DOMINGUEZ-DIEZ, A., FERNANDEZ-ESCALANTE, J. C. & PONS-ROMERO, F. 2001. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology*, 34, 1158-63.
- CUSI, K. 2009. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*, 13, 545-63.
- DAY, C. P. & JAMES, O. F. 1998. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 114, 842-5.
- DE LUIS, D. A., ALLER, R., IZAOLA, O., GONZALEZ SAGRADO, M. & CONDE, R. 2010. Effect of two different hypocaloric diets in transaminases and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease and obese patients. *Nutr Hosp*, 25, 730-5.
- DE PIANO, A., PRADO, W. L., CARANTI, D. A., SIQUEIRA, K. O., STELLA, S. G., LOFRANO, M., TOCK, L., CRISTOFALO, D. M., LEDERMAN, H., TUFIK, S., DE MELLO, M. T. & DAMASO, A. R. 2007. Metabolic and nutritional profile of obese adolescents with nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 44, 446-52.
- DEVARAJ, S., CHAN, A. V., JR. & JIALAL, I. 2002. alpha-Tocopherol supplementation decreases plasminogen activator inhibitor-1 and P-selectin levels in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 25, 524-9.
- DEVARAJ, S., XU, D. Y. & JIALAL, I. 2003. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation*, 107, 398-404.
- DIEBOLD, I., KRAICUN, D., BONELLO, S. & GORLACH, A. 2008. The 'PAI-1 paradox' in vascular remodeling. *Thromb Haemost*, 100, 984-91.
- DIMMITT, S. B., RAKIC, V., PUDDEY, I. B., BAKER, R., OOSTRYCK, R., ADAMS, M. J., CHESTERMAN, C. N., BURKE, V. & BEILIN, L. J. 1998. The effects of alcohol on coagulation and fibrinolytic factors: a controlled trial. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 9, 39-45.

- DONGIOVANNI, P., PETTA, S., MAGLIO, C., FRACANZANI, A. L., PIPITONE, R., MOZZI, E., MOTTA, B. M., KAMINSKA, D., RAMETTA, R., GRIMAUDO, S., PELUSI, S., MONTALCINI, T., ALISI, A., MAGGIONI, M., KARJA, V., BOREN, J., KAKELA, P., DI MARCO, V., XING, C., NOBILI, V., DALLAPICCOLA, B., CRAXI, A., PIHLAJAMAKI, J., FARGION, S., SJOSTROM, L., CARLSSON, L. M., ROMEO, S. & VALENTI, L. 2015. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology*, 61, 506-14.
- DOWMAN, J. K., TOMLINSON, J. W. & NEWSOME, P. N. 2011. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 33, 525-40.
- DUNN, E. J. & GRANT, P. J. 2005. Type 2 diabetes: an atherothrombotic syndrome. *Curr Mol Med*, 5, 323-32.
- DYSON, J., JAKES, B., CHATTOPADYHAY, D., LOCHAN, R., GRAHAM, J., DAS, D., ASLAM, T., PATANWALA, I., GAGGAR, S., COLE, M., SUMPTER, K., STEWART, S., ROSE, J., HUDSON, M., MANAS, D. & REEVES, H. L. 2014. Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *J Hepatol*, 60, 110-7.
- EASL 2016. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Obes Facts*, 9, 65-90.
- ECKARD, C., COLE, R., LOCKWOOD, J., TORRES, D. M., WILLIAMS, C. D., SHAW, J. C. & HARRISON, S. A. 2013. Prospective histopathologic evaluation of lifestyle modification in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized trial. *Therap Adv Gastroenterol*, 6, 249-59.
- ERIKSSON, P., VAN HARMELEN, V., HOFFSTEDT, J., LUNDQUIST, P., VIDAL, H., STEMME, V., HAMSTEN, A., ARNER, P. & REYNISDOTTIR, S. 2000. Regional variation in plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipose tissue from obese individuals. *Thromb Haemost*, 83, 545-8.
- ESMON, C. T. & OWEN, W. G. 1981. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 78, 2249-52.
- FESTA, A., D'AGOSTINO, R., JR., MYKKANEN, L., TRACY, R. P., ZACCARO, D. J., HALES, C. N. & HAFFNER, S. M. 1999. Relative contribution of insulin and its precursors to fibrinogen and PAI-1 in a large population with different states of glucose tolerance. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19, 562-8.
- FESTA, A., D'AGOSTINO, R., JR., TRACY, R. P., HAFFNER, S. M. & INSULIN RESISTANCE ATHEROSCLEROSIS, S. 2002. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*, 51, 1131-7.
- FRACANZANI, A. L., VALENTI, L., BUGIANESI, E., ANDREOLETTI, M., COLLI, A., VANNI, E., BERTELLI, C., FATTA, E., BIGNAMINI, D., MARCHESINI, G. & FARGION, S. 2008. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*, 48, 792-8.
- FRANCHINI, M., TARGHER, G., MONTAGNANA, M. & LIPPI, G. 2008. The metabolic syndrome and the risk of arterial and venous thrombosis. *Thromb Res*, 122, 727-35.
- GALE, A. J. 2011. Current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol*, 39, 273-80.
- GEORGOULIS, M., KONTOGIANNI, M. D., MARGARITI, A., TINIAKOS, D., FRAGOPOULOU, E., ZAFIROPOULOU, R. & PAPATHEODORIDIS, G. 2015. Associations between dietary intake and the presence of the metabolic syndrome in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hum Nutr Diet*, 28, 409-15.

- GEORGOULIS, M., KONTOGIANNI, M. D., TILELI, N., MARGARITI, A., FRAGOPOULOU, E., TINIAKOS, D., ZAFIROPOULOU, R. & PAPTAEODORIDIS, G. 2014. The impact of cereal grain consumption on the development and severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Nutr*, 53, 1727-35.
- GHOSH, A. K. & VAUGHAN, D. E. 2012. PAI-1 in tissue fibrosis. *J Cell Physiol*, 227, 493-507.
- GLEN, J., FLOROS, L., DAY, C., PRYKE, R. & GUIDELINE DEVELOPMENT, G. 2016. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): summary of NICE guidance. *BMJ*, 354, i4428.
- GLOY, V. L., BRIEL, M., BHATT, D. L., KASHYAP, S. R., SCHAUER, P. R., MINGRONE, G., BUCHER, H. C. & NORDMANN, A. J. 2013. Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*, 347, f5934.
