



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

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

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

Ζόγκζα-Φραντζεσκάκη Ευσταθία



Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

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

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

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

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

Νικόλαος Καλογερόπουλος
Καθηγητής Χημείας Τροφίμων και Περιβάλλοντος, Επιστήμης
Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η Ζόγκζα-Φραντζεσκάκη Ευσταθία
δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

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

Αναμφισβήτητα, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στη διδακτορική φοιτήτρια του τμήματος, Αμερικάνου Χαραλαμπία, για την άψογη συνεργασία, καθώς και την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε σε ό,τι και αν χρειάστηκα.

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

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ	7
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1. ΟΡΙΣΜΟΣ	12
2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	13
3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....	18
4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ	25
4.1 Κλινική εικόνα	25
4.2 Εργαστηριακά ευρήματα	25
4.3 Απεικονιστικός έλεγχος.....	26
4.4 Μοντέλα πρόβλεψης.....	29
5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ.....	31
6. ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	35
6.1 Πρωτογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου	35
6.2. Δευτερογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου.....	36
7. ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ - ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΕΣ	40
7.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	40
7.2 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	41
8. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	44
9. Η ΜΑΣΤΙΧΑ.....	48
9.1. Το προϊόν.....	48
9.2. Χρήσεις και οφέλη.....	49
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	52
ΣΚΟΠΟΣ	52
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	52
Συλλογή δείγματος.....	52
Κριτήρια επιλογής δείγματος.....	53
Διαδικασίες αξιολόγησης δείγματος	53
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	61
1. Χαρακτηριστικά του δείγματος και συσχετίσεις αυτών με τους δείκτες της μαγνητικής τομογραφίας	61
2. Παρέμβαση: χαρακτηριστικά και συσχετίσεις.....	66
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	69
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	73
--------------------	----

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD) ορίζεται η παρουσία λίπους στο ήπαρ (ηπατική στεάτωση) είτε στην απεικόνιση αυτού, είτε στην ιστολογία του, εφόσον έχουν αποκλειστεί δευτεροβάθμιες αιτίες συσσώρευσης λίπους στο ήπαρ⁽¹⁾. Κατηγοριοποιείται σε λιπώδες ήπαρ μη αλκοολικής αιτιολογίας (NAFL) και μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH). Η μαστίχα Χίου είναι η φυσική αρωματική ρητίνη που είναι πλούσια σε τερπενοειδή και φαινολικά συστατικά, τα οποία προσδίδουν αντιοξειδωτικές, καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες⁽³⁾.

ΣΚΟΠΟΣ: Σκοπός είναι η αξιολόγηση των παραμέτρων που σχετίζονται με τη νόσο σε ασθενείς με NAFLD/NASH, ανάλογα με το γονότυπό τους για τον πολυμορφισμό rs641738 του γονιδίου MBOAT7 και η ανταπόκριση τους σε θεραπεία με φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας Χίου ανάλογα και πάλι με τον γονότυπο του συγκεκριμένου γονιδίου.

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

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Το δείγμα που πραγματοποίησε μαγνητική τομογραφία αποτελείται από 60 άτομα, 69,3% άνδρες (N=38) με μέσο όρο ηλικίας 53,1 έτη. Όταν το δείγμα χωρίστηκε με βάση την ύπαρξη ή όχι NASH, τα άτομα με NASH παρουσίασαν υψηλότερο BMI σε σχέση με τα άτομα που δεν είχαν NASH ($p=0,009$). Από τα άτομα του δείγματος που διαθέτουν γενετική πληροφορία, το 70,4% φέρει τουλάχιστον ένα T-αλληλόμορφο κινδύνου στο γονότυπό του. Σε αυτά τα άτομα, ο ΔΜΣ και τα τριγλυκερίδια έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές ($p=0,003$ και $p=0,008$ αντίστοιχα) σε σχέση με αυτούς που είναι ομοζυγώτες ως προς το φυσιολογικό αλληλόμορφο. Όσον αφορά την παρέμβαση, ο διαγνωστικός δείκτης NASH Score μειώθηκε στην ομάδα Α ($p=0,028$) και στην ομάδα Β ($p=0,008$) όπως και η τιμή της ινσουλίνης ($p=0,043$ και $p=0,037$ αντίστοιχα), ενώ η διαφορά του μέσου όρου των επί τοις εκατό μεταβολών για τις δύο ομάδες ήταν στατιστικά σημαντική μόνο για το NFS ($p=0,039$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ: Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της κλινικής δοκιμής Mast4Health, η οποία ακόμη δεν έχει ολοκληρωθεί πλήρως, δεν είμαστε σε θέση να βγάλουμε ασφαλή

συμπεράσματα για την επίδραση της μαστίχας σε ασθενείς με NAFLD/NASH. Επιπλέον, ενώ επιβεβαιώθηκε η συσχέτιση του MBOAT7 γονιδίου με βιοχημικούς δείκτες τριγλυκεριδίων και ολικής χοληστερόλης αλλά και με τον ΔΜΣ, δεν διεξήχθησαν περαιτέρω στατιστικά σημαντικά συμπεράσματα για την επίδραση του συγκεκριμένου γονιδίου στη νόσο αλλά και για την αλληλεπίδραση αυτού με το φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας ως προς την NAFLD/NASH.

Λέξεις-κλειδιά: Μη Αλκοολική Λιπώδης Νόσος Ήπατος, Γονίδια, Μαστίχα, Κλινική Δοκιμή, MBOAT7

ABSTRACT

INTRODUCTION: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is defined as the presence of fat in the liver (hepatic steatosis) either in its display or its histology, since secondary causes of fat accumulation in the liver ⁽¹⁾ have been excluded. It is categorized in non-alcoholic fatty liver (NAFL) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Chios Mastic is the natural aromatic resin that is rich in terpenoid and phenolic ingredients, which give antioxidant, cardioprotective, anti-inflammatory and antimicrobial properties ⁽³⁾.

PURPOSE: The purpose is assessing disease-related parameters in patients with NAFLD / NASH, depending on their genotype for rs641738 polymorphism of MBOAT7 and their response to natural supplement therapy Chios mastitis, depending on the genotype of the particular gene.

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

RESULTS: In the 60 subjects who performed MRI, 69.3% were men (N = 38) with an average age of 53.1 years. When the sample was divided on the basis of NASH or not, NASH subjects showed higher BMI than those who did not have NASH ($p = 0.009$). From the sample individuals with genetic information, 70,4% carry at least one T-risk allele in its genotype. In these individuals, BMI and triglycerides have statistically significantly higher values ($p = 0.003$ and $p = 0.008$ respectively) than those that are homozygous for the normal allele. According to the intervention procedure, the NASH score was reduced in group A ($p = 0.028$) and in group B ($p = 0.008$), at the end of it, as well as the insulin value ($p = 0.043$ and $p = 0.047$ respectively), while the difference in the mean percent change for the two groups was statistically significant only for NFS ($p = 0.039$).

DISCUSSION: According to the results of the Mast4Health clinical trial, which has not yet been fully completed, we are not in a position to make safe conclusions about the positive effect of mastiha in patients with NAFLD / NASH. Moreover, while the correlation of the MBOAT7 gene with biochemical markers of triglycerides and total cholesterol as well as with BMI was confirmed, no further statistically significant conclusions were made for the effect of

the particular gene on the disease but also on its interaction with the natural mastic supplement NAFLD / NASH.

Keywords: Non Alcoholic Fat Liver Disease, Genes, Mastiha, Clinical Trial, MBOAT7

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease

NASH: Non-alcoholic steatohepatitis

ALT: alanine aminotransferase

AST: aspartate aminotransferase

γ-GT: gamma-glutamyl transferase

TG: triglycerides

ΣΔII: σακχαρώδης διαβήτης τύπου II

MBOAT7: Membrane Bound O-Acyltransferase Domain Containing 7

NFS Score: NAFLD Fibrosis Score

LIF Score: Liver Inflammation and Fibrosis Score

cT1: corrected Time 1 (correlate inflammation and fibrosis with MRI)

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΟΡΙΣΜΟΣ

Ως μη αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος (Non Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) ορίζεται η παρουσία συσσωρευμένου ηπατικού λίπους σε περισσότερο από το 5% των ηπατοκυττάρων, απουσίας σημαντικής πρόσληψης αλκοόλ (20g την ημέρα για άντρες και 10g την ημέρα για γυναίκες), ιογενούς λοίμωξης ή άλλης ειδικής αιτιολογίας για νόσο του ήπατος ⁽⁴⁾.

Η μεταβολική στεάτωση ή μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος (NAFLD) είναι η πιο κοινή αιτία της χρόνιας ηπατικής βλάβης στις δυτικές χώρες. Ιστολογικές ενδείξεις ηπατικής στεάτωσης και φλεγμονής συνοδεύει ηπατοκυτταρικού τραυματισμού με ή χωρίς ίνωση ⁽⁵⁾, που υποδηλώνουν παρουσία μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας (NASH), είναι παρούσες στο 20-30% των περιπτώσεων. Ενώ η στεάτωση από μόνη της έχει μια καλοήγη πορεία, η στεατοηπατίτιδα μπορεί να σχετίζεται με ίνωση, η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση, ηπατική ανεπάρκεια και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ⁽²⁾.

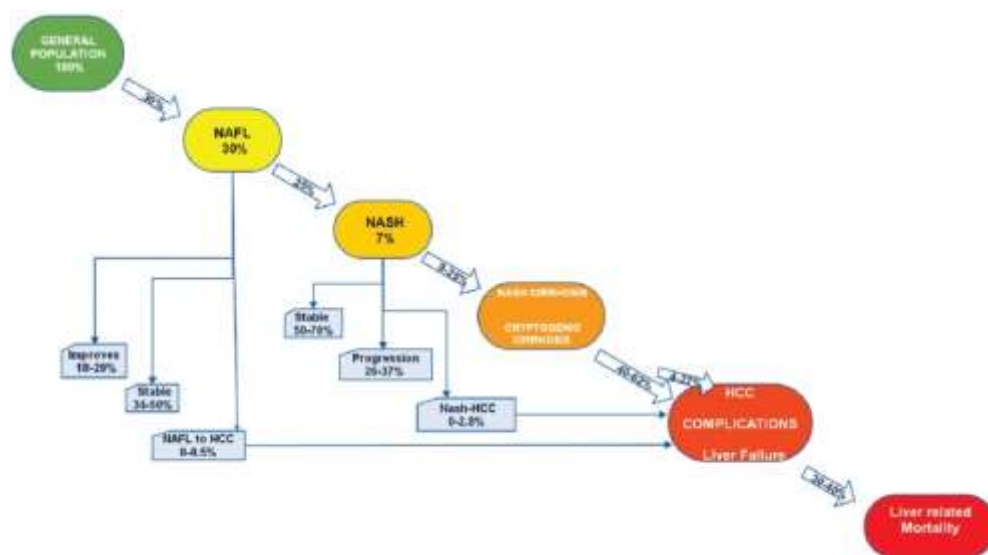
Η NAFLD είναι στενά συνδεδεμένη με το μεταβολικό σύνδρομο, ο επιπολασμός του οποίου φτάνει το 50-90% σε παχύσαρκους ασθενείς. Η ηπατική νόσος είναι η τρίτη συνηθέστερη αιτία θνησιμότητας σε ασθενείς με NAFLD. Όταν συνδέεται με άλλες αιτίες της ηπατικής νόσου, όπως η κατανάλωση αλκοόλ ή ύπαρξη ηπατίτιδας C, η μεταβολική στεάτωση μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εξέλιξη της νόσου ⁽⁵⁾.



Εικόνα1: Φάσμα μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης ήπατος (NAFLD)

2.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος είναι σήμερα μία από τις συχνότερες αιτίες χρόνιας ηπατοπάθειας παγκοσμίως, η συχνότερη σε κάποιες χώρες, ιδιαίτερα σε πληθυσμούς με υψηλό ποσοστό παχυσαρκίας. Η νόσος προκαλεί αξιοσημείωτη θνησιμότητα και θνητότητα όταν οδηγεί σε προχωρημένη ίνωση και κίρρωση και είναι πλέον ένας κύριος λόγος για μεταμόσχευση ήπατος ασθενών τελικού σταδίου ⁽²⁾. Συνδέεται με θέματα δημόσιας υγείας καθώς σχετίζεται άμεσα με σακχαρώδη διαβήτη και παχυσαρκία ⁽²⁾ και εκτιμάται ότι αυξάνει το άμεσο και έμμεσο 5ετές κόστος υγείας κατά 26% ⁽²⁾.



Εικόνα 2: Στατιστικά στοιχεία NAGLD σε γενικό πληθυσμό

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

Με βάση απεικονιστικές κυρίως μεθόδους, όπως το υπερηχογράφημα, ο επιπολασμός της λιπώδους διήθησης στο γενικό πληθυσμό αναφέρεται στις διάφορες χώρες από 9% μέχρι 30%,

ενώ ο επιπολασμός της μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας, για τη διάγνωση της οποίας απαιτείται βιοψία ήπατος, υπολογίζεται μεταξύ 2% και 7% του γενικού πληθυσμού. Η μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα εξελίσσεται σε κίρρωση σε ποσοστά 15% με 20%, ενώ τότε δεν είναι σπάνια και η ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου ⁽⁶⁾.

Ο επιπολασμός της νόσου, ωστόσο έχει μελετηθεί και περαιτέρω κατά περιοχές. Στην Ευρώπη και τη Μέση Ανατολή κυμαίνεται από 20% έως 30%. Σύμφωνα με τις μελέτες Dallas Heart Study και Dionysos το 30% των ενηλίκων στις ΗΠΑ και 25% στην Ιταλία έχουν NAFLD. Σε αυτές τις μελέτες, 79% και 55% των ασθενών με NAFLD είχαν φυσιολογικά επίπεδα αμινοτρανσφεράσης, δείχνοντας ότι τα ηπατικά ένζυμα δεν είναι αντιπροσωπευτικοί δείκτες της NAFLD στο γενικό πληθυσμό(7). Τα άτομα ισπανικής προέλευσης, κυρίως από την Αμερική, φαίνεται να παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD. Σύμφωνα με τα δεδομένα που συλλέχθηκαν σε μελέτη προ 3ετίας, ο επιπολασμός της NAFLD ποικίλλει σε διάφορες περιοχές της Ασίας. Συγκεκριμένα, στην Ιαπωνία εμφανίζεται 9-30%, στην Κίνα 5-4%, στη Βόρεια Κορέα ~18%, στη Ινδονησία ~30%, στη Μαλαισία και τη Σιγκαπούρη 17% ^(8,9). Στην ινδική υποήπειρο, η εμφάνιση της NAFLD σε αστικούς πληθυσμούς κυμαίνεται από 16% έως 32%, ενώ στις αγροτικές συνοικίες της Ινδία, όπου οι περισσότεροι άνθρωποι ακολουθούν παραδοσιακή διατροφή και τρόπο ζωής, ο επιπολασμός είναι χαμηλότερος (~ 9%) (Πίνακας 2). Όσον αφορά τον επιπολασμό της νόσου στην Αφρική, σε γενικές γραμμές, υπάρχει μια έλλειψη στοιχείων. Μια μελέτη, ωστόσο, που πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμό της Νιγηρίας υπολόγισε τον επιπολασμό να είναι ~ 9%. Στη Λατινική Αμερική ο επιπολασμός της NAFLD κυμαίνεται από 17% έως 33%. Τέλος, ο επιπολασμός της NAFLD στην Αυστραλία εκτιμάται να είναι παρόμοιος με αυτόν της Ευρώπης, δηλαδή 20-30%.

Η εμφάνιση της νόσου έχει μελετηθεί και σε μια πιο ειδική ομάδα πληθυσμού, αυτή των παιδιών. Έχει, συγκεκριμένα φανεί ότι το ποσοστό μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος στα παιδιά είναι περίπου στο 3%, ενώ σε παχύσαρκα παιδιά ξεπερνά το 50%.

Πίνακας 1: Ο επιπολασμός της NAFLD σε περιοχές του κόσμου

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

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

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

Ο κυριότερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη NAFLD είναι η παχυσαρκία, πιθανώς μέσω ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη. Σε ασθενείς με παχυσαρκία 3^{ου} βαθμού (BMI >35 Kg/m²) , ο επιπολασμός της απλής στεάτωσης φθάνει το 76%, της στεατοηπατίτιδας το 23% και της κίρρωσης το 6% στον γενικό πληθυσμό. Γενικότερα, οι ασθενείς με NAFLD στη Δύση έχουν υψηλότερο ΔΜΣ από τους αντίστοιχους ασθενείς στην Ανατολή, αλλά χαμηλότερα ποσοστά υπέρβαρου και παχύσαρκου πληθυσμού ⁽¹⁰⁾. Αυτό υποδεικνύει ότι οι Ασιάτες που

εμφανίζουν NAFLD έχουν μειωμένο ΔΜΣ, γεγονός που αναθεωρεί τη διάγνωση παχυσαρκίας μέσω του ΔΜΣ για την Ασία (Πίνακας 2). Επιπλέον, οι Ασιάτες φαίνεται να έχουν μια ξεχωριστή γενετική ή περιβαλλοντική ευαισθησία στην NAFLD σε σχέση με τους Δυτικούς. Δεδομένα από Ιαπωνία δείχνουν ότι μόνο το 15-20% των προσβληθέντων ασθενών είναι παχύσαρκοι, ενώ τα στοιχεία από την Ινδία δείχνουν ότι πολλοί ασθενείς με NAFLD μπορεί να μην έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη, όταν μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας HOMA-IR. Στην ιταλική μελέτη Dionysos, ο επιπολασμός της NAFLD βρέθηκε σε ποσοστά 94%, 67% και 24,5% αντίστοιχα σε παχύσαρκα, υπέρβαρα και φυσιολογικού βάρους άτομα(5), φανερώνοντας σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ύπαρξης υπερβάλλοντος σωματικού βάρους και ανάπτυξης της NAFLD.

Πίνακας 3: Διαφορές του Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI)

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

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης της NAFLD. Με μελέτες στον γενικό πληθυσμό φάνηκε ότι σε διαβητικούς ασθενείς, η ηπατική στεάτωση ανευρίσκεται σε ποσοστό 40%-70%. Σε προοπτική μελέτη 100 ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η συχνότητα εμφάνισης της νόσου ήταν 49% ⁽¹¹⁾. Η Ασία, παρά τα μειωμένα ποσοστά των υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων, εμφανίζει σημαντικά υψηλά ποσοστά ασθενών με διαβήτη. Σύμφωνα με μελέτη στην Ιαπωνία, από την νόσο πάσχει το 27% των ατόμων με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης, το 43% των ατόμων με διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης και το 62% των ατόμων με νεοδιαγνωσμένο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ⁽¹²⁾.