- GOTTSCHLING-ZELLER, H., ROHRIG, K. & HAUNER, H. 2000. Troglitazone reduces plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in cultured human adipocytes. *Diabetologia*, 43, 377-83.
- GREGOR, M. F. & HOTAMISLIGIL, G. S. 2007. Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *J Lipid Res*, 48, 1905-14.
- HANNAH, W. N., JR. & HARRISON, S. A. 2016. Lifestyle and Dietary Interventions in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*, 61, 1365-74.
- HANSEN, J., GRIMSGAARD, S., NORDOY, A. & BONAA, K. H. 2000. Dietary supplementation with highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid does not influence PAI-1 activity. *Thromb Res*, 98, 123-32.
- HAUFE, S., ENGELI, S., KAST, P., BOHNKE, J., UTZ, W., HAAS, V., HERMSDORF, M., MAHLER, A., WIESNER, S., BIRKENFELD, A. L., SELL, H., OTTO, C., MEHLING, H., LUFT, F. C., ECKEL, J., SCHULZ-MENGER, J., BOSCHMANN, M. & JORDAN, J. 2011. Randomized comparison of reduced fat and reduced carbohydrate hypocaloric diets on intrahepatic fat in overweight and obese human subjects. *Hepatology*, 53, 1504-14.
- HEALY, A. M. & GELEHRTER, T. D. 1994. Induction of plasminogen activator inhibitor-1 in HepG2 human hepatoma cells by mediators of the acute phase response. *J Biol Chem*, 269, 19095-100.
- HEGGEN, E., KLEMSDAL, T. O., HAUGEN, F., HOLME, I. & TONSTAD, S. 2012. Effect of a low-fat versus a low-glycemic-load diet on inflammatory biomarker and adipokine concentrations. *Metab Syndr Relat Disord*, 10, 437-42.
- HENDRIKS, H. F., VEENSTRA, J., VELTHUIS-TE WIERIK, E. J., SCHAAFSMA, G. & KLUFT, C. 1994. Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors. *BMJ*, 308, 1003-6.
- HERNAEZ, R., MCLEAN, J., LAZO, M., BRANCATI, F. L., HIRSCHHORN, J. N., BORECKI, I. B., HARRIS, T. B., GENETICS OF OBESITY-RELATED LIVER DISEASE, C., NGUYEN, T., KAMEL, I. R., BONEKAMP, S., EBERHARDT, M. S., CLARK, J. M., KAO, W. H. & SPELIOTES, E. K. 2013. Association between variants in or near PNPLA3, GCKR, and PPP1R3B with ultrasound-defined steatosis based on data from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 11, 1183-1190 e2.
- HOLZBERG, J. R., JIN, R., LE, N. A., ZIEGLER, T. R., BRUNT, E. M., MCCLAIN, C. J., KONOMI, J. V., ARTEEL, G. E. & VOS, M. B. 2016. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Predicts Quantity of Hepatic Steatosis Independent of Insulin Resistance and Body Weight. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 62, 819-23.

- HSIEH, S. D., MUTO, T., MURASE, T., TSUJI, H. & ARASE, Y. 2011. Association of short sleep duration with obesity, diabetes, fatty liver and behavioral factors in Japanese men. *Intern Med*, 50, 2499-502.
- HYPPONEN, E., BERRY, D., CORTINA-BORJA, M. & POWER, C. 2010. 25-Hydroxyvitamin D and pre-clinical alterations in inflammatory and hemostatic markers: a cross sectional analysis in the 1958 British Birth Cohort. *PLoS One*, 5, e10801.
- IKRAMUDDIN, S., KORNER, J., LEE, W. J., CONNETT, J. E., INABNET, W. B., BILLINGTON, C. J., THOMAS, A. J., LESLIE, D. B., CHONG, K., JEFFERY, R. W., AHMED, L., VELLA, A., CHUANG, L. M., BESSLER, M., SARR, M. G., SWAIN, J. M., LAQUA, P., JENSEN, M. D. & BANTLE, J. P. 2013. Roux-en-Y gastric bypass vs intensive medical management for the control of type 2 diabetes, hypertension, and hyperlipidemia: the Diabetes Surgery Study randomized clinical trial. *JAMA*, 309, 2240-9.
- IMAIZUMI, H., TAKAHASHI, A., TANJI, N., ABE, K., SATO, Y., ANZAI, Y., WATANABE, H. & OHIRA, H. 2015. The Association between Sleep Duration and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease among Japanese Men and Women. *Obes Facts*, 8, 234-42.
- JARVI, A., KARLSTROM, B., VESSBY, B. & BECKER, W. 2016. Increased intake of fruits and vegetables in overweight subjects: effects on body weight, body composition, metabolic risk factors and dietary intake. *Br J Nutr*, 115, 1760-8.
- JENSEN, L., SLOTH, B., KROG-MIKKELSEN, I., FLINT, A., RABEN, A., THOLSTRUP, T., BRUNNER, N. & ASTRUP, A. 2008. A low-glycemic-index diet reduces plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity, but not tissue inhibitor of proteinases-1 or plasminogen activator inhibitor-1 protein, in overweight women. *Am J Clin Nutr*, 87, 97-105.
- JIA, Q., XIA, Y., ZHANG, Q., WU, H., DU, H., LIU, L., WANG, C., SHI, H., GUO, X., LIU, X., LI, C., SUN, S., WANG, X., ZHAO, H., SONG, K., HUANG, G., WU, Y., CUI, N. & NIU, K. 2015. Dietary patterns are associated with prevalence of fatty liver disease in adults. *Eur J Clin Nutr*, 69, 914-21.
- JORDE, R., HAUG, E., FIGENSCHAU, Y. & HANSEN, J. B. 2007. Serum levels of vitamin D and haemostatic factors in healthy subjects: the Tromso study. *Acta Haematol*, 117, 91-7.
- JORDE, R., SNEVE, M., TORJESEN, P., FIGENSCHAU, Y. & HANSEN, J. B. 2010. Parameters of the thrombogram are associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels at baseline, but not affected during supplementation with vitamin D. *Thromb Res*, 125, e210-3.
- JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M. C., MAVRI, A. & MORANGE, P. E. 2003. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost*, 1, 1575-9.
- KALIA, H. S. & GAGLIO, P. J. 2016. The Prevalence and Pathobiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients of Different Races or Ethnicities. *Clin Liver Dis*, 20, 215-24.
- KATSAGONI, C. N., EGKOMITI, A., PAPAGEORGIOU, M., IOANNIDOU, P., FRAGOPOULOU, E., PAPATHEODORIDIS, G. & KONTOGIANNI, M. 2016. Improvement in liver function after an intervention based on the Mediterranean diet in patients with non alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Clin Nutr ESPEN*, 13, e57.
- KATSAGONI, C. N., GEORGOULIS, M., PAPATHEODORIDIS, G. V., FRAGOPOULOU, E., IOANNIDOU, P., PAPAGEORGIOU, M., ALEXOPOULOU, A., PAPADOPOULOS, N., DEUTSCH, M. & KONTOGIANNI, M. D. 2017a. Associations Between Lifestyle Characteristics and the Presence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Case-Control Study. *Metab Syndr Relat Disord*, 15, 72-79.
- KATSAGONI, C. N., GEORGOULIS, M., PAPATHEODORIDIS, G. V., PANAGIOTAKOS, D. B. & KONTOGIANNI, M. D. 2017b. Effects of lifestyle interventions on clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Metabolism*, 68, 119-132.

- KATSAGONI, C. N., PAPATHEODORIDIS, G. V., PAPAGEORGIOU, M. V., IOANNIDOU, P., DEUTSCH, M., ALEXOPOULOU, A., PAPADOPOULOS, N., FRAGOPOULOU, E. & KONTOGIANNI, M. D. 2017c. A "healthy diet-optimal sleep" lifestyle pattern is inversely associated with liver stiffness and insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Appl Physiol Nutr Metab*, 42, 250-256.
- KEATING, S. E., HACKETT, D. A., GEORGE, J. & JOHNSON, N. A. 2012. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*, 57, 157-66.
- KIM, C. W., YUN, K. E., JUNG, H. S., CHANG, Y., CHOI, E. S., KWON, M. J., LEE, E. H., WOO, E. J., KIM, N. H., SHIN, H. & RYU, S. 2013. Sleep duration and quality in relation to non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged workers and their spouses. *J Hepatol*, 59, 351-7.
- KIM, Y., KEOGH, J. B. & CLIFTON, P. M. 2017. Effects of Two Different Dietary Patterns on Inflammatory Markers, Advanced Glycation End Products and Lipids in Subjects without Type 2 Diabetes: A Randomised Crossover Study. *Nutrients*, 9.
- KIRCHHOFFER, D. & NEMERSON, Y. 1996. Initiation of blood coagulation: the tissue factor/factor VIIa complex. *Curr Opin Biotechnol*, 7, 386-91.
- KIRPICH, I. A., MARSANO, L. S. & MCCLAIN, C. J. 2015. Gut-liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*, 48, 923-30.
- KNEEMAN, J. M., MISDRAJI, J. & COREY, K. E. 2012. Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol*, 5, 199-207.
- KOHLER, H. P. & GRANT, P. J. 2000. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 342, 1792-801.
- KOIKE, C., HAYAKAWA, Y., NIIYA, K., SAKURAGAWA, N. & SASAKI, H. 1996. The production of heparin cofactor II is not regulated by inflammatory cytokines in human hepatoma cells: comparison with plasminogen activator inhibitor type-1. *Thromb Haemost*, 75, 298-302.
- KONTOGIANNI, M. D., TILELI, N., MARGARITI, A., GEORGOULIS, M., DEUTSCH, M., TINIAKOS, D., FRAGOPOULOU, E., ZAFIROPOULOU, R., MANIOS, Y. & PAPATHEODORIDIS, G. 2014. Adherence to the Mediterranean diet is associated with the severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Nutr*, 33, 678-83.
- KOTRONEN, A., WESTERBACKA, J., BERGHOLM, R., PIETILAINEN, K. H. & YKI-JARVINEN, H. 2007. Liver fat in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 92, 3490-7.
- KOZLITINA, J., SMAGRIS, E., STENDER, S., NORDESTGAARD, B. G., ZHOU, H. H., TYBJAERG-HANSEN, A., VOGT, T. F., HOBBS, H. H. & COHEN, J. C. 2014. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*, 46, 352-6.
- KRAJA, A. T., PROVINCE, M. A., ARNETT, D., WAGENKNECHT, L., TANG, W., HOPKINS, P. N., DJOUSSE, L. & BORECKI, I. B. 2007. Do inflammation and procoagulation biomarkers contribute to the metabolic syndrome cluster? *Nutr Metab (Lond)*, 4, 28.
- KRAWCZYK, M., BONFRATE, L. & PORTINCASA, P. 2010. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 24, 695-708.
- KRISTENSEN, M. & BUGEL, S. 2011. A diet rich in oat bran improves blood lipids and hemostatic factors, and reduces apparent energy digestibility in young healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr*, 65, 1053-8.
- LANE, D. A., PHILIPPOU, H. & HUNTINGTON, J. A. 2005. Directing thrombin. *Blood*, 106, 2605-12.
- LEE, K. W. & LIP, G. Y. 2003. Effects of lifestyle on hemostasis, fibrinolysis, and platelet reactivity: a systematic review. *Arch Intern Med*, 163, 2368-92.

- LEE, S., CURB, J. D., KADOWAKI, T., EVANS, R. W., MIURA, K., TAKAMIYA, T., SHIN, C., EL-SAED, A., CHOO, J., FUJIYOSHI, A., OTAKE, T., KADOWAKI, S., SETO, T., MASAKI, K., EDMUNDOWICZ, D., UESHIMA, H., KULLER, L. H. & SEKIKAWA, A. 2012. Significant inverse associations of serum n-6 fatty acids with plasma plasminogen activator inhibitor-1. *Br J Nutr*, 107, 567-72.
- LI, L., LIU, D. W., YAN, H. Y., WANG, Z. Y., ZHAO, S. H. & WANG, B. 2016. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies. *Obes Rev*, 17, 510-9.
- LIJNEN, H. R. 2009. Role of fibrinolysis in obesity and thrombosis. *Thromb Res*, 123 Suppl 4, S46-9.