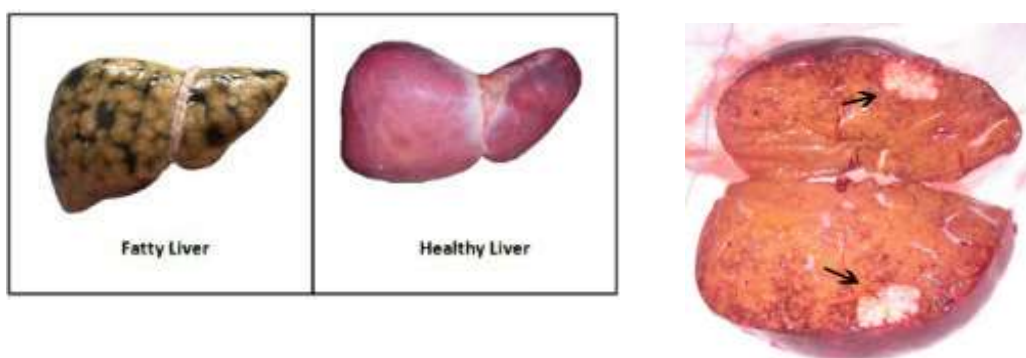
Η NAFLD σχετίζεται με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη αλλά και με τα άλλα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου, δηλαδή την δυσλιπιδαιμία και την αρτηριακή υπέρταση. Από τους ασθενείς με NAFLD το 64% πάσχει από υπερτριγλυκεριδαιμία, το 30-42% από χαμηλή HDL χοληστερόλη και το 34-83% από αρτηριακή υπέρταση ⁽¹³⁾.

Στη χώρα μας το 2004 διεξήχθη από την Ελληνική Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος, σε συνεργασία με το Ελληνικό Ίδρυμα Γαστρεντερολογίας και Διατροφής, μεγάλη επιδημιολογική

μελέτη καταγραφής του επιπολασμού της NAFLD στο γενικό αιμοδοτικό πληθυσμό. Στην έρευνα συμμετείχαν συνολικά 3.063 άτομα από 5 αιμοδοτικά κέντρα, τα οποία, μετά από αποκλεισμό κατανάλωσης αλκοόλ και των ιογενών ηπατιτίδων Β και C, εμφάνισαν παθολογικά ηπατικά ένζυμα σε ποσοστό 17,6% ⁽¹⁴⁾. Η πολυκεντρική αυτή μελέτη κατάφερε να αναδείξει σημαντική συσχέτιση μεταξύ διαταραγμένης ηπατικής βιοχημείας και, επομένως, ύπαρξης ασυμπτωματικής μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος και σωματομετρικών παραγόντων, όπως το βάρος σώματος, το δείκτη βάρους-μάζας σώματος (BMI, Body-Mass Index) και την ύπαρξη κεντρικής παχυσαρκίας ⁽⁶⁾.

3.ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Πρώτο βήμα για την ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης στη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος αποτελεί η εναπόθεση και συσσώρευση λιπιδίων στο ήπαρ με τη μορφή των τριγλυκεριδίων ^(8,9). Η πρωταρχική αυτή διαταραχή αφορά σε κυτταρικό επίπεδο όλα τα στάδια μεταβολισμού των λιπιδίων και ενισχύεται από την ενδογενή συστηματική και περιφερική (ηπατική) αντίσταση στην ινσουλίνη ^(11,12).

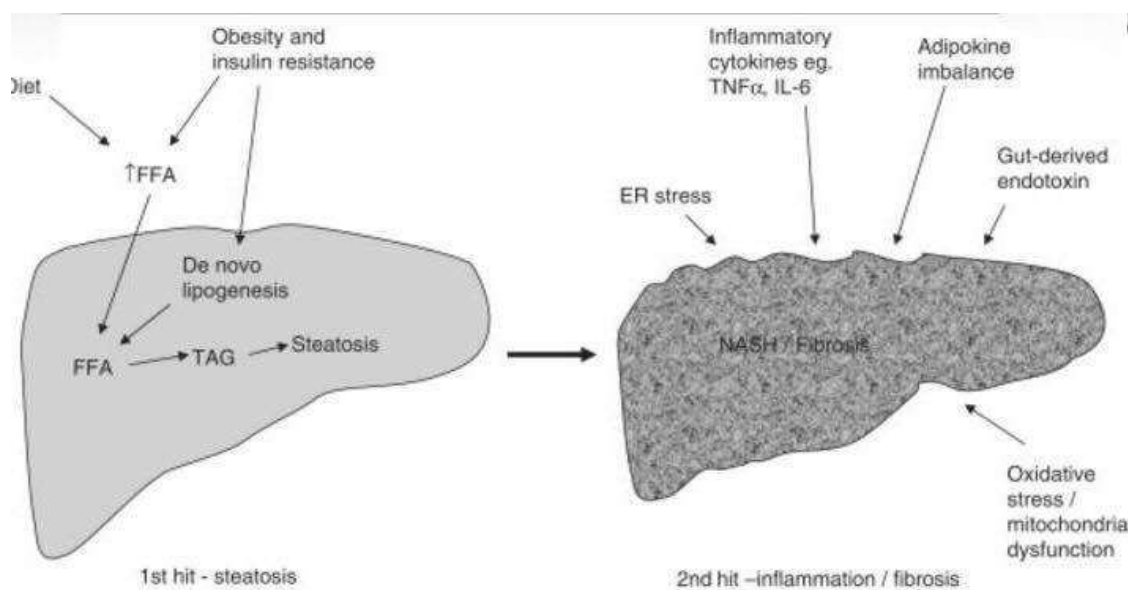


Εικόνες 3-4: Εναπόθεση λίπους στο ήπαρ

Προτεινόμενα μοντέλα παθογένεσης της νόσου

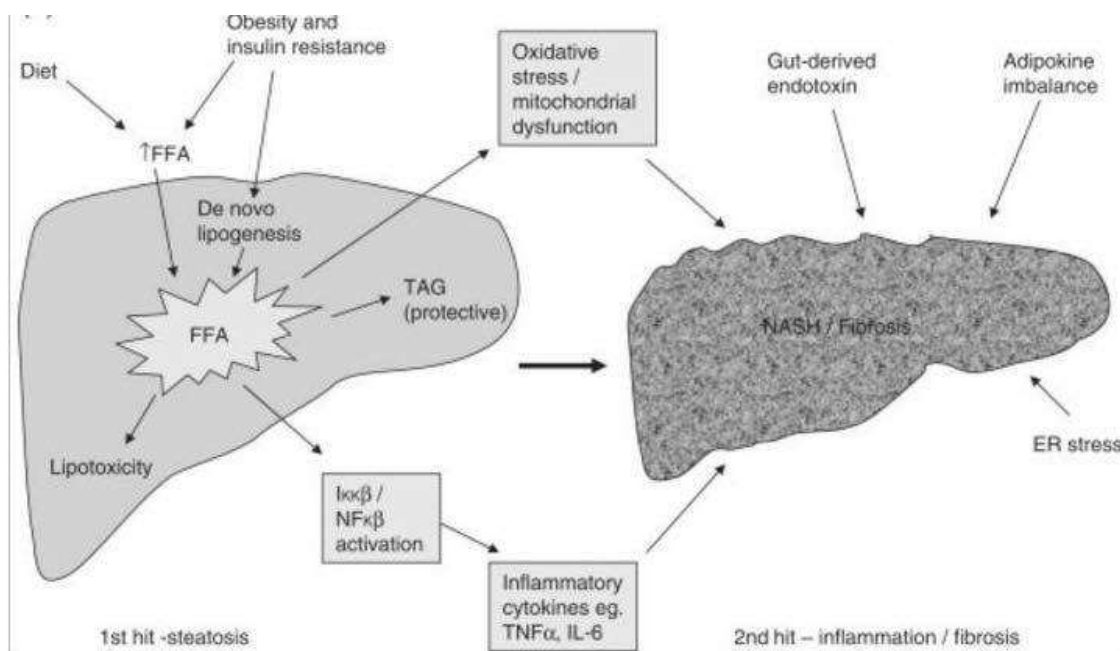
- **Υπόθεση δύο χτυπημάτων:** Πρώτη και σημαντικότερη προσβολή για το ήπαρ αποτελεί η αντίσταση στην ινσουλίνη. Η δυσλειτουργία αυτή οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα λιπαρών οξέων που έχουν ως αποτέλεσμα τη λιπώδη διήθηση του ήπατος, και η οποία προοδευτικά προκαλεί απόπτωση (ή κυτταρικό θάνατο) των ηπατοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, εναποτίθεται ποσότητα λίπους στην επιφάνεια του ήπατος με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Πιθανές πηγές του λίπους που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης αποτελούν τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα του πλάσματος από τον λιπώδη ιστό, τα νεοσχηματισμένα λιπαρά οξέα που προκύπτουν από την *de novo* λιπογένεση στο ήπαρ και τα λιπαρά οξέα της διατροφής. Από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος προέρχεται περίπου το 60-80% των ηπατικών τριγλυκεριδίων, από την *de novo* λιπογένεση στο ήπαρ προκύπτει το 25%, ενώ από τη διατροφή μόλις το 15% αυτών. Επομένως, η στεάτωση αποτελεί το πρώτο χτύπημα, το

οποίο καθιστά το ήπαρ ευάλωτο σε βλάβη διαμεσολαβούμενη από το δεύτερο χτύπημα που περιλαμβάνει την δράση φλεγμονώδων κυτοκινών, αδιποκινών, οξειδωτικού στρες και την μιτοχονδριακή δυσλειτουργία οδηγώντας τελικά σε στεατοηπατίτιδα και ίνωση. Η παρουσία υψηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες μειώνει την ικανότητα των ώριμων ηπατοκυττάρων να πολλαπλασιάζονται, οδηγώντας σε μειωμένη ενδογενή αναγέννηση του ήπατος ⁽¹⁵⁾.



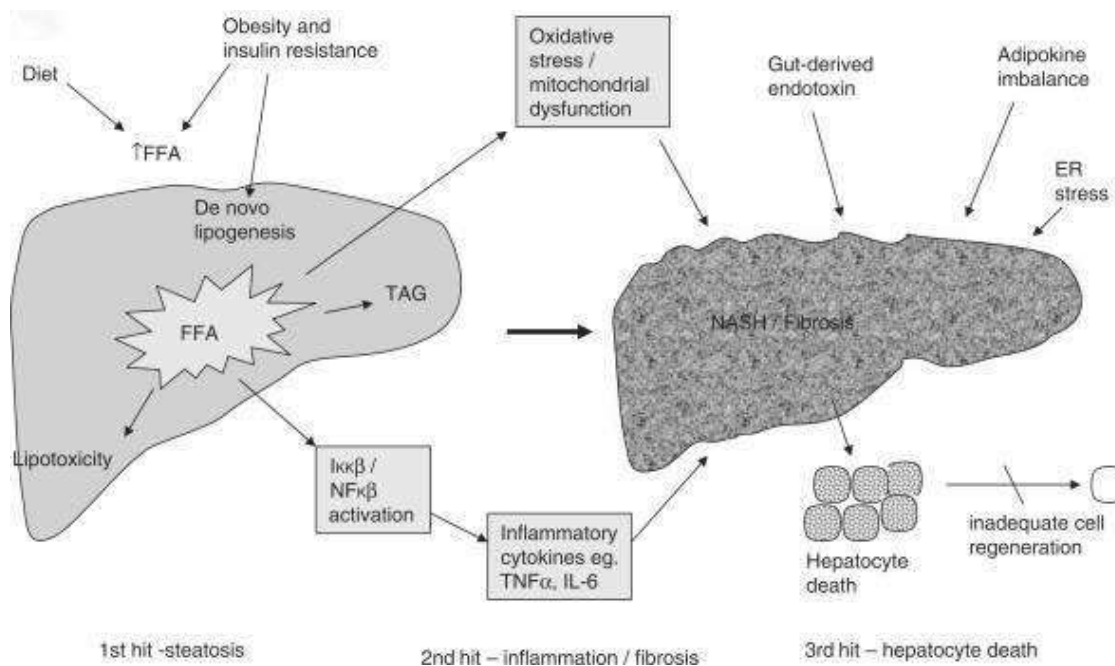
Εικόνα 5: Η υπόθεση των 2 χτυπημάτων. Η στεάτωση αποτελεί το πρώτο χτύπημα.

- **Τροποποιημένη υπόθεση 2 χτυπημάτων:** Στην παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση, υπάρχει αυξημένη ροή ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ. Αυτά είτε οξειδώνονται είτε εστεροποιούνται με την γλυκερόλη προς σχηματισμό τριγλυκεριδίων, οδηγώντας σε ηπατική συσσώρευση λίπους. Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μπορούν άμεσα να προκαλέσουν τοξικότητα, αυξάνοντας το οξειδωτικό στρες και ενεργοποιώντας φλεγμονώδεις διαδικασίες. Επομένως, η ηπατική συσσώρευση τριγλυκεριδίων ίσως αποτελεί προστατευτικό μηχανισμό, ο οποίος προλαμβάνει τις τοξικές επιδράσεις των μη εστεροποιημένων ελεύθερων λιπαρών οξέων ⁽¹⁵⁾.



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

- **Υπόθεση 3 χτυπημάτων:** Το οξειδωτικό στρες μειώνει την ικανότητα των ώριμων ηπατοκυττάρων να πολλαπλασιάζονται, οδηγώντας στην χρήση άλλων μονοπατιών για την ηπατική αναγέννηση, τα ενδιάμεσα ηπατοκύτταρα. Αυτά είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε χολαγγειοκύτταρα και ηπατοκύτταρα και να συνεισφέρουν στην αναγέννηση του ήπατος. Έχει προταθεί πως η ανικανότητα για χολαγγειακή απάντηση, όπως εμφανίζεται σε ασθενείς με μεταμόσχευση λόγω NASH και απονευρωμένο ήπαρ μπορεί να είναι υπεύθυνη για πιο προοδευτική πορεία της ηπατικής βλάβης. Επομένως, ο διαταραγμένος πολλαπλασιασμός των προγονικών ηπατοκυττάρων αποτελεί το προτεινόμενο τρίτο χτύπημα στην παθογένεση της NAFLD ⁽¹⁵⁾.



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

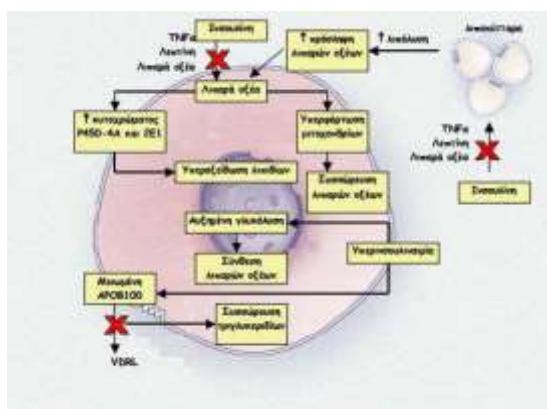
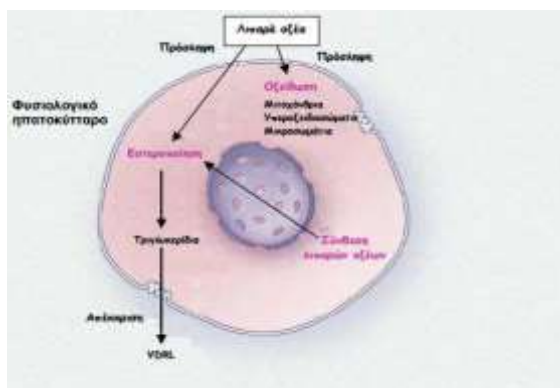
Η μη αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος (NAFLD) είναι μια νόσος με παθοφυσιολογία όχι πλήρως διευκρινισμένη. Ακόμη και αν η ινσουλινοαντίσταση αποτελεί κεντρικό παθογενετικό μηχανισμό, μεγάλος αριθμός άλλων παραγόντων εμπλέκεται τόσο στην συσσώρευση λίπους στο ήπαρ όσο και στην εξέλιξη της ηπατικής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

Ινσουλινοαντίσταση

Ινσουλινοαντίσταση (*Insulin resistance* (IR)) ορίζεται μια κατάσταση, κατά την οποία το ανθρώπινο σώμα δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει σωστά την ινσουλίνη που παράγει σε συγκεκριμένους ιστούς-στόχο όπως ο σκελετικός μυς, το ήπαρ και ο λιπώδης ιστός. Οι ασθενείς με διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη (IGT) εμφανίζουν αξιοσημείωτη ινσουλινοαντίσταση στο μυϊκό ιστό αλλά μόνο ήπια ηπατική ινσουλινοαντίσταση. Οι ασθενείς με διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (IFG) εμφανίζουν σοβαρή ηπατική ινσουλινοαντίσταση αλλά φυσιολογική ή σχεδόν φυσιολογική μυϊκή ινσουλινοευαισθησία. Σύμφωνα με μελέτες, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην ινσουλινοαντίσταση και την υπερβολική συσσώρευση λίπους στον μη λιπώδη ιστό, συγκεκριμένα στο μυ και το ήπαρ. Ωστόσο,

παραμένει αβέβαιο εάν η ινσουλινοαντίσταση προκαλεί την υπερβολική συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, ή η αύξηση στα τριγλυκερίδια από μόνη της ή μέσω των μεταβολικών διαμεσολαβητών της αποτελεί τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα ανάπτυξης ηπατικής ή συστηματικής ινσουλινοαντίστασης. Υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης πλάσματος και λιπαρών οξέων μπορεί να προωθήσουν την ηπατική πρόσληψη και σύνθεση λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων καθώς και να επηρεάσουν την β' οξείδωση. Αποτέλεσμα είναι η συσσώρευση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και η ηπατική στεάτωση. Η ινσουλινοαντίσταση είναι επίσης ικανή να προωθήσει την εξέλιξη από ηπατική στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα και ίνωση. Κλινικές μελέτες δείχνουν πως η IR είναι συνδεδεμένη με το επίπεδο της ίνωσης σε ασθενείς με NAFLD ⁽¹⁶⁾.

Εικόνα 8: Μεταβολισμός λιπαρών οξέων στο φυσιολογικό ηπατοκύτταρο



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

Κυτταροκίνες λιπώδους ιστού

Η αυξημένη λιπώδης μάζα συγκεντρώνει μεγάλο ενδιαφέρον με πρόσφατη αναγνώριση του λιποκυττάρου ως ενδοκρινές όργανο, ικανό να εκκρίνει ποικιλία από βιοενεργά πεπτίδια που ασκούν πολλαπλές επιδράσεις τόσο σε τοπικό όσο και σε συστηματικό επίπεδο. Οι αδιποκίνες εμπλέκονται στην παθογένεση της NAFLD/NASH μέσω της μεταβολικής, προφλεγμονώδους και αντιφλεγμονώδους δραστηριότητάς τους ⁽²⁶⁾. Ο ακριβής τους ρόλος ωστόσο παραμένει υπό έρευνα.