- LINDAHL, B., NILSSON, T. K., JANSSON, J. H., ASPLUND, K. & HALLMANS, G. 1999. Improved fibrinolysis by intense lifestyle intervention. A randomized trial in subjects with impaired glucose tolerance. *J Intern Med*, 246, 105-12.
- LONARDO, A., BALLESTRI, S., MARCHESINI, G., ANGULO, P. & LORIA, P. 2015. Nonalcoholic fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome. *Dig Liver Dis*, 47, 181-90.
- LOOTS, D., OOSTHUIZEN, W., PIETERS, M., SPIES, C. & VORSTER, H. H. 2004. Foodstate vitamin C complex may beneficially affect haemostasis and fibrin network structure in hyperlipidaemic patients. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 15, 677-85.
- LOPEZ-SEGURA, F., VELASCO, F., LOPEZ-MIRANDA, J., CASTRO, P., LOPEZ-PEDRERA, R., BLANCO, A., JIMENEZ-PEREPEPEREZ, J., TORRES, A., TRUJILLO, J., ORDOVAS, J. M. & PEREZ-JIMENEZ, F. 1996. Monounsaturated fatty acid-enriched diet decreases plasma plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 16, 82-8.
- LOPEZ-VELAZQUEZ, J. A., SILVA-VIDAL, K. V., PONCIANO-RODRIGUEZ, G., CHAVEZ-TAPIA, N. C., ARRESE, M., URIBE, M. & MENDEZ-SANCHEZ, N. 2014. The prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the Americas. *Ann Hepatol*, 13, 166-78.
- LUDWIG, J., VIGGIANO, T. R., MCGILL, D. B. & OH, B. J. 1980. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 55, 434-8.
- LUNDBLAD, D., DINESEN, B., RAUTIO, A., RODER, M. E. & ELIASSON, M. 2005. Low level of tissue plasminogen activator activity in non-diabetic patients with a first myocardial infarction. *J Intern Med*, 258, 13-20.
- MA, L. J., MAO, S. L., TAYLOR, K. L., KANJANABUCH, T., GUAN, Y., ZHANG, Y., BROWN, N. J., SWIFT, L. L., MCGUINNESS, O. P., WASSERMAN, D. H., VAUGHAN, D. E. & FOGO, A. B. 2004. Prevention of obesity and insulin resistance in mice lacking plasminogen activator inhibitor 1. *Diabetes*, 53, 336-46.
- MACKAY, K. A., TUCKER, A. J., DUNCAN, A. M., GRAHAM, T. E. & ROBINSON, L. E. 2012. Whole grain wheat sourdough bread does not affect plasminogen activator inhibitor-1 in adults with normal or impaired carbohydrate metabolism. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 22, 704-11.
- MANSVELT E.P.G, F. E., BLACKHURST D., KOTZE T., STOFBERG H., VAN DER MERWE S., KOTZE M.J., VAN VELDEN D.P 2007. The influence of a Mediterranean Diet with and without Red Wine on the Haemostatic and Inflammatory Parameters of Subjects with the Metabolic Syndrome. *SAJEV*, 28.
- MARCHESINI, G., BRIZI, M., BIANCHI, G., TOMASSETTI, S., BUGIANESI, E., LENZI, M., MCCULLOUGH, A. J., NATALE, S., FORLANI, G. & MELCHIONDA, N. 2001. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*, 50, 1844-50.

- MARCHESINI, G., PETTA, S. & DALLE GRAVE, R. 2016. Diet, weight loss, and liver health in nonalcoholic fatty liver disease: Pathophysiology, evidence, and practice. *Hepatology*, 63, 2032-43.
- MARCKMANN, P., JESPERSEN, J., LETH, T. & SANDSTROM, B. 1991. Effect of fish diet versus meat diet on blood lipids, coagulation and fibrinolysis in healthy young men. *J Intern Med*, 229, 317-23.
- MARCKMANN, P., SANDSTROM, B. & JESPERSEN, J. 1993. Favorable long-term effect of a low-fat/high-fiber diet on human blood coagulation and fibrinolysis. *Arterioscler Thromb*, 13, 505-11.
- MASTERS, R. C., LIESE, A. D., HAFFNER, S. M., WAGENKNECHT, L. E. & HANLEY, A. J. 2010. Whole and refined grain intakes are related to inflammatory protein concentrations in human plasma. *J Nutr*, 140, 587-94.
- MASTERTON, G. S., PLEVRIS, J. N. & HAYES, P. C. 2010. Review article: omega-3 fatty acids - a promising novel therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 31, 679-92.
- MASUOKA, H. C. & CHALASANI, N. 2013. Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging threat to obese and diabetic individuals. *Ann N Y Acad Sci*, 1281, 106-22.
- MATTHEWS, D. R., HOSKER, J. P., RUDENSKI, A. S., NAYLOR, B. A., TREACHER, D. F. & TURNER, R. C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28, 412-9.
- MCCARTHY, E. M. & RINELLA, M. E. 2012. The role of diet and nutrient composition in nonalcoholic Fatty liver disease. *J Acad Nutr Diet*, 112, 401-9.
- MCPHERSON, S., HARDY, T., HENDERSON, E., BURT, A. D., DAY, C. P. & ANSTEE, Q. M. 2015. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*, 62, 1148-55.
- MEIGS, J. B., MITTLEMAN, M. A., NATHAN, D. M., TOFLER, G. H., SINGER, D. E., MURPHY-SHEEHY, P. M., LIPINSKA, I., D'AGOSTINO, R. B. & WILSON, P. W. 2000. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study. *JAMA*, 283, 221-8.
- MELTZER, M. E., DOGGEN, C. J., DE GROOT, P. G., ROSENDAL, F. R. & LISMAN, T. 2010. Plasma levels of fibrinolytic proteins and the risk of myocardial infarction in men. *Blood*, 116, 529-36.
- MERTENS, I., BALLAUX, D., FUNAHASHI, T., MATSUZAWA, Y., VAN DER PLANKEN, M., VERRIJKEN, A., RUIGE, J. B. & VAN GAAL, L. F. 2005. Inverse relationship between plasminogen activator inhibitor-I activity and adiponectin in overweight and obese women. Interrelationship with visceral adipose tissue, insulin resistance, HDL-cholesterol and inflammation. *Thromb Haemost*, 94, 1190-5.
- MEZZANO, D. & LEIGHTON, F. 2003. Haemostatic cardiovascular risk factors: differential effects of red wine and diet on healthy young. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 33, 472-8.
- MIELE, L. & TARGHER, G. 2015. Understanding the association between developing a fatty liver and subsequent cardio-metabolic complications. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 9, 1243-5.
- MILIC, S., LULIC, D. & STIMAC, D. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol*, 20, 9330-7.
- MINGARRO-DE-LEON, A. & CHAVELI-LOPEZ, B. 2013. Alternative to oral dicoumarin anticoagulants: Considerations in dental care. *J Clin Exp Dent*, 5, e273-8.
- MUSSO, G., CASSADER, M., ROSINA, F. & GAMBINO, R. 2012. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia*, 55, 885-904.

- MUSSO, G., GAMBINO, R. & CASSADER, M. 2010. Non-alcoholic fatty liver disease from pathogenesis to management: an update. *Obes Rev*, 11, 430-45.
- MUSSO, G., GAMBINO, R., CASSADER, M. & PAGANO, G. 2011. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*, 43, 617-49.
- MUSSO, G., GAMBINO, R., DE MICHELIELI, F., BIROLI, G., PREMOLI, A., PAGANO, G., BO, S., DURAZZO, M. & CASSADER, M. 2007. Nitrosative stress predicts the presence and severity of nonalcoholic fatty liver at different stages of the development of insulin resistance and metabolic syndrome: possible role of vitamin A intake. *Am J Clin Nutr*, 86, 661-71.
- MUSSO, G., GAMBINO, R., DE MICHELIELI, F., CASSADER, M., RIZZETTO, M., DURAZZO, M., FAGA, E., SILLI, B. & PAGANO, G. 2003. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 37, 909-16.
- MUSSO, G., GAMBINO, R., TABIBIAN, J. H., EKSTEDT, M., KECHAGIAS, S., HAMAGUCHI, M., HULTCRANTZ, R., HAGSTROM, H., YOON, S. K., CHARATCHAROENWITTHAYA, P., GEORGE, J., BARRERA, F., HAFLIETHADOTTIR, S., BJORNSSON, E. S., ARMSTRONG, M. J., HOPKINS, L. J., GAO, X., FRANQUE, S., VERRIJEN, A., YILMAZ, Y., LINDOR, K. D., CHARLTON, M., HARING, R., LERCH, M. M., RETTIG, R., VOLZKE, H., RYU, S., LI, G., WONG, L. L., MACHADO, M., CORTEZ-PINTO, H., YASUI, K. & CASSADER, M. 2014. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*, 11, e1001680.
- NEWTON, J. L., JONES, D. E., HENDERSON, E., KANE, L., WILTON, K., BURT, A. D. & DAY, C. P. 2008. Fatigue in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is significant and associates with inactivity and excessive daytime sleepiness but not with liver disease severity or insulin resistance. *Gut*, 57, 807-13.
- NILSSON, I. M., LJUNGNER, H. & TENGBORN, L. 1985. Two different mechanisms in patients with venous thrombosis and defective fibrinolysis: low concentration of plasminogen activator or increased concentration of plasminogen activator inhibitor. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 290, 1453-6.
- OISHI, K. 2009. Plasminogen activator inhibitor-1 and the circadian clock in metabolic disorders. *Clin Exp Hypertens*, 31, 208-19.
- OLIVEIRA, C. P., DE LIMA SANCHES, P., DE ABREU-SILVA, E. O. & MARCADENTI, A. 2016. Nutrition and Physical Activity in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Diabetes Res*, 2016, 4597246.
- OLIVER, J. J., WEBB, D. J. & NEWBY, D. E. 2005. Stimulated tissue plasminogen activator release as a marker of endothelial function in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 2470-9.
- OOSTHUIZEN, W., SCHOLTZ, C. S., VORSTER, H. H., JERLING, J. C. & VERMAAK, W. J. 2000. Extruded dry beans and serum lipoprotein and plasma haemostatic factors in hyperlipidaemic men. *Eur J Clin Nutr*, 54, 373-9.
- PANAGIOTAKOS, D. B., MILIAS, G. A., PITSAVOS, C. & STEFANADIS, C. 2006. MedDietScore: a computer program that evaluates the adherence to the Mediterranean dietary pattern and its relation to cardiovascular disease risk. *Comput Methods Programs Biomed*, 83, 73-7.
- PANG, Q., QU, K. & LIU, C. 2015. Central obesity early in adulthood may affect outcomes of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 149, 1642-3.
- PAPAGIANNI, M., SOFOGIANNI, A. & TZIOMALOS, K. 2015. Non-invasive methods for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 7, 638-48.
- PEREZ-JIMENEZ, F., CASTRO, P., LOPEZ-MIRANDA, J., PAZ-ROJAS, E., BLANCO, A., LOPEZ-SEGURA, F., VELASCO, F., MARIN, C., FUENTES, F. & ORDOVAS, J. M.

1999. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis*, 145, 351-8.
- PEREZ-JIMENEZ, F., LOPEZ-MIRANDA, J. & MATA, P. 2002. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis*, 163, 385-98.
- PERSEGHIN, G., LATTUADA, G., DE COBELLI, F., RAGOGNA, F., NTALI, G., ESPOSITO, A., BELLONI, E., CANU, T., TERRUZZI, I., SCIFO, P., DEL MASCHIO, A. & LUZI, L. 2007. Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. *Diabetes Care*, 30, 683-8.
- PETEMEL P., S. M., MAVRI A., SALOBIR-PAJNIC B., 1994. The effect of fasting and/or body weight reduction on tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor (PAI-1). *Fibrinolysis*, Volume 8, Supplement 2, Pages 41-43.
- PHELAN M, K. D. K. 2014. The Role of Plasminogen Activator Inhibitor-1 in the Metabolic Syndrome and Its Regulation. *Journal of Food Research*, 3.
- PIETERS, M. & DE MAAT, M. P. 2015. Diet and haemostasis - a comprehensive overview. *Blood Rev*, 29, 231-41.
- PIKAAR, N. A., WEDEL, M., VAN DER BEEK, E. J., VAN DOKKUM, W., KEMPEN, H. J., KLUFT, C., OCKHUIZEN, T. & HERMUS, R. J. 1987. Effects of moderate alcohol consumption on platelet aggregation, fibrinolysis, and blood lipids. *Metabolism*, 36, 538-43.