Αδιπονεκτίνη: Η αδιπονεκτίνη είναι μια άφθονη αδιποκίνη του λιπώδους ιστού με αντιφλεγμονώδη δράση και ικανότητα για αύξηση της ινσουλινοευαισθησίας ⁽¹⁷⁾. Στο ήπαρ, αποτρέπει την συσσώρευση λίπους αυξάνοντας την β οξείδωση των λιπαρών οξέων και μειώνοντας τα de novo ελεύθερα λιπαρά οξέα στα ηπατοκύτταρα. Τα επίπεδα της είναι μειωμένα στην παχυσαρκία και στις συσχετιζόμενες με αυτή επιπλοκές. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν αναγνωρίσει τα χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την NAFLD και την ηπατική δυσλειτουργία ⁽¹⁷⁾. Σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό, τα επίπεδα της είναι χαμηλότερα κατά περισσότερο από 50% στους ασθενείς με NASH. Η έκφραση της μειώνεται κατά 20-40% κατά την εξέλιξη από απλή στεάτωση σε NASH.

Λεπτίνη: Η λεπτίνη θεωρείται μια ανορεξιογόνος ορμόνη, αν και τα επίπεδα της είναι υψηλά στην παχυσαρκία ως αποτέλεσμα αντίστασης στην δράση της. Η λεπτίνη συνεισφέρει στην ανάπτυξη της ινσουλινοαντίστασης και επομένως στην στεάτωση. Σε περιπτώσεις όπου η NAFLD σχετίζεται με την παχυσαρκία, τα επίπεδα ορού της λεπτίνης αυξάνονται και το ήπαρ αντιστέκεται στις αντιστεατωτικές επιδράσεις της ⁽¹⁷⁾.

TNF-α: Ο TNF-α είναι μια προφλεγμονώδης αδιποκίνη που ευνοεί την στεάτωση έχοντας εξίσου έναν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη της ηπατικής στεάτωσης και ακολούθως της NASH ⁽¹⁷⁾. Ανεβασμένα επίπεδα TNF-α σχετίζονται με την παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους ⁽¹⁸⁾. Τα επίπεδα του και η ηπατική έκφραση του 1 υποδοχέα του είναι αυξημένα στην NASH ⁽¹⁷⁾.

IL-6: Η IL-6 είναι μια κυτοκίνη που εκκρίνεται από λιποκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Έχει ηπατοπροστατευτική δράση στο λιπώδες

ήπαρ, καταστέλλοντας το οξειδωτικό στρες και αποτρέποντας την μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Αυτό είναι αποτέλεσμα της σύντομης έκθεσης στην IL-6 καθώς η μακράς διαρκείας έκθεση σε αυτή την κυτοκίνη μπορεί να κάνει το ήπαρ ευάλωτο στο τραύμα και στον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Τα επίπεδα ορού της IL-6 βρέθηκαν να είναι σημαντικά υψηλά σε ασθενείς με NAFLD σε σχέση με υγιείς. Παραμένει υπό διερεύνηση εάν τα υψηλά επίπεδα IL-6 στο χρόνια ηπατικό τραύμα συνεισφέρουν στην φλεγμονή ή αντιπροσωπεύουν μια αντιφλεγμονώδη απάντηση ⁽¹⁸⁾.

Οξειδωτικό στρες

Στο φυσιολογικό ήπαρ η β' οξείδωση πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια αλλά στο λιπώδες ήπαρ επεκτείνεται και κυριαρχεί ως αποτέλεσμα αυξημένου φορτίου ελεύθερων λιπαρών οξέων, αυξάνοντας έτσι τις ραδιενεργές ελεύθερες ρίζες. Αυτές προκαλούν οξειδωτικό στρες με επακόλουθη ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοπατιών και μιτοχονδριακή βλάβη. Δομικές μιτοχονδριακές ανωμαλίες και μείωση στην δραστηριότητα της αναπνευστικής μιτοχονδριακής αλυσίδας έχει παρατηρηθεί σε μελέτες ασθενών με NASH. Σε ασθενείς με NASH εμφανίζεται αυξημένη έκφραση και δραστηριότητα του κυτοχρώματος P450 2E1 (CYP2E1) που αποτελεί πιθανή πηγή ελεύθερων ριζών ⁽¹⁹⁾

4.ΔΙΑΓΝΩΣΗ

4.1 Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα ασθενών με NAFLD, περιγράφεται ως εξής ⁽²⁰⁾:

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

Η πλειοψηφία των ασθενών που έχουν διαγνωστεί με NAFLD είναι ασυμπτωματικοί. Ωστόσο, όταν εμφανίζουν συμπτώματα, αυτά είναι συνήθως άλγος του δεξιού υποχονδρίου, δηλαδή του δεξιού άνω τεταρτημορίου της κοιλιακής χώρας ή/και δυσφορία. Κατά την εξέταση, η ηπατομεγαλία είναι το πιο κοινό φυσικό εύρημα. Υπάρχουν φυσικά και άλλα κλινικά συμπτώματα και ευρήματα τα οποία δεν παρουσιάζουν εξειδίκευση στη νόσο και αυτά είναι η γενική κακουχία, η κοιλιακή δυσφορία, η ναυτία, και άλλα μη ειδικά συμπτώματα που αναφέρονται στον γαστρεντερικό σωλήνα. ⁽²¹⁾.

4.2 Εργαστηριακά ευρήματα

Η αύξηση των ηπατικών ενζύμων αποτελεί την πιο κοινή και συχνά μοναδική εργαστηριακή διαταραχή, χωρίς να αποκλείονται και άλλες εργαστηριακές διαταραχές σε προχωρημένες μορφές NAFLD ^(16,19). Τα επίπεδα των AST και ALT στο 50% των ατόμων με NAFLD είναι συνήθως <200U/L. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι στο 70% των νοσούντων από NAFLD τα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων βρίσκονται σε φυσιολογικά όρια και έτσι δεν μπορούν να συνεισφέρουν στη διάγνωση της νόσου. Ο λόγος ALT/AST είναι συνήθως >1 και οι ενζυμικές συγκεντρώσεις δεν σχετίζονται με την ιστολογία της νόσου ⁽⁵⁾. Ωστόσο, η συγκέντρωση του AST μπορεί να είναι υψηλότερη από την συγκέντρωση του ALT στην κίρρωση. Επομένως σε ασθενείς με NAFLD, αύξηση στην συγκέντρωση του AST και αντιστροφή του λόγου ALT/AST

είναι ένα δυνητικά άσχημο προγνωστικό στοιχείο ⁽²²⁾. Επίσης, μια βελτίωση στα ηπατικά ένζυμα με το πέρασμα του χρόνου αντανακλά πολλές φορές υποβάθμιση της κατάστασης και όχι ευνοϊκή εξέλιξη. Αυτό εξηγείται γιατί κατά την εξελισσόμενη ηπατική ίνωση προκαλείται απώλεια ηπατοκυττάρων, κάτι που οδηγεί σε μείωση της ικανότητας του ήπατος για απελευθέρωση ενζύμων στην κυκλοφορία ⁽⁵⁾. Τα επίπεδα της γ-γλουταμυλοτρανσπεπτιδάσης (γGT) και της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) είναι συνήθως 2-3 φορές υψηλότερα από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια στο 50% των νοσούντων ^(16,19). Η ALP υφίσταται ήπια αύξηση στο 38-70% των περιπτώσεων, με μέγιστη τιμή που δεν ξεπερνά το διπλάσιο του ανώτερου φυσιολογικού ορίου, αλλά σπάνια αυξάνεται μεμονωμένα ⁽¹⁵⁾. Από τον υπόλοιπο εργαστηριακό έλεγχο τα επίπεδα χολερυθρίνης και λευκωμάτων πλάσματος συνήθως είναι φυσιολογικά, ενώ τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και ουρικού οξέος πλάσματος είναι συχνά αυξημένα ^(16,19). Αύξηση παρουσιάζει, επίσης, η φερριτίνη στο 50% των ατόμων με NAFLD ^(16,19).

4.3 Απεικονιστικός έλεγχος

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

- Το υπερηχογράφημα αντιπροσωπεύει μια μη επεμβατική, ανέξοδη και ευρέως διαθέσιμη μέθοδο, χρήσιμη για την ανίχνευση της ηπατικής στεάτωσης με ευαισθησία 60-94% και ειδικότητα 66-95% ⁽²³⁾. Η μέθοδος αυτή οδηγεί σε μια υποκειμενική εκτίμηση της λιπώδους διήθησης, με ένα σύστημα βαθμολόγησης με τρία ή περισσότερα επίπεδα (ήπια, μέτρια και σοβαρή). Χαρακτηριστικά, παρατηρείται αύξηση της ηπατικής ηχογένειας (bright liver). Η μέθοδος του υπερηχογραφήματος χαρακτηρίζεται από χαμηλή ευαισθησία για την ήπια στεάτωση, αδυναμία να διαφοροποιήσει ήπια ίνωση από στεάτωση και να ποσοτικοποιήσει με ακρίβεια τη λιπώδη διήθηση ⁽²³⁾, εξάρτηση από το χειριστή του υπερηχογραφικού μηχανήματος με ποσοστό συμφωνίας μεταξύ αυτών στο 72% ⁽²⁴⁾, καθώς και από περιορισμένη εφαρμοσιμότητα στους παχύσαρκους ασθενείς και σε εκείνους με περίσσεια αερίου στο έντερο.

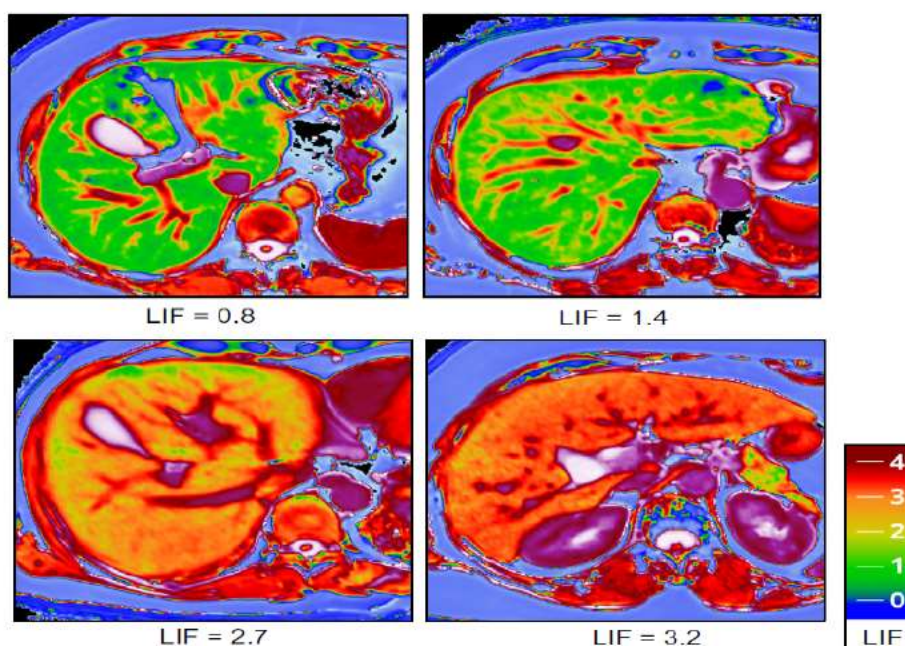
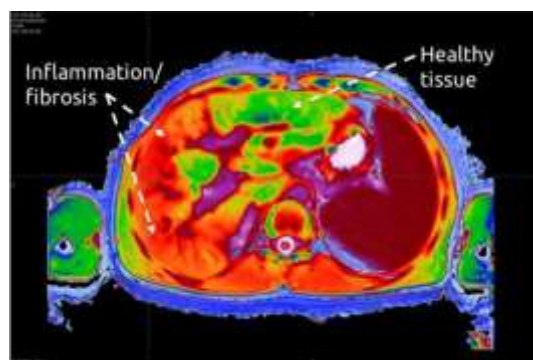
Εικόνα 10 : Υπερηχοϊκή απεικόνιση
λιπώδους ήπατος ασθενούς με μη
αλκοολική στεατοηπατίτιδα



- Η αξονική τομογραφία (CT), χαρακτηρίζεται από μια καλή διαγνωστική απόδοση στην ποιοτική διάγνωση του μεγαλύτερου βαθμού ηπατικής στεάτωσης (> 30%) με ευαισθησία 82% και ειδικότητα 100%. Η μέθοδος, λοιπόν, αυτή μπορεί να πιστοποιήσει την ύπαρξη λιπώδους διήθησης του ήπατος αλλά και την εναπόθεση σιδήρου στο ηπατικό παρέγχυμα και προσφέρει πληροφορίες σχετικά με το κίρρωτικό ήπαρ ⁽²⁵⁾. Πιο συγκεκριμένα, το λιπώδες ήπαρ μπορεί να διαγνωστεί με CT, εάν η εξασθένηση στο ήπαρ είναι τουλάχιστον 10 HU μικρότερη από εκείνη του σπλήνα, ή εάν η εξασθένηση του ήπατος είναι <40HU. Σε περιπτώσεις λιπώδους ήπατος υψηλού βαθμού, η εικόνα των ενδοηπατικών αγγείων εμφανίζεται σημαντικά εξασθενημένα σε σχέση με το λιπώδες ήπαρ.. Επιπλέον, η CT σχετίζεται με έκθεση ακτινοβολίας, η οποία περιορίζει τη χρήση της σε διαμήκη μελέτες και σε παιδιά.
- Η μαγνητική τομογραφία (MRI), ακόμη και αν αντιπροσωπεύει την πιο αξιόπιστη μέθοδο ανίχνευσης της ηπατικής στεάτωσης και επιτρέπει την ποσοτικοποίηση της, αποτελεί μία ακριβή διαγνωστική εξέταση και έτσι δεν είναι ευρέως διαθέσιμη. Εμφανίζει καλή συσχέτιση με την ιστολογική εξέταση, με 100% ευαισθησία και 92.3% ειδικότητα ⁽¹⁸⁾. Οι μεταβολές στην ηπατική εναπόθεση λίπους αξιολογούνται με διαφορετικές χημικές μετατοπίσεις μεταξύ του λίπους και του νερού που ανιχνεύονται από την MRI. Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό LiverMultiScan της εταιρίας Perspectum, το οποίο είναι ένα διαγνωστικό βοήθημα για τον ποσοτικό προσδιορισμό του ηπατικού ιστού. Το LiverMultiScan είναι μη επεμβατικό και χαρακτηρίζει τον ιστό του ήπατος παρέχοντας ακριβείς και ποσοτικές μετρήσεις του ηπατικού λίπους. Επιπλέον, συσχετίζεται με το σίδηρο, την ίνωση και τη φλεγμονή. Η τεχνολογία LiverMultiScan επιτρέπει την ύστερη επεξεργασία των δεδομένων μαγνητικής τομογραφίας σε

παραμετρικούς χάρτες κλάσματος του λίπους καθώς και του cT1. (www.perspectum-diagnostics.com)^(30,31)

Εικόνα 11: Απεικόνιση ηπατικού κλάσματος από το λογισμικό *LiverMultiScan*.

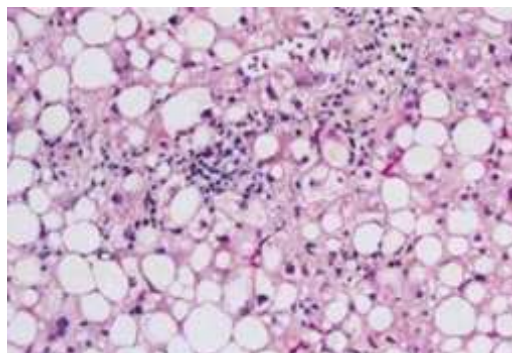


Εικόνα 12:
Απεικόνιση με τη μέθοδο *LiverMultiScan*. Αντιπροσωπευτικές εικόνες ασθενών σε κάθε κατηγορία σοβαρότητας της ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης.

- Η βιοψία ήπατος αποτελεί μέχρι και σήμερα την αναντικατάστατη μέθοδο εκλογής (“gold standard”) για τη διάγνωση και την ποσοτική αξιολόγηση της NAFLD και της NASH. Είναι η μοναδική μέθοδος που μπορεί να οδηγήσει σε διάκριση μεταξύ απλής στεάτωσης και στεατοηπατίτιδας, να ελέγξει την εξέλιξη τους και να αποκλείσει άλλες αιτίες ηπατικής στεάτωσης παρέχοντας την δυνατότητα για μια ορθή διάγνωση. Με την ιστολογική εξέταση αξιολογούνται 4 κύριοι παράγοντες: η στεάτωση, η φλεγμονή, η αεροσφαιροειδής εκφύλιση των ηπατοκυττάρων και η ηπατική ίνωση^(26,27). Η ποσοτικοποίηση της ηπατικής στεάτωσης διακρίνεται, ανάλογα με το ποσοστό των ηπατοκυττάρων που παρουσιάζουν εικόνα στεάτωσης, σε ήπια (5-33% των

ηπατοκυττάρων), μέτρια (33-66% των ηπατοκυττάρων) και σοβαρού βαθμού (>66% των ηπατοκυττάρων). Δεδομένου, όμως, του επεμβατικού χαρακτήρα της και του υψηλού κόστους της, είναι φανεροί οι περιορισμοί στη χρήση της, ιδιαίτερα δε, εάν λάβουμε υπόψη τους μεγάλους αριθμούς πληθυσμού που επηρεάζονται από αυτή τη νόσο. Η παρουσία παχυσαρκίας ή ΣΔΙΙ, αρτηριακής υπέρτασης, υψηλών επιπέδων ALT, τριγλυκεριδίων πλάσματος και λόγου AST/ALT>1, δικαιολογούν την πραγματοποίηση βιοψίας ήπατος, καθώς και στις ομάδες αυτές των ασθενών, έχουν υψηλή προγνωστική σημασία^(28,29). Ιστολογικά σε αυτές τις ομάδες ασθενών, διαπιστώνεται ίνωση στο 66% και κίρρωση στο 25%. Η βιοψία του ήπατος πλεονεκτεί έναντι των απεικονιστικών μεθόδων, καθώς διαθέτει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, με μοναδικό μειονέκτημα ότι είναι επεμβατική μέθοδος^(28,29).

Εικόνα 13: Μεγαλοκενοτοπιώδης στεάτωση και ήπια λοβιακή φλεγμονή ασθενούς με ήπια μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα



4.4 Μοντέλα πρόβλεψης

Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει και στην ανάπτυξη κάποιων σκορ εκτίμησης της ίνωσης στην NAFLD. Το πιο γνωστό σκορ είναι το **NAFLD Fibrosis Score** (NFS), το οποίο, λαμβάνει υπόψη το Δείκτη Μάζας Σώματος, το λόγο AST/ALT, τον αριθμό αιμοπεταλίων και την αλβουμίνη. Το NFS έχει ευαισθησία 82% και ειδικότητα 98%. Κατατάσσει τα άτομα σε τρεις ομάδες ανάλογα με την τιμή του σκορ, χαμηλής πιθανότητας για ίνωση (<-1,455), υψηλής πιθανότητας για ίνωση (>0,675) και ασάφειας. Τα άτομα με τιμές <-1,455 έχουν επίπεδα ίνωσης F0-F2 ενώ τα άτομα με τιμές >0,675 έχουν επίπεδα ίνωσης F3-F4^(32,33).

Ένα ακόμα σκορ που έχει μελετηθεί είναι το **Fibrotest** το οποίο χρησιμοποιεί πέντε βιοχημικές τιμές, α-2 μακρογλοβουλίνη, απτοσφαιρίνη, απολιποπρωτεΐνη A1, χολερυθρίνη και τη γ-GT διορθωμένες ως προς την ηλικία. Το Fibrotest έχει ευαισθησία 77% και ειδικότητα 98%. Πρόκειται για έναν επικυρωμένο δείκτη για την ποσοτική αξιολόγηση της ίνωσης όχι μόνο

στην NAFLD αλλά και στην αλκοολικής φύσεως ηπατοπάθεια καθώς και στη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα. Το FIB-4 είναι ένα σκορ που λαμβάνει υπόψιν την ηλικία, τις τιμές AST και ALT και τον αριθμό αιμοπεταλίων. Το συγκεκριμένο σκορ έχει ευαισθησία 84% και ειδικότητα 68%. Κατατάσσει τα άτομα σε δύο ομάδες ανάλογα με τις την τιμή του σκορ. Τα άτομα με τιμές <1,3 έχουν επίπεδα ίνωσης F0-F1 ενώ τα άτομα με τιμές >3,25 έχουν επίπεδα ίνωσης F3-F4 ⁽³⁵⁾.

Το 2014 από ένα μεγάλο δείγμα Φιλανδών και Ιταλών ασθενών με NAFLD και NASH αναπτύχθηκε το **NASH Score** λαμβάνοντας υπόψη τρεις συνιστώσες που καθορίζουν την ανάπτυξη της νόσου. Αυτές οι συνιστώσες είναι η τιμή AST, η παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3 και η τιμή της ινσουλίνης. Η τιμή που έχει προταθεί σαν κατώφλι είναι το -1,054. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του σκορ είναι 71,6% και 73,5%, αντίστοιχα ⁽³⁴⁾.

5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ

Οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων οι κληρονομήσιμες διαταραχές σχετίζονται με την ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης, είναι η διαταραχή της ηπατικής μεταφοράς των τριγλυκεριδίων (αβηταλιποπρωτεϊναιμία, οικογενής υποβηταλιποπρωτεϊναιμία), η γενική συστηματική ελάττωση του μεταβολισμού των λιπιδίων (κιτρουλλιναιμία τύπου 2, οικογενείς λιποδυστροφίες, σύνδρομο Chanarin-Dorfman, ασθένεια Wilson), η διαταραχή της οξείδωσης των λιπαρών οξέων και η ανισορροπία στα μονοπάτια σηματοδότησης της ινσουλίνης (συσχετιζόμενη με τη θέση του υποδοχέα ηπατική ινσουλινοαντίσταση)⁽³⁶⁾.

Πολυμορφισμοί γονιδίων

Διάφοροι πολυμορφισμοί σε γονίδια που σχετίζονται με τον μεταβολισμό του λίπους, το οξειδωτικό στρες, την ινσουλινοαντίσταση και την ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι πιθανόν ότι επηρεάζουν την τάση για ανάπτυξη της NAFLD, παρουσία άλλων παθογενετικών παραγόντων κινδύνου. Οι απλοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single nucleotide polymorphisms-SNPs) του γενετικού υλικού μπορεί να οδηγήσουν σε διαφοροποιημένη έκφραση ενός συγκεκριμένου γονιδίου ή σε διαφοροποιημένη λειτουργία μιας εκφραζόμενης πρωτεΐνης⁽³⁶⁾.

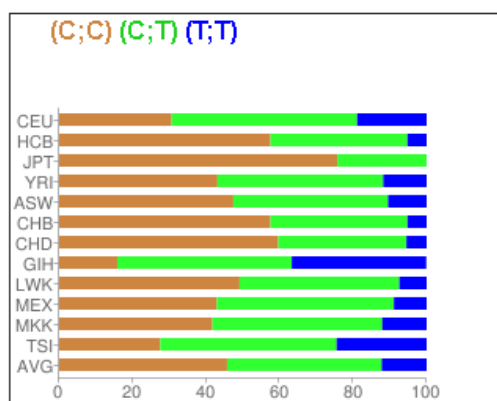
Γονίδιο PNPLA3

Το γονίδιο PNPLA3 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, άγνωστης λειτουργίας, που ανήκει σε μια οικογένεια πρωτεϊνών με δραστηριότητα ακετυλοϋδρολάσης. Η έκφραση του υπόκειται σε μεταβολικό έλεγχο στο λιπώδη ιστό και το ήπαρ⁽³⁷⁾. Πρόκειται για αντικατάσταση κυτοσίνης (C) από γουανίνη (G) που μεταλλάσσει το κωδικόνιο 148 από ισολευκίνη σε μεθειονίνη. Η συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού και του ηπατικού λίπους παρέμεινε στατιστικά σημαντική, έπειτα από προσαρμογή ως προς το ΔΜΣ, την ύπαρξη διαβήτη και την κατανάλωση οινοπνεύματος, και ήταν εμφανής και στις 3 ομάδες. Η συχνότητα παρουσίας του πολυμορφισμού ήταν ανάλογη με την συχνότητα εμφάνισης της νόσου⁽³⁷⁾. Επιπλέον, διερευνήθηκε η σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού και της ένδειξης για ηπατική φλεγμονή,

μέσω εκτίμησης των ηπατικών ενζύμων και παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στα επίπεδα ορού της ALT. Καμία συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ του πολυμορφισμού και του ΔΜΣ, του λιπιδαιμικού και του γλυκαιμικού προφίλ. Τέλος, σύμφωνα με την μελέτη «Raine», βρέθηκε μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και του ΔΜΣ, προτείνοντας πως η επίδραση του αυξάνεται όταν συνυπάρχει παχυσαρκία.

Γονίδιο MBOAT7

Το γονίδιο αυτό, κωδικοποιεί ένα μέλος της οικογένειας ενσωματωμένων πρωτεϊνών μεμβράνης που έχουν δραστικότητα ακυλτρανσφεράσης και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19. Η κωδικοποιημένη πρωτεΐνη είναι μία ακυλοτρανσφεράση λυσοφωσφατιδυλοϊνσιτόλης η οποία έχει εξειδίκευση για αραχιδονυλο-CoA ως δότη ακυλίου. Αυτή η πρωτεΐνη μεταφέρει λιπαρά οξέα μεταξύ των φωσφολιπιδίων και των λυσοφωσφολιπιδίων. Ο πολυμορφισμός στο γονίδιο MBOAT7 σχετίζεται σημαντικά με την NAFLD και μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό της γλυκόζης ⁽¹⁰⁷⁾, ρυθμίζοντας την συγκέντρωση ενδο-ηπατικού λίπους σε παχύσαρκα παιδιά και εφήβους της καυκάσιας φυλής όπως έχουν δείξει και επιδημιολογικές μελέτες, ενώ η συχνότητα του αλληλομόρφου κινδύνου είναι 37% ⁽¹⁰⁸⁾. Η παρουσία τουλάχιστον ενός αλληλομόρφου κινδύνου του συγκεκριμένου πολυμορφισμού, έχει συσχετιστεί με υψηλότερες τιμές της ALT ορού σε παχύσαρκα παιδιά σε σχέση με αυτά που δεν διέθεταν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου. Σε μελέτη κοορτής ελέγχθηκε η επίδραση του γονιδίου MBOAT7 στην εμφάνιση και εξέλιξη της NAFLD και βρέθηκε μία ισχυρή συσχέτιση του πολυμορφισμού με τη νόσο, χωρίς να διευκρινίζεται βέβαια αν ο πολυμορφισμός αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα της νόσου ή αποτέλεσμα αυτής η μειωμένη έκφραση του γονιδίου.



Εικόνα 14: Διαγράμματα συχνότητας αλληλομόρφων για το γονίδιο MBOAT7.

Γονίδια PPP1R3B, GCKR και LYPLAL1

Τα γονίδια GCKR και PPP1R3B εμπλέκονται στον μεταβολισμό της γλυκόζης. Σε μία μεταανάλυση, έγινε γονοτύπηση αυτών των πολυμορφισμών και άλλων που έχουν συσχετιστεί με την νόσο σε 592 ασθενείς και 1405 υγιείς. Παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στην ιστολογικά διαγνωσμένη NAFLD και πολυμορφισμούς πάνω ή κοντά στα παραπάνω γονίδια. Οι πολυμορφισμοί στα γονίδια των PNPLA3 και LYPLAL1 δεν επηρεάζουν τα μεταβολικά χαρακτηριστικά, αλλά προτάθηκε πως κατέχουν ένα ρόλο σε διαδοχικά στάδια αποικοδόμησης των τριγλυκεριδίων αποτρέποντας την αποικοδόμηση τους και έτσι αυξάνοντας την ηπατική στεάτωση. Από την άλλη, οι πολυμορφισμοί στα γονίδια NCAN, PPP1R3B και GCKR επηρεάζουν και τα μεταβολικά χαρακτηριστικά ⁽⁴¹⁾.

Γονίδια GC και LCP-1

Στην μελέτη «Raine», πραγματοποιήθηκε GWAS ανάλυση για την ανεύρεση συσχέτισης μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και ανάπτυξης της NAFLD. Έπειτα από προσαρμογή ως προς το φύλο και την παχυσαρκία, δυο πολυμορφισμοί σε γονίδια που εκφράζονται στο ήπαρ συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά με την NAFLD. Το γονίδιο GC (rs222054) και το γονίδιο LCP-1 (rs7324845). Σχετικά με το γονίδιο GC, η παρουσία τουλάχιστον ενός αλληλόμορφου κινδύνου συσχετίστηκε με 2.54 φορές υψηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη της NAFLD σε σύγκριση με την παρουσία δυο συχνών αλληλόμορφων. Είναι πιθανό ο πολυμορφισμός rs222054 του γονιδίου GC να επηρεάζει τα επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό και με αυτόν τον τρόπο να σχετίζεται με την NAFLD ⁽⁴⁴⁾. Σχετικά με το γονίδιο LCP-1, ο πολυμορφισμός αυτός πρόσφατα συσχετίστηκε με προκαλούμενη από χημειοθεραπεία υπερτριγλυκεριδαμία, προτείνοντας πως ίσως κατέχει κάποιο ρόλο στον μεταβολισμό του λίπους ⁽⁴⁵⁾. Στην μελέτη «Raine», η παρουσία τουλάχιστον ενός αλληλόμορφου κινδύνου συσχετίστηκε με 3.29 φορές υψηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη της NAFLD σε σύγκριση με την παρουσία δυο συχνών αλληλόμορφων ⁽⁴⁶⁾.

Γονίδιο APOC3

Υψηλά επίπεδα της απολιπορωτεΐνης C3 (APOC3) αναστέλλουν την λιποπρωτεϊνική λιπάση και την κάθαρση των τριγλυκεριδίων, οδηγώντας σε αυξημένα τριγλυκερίδια νηστείας αλλά και μεταγευματικά λόγω αύξησης στα υπολείμματα των χυλομικρών ⁽⁴⁷⁾. Τα υπολείμματα προσλαμβάνονται από το ήπαρ, οδηγώντας στην NAFLD και την ηπατική ινσουλινοαντίσταση. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο της απολιπορωτεΐνης C3, αυξάνουν τον κίνδυνο για NAFLD μέσω αυτού του μηχανισμού ⁽⁴⁸⁾. Σε μια μελέτη με υγιείς άνδρες ελέγχθηκε η παρουσία αυτών των πολυμορφισμών. Οι φέροντες το αλληλόμορφο κινδύνου είχαν 30% αύξηση στην συγκέντρωση της απολιπορωτεΐνης C3 και 60% αύξηση στα τριγλυκερίδια νηστείας σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο άγριου τύπου ⁽⁴⁷⁾.

Γονίδιο MTTP

Η αβηταλιποπρωτεϊναιμία (ABL) είναι μια γενετική διαταραχή, η οποία κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Η μετάλλαξη στο γονίδιο MTTP αποτρέπει την σύνδεση των apoB100 και apoB48 με τα τριγλυκερίδια προκειμένου να σχηματιστούν λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) και χυλομικρά, αντιστοίχως. Η απουσία λειτουργικών χυλομικρών αναστέλλει την απορρόφηση των λιπιδίων στο έντερο, οδηγεί σε υπερλιπιδαιμία, λόγω δυσαπορρόφησης του λίπους. Η απουσία των VLDL έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση τριγλυκεριδίων εντός των ηπατοκυττάρων και οδηγεί σε σημαντική στεάτωση.

6. ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

6.1 Πρωτογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου

➤ **Παχυσαρκία**

Η παχυσαρκία (είτε κεντρικού τύπου είτε σε όλο το σώμα) αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση NAFLD, καθώς 25-85% των παχύσαρκων ατόμων παρουσιάζει NAFLD ⁽⁴⁹⁾. Συγκεκριμένα, περίπου 3 στα 4 παχύσαρκα άτομα έχουν μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος, ποσοστό που μπορεί να φτάσει και στο 90% στα άτομα με παθολογική ή αλλιώς νοσογόνο παχυσαρκία. Η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο για NAFLD καθώς επιτρέπει στα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα οποία προκαλούν φλεγμονή στα ηπατοκύτταρα να περάσουν κατευθείαν στην πυλαία κυκλοφορία μέσω του συσσωρευμένου σπλαχνικού λίπους ⁽⁵⁰⁾.

➤ **Ινσουλινοαντίσταση**

Η ινσουλινοαντίσταση είναι ίσως ο βασικότερος παράγοντας εμφάνισης της NAFLD⁽⁵⁰⁾, επομένως υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην ινσουλινοαντίσταση και την υπερβολική συσσώρευση λίπους στον μη λιπώδη ιστό, συγκεκριμένα στο μυ και το ήπαρ. Ο επιπολασμός της NAFLD είναι αυξημένος σε άτομα με διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και διαγνωσθέντες διαβητικούς τύπου II κατά 43% και 63% αντίστοιχα ⁽⁵¹⁾. Επομένως, τα άτομα με διαβήτη τύπου II παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης NAFLD και πιθανή εξέλιξη σε ίνωση και κίρρωση ⁽⁵²⁾. Τέλος, έχει παρατηρηθεί η ύπαρξη NAFLD σε άτομα με ινσουλινοαντίσταση τα οποία δεν είναι παχύσαρκα ⁽⁵³⁾.

➤ **Μεταβολικό Σύνδρομο**

Το μεταβολικό σύνδρομο φαίνεται πως πυροδοτεί την διαδικασία της στεάτωσης, διαμορφώνοντας μια καλοήγη κατάσταση της NAFLD. Η στεάτωση ξεκινά όταν οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί του ήπατος διαταράσσονται και δεν επιτρέπουν στο πλεονάζον

λίπος να εγκαταλείψει τα ηπατοκύτταρα ή να μεταβολιστεί επαρκώς(33). Τα σύγχρονα δεδομένα υποστηρίζουν πως η κατάσταση μεταπίπτει στην κακοήθη μορφή της μετά από χρόνια συσσώρευση τοξικών λιπών, ή την παρουσία λιποτοξικότητας ⁽⁵⁴⁾.

- Η **δυσλιπιδαιμία** συσχετίζεται και ανεξάρτητα αλλά και ως μέρος του μεταβολικού συνδρόμου με την NAFLD ⁽⁵⁴⁾. Εμφανίζεται ακόμη και απουσία υπερβάλλοντος σπλαχνικού λίπους ⁽⁵⁵⁾. Όταν τα δύο συνυπάρχουν η δυσλιπιδαιμία είναι ισχυρά αθηρογόνος, με χαμηλά επίπεδα HDL χοληστερόλης και υψηλά επίπεδα LDL καθώς και οξειδωμένης LDL χοληστερόλης ⁽⁵⁴⁾.
- Υπάρχει ξεκάθαρη συσχέτιση ανάμεσα στην **υπέρταση** και την NAFLD. Μέρος της συσχέτισης αποδίδεται στο μεταβολικό σύνδρομο, ωστόσο παραμένει μετά από προσαρμογή για κλινικούς παράγοντες κινδύνου. Η αιτιολογική σχέση δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί ⁽⁵²⁾. Η υπέρταση υπάρχει σε ευρύ ηλικιακό φάσμα των ενηλίκων ανεξάρτητα από το βάρος τους, φαίνεται όμως πως μετά την ηλικία των 55 ο επιπολασμός της αυξάνει σημαντικά ⁽⁵³⁾.

6.2. Δευτερογενείς κλινικοί παράγοντες κινδύνου

➤ **Σύνδρομο Weber-Christian**

Το Σύνδρομο Weber-Christian είναι μια οζώδης, μη πυογόνος μορφή υποδερματίτιδας (φλεγμονή του υποδόριου λίπους που βρίσκεται κάτω από την στοιβάδα του δέρματος) που σχετίζεται με μη φυσιολογικό μεταβολισμό του λίπους ⁽⁵⁵⁾. Τυπικά συμπτώματα των ασθενών είναι ο πυρετός, οι αρθραλγίες, οι μυαλγίες, οι δερματικές βλάβες και τα επώδυνα υποδόρια οζίδια στα άκρα. Το ήπαρ σε ασθενείς με σύνδρομο Weber-Christian, χαρακτηρίζεται από μακροσταγονιδιακή στεάτωση, στεατοηπατίτιδα, σωματία Mallory-Denk, διήθηση πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων καθώς και από περιφλεβική και περικυτταρική ίνωση. Αυτά τα ιστολογικά ευρήματα σε συνδυασμό με απουσία συστηματικής κατανάλωσης αλκοόλ συχνά ταυτίζονται με ύπαρξη ηπατικής στεάτωσης και NASH. Η αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη και ανοσοκατασταλτικά σχήματα έχουν φέρει περιορισμένη επιτυχία.

➤ **Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS)**

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών περιγράφεται από την ύπαρξη ωοθηκών που περιέχουν πολλές μικρές κύστες, οι οποίες συνήθως δεν ξεπερνούν τα 8 χιλιοστά σε μέγεθος, και εντοπίζονται, τις πιο πολλές φορές, ακριβώς κάτω από την επιφάνεια της ωοθήκης. Οι μικρές αυτές κύστες είναι ωοθυλάκια που περιέχουν ωάρια, λόγω όμως ορμονικών διαταραχών, τα ωοθυλάκια αυτά δεν έχουν αναπτυχθεί πλήρως και παρουσιάζουν στασιμότητα στη πορεία εξέλιξης τους. Οι πολυκυστικές ωοθήκες είναι συχνές στις γυναίκες και απαντώνται περίπου στο 20-30% των γυναικών και συσχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε αναδρομική μελέτη 70 γυναικών με PCOS, βρέθηκαν υψηλά επίπεδα του ηπατικού ενζύμου ALT στο 30% του δείγματος, το οποίο εμφάνιζε παράλληλα και σημαντικά υψηλότερο BMI, περιφέρεια μέσης, τριγλυκερίδια πλάσματος, λόγο ολικής χοληστερόλης προς HDL και αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε μελέτη ασθενών με PCOS διαγνώστηκε NAFLD στο 41.5% με απεικονιστικές μεθόδους, ενώ οι ασθενείς αυτοί είχαν υψηλότερη αντίσταση στην ινσουλίνη και μεγαλύτερη περίμετρο μέσης από τους ασθενείς με φυσιολογική απεικόνιση ήπατος. Τα παραπάνω ευρήματα καταδεικνύουν την πιθανή σημασία της παχυσαρκίας, της ηλικίας και της ινσουλινοαντίστασης στην εξέλιξη του PCOS, χωρίς να επιβεβαιώνεται το PCOS ως ξεχωριστός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση NAFLD ⁽⁵⁶⁾.