- POLYZOS, S. A., KOUNTOURAS, J., ZAVOS, C. & STERGIOPOULOS, C. 2010a. Adipocytokines in insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease: the two sides of the same coin. *Med Hypotheses*, 74, 1089-90.
- POLYZOS, S. A., KOUNTOURAS, J., ZAVOS, C. & TSIAOUSHI, E. 2010b. The role of adiponectin in the pathogenesis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes Metab*, 12, 365-83.
- POTZE, W., SIDDIQUI, M. S., BOYETT, S. L., ADELMER, J., DAITA, K., SANYAL, A. J. & LISMAN, T. 2016. Preserved hemostatic status in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 65, 980-987.
- POTZE, W., SIDDIQUI, M. S. & SANYAL, A. J. 2015. Vascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Thromb Hemost*, 41, 488-93.
- PROMRAT, K., KLEINER, D. E., NIEMEIER, H. M., JACKVONY, E., KEARNS, M., WANDS, J. R., FAVA, J. L. & WING, R. R. 2010. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 51, 121-9.
- RAFIQ, N. & YOUNOSSE, Z. M. 2008. Effects of weight loss on nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*, 28, 427-33.
- RANKINEN, T., RAURAMAA, R., VAISANEN, S., PENTTILA, I. M. & UUSITUPA, M. 1994. Relation of habitual diet and cardiorespiratory fitness to blood coagulation and fibrinolytic factors. *Thromb Haemost*, 71, 180-3.
- RATZIU, V., BELLENTANI, S., CORTEZ-PINTO, H., DAY, C. & MARCHESINI, G. 2010. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol*, 53, 372-84.
- REGA, G., KAUN, C., WEISS, T. W., DEMYANETS, S., ZORN, G., KASTL, S. P., STEINER, S., SEIDINGER, D., KOPP, C. W., FREY, M., ROEHLE, R., MAURER, G., HUBER, K. & WOJTA, J. 2005. Inflammatory cytokines interleukin-6 and oncostatin m induce plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue. *Circulation*, 111, 1938-45.
- RICHARD, C., ROYER, M. M., COUTURE, P., CIANFLONE, K., REZVANI, R., DESROCHES, S. & LAMARCHE, B. 2013. Effect of the Mediterranean diet on plasma adipokine concentrations in men with metabolic syndrome. *Metabolism*, 62, 1803-10.
- RINELLA, M. E. 2015. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*, 313, 2263-73.

- RIZKALLA, S. W., TAGHRID, L., LAROMIGUIERE, M., HUET, D., BOILLOT, J., RIGOIR, A., ELGRABLY, F. & SLAMA, G. 2004. Improved plasma glucose control, whole-body glucose utilization, and lipid profile on a low-glycemic index diet in type 2 diabetic men: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*, 27, 1866-72.
- ROMEO, S., KOZLITINA, J., XING, C., PERTSEMLIDIS, A., COX, D., PENNACCHIO, L. A., BOERWINKLE, E., COHEN, J. C. & HOBBS, H. H. 2008. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*, 40, 1461-5.
- ROSS, A. B., GODIN, J. P., MINEHIRA, K. & KIRWAN, J. P. 2013. Increasing whole grain intake as part of prevention and treatment of nonalcoholic Fatty liver disease. *Int J Endocrinol*, 2013, 585876.
- RYAN, M. C., ITSIOPOULOS, C., THODIS, T., WARD, G., TROST, N., HOFFERBERTH, S., O'DEA, K., DESMOND, P. V., JOHNSON, N. A. & WILSON, A. M. 2013. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 59, 138-43.
- RYU, S., CHANG, Y., JUNG, H. S., YUN, K. E., KWON, M. J., CHOI, Y., KIM, C. W., CHO, J., SUH, B. S., CHO, Y. K., CHUNG, E. C., SHIN, H. & KIM, Y. S. 2015. Relationship of sitting time and physical activity with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 63, 1229-37.
- SATAPATHY, S. K. & SANYAL, A. J. 2015. Epidemiology and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis*, 35, 221-35.
- SATO, K., GOSHO, M., YAMAMOTO, T., KOBAYASHI, Y., ISHII, N., OHASHI, T., NAKADE, Y., ITO, K., FUKUZAWA, Y. & YONEDA, M. 2015. Vitamin E has a beneficial effect on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition*, 31, 923-30.
- SATTAR, N., FORREST, E. & PREISS, D. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMJ*, 349, g4596.
- SAWDEY, M. S. & LOSKUTOFF, D. J. 1991. Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in vivo. Tissue specificity and induction by lipopolysaccharide, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta. *J Clin Invest*, 88, 1346-53.
- SAYINER, M., KOENIG, A., HENRY, L. & YOUNOSSI, Z. M. 2016. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clin Liver Dis*, 20, 205-14.
- SCARABIN, P. Y., AILLAUD, M. F., LUC, G., LACROIX, B., MENNEN, L., AMOUYEL, P., EVANS, A., FERRIERES, J., ARVEILER, D., JUHAN-VAGUE, I. & GROUP, P. S. 2001. Haemostasis in relation to dietary fat as estimated by erythrocyte fatty acid composition: the prime study. *Thromb Res*, 102, 285-93.
- SCORLETTI, E. & BYRNE, C. D. 2013. Omega-3 fatty acids, hepatic lipid metabolism, and nonalcoholic fatty liver disease. *Annu Rev Nutr*, 33, 231-48.
- SEKI, T. & GELEHRTER, T. D. 1996. Interleukin-1 induction of type-1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) gene expression in the mouse hepatocyte line, AML 12. *J Cell Physiol*, 168, 648-56.
- SHEN, N., WANG, P. & YAN, W. 2016. Sleep Duration and the Risk of Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sci Rep*, 6, 31956.
- SINGH, S., ALLEN, A. M., WANG, Z., PROKOP, L. J., MURAD, M. H. & LOOMBA, R. 2015. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 13, 643-54 e1-9; quiz e39-40.
- SKRHA, J., SINDELKA, G., KVASNICKA, J. & HILGERTOVA, J. 1999. Insulin action and fibrinolysis influenced by vitamin E in obese Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 44, 27-33.