➤ **Ολική Παρεντερική Διατροφή (ΟΠΔ)**

Η ΟΠΔ αναφέρεται στην ενδοφλέβια χορήγηση των θερμίδων ή / και της γλυκόζης σε ασθενείς οι οποίοι δεν δύνανται να αξιοποιήσουν την εντερική ή την από του στόματος σίτιση. Μακροχρόνια ΟΠΔ οδηγεί στην εξάντληση της καρνιτίνης, μιας ένωσης που είναι απαραίτητη για τη μεταφορά των ελεύθερων λιπαρών οξέων από το ηπατικό κυτταρόπλασμα στα μιτοχόνδρια για β-οξειδωση αυτών(43). Η κυτταροπλασματική συγκέντρωση της χολίνης, ένα κρίσιμο θρεπτικό συστατικό για την έκκριση λιποπρωτεϊνών, μειώνει επίσης, την αποθήκευση λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα . Η διάρκεια της χορήγησης ΟΠΔ συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της ηπατικής βλάβης και σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε ηπατική νόσο τελικού σταδίου. Η διακοπή της ΟΠΔ θα πρέπει να εξετάζεται σε ασθενείς οι οποίοι αναπτύσσουν μη φυσιολογικές εξετάσεις ηπατικής λειτουργίας ⁽⁵⁷⁾.

➤ **Βαριατρική Χειρουργική-Απότομη απώλεια βάρους**

Το γαστρικό by-pass είναι η πιο κοινή βαριατρική εγχείριση σε άτομα με θνησιγενή παχυσαρκία, όμως οι συνέπειες από την απότομη απώλεια βάρους που προκαλείται δεν είναι ξεκάθαρες. Η πιθανότητα διαταραχής των ηπατικών ενζύμων ύστερα από μία τέτοια χειρουργική επέμβαση έχει φανεί ότι φτάνει το 40%, ενώ το 6% πιθανά να εμφανίσει στεατοηπατίτιδα. Η παράκαμψη που δημιουργείται, οδηγεί στην καταστροφή των λιποκυττάρων και σε μια μεγάλη αύξηση στα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων, τα οποία λαμβάνονται από το ήπαρ. Οι επιπλοκές αυτές έρχονται σε αντίθεση με την υπόθεση ότι η γρήγορη απώλεια βάρους, μέσω του γαστρικού by-pass θα πρέπει να εξομαλύνει τις μεταβολικές παραμέτρους, τις εργαστηριακές ενδείξεις της ηπατικής λειτουργίας, την έκφραση παραγόντων που εμπλέκονται στην εξέλιξη της ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης.

➤ **Υποξία- άπνοια ύπνου**

Χαρακτηρίζεται από διαλείπουσα διακοπή της αναπνοής κατά τη διάρκεια του ύπνου μέσω απόφραξης των αεραγωγών των πνευμόνων. Είναι μια συχνή κατάσταση που συνδέεται με την παχυσαρκία και ο επιπολασμός της στο γενικό πληθυσμό είναι 2-4%, ενώ στους παχύσαρκους 35-45%. Έχει παρατηρηθεί μεγαλύτερος επιπολασμός και σοβαρότητα της NASH σε άτομα με σοβαρή OSA , επομένως η διαλείπουσα υποξία ίσως παίζει ρόλο στην παθογένεια της NASH και επιπλέον, η προώθηση της αντίστασης στην ινσουλίνη κυρίως, είναι αυτή που εμπλέκεται στο μηχανισμό της παθογένεσης ⁽⁵¹⁾.

➤ **Φαρμακευτική αγωγή**

HAART

Μετά την ανάπτυξη των αντιρετροϊκών θεραπειών για τη θεραπεία της νόσου του HIV, το ποσοστό θνησιμότητας εξαιτίας του AIDS μειώθηκε, ενώ παράλληλα αυξήθηκε το ποσοστό εμφάνισης ηπατικής νόσου στους ασθενείς αυτούς. Με τη βοήθεια του υπερήχου, έχουν παρατηρηθεί στοιχεία στεάτωσης στο 31% των ασθενών με λοίμωξη HIV. Η διαχείριση αυτής της κατάστασης απαιτεί την εξέταση της ανάγκης για την αντιρετροϊκή θεραπεία, τη

σοβαρότητα της ηπατικής νόσου, καθώς και τις διαθέσιμες εναλλακτικές θεραπείες που μειώνουν τον κίνδυνο της ηπατικής βλάβης, διατηρώντας παράλληλα καταστολή του ιού ⁽⁴³⁾.

Ταμοξιφαίνη

Η ταμοξιφαίνη (TMX) συνδέεται με την ανάπτυξη στεάτωσης και φλεγμονής, ενώ παύση της TMX συνδέεται γενικά με παλινδρόμηση της NASH ⁽⁵⁸⁾. Ο επιπολασμός της NASH σε ασθενείς που λαμβάνουν TMX είναι υψηλότερος σε άτομα με συνήθεις παράγοντες κινδύνου για NASH συμπεριλαμβανομένου του μεταβολικού συνδρόμου και της παχυσαρκίας.

Μεθοτρεξάτη

Η βιβλιογραφία περιέχει πολλές αναφορές των ασθενών με ψωρίαση που έλαβαν θεραπεία με μεθοτρεξάτη (MTX) και ανέπτυξαν κίρρωση του ήπατος. Η παχυσαρκία και ο διαβήτης αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για την τοξικότητα της μεθοτρεξάτης. Οι ιστολογικές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα περιλαμβάνουν στεάτωση, εκφυλισμό και νέκρωση των ηπατοκυττάρων ⁽⁵⁹⁾.

Κορτικοστεροειδή

Τα κορτικοστεροειδή προκαλούν στεάτωση μέσω αναστολής της μιτοχονδριακής β-οξειδωσης και των ενζύμων της β-υπεροξειδωσης λιπιδίων, που οδηγεί στην συσσώρευση των λιπιδίων εντός ηπατοκυττάρων. Τα κορτικοστεροειδή συμβάλλουν, επίσης, στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη που οδηγεί στην λιπογένεση στο ήπαρ. Επομένως, η χρήση κορτικοστεροειδών σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για την NAFLD θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή ⁽⁴⁵⁾.

7. ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ - ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΕΣ

Υπάρχει ένα σύνολο προσωπικών παραγόντων, οι οποίοι επηρεάζουν σημαντικά τις συμπεριφορές και τους παράγοντες κινδύνου που οδηγούν στην εμφάνιση της NAFLD και NASH. Αρχικά, ο βαθμός και τα επίπεδα ενημέρωσης και αφύπνισης των πληθυσμών σχετικά με τα διατροφικά πρότυπα και τις συστάσεις φαίνεται να επηρεάζουν αρκετά τις διατροφικές συμπεριφορές αυτών, και κατ' επέκταση τον τρόπο ζωή τους. Η ψυχολογική υγεία και σταθερότητα, από την άλλη, δεν παίζουν λιγότερο σημαντικό ρόλο. Η αυτοεκτίμηση και αυτοπεποίθηση του ατόμου παρουσιάζει σίγουρα αμφίδρομη σχέση με την επιλογή ενός υγιεινού τρόπου ζωής και θρέψης(38), καθώς δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις που παχύσαρκα/υπέρβαρα άτομα χρησιμοποιούν το φαγητό ως μέσο αντιμετώπισης καταστάσεων stress, κατάθλιψης ή ακόμα και ανίας⁽⁶⁰⁾.

7.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

➤ **Ηλικία**

Η ηλικία φαίνεται ότι είναι έμμεσος παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση NAFLD και NASH καθώς δεν σχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου αυτής καθεαυτής, αλλά με την εμφάνιση συμπτωμάτων που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση NAFLD (όπως πχ. υπέρταση, σακχαρώδης. διαβήτης, αλλά και μειωμένη φυσική δραστηριότητα)^(61,62). Ωστόσο, οι περισσότερες περιπτώσεις παρουσιάζονται μεταξύ 40-60 ετών^(63,64).

➤ **Φύλο**

Σε παλαιότερες επιδημιολογικές μελέτες υπήρχε σαφής υπεροχή του γυναικείου φύλου που ξεπερνούσε τα 2/3 των περιπτώσεων, ωστόσο σύγχρονα επιδημιολογικά δεδομένα παρουσιάζουν το αντίθετο. Το φύλο φαίνεται ότι επηρεάζει την εμφάνιση της νόσου, με τους άντρες να έχουν αυξημένες πιθανότητες για εμφάνιση αυτής. Η διαφορά οφείλεται στην διαφορετική κατανομή του λίπους μεταξύ των 2 φύλων, σε σπλαχνικό και υποδόριο, με το αρσενικό φύλο να έχει αυξημένα ποσοστά σπλαχνικού σε σχέση με το θηλυκό⁽⁶⁵⁾.

➤ **Εθνικότητα**

Η συχνότητα εμφάνισης της NAFLD διαφέρει ανάλογα με την εθνικότητα (45% στους Ισπανόφωνους, 33% στους Καυκάσιους και 24% στους Αφρικανούς). Η διαφορά αυτή παραμένει έπειτα ακόμη και από προσαρμογή ως προς την παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση και μάλλον σχετίζεται με εθνικές διαφορές ως προς τον μεταβολισμό του λίπους⁽⁸⁾. Ρόλο φαίνεται να παίζει και η διαφορά διαιτητικών συνηθειών καθώς και άσκησης. Σε συμφωνία με αυτά τα δεδομένα, η μελέτη «IRAS Family» ανέδειξε υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης της NAFLD σε Ισπανόφωνους (24%) από ότι σε Αφρικανούς (10%), κάτι που ίσως οφείλεται σε γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου που δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί⁽⁶⁴⁾.

7.2 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

➤ **Διατροφή**

Η διατροφή κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της NAFLD και την εξέλιξη της από απλή στεάτωση σε στεατοηπατίτιδα. Η επίδραση τόσο των μακροθρεπτικών και των μικροθρεπτικών συστατικών όσο και ομάδων τροφίμων και συγκεκριμένων τροφίμων στην ανάπτυξη της NAFLD παρουσιάζει επιστημονικό ενδιαφέρον⁽⁶⁶⁾. Η υιοθέτηση ανθυγιεινού διατροφικού προτύπου, το οποίο περιλαμβάνει αυξημένη κατανάλωση πρόσθετων σακχάρων και αναψυκτικών, συστηματική κατανάλωση fast food, μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, αυξημένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος και μειωμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών, σχετίζεται με βεβαιότητα με αύξηση σωματικού βάρους, πιθανή παχυσαρκία, επομένως και με πιθανή εμφάνιση ηπατικής στεάτωσης.

Λίπος:

Σε μια μελέτη χορήγησης λίπους σε ασθενείς με NASH και υγιείς, οι ασθενείς είχαν αυξημένη ηπατική πρόσληψη τριγλυκεριδίων κατά την μεταγευματική περίοδο και μειωμένη ηπατική έκκριση VLDL σε σύγκριση με τους υγιείς, κατάσταση που προωθεί την ηπατική στεάτωση⁽⁶⁷⁾. Πολλαπλές μελέτες σε πειραματόζωα δείχνουν πως μια διατροφή πλούσια σε λίπος προωθεί την ηπατική στεάτωση (68-70). Η συσσώρευση κορεσμένων λιπαρών οξέων στο ήπαρ λόγω

μιας διατροφής πλούσιας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα αυξάνει τους δείκτες που σχετίζονται με το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και την ηπατική δυσλειτουργία ⁽⁷¹⁾. Το γεγονός αυτό παράλληλα με την συσχέτιση της κατανάλωσης κορεσμένων λιπαρών οξέων με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο προτείνει πως αυτά κατέχουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη της NAFLD ⁽⁷²⁾.

Υδατάνθρακες:

Ο ρόλος των υδατανθράκων στην ανάπτυξη της NAFLD διερευνήθηκε σε μια μελέτη με θνησιγενή παχύσαρκους ασθενείς, το 90% των οποίων έπασχε από τη νόσο. Υψηλή κατανάλωση υδατανθράκων όπως εκτιμήθηκε από ανάκληση εικοσιτετραώρου (πάνω από το 54% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης) συσχετίστηκε με σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα για φλεγμονή. Ωστόσο, δεν έγινε διαχωρισμός ανάμεσα στους σύνθετους και τους απλούς υδατάνθρακες ⁽⁷³⁾.

Πρωτεΐνες :

Υπάρχουν λίγα δεδομένα για την επίδραση της ποσότητας και της ποιότητας των πρωτεϊνών στην ανάπτυξη της NAFLD ⁽⁷²⁾. Η κατανάλωση πρωτεϊνών συσχετίστηκε με τη νόσο σε μια μελέτη με 349 άτομα όπου οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν με ημιποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Η κατανάλωση πρωτεΐνης ταξινομήθηκε σε 6 κατηγορίες ανάλογα με την πηγή της. Οι ασθενείς με NAFLD κατανάλωναν κατά 27% περισσότερο πρωτεΐνη προερχόμενη από όλες τις πηγές σε σύγκριση με τους υγιείς. Στην ίδια μελέτη, έπειτα από προσαρμογή ως προς την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ και την ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη, η κατανάλωση πρωτεΐνης η οποία προερχόταν από όλες τις πηγές συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για NAFLD ενώ η κατανάλωση πρωτεΐνης από ψάρια πλούσια σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είχε μια τάση να μειώνει τον κίνδυνο για την νόσο ⁽⁷⁴⁾.

Βιταμίνη Ε και C:

Η χαμηλή πρόσληψη των αντιοξειδωτικών βιταμινών Ε και C σε συνδυασμό με αυξημένη υπεροξειδωση λίπους και οξειδωτικό στρες μπορεί να συνεισφέρει στο ηπατοκυτταρικό τραύμα, την φλεγμονή και την ίνωση σε ασθενείς με NASH ^(66,77).

➤ **Κάπνισμα**

Αυτό που παρατηρείται στην ενήλικη ζωή είναι ότι οι καπνιστές διστάζουν να διακόψουν το κάπνισμα υπό τον φόβο πρόσληψης βάρους ⁽⁷⁶⁾. Το κάπνισμα ίσως επιταχύνει την εξέλιξη της NAFLD μέσω της επίδρασής του στην αντίσταση στην ινσουλίνη, αλλά και της συσχέτισής του με την υποξία, το οξειδωτικό stress και την αύξηση των επιπέδων TNF-α και άλλων προφλεγμονωδών κυττοκινών. Επιπλέον, ο κίνδυνος για ίνωση αυξάνεται με την παρουσία ταυτόχρονα και διαβήτη και με την αύξηση της ηλικίας ^(39,51,77).

➤ **Σωματική αδράνεια**

Οι προσωπικοί παράγοντες που φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποχή από τη φυσική δραστηριότητα είναι η έλλειψη χρόνου, το αίσθημα κούρασης, η αποστροφή προς την άσκηση, η έλλειψη κινήτρων και αυτοκινητοποίησης, η χαμηλή αυτοεκτίμηση, ο φόβος πιθανού τραυματισμού και η χαμηλή αυτοαποτελεσματικότητα ⁽⁷⁸⁾. Η προστατευτική επίδραση της φυσικής δραστηριότητας στα καρδιαγγειακά και μεταβολικά νοσήματα είναι καλά καθορισμένη. Ωστόσο, ο ρόλος και η σημασία της στην NAFLD χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Αρκετές μελέτες δείχνουν μια αντίστροφη σχέση μεταξύ του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας και της καρδιοαναπνευστικής ευρωστίας και τη πιθανότητα για εμφάνιση της NAFLD ⁽⁶⁶⁾. Σε μια μελέτη, ήταν εμφανής αντίστροφη η σχέση μεταξύ του επιπέδου φυσικής κατάστασης και της συχνότητας της NAFLD ανεξάρτητα από το ΔΜΣ ⁽⁵¹⁾. Ωστόσο, σε άλλη μελέτη, το περιεχόμενο ηπατικό λίπος ήταν χαμηλότερο στα δραστήρια άτομα έπειτα από προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ ⁽⁷⁹⁾. Απουσία οποιασδήποτε αλλαγής στο σωματικό βάρος ή στην σύσταση του σώματος, η φυσική δραστηριότητα μπορεί να προωθεί την ινσουλινοευαισθησία και την ομοιοστάση της γλυκόζης. Ενεργοποιεί τον υποδοχέα της ινσουλίνης στον μυϊκό ιστό και επομένως αυξάνει την μεταφορά γλυκόζης και ινσουλίνης στους μυς. Επίσης, επιδρά θετικά στον μεταβολισμό των ελεύθερων με αυτά που δεν ασκούνται ⁽⁶⁶⁾. Σε μελέτη αξιολόγησης μονοζυγωτικών διδύμων με διαφορετικά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας και φυσική κατάσταση, ο δραστήριος δίδυμος χαρακτηριζόταν από μειωμένη ηπατική πρόσληψη λιπαρών οξέων ⁽⁸⁰⁾.

8. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

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

Η αλλαγή του τρόπου ζωής, όμως, αποτελεί την πιο δραστική μέθοδο για την θεραπεία της NAFLD. Πιο συγκεκριμένα, η ρύθμιση του σωματικού βάρους σε φυσιολογικά επίπεδα, η ένταξη φυσικής δραστηριότητας στην καθημερινότητα, καθώς και η ισορροπημένη διατροφική πρόσληψη φαίνεται να αποτελούν συστατικά μιας καλής υγείας, επομένως και συστατικά θεραπείας από την νόσο. Σε μελέτη, δηλαδή, φάνηκε πως ανεξάρτητα από το που θα εστιάσει η αλλαγή του τρόπου ζωής, αυτή θα βελτιώσει σημαντικά την ηπατική ιστολογία ⁽⁸¹⁾. Ωστόσο, σε περίπτωση που η αποτελεσματικότητα της αλλαγής του τρόπου ζωής δεν είναι ικανοποιητική, μετά από περίοδο 6 μηνών, ενδείκνυται η φαρμακοθεραπεία. Επιπλέον, η αποφυγή κατανάλωσης αλκοόλ δρα προστατευτικά, ιδίως σε ασθενείς που έχουν αναπτύξει ίνωση. Η αλλαγή του τρόπου ζωής που συνίσταται περιγράφεται ως εξής:

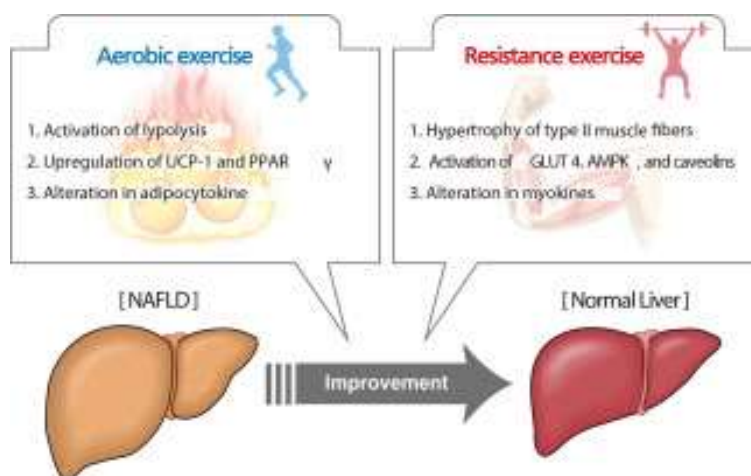
Απώλεια βάρους

Συνίσταται μείωση του αρχικού σωματικού βάρους 5-10% με ολιγοθερμιδικό διατροφικό πρόγραμμα που να περιέχει φυτικές ίνες, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, που βελτιώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη, καθώς και πλήθος βιταμινών, όπως η βιταμίνη C. Η απότομη απώλεια βάρους, όπως και οι μακρές περίοδοι νηστείας, αυξάνουν τα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων, επομένως και θα πρέπει να αποφεύγονται σαν τακτικές. Ούτως ή άλλως, η σταδιακή απώλεια βάρους έχει συσχετισθεί με βελτίωση της ηπατικής λειτουργίας ⁽⁸²⁾.

Φυσική Δραστηριότητα

Αερόβια άσκηση μέτριας έντασης 3-5 φορές/εβδομάδα έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τις βιοχημικές και ιστολογικές αλλοιώσεις του ήπατος ^(83,84).

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



Εικόνα 15: Επιδράσεις αερόβιας άσκησης και άσκησης αντιστάσεων στην αναστροφή της ηπατικής στεάτωσης.

Σύσταση Διατροφής

Ένα ισορροπημένο, οριοθετημένο και εξατομικευμένο διατροφικό πρόγραμμα επιτρέπει την απώλεια βάρους και τη βελτίωση της κλινικής εικόνας της NAFLD. Σύμφωνα με διατροφικές συστάσεις για τους ασθενείς με NAFLD, οι υδατάνθρακες θα πρέπει να καταλαμβάνουν το 40-50% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης, εκ των οποίων σημαντικά αυξημένη θα πρέπει να είναι η ποσότητα των σύνθετων υδατανθράκων και των φυτικών ινών. Η πρόσληψη λίπους θα

πρέπει να καταλαμβάνει <30% των ημερήσιων θερμίδων. Είναι σημαντικό να αυξηθεί η κατανάλωση των τροφίμων πλούσιων σε μονο- και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Τέλος, η πρωτεΐνη θα πρέπει να αποτελεί το 15-20% της συνολικής ενέργειας ⁽⁸²⁾.

Πιο συγκεκριμένα, τα προϊόντα διατροφής που συνιστώνται σε ασθενείς με NAFLD πρέπει να είναι χαμηλά σε κορεσμένα λιπαρά οξέα ⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾. Το κρέας θα πρέπει να είναι χαμηλό σε λιπαρά γι' αυτό και προτιμάται η κατανάλωση λευκού κρέατος και περιστασιακά κόκκινου. Όσον αφορά το μαγείρεμα, τα τρόφιμα καλό θα είναι να μαγειρεύονται στον ατμό ή στο φούρνο, χωρίς προσθήκη πηγής λίπους. Το τηγάνισμα θα πρέπει να αποφεύγεται, καθώς και η κατανάλωση των fast foods. Κάποιοι ξηροί καρποί, όπως τα καρύδια που είναι πλούσια σε α-λινολενικό οξύ, συνιστανται για τους ασθενείς με NAFLD. Η κατανάλωση 30gr καρύδια την ημέρα προκαλεί μείωση στα ολικά επίπεδα χοληστερόλης και LDL ⁽⁸⁸⁾. Η διατροφή θα πρέπει, επίσης, να είναι πλούσια σε φρούτα και λαχανικά, τα οποία είναι καλές πηγές αντιοξειδωτικών βιταμινών. Σε γενικές γραμμές, επομένως, μία προσεγγμένη διατροφική συμπεριφορά, με ισορροπημένα γεύματα, ποσότητες και ποικιλία δρα προστατευτικά σε ασθενείς με NAFLD.

Φαρμακευτικά σκευάσματα

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την ρύθμιση του ΣΔΙΙ και την επίτευξη ευγλυκαιμίας (αντιδιαβητικά δισκία, ινσουλίνη) θα είχαν ευεργετικό ρόλο στην αντιμετώπιση της νόσου. Η χορήγηση ηπατοτοξικών φαρμάκων (π.χ. αμιοδαρόνη, ταμοξιφένη κ.α.), αντιθέτως, δεν συνίσταται. Όσον αφορά την θεραπευτική αντιμετώπιση της NAFLD με τη βοήθεια αντιβιοτικών, η χορήγηση από του στόματος μετρονιζαδόλης έχει βρεθεί ότι αποστρέφει τη στεάτωση ⁽⁸⁷⁾, ενώ τα προβιοτικά έχει φανεί ότι μειώνουν τις κυτταροκίνες και μεταβάλλουν τη χλωρίδα του πεπτικού σωλήνα με ευνοϊκά αποτελέσματα για την NAFLD ⁽⁸⁹⁾.

Το οξειδωτικό στρες θεωρείται ένας από τους βασικότερους μηχανισμούς της ηπατοκυτταρικής βλάβης και της εξέλιξης της νόσου σε άτομα με NASH. Η βιταμίνη E είναι ένας αντιοξειδωτικός παράγοντας και η επίδρασή της στην αντιμετώπιση της NASH έχει μελετηθεί σε σημαντικό βαθμό. Από το σύνολο των μελετών, έχει φανεί πως η Βιταμίνη E, σχετίζεται με μείωση των αμινοτρανσφερασών σε άτομα με NASH και βελτιώνει την ηπατική στεάτωση και φλεγμονή, χωρίς όμως να έχει κάποια επίδραση στην ηπατική ίνωση. Σύμφωνα

με την Αμερικάνικη Γαστρεντερολογική Εταιρεία η βιταμίνη Ε (α-τοκοφερόλη) χορηγούμενη σε ημερήσια δόση 800 IU βελτιώνει την ηπατική ιστολογία σε μη διαβητικούς ενήλικες με NASH, αποδεδειγμένη με βιοψία, και ως εκ τούτου θα πρέπει να θεωρείται φαρμακοθεραπεία πρώτης γραμμής για αυτόν τον πληθυσμό ασθενών. Άλλα αντιοξειδωτικά τα οποία έχουν μελετηθεί είναι τα ω-3 λιπαρά οξέα με ενθαρρυντικά αποτελέσματα επίσης. Δύο μετά-αναλύσεις έδειξαν σημαντική βελτίωση του ηπατικού λίπους ύστερα από χορήγηση ω-3 λιπαρών οξέων. Αυτό πιθανά οφείλεται στην επίδρασή τους στις τριακυλογλυκερόλες καθώς και στην αντιφλεγμονώδη δράση τους. Η θετική τους επίδραση εμφανίζεται σε δόσεις μεγαλύτερες των 0,83g/ημέρα ⁽⁹⁰⁾.

9. Η ΜΑΣΤΙΧΑ

9.1. Το προϊόν

Η μαστίχα είναι είδος σχίνου και συγκεκριμένα του Μαστιχοφόρου Σχίνου, που καλλιεργείται εκτενώς στη Χίο, στα νότια κυρίως του νησιού σε 24 Μαστιχοχώρια. Από τον σχίνο λαμβάνεται η μαστίχα, μια ρητινώδης εύοσμη ρητίνη, που είναι αποκλειστικά ελληνικό προϊόν και έχει χαρακτηριστεί από το 1997 ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π). Η φυσική μαστίχα, το «δάκρυ» του μαστιχόδενδρου, αποτελεί ένα μοναδικό γεωργικό προϊόν, ξεχωριστό τόσο για τον τόπο και τον τρόπο παραγωγής του όσο και για τις ιδιότητες και πολλαπλές εφαρμογές του.⁽⁹¹⁾

Το μαστιχόδενδρο φτάνει σε ύψος μέχρι τα 3 μέτρα και φυσικά καλλιεργείται για τη ρητίνη που παράγεται από αυτό, ωστόσο, αυτοφύεται, επίσης, σε θαμνότοπους και χέρσες περιοχές. Έχει φύλλα σκληρά με ελλειπτικό σχήμα και μικρό μέγεθος, κόκκινα λουλούδια σε βότρες και κοκκινόμαυρους καρπούς. Η επιφάνεια του κορμού του έχει ακανόνιστες πλάκες, σαν ρυτίδες, όπως το πεύκο. Από το μαστιχόδενδρο για φαρμακευτικούς σκοπούς χρησιμοποιείται η ρητίνη, που συλλέγεται το καλοκαίρι. Η συλλογή της μαστίχας γίνεται με παραδοσιακό τρόπο. Τον Ιούλιο, οι μαστιχοπαραγωγοί, για να παραχθεί η μαστίχα, χαράσσουν (κεντούν) τον κορμό και τα κλαδιά του δέντρου με ένα μικρό, αιχμηρό και αυλακωτό σιδερένιο εργαλείο, το κεντητήρι. Το παραγόμενο έκκριμα αρχίζει να στερεοποιείται στις χαρακιές περίπου 15 ημέρες μετά το κέντημα, ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες.⁽⁹¹⁾

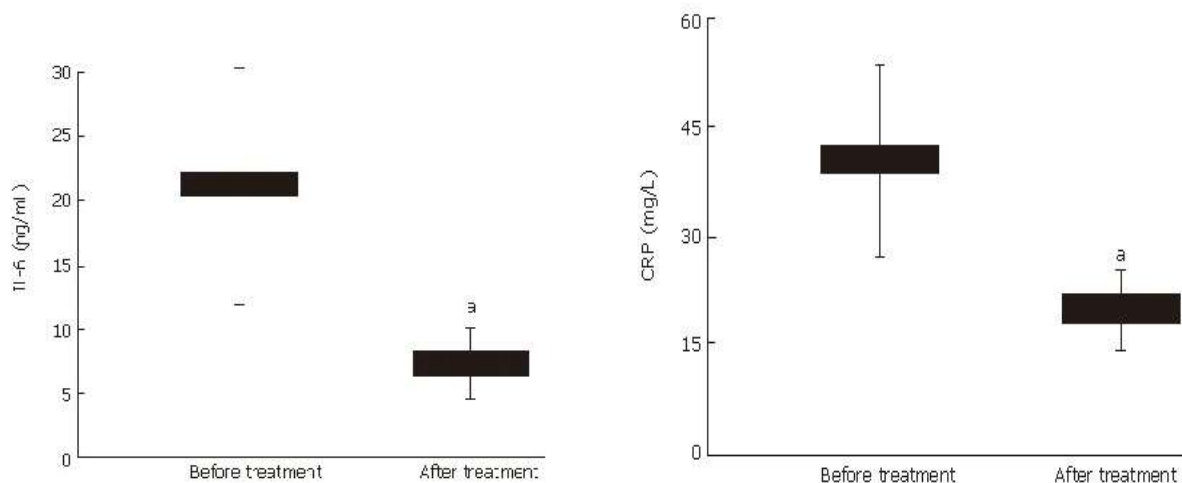
Αργότερα, στα τέλη του Αυγούστου, αρχίζει η συλλογή της διάφανης ρητινώδους ουσίας, σε κρυστάλλους που στην αρχή έχουν μια πικρή γεύση, η οποία αργότερα μεταλλάσσεται στην ιδιαίτερη γεύση της μαστίχας με το μαγευτικό άρωμα. Κατόπιν το προϊόν κοσκινίζεται, πλένεται και καθαρίζεται επιμελώς, κομμάτι-κομμάτι, και κατόπιν προωθείται στο εμπόριο.⁽⁹¹⁾

9.2. Χρήσεις και οφέλη

Οι πρώτες αναφορές γύρω από το μαστιχόδενδρο και τη μαστίχα Χίου εντοπίζονται στην αρχαιότητα και ουσιαστικά προέρχονται από τον Ηρόδοτο (484-420 π.Χ.), ο οποίος αναφέρει χαρακτηριστικά ότι στην αρχαία Ελλάδα μασούσαν το αποξηραμένο ρητινώδες υγρό που ρέει από το φλοιό του μαστιχόδενδρου. Σε ιατρικά κείμενα της ύστερης αρχαιότητας συναντάται πληθώρα ιατρικών συνταγών, με κύριο συστατικό τη μαστίχα, την οποία θεωρούσαν ευεργετική για την ανθρώπινη υγεία και της απέδιδαν πολλές ιδιότητες.

9.2.1. Αντιφλεγμονώδης δράση

Αρχικά, μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν πως η μαστίχα Χίου μπορεί να αναστείλει την παραγωγή προ-φλεγμονωδών παραγόντων ⁽⁹²⁾. Βέβαια η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας έχει φανεί και σε ανθρώπους. Συγκεκριμένα, η ημερήσια πρόσληψη 2,2γρ. μαστίχας Χίου για ένα μήνα βελτιώνει την κλινική εικόνα ασθενών με νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας βαρύτητας. Στη μελέτη, μειώθηκαν σημαντικά οι δείκτες φλεγμονής, όπως η IL-6 και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) (Εικόνες 16-17). Όταν μελετήθηκαν απομονωμένα από τους ασθενείς περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα αίματος φάνηκε πως είχε ανασταλεί η έκκριση του TNF-α. ⁽⁹³⁾ Σε άλλη μελέτη, η μαστίχα φάνηκε να παρεμποδίζει την προσκόλληση των μακροφάγων στα ενδοθηλιακά κύτταρα αορτής παρουσία TNF-α. Ταυτόχρονα, μειώνεται η έκφραση του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα (NF-κΒ), ενός παράγοντα «κλειδί» στο μονοπάτι της φλεγμονής ⁽⁹⁴⁾.



Εικόνες 16-17: Συγκέντρωση IL-6 και CRP σε ασθενείς με νόσο Crohn ύστερα από 4 εβδομάδων παρέμβαση με φυσικό συμπλήρωμα Μαστίχας Χίου.

9.2.2 Αντιμικροβιακή Δράση

Η μαστίχα, έχει σημαντική χρήση και στη χειρουργική. Με τα υποπροϊόντα της δημιουργούνται τα απορροφήσιμα ράμματα. Στην οδοντιατρική, φαίνεται ότι η μάσηση μαστίχας, μειώνει ή παρεμποδίζει το σχηματισμό πλάκας ⁽⁹⁵⁾. Όσον αφορά τη γαστρεντερολογία, η μαστίχα δρα ενάντια του *Helicobacter pylori*, ενός gram αρνητικού και αερόβιου βακτηρίου που ευθύνεται για την εμφάνιση χρόνιας ενεργούς γαστρίτιδας, καθώς και μιας σειράς άλλων στομαχικών διαταραχών ⁽⁹⁸⁾. Μια διπλή τυφλή κλινική δοκιμή που διεξήχθη σε ασθενείς με συμπτωματικό και ενδοσκοπικά αποδεδειγμένο έλκος δωδεκαδακτύλου, έδειξε αυξημένη ανακούφιση από συμπτώματα σε ασθενείς με ημερήσια πρόσληψη μαστίχας, σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο, ενώ φάνηκε και επούλωση στο 70% των ατόμων ⁽⁹⁶⁾. Μελέτη του 2007, συμπέρανε πως η ημερήσια πρόσληψη 0,75 mg μαστίχας ημερησίως για 3 μήνες μειώνει το *H.pylori* σειράς SS1 στο στόμαχο πειραματόζωνων, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από ιστολογική εξέταση ⁽⁹⁹⁾. Ωστόσο, σε μια πιο πρόσφατη μελέτη, η δραστηριότητα της μαστίχας συγκρίθηκε με τη λήψη αντιβιοτικών και μετά από θεραπεία 7 ημερών δεν παρατηρήθηκε εξάλειψη του βακτηρίου σε πειραματόζωα που έλαβαν μαστίχα ⁽⁹⁷⁾.

9.2.3. Αντιοξειδωτική Δράση

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2011, η έγχυση μαστίχας *in vitro* σε λεία μυϊκά κύτταρα τα οποία είχαν υποστεί διέγερση παρουσία TNF-α, οδήγησε σε μείωση του σχηματισμού υπεροξειδίου, λόγω παρεμπόδισης της πρωτεϊνικής κινάσης C, η οποία με τη σειρά της οδήγησε σε παρεμπόδιση της οξειδάσης του NADPH. Επίσης, φάνηκε πως μειώθηκε ο σχηματισμός υπεροξειδίου σε ενδοθηλιακά κύτταρα διεγερμένα παρουσία αγγιοτενσίνης II ⁽¹⁰⁰⁾.

9.2.4. Καρδιοπροστατευτική Δράση

Η μαστίχα Χίου έχει συσχετιστεί με καρδιαγγειακή προστασία. Αναστέλλει την οξείδωση της LDL *in vitro* ⁽¹⁰¹⁾ και, χάρη στα τριτερπένια, δρα στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος για να προκαλέσει αντιαιμορρογόνο δράση ⁽¹⁰²⁾. Συγκεκριμένα, το εκχύλισμα καταστέλλει την προκαλούμενη από την οξειδωμένη LDL απόπτωση των μονοκυττάρων μέσω της μείωσης της έκφρασης του υποδοχέα της στα μακροφάγα και της αποκατάστασης της ενδοκυττάριας αντιοξειδωτικής γλουταθειόνης ⁽¹⁰²⁾. Σε μελέτη, στην οποία δόθηκε 5g μαστίχας Χίου σε 133 εθελοντές ηλικίας άνω των 50, με υψηλό λιπιδαιμικό προφίλ, φάνηκε πως η μαστίχα το βελτιώνει σημαντικά. Συγκεκριμένα, μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά οι τιμές ολικής χοληστερόλης, LDL χοληστερόλης, ολικής χοληστερόλης/HDL, Απολιποπρωτεΐνης A-1, Απολιποπρωτεΐνης B και οι ηπατικές τιμές SGOT και SGPT ⁽¹⁰³⁾.