- SMITH, A., PATTERSON, C., YARNELL, J., RUMLEY, A., BEN-SHLOMO, Y. & LOWE, G. 2005. Which hemostatic markers add to the predictive value of conventional risk factors for coronary heart disease and ischemic stroke? The Caerphilly Study. *Circulation*, 112, 3080-7.
- SOBEL, B. E. 1999. Increased plasminogen activator inhibitor-1 and vasculopathy. A reconcilable paradox. *Circulation*, 99, 2496-8.
- SONG, C., BURGESS, S., EICHER, J. D., O'DONNELL, C. J. & JOHNSON, A. D. 2017. Causal Effect of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 on Coronary Heart Disease. *J Am Heart Assoc*, 6.
- SOOKOIAN, S., CASTANO, G. O., BURGUENO, A. L., ROSSELLI, M. S., GIANOTTI, T. F., MALLARDI, P., MARTINO, J. S. & PIROLA, C. J. 2010. Circulating levels and hepatic expression of molecular mediators of atherosclerosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*, 209, 585-91.
- SOOKOIAN, S., CASTANO, G. O., SCIAN, R., MALLARDI, P., FERNANDEZ GIANOTTI, T., BURGUENO, A. L., SAN MARTINO, J. & PIROLA, C. J. 2015. Genetic variation in transmembrane 6 superfamily member 2 and the risk of nonalcoholic fatty liver disease and histological disease severity. *Hepatology*, 61, 515-25.
- ST GEORGE, A., BAUMAN, A., JOHNSTON, A., FARRELL, G., CHEY, T. & GEORGE, J. 2009. Independent effects of physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 50, 68-76.
- SUN, D. Q., LIU, W. Y., WU, S. J., ZHU, G. Q., BRADDOCK, M., ZHANG, D. C., SHI, K. Q., SONG, D. & ZHENG, M. H. 2016. Increased levels of low-density lipoprotein cholesterol within the normal range as a risk factor for nonalcoholic fatty liver disease. *Oncotarget*, 7, 5728-37.
- SUNDELL, I. B. & RANBY, M. 1993. Oat husk fiber decreases plasminogen activator inhibitor type 1 activity. *Haemostasis*, 23, 45-50.
- SUNG, K. C., WILD, S. H. & BYRNE, C. D. 2014. Development of new fatty liver, or resolution of existing fatty liver, over five years of follow-up, and risk of incident hypertension. *J Hepatol*, 60, 1040-5.
- TARGHER, G., BERTOLINI, L., PADOVANI, R., RODELLA, S., TESSARI, R., ZENARI, L., DAY, C. & ARCARO, G. 2007a. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 30, 1212-8.
- TARGHER, G., BERTOLINI, L., SCALA, L., ZENARI, L., LIPPI, G., FRANCHINI, M. & ARCARO, G. 2007b. Plasma PAI-1 levels are increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes Care*, 30, e31-2.
- TARGHER, G., BERTOLINI, L., SCALA, L., ZOPPINI, G., ZENARI, L. & FALEZZA, G. 2005. Non-alcoholic hepatic steatosis and its relation to increased plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in non-diabetic men. Role of visceral adipose tissue. *Diabet Med*, 22, 1354-8.
- TARGHER, G., DAY, C. P. & BONORA, E. 2010. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 363, 1341-50.
- TENDLER, D., LIN, S., YANCY, W. S., JR., MAVROPOULOS, J., SYLVESTRE, P., ROCKEY, D. C. & WESTMAN, E. C. 2007. The effect of a low-carbohydrate, ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Dig Dis Sci*, 52, 589-93.
- THOGERSEN, A. M., NILSSON, T. K., WEINEHALL, L., BOMAN, K., ELIASSON, M., HALLMANS, G. & JANSSON, J. H. 2009. Changes in plasma C-reactive protein and hemostatic factors prior to and after a first myocardial infarction with a median follow-up time of 8 years. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 20, 340-6.
- THUY, S., LADURNER, R., VOLYNETS, V., WAGNER, S., STRAHL, S., KONIGSRAINER, A., MAIER, K. P., BISCHOFF, S. C. & BERGHEIM, I. 2008. Nonalcoholic fatty liver

- disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr*, 138, 1452-5.
- TILG, H. & MOSCHEN, A. R. 2010. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, 52, 1836-46.
- TJARNLUND-WOLF, A., BROGREN, H., LO, E. H. & WANG, X. 2012. Plasminogen activator inhibitor-1 and thrombotic cerebrovascular diseases. *Stroke*, 43, 2833-9.
- TOFLER, G. H., MASSARO, J., O'DONNELL, C. J., WILSON, P. W. F., VASAN, R. S., SUTHERLAND, P. A., MEIGS, J. B., LEVY, D. & D'AGOSTINO, R. B., SR. 2016. Plasminogen activator inhibitor and the risk of cardiovascular disease: The Framingham Heart Study. *Thromb Res*, 140, 30-35.
- TOFLER, G. H., STEC, J. J., STUBBE, I., BEADLE, J., FENG, D., LIPINSKA, I. & TAYLOR, A. 2000. The effect of vitamin C supplementation on coagulability and lipid levels in healthy male subjects. *Thromb Res*, 100, 35-41.
- TOMITA, K., TAMIYA, G., ANDO, S., OHSUMI, K., CHIYO, T., MIZUTANI, A., KITAMURA, N., TODA, K., KANEKO, T., HORIE, Y., HAN, J. Y., KATO, S., SHIMODA, M., OIKE, Y., TOMIZAWA, M., MAKINO, S., OHKURA, T., SAITO, H., KUMAGAI, N., NAGATA, H., ISHII, H. & HIBI, T. 2006. Tumour necrosis factor alpha signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Gut*, 55, 415-24.
- TORRES, D. M. & HARRISON, S. A. 2013. Noninvasive methods of assessing nonalcoholic fatty liver disease: what the clinician needs to know. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 11, 1205-7.
- TROVATO, F. M., CATALANO, D., MARTINES, G. F., PACE, P. & TROVATO, G. M. 2015. Mediterranean diet and non-alcoholic fatty liver disease: the need of extended and comprehensive interventions. *Clin Nutr*, 34, 86-8.
- TUYAMA, A. C. & CHANG, C. Y. 2012. Non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes*, 4, 266-80.