9.2.5. Αντικαρκινική Δράση

Η μαστίχα Χίου θεωρείται και αντικαρκινικός παράγοντας, ειδικά σε όγκους του μαστού, του ήπατος, του στομάχου, του σπλήνα και της μήτρας ⁽¹⁰⁴⁾. Επίσης, φάνηκε πως η μαστίχα προκαλεί απόπτωση και έχει αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες σε κύτταρα του παχέος εντέρου ⁽¹⁰⁵⁾. Τέλος, όταν μελετήθηκαν καρκινικά κύτταρα προστάτη, η μαστίχα κατάφερε να αναστείλει τον κυτταρικό κύκλο μέσω καταστολής της δραστηριότητας του NF-κΒ ⁽¹⁰⁶⁾.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της κλινικής δοκιμής είναι η διερεύνηση της επίδρασης της συμπληρωματικής χορήγησης Μαστίχας Χίου, σε ασθενείς με NAFLD/NASH. Μέρος αυτής της κλινικής δοκιμής, αποτελεί και η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή, της οποίας σκοπός είναι η αξιολόγηση των παραμέτρων που σχετίζονται με τη νόσο σε ασθενείς με NAFLD/NASH, ανάλογα με το γονότυπό τους για τον πολυμορφισμό rs641738 του γονιδίου MBOAT7 και η ανταπόκριση τους σε θεραπεία με φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας Χίου, ανάλογα και πάλι με τον γονότυπο του συγκεκριμένου γονιδίου.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Συλλογή δείγματος

Η μελέτη MAST4HEALTH είναι μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, έναντι εικονικού φαρμάκου, κλινική δοκιμή για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της συμπληρωματικής, εξάμηνης χορήγησης μαστίχας στη δόση των 2,1γρ. ημερησίως σε κάψουλες των 350 mg/κάψουλα σαν μη φαρμακολογική θεραπεία στους ασθενείς με NAFLD/NASH. Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης είναι η βελτίωση της ιστοπαθολογίας του ήπατος, όπως αυτή αξιολογείται από τη μαγνητική τομογραφία και από την τιμή του LIF Score, όπως προκύπτει από χρήση του πρωτοκόλλου LiverMultiScan. Ως δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ορίζονται η βελτίωση των τιμών των ηπατικών ενζύμων, η μείωση φλεγμονής και οξειδωτικού στρες, η βελτίωση των παραμέτρων του μεταβολικού συνδρόμου. Επίσης, θα αξιολογηθεί η ανταπόκριση των ασθενών στη χορήγηση μαστίχας στη συγκεκριμένη δόση με βάση το γενετικό τους προφίλ και συγκεκριμένα με την παρουσία ή όχι του πολυμορφισμού MBOAT7, θα καταγραφούν τυχόν αλλαγές στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας πριν και μετά την τρίμηνη και εξάμηνη παρέμβαση, θα μελετηθούν

επιγενετικές αλλαγές, ως απόκριση στη θεραπεία της μαστίχας και θα συγκριθεί το μεταβολομικό/μεταβολονομικό αποτύπωμα των συμμετεχόντων πριν και μετά την εξάμηνη παρέμβαση αλλά και με τον υγιή πληθυσμό. Το ελληνικό κέντρο υποδέχθηκε στο σύνολο πάνω από 90 εθελοντές, από τους οποίους προχώρησαν σε μαγνητική τομογραφία 60, ενώ 25 από αυτούς συμμετείχαν, έως την πρώτη φάση, στην παρέμβαση. Όλοι με ενυπόγραφη βεβαίωση δήλωναν τη συγκατάθεσή τους για τη συμμετοχή σε όλα τα απαιτούμενα στάδια της έρευνας. Η έγκριση για την πραγματοποίηση της μελέτης, λήφθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου.

Κριτήρια επιλογής δείγματος

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

- Ηλικία: 18-65 ετών
- BMI: $>30\text{kg/m}^2$
- Να μην καταναλώνουν συστηματικά ποσότητες αλκοόλ ($>20\text{gr/ημέρα}$ για τις γυναίκες και $>30\text{gr/ημέρα}$ για τους άντρες).
- Να μην έχουν διαγνωσθεί με Ηπατίτιδα Β, C, με κάποια αυτοάνοση ηπατική νόσο, με σύνδρομο πολυκυστικών, με ασθένεια Wilson, με αιμοχρωμάτωση.
- Να μη λαμβάνουν προβιοτικά, συμπληρώματα διατροφής, αντιφλεγμονώδη, ρυθμιστές ψυχολογικής διάθεσης.
- Να μην διαθέτουν κάποια επιβεβαιωμένη συστηματική νόσο η οποία δεν ρυθμίζεται με κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή.
- Να μην έχουν πρόσφατη μεταβολή στο σωματικό τους βάρος ούτε να βρίσκονται σε διαδικασία απώλειας κατά την παρέμβαση.

Διαδικασίες αξιολόγησης δείγματος

Οι εθελοντές, συναντούσαν, κατόπιν συνεννόησης, το ερευνητικό προσωπικό στο κέντρο Μεταβολικής Μονάδας στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Εκεί, ενημερώνονταν για τις διαδικασίες που θα ακολουθούσαν.

1.Δημογραφικά χαρακτηριστικά – Ατομικό/Οικογενειακό ιστορικό

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

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

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

2. Φυσική Δραστηριότητα

Τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας των εθελοντών του δείγματος αξιολογήθηκαν από ένα έγκυρο και ορθά μελετημένο ερωτηματολόγιο εκτίμησης της φυσικής δραστηριότητας, το IPAQ (International Physical Activity Questionnaire). Το ερωτηματολόγιο αυτό διαθέτει 3 ενότητες (φυσική δραστηριότητα στην εργασία, το σπίτι και την ψυχαγωγία) και αναφέρεται σε δραστηριότητες που αφορούν ακριβώς την εβδομάδα (7 ημέρες) που προηγήθηκε της αξιολόγησης.

3. Ανθρωπομετρία

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

Η μέτρηση της περιφέρειας μέσης πραγματοποιήθηκε με την χρήση μιας μη εκτατής ταινίας με ανατομικό σημείο την πιο στενή περιοχή της μέσης, δηλαδή μεταξύ της τελευταίας πλευράς και πάνω από το επίπεδο του ομφαλού. Σε περίπτωση παχύσαρκων ατόμων, η μέτρηση

πραγματοποιούνταν κατά προσέγγιση στην περιοχή του ομφαλού εξασφαλίζοντας την σωστή τοποθέτηση της ταινίας. Ο εθελοντής στεκόταν όρθιος με την κοιλιά χαλαρή, τα πόδια ενωμένα και τα χέρια στο πλάι. Η ταινία τοποθετούνταν σε παράλληλο επίπεδο και η μέτρηση λάμβανε χώρα στο τέλος μιας φυσιολογικής εκπνοής.

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

Η εκτίμηση της σύστασης του σώματος και η μέτρηση του βάρους πραγματοποιήθηκαν με την συσκευή TANITA SC-330 (Body composition analyzer SC-330). Πρόκειται για ένα μηχάνημα που εκτιμά το ποσοστό σωματικού λίπους, την λιπώδη, την άλιπη και την μυϊκή μάζα του σώματος με βάση δεδομένα της μεθόδου DXA μέσω βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA). Η BIA εκτιμά αυτές τις παραμέτρους μετρώντας την αντίσταση του σώματος. Το λίπος δεν είναι διαπερατό στον ηλεκτρισμό σε αντίθεση με το νερό, το περισσότερο από το οποίο βρίσκεται στο μυϊκό ιστό. Ο βαθμός δυσκολίας με τον οποίο ο ηλεκτρισμός διαπερνά μια ουσία είναι γνωστός ως ηλεκτρική αντίσταση και το ποσοστό λίπους και άλλοι παράμετροι μπορούν να εκτιμηθούν μετρώντας τα επίπεδα της. Αποτελεί ένα απλό, γρήγορο και μη επεμβατικό μέσο εκτίμησης της σύστασης σώματος. Ωστόσο, η αντίσταση του σώματος μπορεί να ποικίλει λόγω αλλαγών στην ποσότητα και την κατανομή του σωματικού νερού (60% του σωματικού βάρους) και αλλαγών στην θερμοκρασία του. Για αυτό τον λόγο πρέπει να εξασφαλίζονται ομοιόμορφες συνθήκες κατά την μέτρηση. Η αντίσταση του σώματος μπορεί να μεταβάλλεται μέσα στην ημέρα. Στην παρούσα μελέτη, για να μειωθεί το σφάλμα που προκύπτει από αυτή την διακύμανση, η μέτρηση πραγματοποιήθηκε :

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

4. Αρτηριακή Πίεση – Καρδιακή Συχνότητα

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

5. Διατροφική Πρόσληψη

Για την εκτίμηση των μακροχρόνιων διατροφικών συνηθειών των ατόμων του δείγματος, χρησιμοποιήθηκε ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ). Το ερωτηματολόγιο περιελάμβανε 69 τρόφιμα. Ο εθελοντής, μέσα από συνέντευξη από μέλος της ερευνητικής ομάδας, κλήθηκε να περιγράψει τις διατροφικές του συνήθειες. Με αυτόν τον τρόπο σημειώθηκαν η συχνότητα και η ποσότητα κατανάλωσης από κάθε τρόφιμο, συγκρίνοντας τις καταναλισκόμενες ποσότητες του εθελοντή με προτεινόμενες του ερωτηματολογίου. Από την επεξεργασία του ερωτηματολογίου προέκυψαν δεδομένα σε σχέση με την κατανάλωση ομάδων τροφίμων.

6. Αιμοληψία

Οι εθελοντές θα έπρεπε να έχουν ακολουθήσει 12ωρη νηστεία προκειμένου να πραγματοποιηθεί αιμοληψία. Νοσηλεύτρια λάμβανε ποσότητα αίματος τόση, ώστε να γίνει στη συνέχεια γενική και βιοχημική ανάλυση αίματος, καθώς και γενετική ανάλυση και προσδιορισμός. Σε συνεργαζόμενα εξωτερικά κέντρα πραγματοποιήθηκε και δοκιμασία ανοχής της γλυκόζης (OGTT).

Γενική και βιοχημική ανάλυση

Ύστερα από την αιμοληψία, το αίμα που παραλαμβάνόταν από τον εθελοντή, τοποθετούνταν σε φιαλίδια προκειμένου να αναλυθεί περεταίρω. Με την σημαντική βοήθεια των συνεργαζόμενων βιοχημικών εργαστηρίων (Ρέα, Βιοϊατρική κλπ), μπορούσαμε να έχουμε αποτελέσματα προς αξιολόγηση των επιπέδων διάφορων παραμέτρων όπως ο σίδηρος, η φερριτίνη, η ινσουλίνη, η γλυκόζη, η HDL και LDL χοληστερόλη, τα TGL, τα ηπατικά ένζυμα ALT, AST, γ-GT κ.α.

Επιπλέον, στο τέλος αυτής της διαδικασίας, πραγματοποιούσαμε απομόνωση πλάσματος και ορού αίματος (αποθήκευση και χρησιμοποίηση σε περίπτωση σφάλματος ή σε επιπλέον

βιοχημικές εξετάσεις), καθώς και απομόνωση των λευκών αιμοσφαιρίων (προσδιορισμός γονιδιώματος), ύστερα από φυγοκέντρηση των δειγμάτων αίματος (3000rpm, 10 λεπτά, 4°C) και τα αποθηκεύαμε στην κατάψυξη σε (-80 °C).

Γενετική ανάλυση

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

A. Απομόνωση λευκών αιμοσφαιρίων

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

B. Απομόνωση γενετικού υλικού

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

Αρχή της μεθόδου

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

Το αυτοματοποιημένο σύστημα εκχύλισης DNA iPrep™Purification Instrument είναι ένα ρομποτικό σύστημα έκλουσης νουκλεϊκών οξέων. Χάρη στην ενσωματωμένη μαγνητική μονάδα και με την χρήση τεχνολογίας μαγνητικών μικροσφαιριδίων παρέχει την δυνατότητα

εκχύλισης 13 δειγμάτων ταυτόχρονα. Τα μικροσφαιρίδια Dynabeads MyOne™SILANE είναι μαγνητικά σφαιρίδια (1μm) διοξειδίου του πυριτίου (SiO₂) στην επιφάνεια των οποίων προσροφύεται ειδικά το DNA. Η χρήση της τεχνολογίας των μικροσφαιριδίων για την έκλουση του gDNA έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή μεθόδων όπως η φυγοκέντρηση ή η χρήση αντλίας κενού. Το προγραμματισμένο πρωτόκολλο της μεθόδου που βρίσκεται στην κάρτα iPrep™Card:gDNA blood είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο των παραμέτρων της μεθόδου όπως ο όγκος των αντιδραστηρίων, τα βήματα ανάμειξης τους και τους χρόνους επώασης.

Αναλυτική πορεία

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

Γ. Φωτομέτρηση DNA

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

Δ. Ανάλυση του γονιδιώματος

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

Έστω, ο πολυμορφισμός που μελετήθηκε rs641738 (MBOAT7) με συχνό αλληλόμορφο C και αλληλόμορφο κινδύνου (σπάνιο) T, τότε η διαδικασία της γονοτύπησης καθορίζει αν τα άγνωστα δείγματα είναι:

- Ομοζυγώτες (δείγματα, που έχουν μόνο αλληλόμορφο C)
- Ομοζυγώτες (δείγματα, που έχουν μόνο αλληλόμορφο T)
- Ετεροζυγώτες (δείγματα, που έχουν τόσο αλληλόμορφο C και το αλληλόμορφο T)

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

Η τεχνολογία της γονοτύπησης που χρησιμοποιήθηκε είναι η μεθοδολογία Taqman. Η μεθοδολογία Taqman αποτελεί έναν τρόπο ελέγχου της προόδου του θερμικού κυκλοποιητή πραγματικού χρόνου (real-time PCR). Πρόκειται για μία ολοκληρωμένη συλλογή αντιστοιχισμένων εκκινητών και ανιχνευτών που οδηγούν στον προσδιορισμό μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε ανθρώπινα δείγματα DNA. Χρησιμοποιείται ειδικό TaqManR αντιδραστήριο για την ενίσχυση και την ανίχνευση συγκεκριμένων SNP σε καθαρισμένα δείγματα γονιδιωματικού DNA. Η δράση του αντιδραστηρίου βελτιστοποιείται με την προσθήκη ειδικού Master mix. Αφού έχει γίνει η αραίωση όπως περιγράφηκε παραπάνω προστίθενται 4,5μl DNA σε κάθε well. Επίσης, σε κάθε plate προστίθενται 2

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

7. Μαγνητική Τομογραφία (MRI)

Σε δεύτερη συνάντηση έλαβε χώρα η Μαγνητική Τομογραφία, τα αποτελέσματα της οποίας αξιολογούνται για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου και τον υπολογισμό του LIF score. Αν η εξατομικευμένη, συνολική τιμή του LIF score είναι > 2 ή τουλάχιστον 2 εκ των εξεταζόμενων τμημάτων (slices) του ήπατος εμφανίζουν LIF score μεταξύ των τιμών 2 και 3 σε ποσοστό $> 30\%$ με ταυτόχρονη παρουσία λίπους σε ποσοστό $> 5,6\%$, τότε ο εκάστοτε εθελοντής θεωρείται επιλέξιμος για τη μελέτη.

8. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με την χρήση του στατιστικού προγράμματος Pasw SPSS statistics, έκδοση 20.0. Ελέγχθηκε αν όλες οι μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή, με το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov. Ωστόσο κάτι τέτοιο δεν φάνηκε με ευκρίνεια. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κατηγορικές και ποσοτικές. Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά, δηλαδή συχνότητα (%), ενώ οι ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση. Για τη συσχέτιση μεταξύ δύο κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Spearman. Η σύγκριση των μη κανονικών συνεχών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο Man-Whitney U test και το κριτήριο Kruskal-Wallis. Για τη συσχέτιση μιας ποσοτικής μεταβλητής, που ακολουθεί την κανονική κατανομή, με μια κατηγορική μεταβλητή με πάνω από δύο κατηγορίες χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (One Way ANOVA). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας σε όλες τις αναλύσεις ορίστηκε ως $p < 0,05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο συνολικός αριθμός του δείγματος της μελέτης, που υποβλήθηκε σε μαγνητική τομογραφία, ως μέσο διάγνωσης της νόσου και ποσοτικοποίησης τη φλεγμονής και ίνωσης, είναι 60 άτομα. Εξ αυτών, 30 δείγματα τελικά εισήχθησαν στον πληθυσμό παρέμβασης μέχρι στιγμής, με τους 17 να έχουν ολοκληρώσει επιτυχώς τη μελέτη, 8 να διανύουν τον τελευταίο μήνα της παρέμβασης και 5 να έχουν ήδη αποκλειστεί λόγω μη συμμόρφωσης με τις συστάσεις του πρωτοκόλλου. Αξίζει να σημειωθεί, ότι από τα άτομα που ξεκίνησαν την παρέμβαση και πραγματοποίησαν όλο το χρονικό διάστημα που απαιτείται, 7 έπαιρναν το συμπλήρωμα Α (41,2%) και 10 το συμπλήρωμα Β (58,8%).

1. Χαρακτηριστικά του δείγματος και συσχετίσεις αυτών με τους δείκτες της μαγνητικής τομογραφίας

Περιγραφικά χαρακτηριστικά ανάλογα με τη βαρύτητα της NASH

- Αρχικά, παρουσιάζονται περιγραφικά χαρακτηριστικά των 60 ατόμων, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε μαγνητική τομογραφία, ως μέσο διάγνωσης και ποσοτικοποίησης της NASH, για τις δύο κατηγορίες ύπαρξης ή μη NASH.

Πίνακας 6: Σύγκριση μέσων όρων μεταβλητών ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι NASH.

N=60	Mean ± Std. Deviation		p-value
	without NASH (N=25)	NASH (N=35)	
BMI (kg/m ²)	31,4 ± 3,2	36,8 ± 5,9	0,009
BODYWEIGHT (kg)	87,2 ± 24,1	107,2 ± 18,9	0,944
BODYFAT (%)	32,2 ± 11,5	39,4 ± 7,8	0,182
VISCFAT	13,3 ± 5,3	17,4 ± 5,5	0,498
FAT_MRI (%)	5,5 ± 2,4	15,3 ± 7,6	0,000
CT1 (ms)	668,4 ± 299,9	942,5 ± 187,0	0,031
NFS	-0,6 ± 0,7	-1,2 ± 0,2	0,585
NASH	-0,6 ± 0,7	-1,3 ± 0,9	0,916
TG (mg/dl)	103,0 ± 25,5	141,2 ± 68,0	0,230

TC (mg/dl)	163,3 ± 25,1	194,4 ± 32,2	0,642
HDL (mg/dl)	48,5 ± 3,5	49,4 ± 11,2	0,222
LDL (mg/dl)	104,5 ± 10,6	116,7 ± 25,8	0,350
AST (iu/l)	20,3 ± 7,9	21,4 ± 6,8	0,932
ALT (iu/l)	22,1 ± 9,7	29,9 ± 12,8	0,133
γGT (iu/l)	22,8 ± 31,7	47,1 ± 60,1	0,129

Ύστερα από την πραγματοποίηση MRI από τους εθελοντές, προκειμένου να αξιολογηθεί η ικανότητα ένταξης τους στην παρέμβαση, μετρήθηκε το LIF. Έτσι, οι εθελοντές χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, αυτούς που έχουν NASH και αυτούς που δεν έχουν. Η ύπαρξη της NASH πιστοποιείται όταν το ηπατικό λίπος >5,7% και α) το LIF>2 ή β) το LIF>1, εφόσον LIF2-4>30% σε περισσότερα από 2 slices. Τα άτομα που είχαν NASH, έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τιμή BMI, CT1 και ηπατικού λίπους (p=0,009, p=0,000 και p=0,031 αντίστοιχα) από τα άτομα που δεν διαγνώστηκαν με NASH ύστερα από την πραγματοποίηση της μαγνητικής τομογραφίας.