- UENO, T., SUGAWARA, H., SUJAKU, K., HASHIMOTO, O., TSUJI, R., TAMAKI, S., TORIMURA, T., INUZUKA, S., SATA, M. & TANIKAWA, K. 1997. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. *J Hepatol*, 27, 103-7.
- VAGUE, P., JUHAN-VAGUE, I., AILLAUD, M. F., BADIER, C., VIARD, R., ALESSI, M. C. & COLLEN, D. 1986. Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin level, and relative body weight in normal and obese subjects. *Metabolism*, 35, 250-3.
- VAN DE WIEL, A., VAN GOLDE, P. M., KRAAIJENHAGEN, R. J., VON DEM BORNE, P. A., BOUMA, B. N. & HART, H. C. 2001. Acute inhibitory effect of alcohol on fibrinolysis. *Eur J Clin Invest*, 31, 164-70.
- VERNON, G., BARANOVA, A. & YOUNOSSI, Z. M. 2011. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*, 34, 274-85.
- VERRIJKEN, A., FRANCQUE, S., MERTENS, I., PRAWITT, J., CARON, S., HUBENS, G., VAN MARCK, E., STAELS, B., MICHIJSEN, P. & VAN GAAL, L. 2014. Prothrombotic factors in histologically proven nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 59, 121-9.
- VILAR-GOMEZ, E., MARTINEZ-PEREZ, Y., CALZADILLA-BERTOT, L., TORRES-GONZALEZ, A., GRA-ORAMAS, B., GONZALEZ-FABIAN, L., FRIEDMAN, S. L., DIAGO, M. & ROMERO-GOMEZ, M. 2015. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*, 149, 367-78 e5; quiz e14-5.
- VILAR GOMEZ, E., RODRIGUEZ DE MIRANDA, A., GRA ORAMAS, B., ARUS SOLER, E., LLANIO NAVARRO, R., CALZADILLA BERTOT, L., YASELLS GARCIA, A. &

- DEL ROSARIO ABREU VAZQUEZ, M. 2009. Clinical trial: a nutritional supplement Viucid, in combination with diet and exercise, in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 30, 999-1009.
- VILLANOVA, N., PASQUI, F., BURZACCHINI, S., FORLANI, G., MANINI, R., SUPPINI, A., MELCHIONDA, N. & MARCHESINI, G. 2006. A physical activity program to reinforce weight maintenance following a behavior program in overweight/obese subjects. *Int J Obes (Lond)*, 30, 697-703.
- WANHAINEN, A., NILSSON, T. K., BERGQVIST, D., BOMAN, K. & BJORCK, M. 2007. Elevated tissue plasminogen activator in patients with screening-detected abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 45, 1109-13.
- WIMAN, B., LJUNGBERG, B., CHMIELEWSKA, J., URDEN, G., BLOMBACK, M. & JOHNSON, H. 1985. The role of the fibrinolytic system in deep vein thrombosis. *J Lab Clin Med*, 105, 265-70.
- WONG, V. W., WONG, G. L., YEUNG, D. K., LAU, T. K., CHAN, C. K., CHIM, A. M., ABRIGO, J. M., CHAN, R. S., WOO, J., TSE, Y. K., CHU, W. C. & CHAN, H. L. 2015. Incidence of non-alcoholic fatty liver disease in Hong Kong: a population study with paired proton-magnetic resonance spectroscopy. *J Hepatol*, 62, 182-9.
- WOODHOUSE, P. R., MEADE, T. W. & KHAW, K. T. 1997. Plasminogen activator inhibitor-1, the acute phase response and vitamin C. *Atherosclerosis*, 133, 71-6.
- WU, T., GAO, X., CHEN, M. & VAN DAM, R. M. 2009. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obes Rev*, 10, 313-23.
- XANTHOPOULOU, M. N., KALATHARA, K., MELACHROINO, S., ARAMPATZI-MENENAKOU, K., ANTONOPOULOU, S., YANNAKOULIA, M. & FRAGOPOULOU, E. 2017. Wine consumption reduced postprandial platelet sensitivity against platelet activating factor in healthy men. *Eur J Nutr*, 56, 1485-1492.
- YARMOLINSKY, J., BORDIN BARBIERI, N., WEINMANN, T., ZIEGELMANN, P. K., DUNCAN, B. B. & INES SCHMIDT, M. 2016. Plasminogen activator inhibitor-1 and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci Rep*, 6, 17714.
- YASUI, K., HASHIMOTO, E., KOMORIZONO, Y., KOIKE, K., ARII, S., IMAI, Y., SHIMA, T., KANBARA, Y., SAIBARA, T., MORI, T., KAWATA, S., UTO, H., TAKAMI, S., SUMIDA, Y., TAKAMURA, T., KAWANAKA, M., OKANOUE, T., JAPAN NASH STUDY GROUP, M. O. H. L. & WELFARE OF, J. 2011. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 9, 428-33; quiz e50.
- YOU, T., NICKLAS, B. J., DING, J., PENNINX, B. W., GOODPASTER, B. H., BAUER, D. C., TYLAVSKY, F. A., HARRIS, T. B. & KRITCHEVSKY, S. B. 2008. The metabolic syndrome is associated with circulating adipokines in older adults across a wide range of adiposity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 63, 414-9.
- YOUNOSSE, Z. M., KOENIG, A. B., ABDELATIF, D., FAZEL, Y., HENRY, L. & WYMER, M. 2016. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 64, 73-84.
- YOUNOSSE, Z. M., STEPANOVA, M., NEGRO, F., HALLAJI, S., YOUNOSSE, Y., LAM, B. & SRISHORD, M. 2012. Nonalcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. *Medicine (Baltimore)*, 91, 319-27.
- YU, J., SHEN, J., SUN, T. T., ZHANG, X. & WONG, N. 2013. Obesity, insulin resistance, NASH and hepatocellular carcinoma. *Semin Cancer Biol*, 23, 483-91.
- ZELBER-SAGI, S., NITZAN-KALUSKI, D., GOLDSMITH, R., WEBB, M., BLENDIS, L., HALPERN, Z. & OREN, R. 2007. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol*, 47, 711-7.

ZHANG, L., SEIFFERT, D., FOWLER, B. J., JENKINS, G. R., THINNES, T. C.,
LOSKUTOFF, D. J., PARMER, R. J. & MILES, L. A. 2002. Plasminogen has a broad
extrahepatic distribution. *Thromb Haemost*, 87, 493-501.