Περιγραφικά χαρακτηριστικά για τις κατηγορίες γονοτύπων που διαθέτουν οι εθελοντές

- Από το σύνολο των εθελοντών που έκαναν μαγνητική τομογραφία και διαθέτουν γενετική πληροφορία (90%) , το 29,6% (N=16) έχει γονότυπο CC, το 50% (N=27) έχει CT και το 20,4% (N=11) έχει TT για τον γονίδιο MBOAT7. Αρχικά λοιπόν, γίνεται σύγκριση των μέσων όρων όλων των μεταβλητών για τις τρεις ομάδες γονότυπου.

Πίνακας 7: Μέσοι όροι ανθρωπομετρικών, βιοχημικών, διαγνωστικών χαρακτηριστικών του δείγματος, σύμφωνα με τους τρεις γονότυπους MBOAT7.

N=54	Mean ± Std. Deviation			P-value
	CC (N=16)	CT (N=27)	TT (N=11)	
AGE (years)	54,1 ± 7,6	51,1 ± 8,8	56,8 ± 7,1	0,154
BMI (kg/m ²)	34,5 ± 3,1	35,7 ± 7,4	35,6 ± 5,4	0,802
BODYWEIGHT (kg)	100,1 ± 17,6	106,1 ± 20,4	92,2 ± 36,0	0,274
BODYFAT (%)	38,6 ± 6,1	36,4 ± 9,0	37,8 ± 15,5	0,787
VISCFAT	16,0 ± 3,9	16,5 ± 6,0	16,4 ± 8,4	0,969
TG (mg/dl)	105,4 ± 27,0	161,8 ± 84,5	136,3 ± 37,8	0,819
TC (mg/dl)	180,2 ± 26,6	195,1 ± 33,0	203,6 ± 38,8	0,074
HDL (mg/dl)	36,3 ± 25,2	30,7 ± 25,5	35,5 ± 25,3	0,753

LDL (mg/dl)	82,9 ± 53,5	71,7 ± 59,8	88,2 ± 66,9	0,709
AST (iu/l)	22,7 ± 5,6	21,2 ± 8,0	19,3 ± 5,2	0,486
ALT (iu/l)	27,4 ± 13,0	27,7 ± 12,1	27,6 ± 11,6	0,997
γGT (iu/l)	49,9 ± 52,5	24,9 ± 15,8	57,3 ± 95,2	0,143
INS (iu/l)	17,4 ± 8,3	23,5 ± 18,1	18,4 ± 8,4	0,484
LIF	2,1 ± 1,0	2,0 ± 1,0	2,3 ± 1,0	0,814
FAT_MRI (%)	10,4 ± 7,7	11,4 ± 7,6	13,4 ± 8,2	0,615
CT1 (ms)	900,0 ± 125,8	873,4 ± 215,8	761,7 ± 409,0	0,359
NFS	-1,5 ± 1,2	-1,9 ± 1,1	-1,3 ± 1,3	0,227
NASH	-1,3 ± 0,7	-1,0 ± 1,0	-1,2 ± 0,6	0,596

Στον προηγούμενο πίνακα, έγινε σύγκριση των μέσων τιμών των χαρακτηριστικών που συσχετίζονται με την NASH, στις τρεις κατηγορίες γονοτύπων που διαθέτουν οι εθελοντές. Είναι γεγονός, πως καμία από τις τιμές που ελέγχθηκαν δεν παρουσίασε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τον γονότυπο.

- Στη συνέχεια, αλλάζοντας το γενετικό μοντέλο ελέγχου, έγινε εκ νέου σύγκριση των μέσων όρων όλων των μεταβλητών. Το δείγμα, όμως, χωρίστηκε σε δύο ομάδες, σε αυτούς που είναι ομόζυγοι ως προς το φυσιολογικό αλληλόμορφο CC (N=16) και σε αυτούς που διαθέτουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου-T (N=38) για τον πολυμορφισμό rs641738 του γονιδίου MBOAT7.

Πίνακας 8: Σύγκριση μέσων όρων μεταβλητών, μεταξύ CC γονότυπο και T-carriers.

N=54	Mean ± Std. Deviation		P-value
	CC (N=16)	T-carriers (N=38)	
AGE (years)	54,1 ± 7,6	52,6 ± 8,7	0,332
BMI (kg/m ²)	34,5 ± 3,1	35,7 ± 6,9	0,003
BODYWEIGHT (kg)	100,1 ± 17,6	102,3 ± 25,7	0,421
BODYFAT (%)	38,6 ± 6,1	36,8 ± 10,9	0,064
VISCFAT	16,0 ± 3,9	16,4 ± 6,7	0,256
TG (mg/dl)	105,4 ± 27,0	154,3 ± 74,0	0,015
TC (mg/dl)	180,2 ± 26,6	197,6 ± 34,1	0,411
HDL (mg/dl)	36,3 ± 25,2	32,0 ± 25,2	0,753
LDL (mg/dl)	82,9 ± 53,5	76,2 ± 61,3	0,236
AST (iu/l)	22,7 ± 5,6	20,7 ± 7,4	0,771
ALT (iu/l)	27,4 ± 13,0	27,7 ± 11,8	0,361
γGT (iu/l)	49,9 ± 52,5	33,7 ± 51,6	0,150
INS (iu/l)	17,4 ± 8,3	22,0 ± 2,7	0,484
LIF	2,1 ± 1,0	2,1 ± 1,0	0,636
FAT_MRI (%)	10,4 ± 7,7	12,1 ± 7,7	0,793

CT1 (ms)	900,0 ± 125,8	843,2 ± 279,3	0,214
NFS	-1,5 ± 1,2	-1,7 ± 1,2	0,882
NASH	-1,3 ± 0,7	-1,1 ± 1,0	0,443

Χωρίζοντας το δείγμα σε ομοζυγώτες ως προς το φυσιολογικό αλληλόμορφο και σε αυτούς που φέρουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο κινδύνου T, φαίνεται πως υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους για κάποιες τιμές. Οι τιμές των BMI και TG σε αυτούς που έχουν CC γονότυπο είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερες ($p=0,003$ και $p=0,008$ αντίστοιχα) από αυτούς που φέρουν τουλάχιστον ένα T αλληλόμορφο.

Έλεγχος συσχετίσεων μεταξύ μεταβλητών και γραμμική παλινδρόμηση των σχέσεων αυτών

- Για το σύνολο των ατόμων που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία, έγινε διερεύνηση της ενδεχόμενης συσχέτισης μεταξύ των LIF και CT1 με τις υπόλοιπες μεταβλητές.

N=60		BMI (kg/m ²)	VISCFAT	NFS	NASH	TG (mg/dl)	TC (mg/dl)	ALT (iu/l)	AST (iu/l)	γGT (iu/l)
LIF	Rho	0,498	0,354	0,056	-0,335	0,533	0,459	0,373	0,176	0,296
	p-value	0,000	0,006	0,674	0,010	0,000	0,000	0,004	0,190	0,024
CT1 (ms)	Rho	0,5	0,381	0,013	-0,357	0,581	0,506	0,429	0,195	0,354
	p-value	0,000	0,003	0,924	0,006	0,000	0,000	0,001	0,146	0,006

Πίνακας 9: Συσχέτιση κατά Spearman για τα LIF Score και CT1 με τις επιμέρους παραμέτρους.

Στον προηγούμενο πίνακα, πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των μεταβλητών LIF και CT1, με κάποιες άλλες μεταβλητές προκειμένου να ελεγχθεί η σημαντικότητα ή μη της επίδρασης ενός παράγοντα σε κάποιον άλλο. Έτσι, το LIF Score, το οποίο διεξάγεται αυτόματα από την μαγνητική τομογραφία και το λογισμικό LiverMultiScan, φαίνεται να συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με το BMI, το ποσοστό λίπους στο ήπαρ, το σπλαχνικό λίπος, το NASH Score και τα βιοχημικά TG, TC, ALT και γGT. Από αυτά, με τα περισσότερα εμφανίζει μέτρια θετική συσχέτιση ($\rho: 0,3-0,6$), με το λίπος του ήπατος εμφανίζει θετική ισχυρή συσχέτιση ($\rho=0,856$), ενώ με το NASH Score εμφανίζει μέτρια αρνητική συσχέτιση ($\rho=-0,035$).

Από την άλλη, η τιμή CT1, η οποία επίσης διεξάγεται αυτόματα από την μαγνητική τομογραφία και το λογισμικό LiverMultiScan, φαίνεται να συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με ακριβώς

τις ίδιες τιμές. Κατά αντιστοιχία, με τα περισσότερα εμφανίζει μέτρια θετική συσχέτιση (ρ : 0,3-0,6), με το λίπος του ήπατος εμφανίζει θετική ισχυρή συσχέτιση (ρ =0,792), ενώ με το NAS Score εμφανίζει μέτρια αρνητική συσχέτιση (ρ =-0,357).

- Στη συνέχεια ελέγχθηκε η γραμμική σχέση των τιμών LIF και CT1 με τον γονότυπο του πολυμορφισμού rs641738 για το γονίδιο MBOAT7, ύστερα και από προσαρμογή με συγχυτικούς παράγοντες.

Πίνακας 10: Γραμμική παλινδρόμηση ελέγχου επίδρασης του γονότυπου του MBOAT7 (ανεξάρτητη μεταβλητή) στο επίπεδο του LIF(εξαρτημένη μεταβλητή).

Εξαρτημένη Μεταβλητή=LIF	Model (adjusted*)	
	beta	p-value
MBOAT7	-0,130	0,422
AGE (years)	0,013	0,435
SEX	0,443	0,260
BMI (kg/m ²)	0,080	0,039
VISCFAT	-0,049	0,230
TG (mg/dl)	0,002	0,359
TC (mg/dl)	0,003	0,126
INS (mg/dl)	-0,010	0,288

*adjusted for age, sex, bmi, viscfat, TG, TC,INS

Πίνακας 11: Γραμμική παλινδρόμηση ελέγχου επίδρασης του γονότυπου του MBOAT7 (ανεξάρτητη μεταβλητή) στην τιμή του CT1(εξαρτημένη μεταβλητή).

Εξαρτημένη Μεταβλητή=CT1	Model 1 (adjusted*)	
	beta	p-value
MBOAT7	-77,8	0,087
AGE (years)	-3,8	0,398
SEX	-36,3	0,732
BMI (kg/m ²)	0,648	0,950
VISCFAT	11,2	0,325
TG (mg/dl)	0,383	0,555
TC (mg/dl)	0,725	0,211
INS (mg/dl)	-0,579	0,826

*adjusted for age, sex, bmi, viscfat, TG, TC,INS

Από τους Πίνακες 10-11, φαίνεται πως γραμμική σχέση δεν εμφανίζει ούτε το CT1 ούτε και το LIF με τον γονότυπο. Ωστόσο, φάνηκε ότι για αύξηση μίας μονάδας του BMI, το LIF αυξάνεται κατά 0,008 φορές ($p=0,006$).

2. Παρέμβαση: χαρακτηριστικά και συσχετίσεις

Περιγραφικά Χαρακτηριστικά

Από τους 60 υποψήφιους εθελοντές που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία, 22 άτομα κρίθηκαν κατάλληλα για συμμετοχή στη μελέτη στην πρώτη χρονική φάση, και 13 στη δεύτερη χρονική φάση, με βάση τα εκτιμώμενα LIF scores και το % ποσοστό ηπατικού λίπους. Στην παρούσα φάση θα εξετασθούν οι τιμές των ατόμων της πρώτης φάσης, καθώς αυτοί της δεύτερης δεν έχουν ολοκληρώσει ακόμη τη διαδικασία παρέμβασης. Τα 22 λοιπόν άτομα, είχαν μέσο BMI $37,4 \pm 5,7 \text{ kg/m}^2$, LIF Score $2,6 \pm 0,8$ και ηπατική συγκέντρωση λίπους $14,8 \pm 8,0$ %. Στον Πίνακα 12 εμφανίζονται τα χαρακτηριστικά των ατόμων που εντάχθηκαν στη μελέτη και τυχαιοποιήθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες.

Πίνακας 12: Περιγραφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών που τυχαιοποιήθηκαν στις δύο ομάδες της παρέμβασης

N=22	Mean $\pm$ Std. Deviation		p-value
	ΟΜΑΔΑ Α (N=7)	ΟΜΑΔΑ Β (N=10)	
BMI (kg/m^2)	$37,6 \pm 4,4$	$33,7 \pm 3,8$	0,571
BODYFAT (%)	$41,8 \pm 6,4$	$38,0 \pm 7,8$	0,378
LIF	$2,3 \pm 0,7$	$2,7 \pm 0,8$	0,647
FAT_MRI (%)	$10,6 \pm 6,1$	$16,7 \pm 8,7$	0,081
CT1 (ms)	$911,9 \pm 78,7$	$999,1 \pm 159,2$	0,004
NFS	$-1,82 \pm 1,05$	$-2,66 \pm 0,8$	0,722
NASH	$-1,15 \pm 1,43$	$-1,09 \pm 0,68$	0,728

Από τον προηγούμενο πίνακα, φαίνεται ότι μεταξύ των δύο τυχαιοποιημένων ομάδων παρέμβασης, η ομάδα Β είχε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή CT1 στους εθελοντές της ($p=0,004$) σε σχέση με την ομάδα Α.

- Στη συνέχεια, έγινε σύγκριση των μέσων όρων των μεταβλητών πριν και μετά την παρέμβαση και για τις δύο ομάδες. Επιπλέον, έγινε σύγκριση των μέσων όρων των επί τοις εκατό μεταβολών πριν και μετά την παρέμβαση και για τις δύο ομάδες.

Πίνακας 12: Σύγκριση μέσων όρων μεταβλητών, στις ομάδες Α και Β για τους χρόνους 0 και 6 μήνες με το κριτήριο Wilcoxon και σύγκριση των μέσων όρων των επί τοις εκατό μεταβολών.

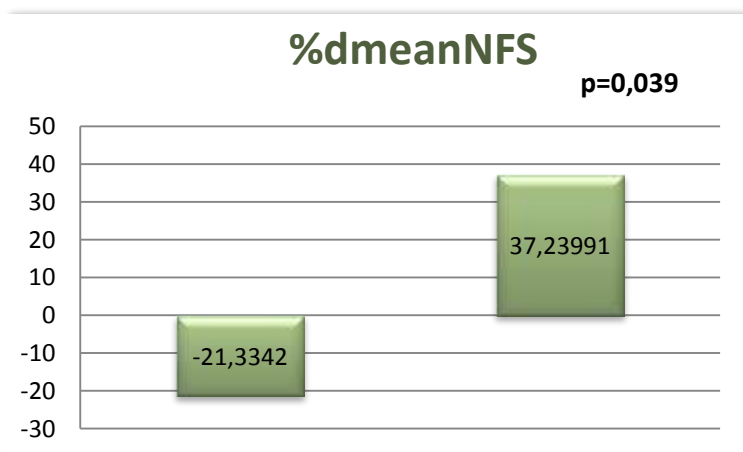
*Αφορά την στατιστική σημαντικότητα της διαφοράς του μέσου όρου των επί τοις εκατό μεταβολών.

ΟΜΑΔΑ Α (N=7)				ΟΜΑΔΑ Β (N=10)			
Mean ± Std. Deviation			p-value	Mean ± Std. Deviation			p-value*
Time0	Time6			Time0	Time6	p-value	
BMI (kg/m ²)	36,5 ± 4,8	36,4 ± 4,5	0,611	36,6 ± 6,6	39,4 ± 7,5	0,505	0,190
LIF	2,6 ± 0,6	2,7 ± 0,5	0,499	2,6 ± 0,9	2,5 ± 0,8	0,906	0,703
FAT_MRI (%)	12,8 ± 6	12,3 ± 6,4	0,612	16,1 ± 10	15,2 ± 9,5	0,959	0,546
NFS	-1,8 ± 1,05	-1,7 ± 0,6	0,735	-2,6 ± 0,8	-1,8 ± 1,1	0,007	0,039
NASH	-1,15 ± 1,4	-2,2 ± 0,4	0,028	-1,09 ± 0,7	-1,8 ± 0,9	0,008	0,480
CT1 (ms)	941,8 ± 74,8	948,7 ± 85,2	0,735	987,8 ± 175,2	961,1 ± 130,6	0,646	0,537
TG (mg/dl)	154 ± 56	208 ± 64	0,128	167,1 ± 95,5	130,8 ± 47,8	0,308	0,794
TC (mg/dl)	198,8 ± 16,7	200,4 ± 27	0,735	186,6 ± 31,3	191,3 ± 35,9	0,507	0,353
HDL (mg/dl)	47,4 ± 6,9	41,8 ± 5,7	0,075	47,7 ± 15,1	44,1 ± 5,7	0,953	0,099
LDL (mg/dl)	120,7 ± 14,5	122,3 ± 28,8	0,866	104,4 ± 27,4	127,4 ± 38	0,093	0,374
AST (iu/l)	20 ± 5	21,1 ± 5,7	0,553	23,4 ± 6,5	23,4 ± 12,6	0,575	0,598
ALT (iu/l)	29,5 ± 10,1	31,6 ± 15,6	0,735	32 ± 15,5	30,4 ± 13,5	0,884	0,871
γGT (iu/l)	80,8 ± 111,1	61,4 ± 78	0,225	51,1 ± 55	36,7 ± 17,4	1,000	0,904
INS (iu/l)	31,9 ± 24,8	16,2 ± 6	0,043	29,2 ± 20,6	19,9 ± 10,2	0,037	0,866

Στον πίνακα 16, συγκρίνονται οι μέσοι όροι σε ορισμένες ανθρωπομετρικές και βιοχημικές μεταβλητές, καθώς και σε διαγνωστικά σκορ και αποτελέσματα μαγνητικής τομογραφίας στις

δύο τυχαιοποιημένες ομάδες της παρέμβασης στο χρόνο έναρξης και λήξης αυτής. Στην πλειοψηφία τους, δεν εντοπίζεται κάποια στατιστικά σημαντική σύγκριση των μεταβλητών αυτών. Ωστόσο, η τιμή του NASH Score φαίνεται να μειώνεται στατιστικά σημαντικά και στις δύο ομάδες ύστερα από την παρέμβαση με το φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας ($p=0,028$ και $p=0,008$ αντίστοιχα για τις ομάδες A και B). Για την ομάδα B από την άλλη, το NFS Score φαίνεται να αυξάνεται ύστερα από την παρέμβαση στατιστικά σημαντικά ($p=0,007$), ενώ δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική μεταβολή για το ίδιο σκορ στην ομάδα A. Τέλος και στις δύο ομάδες μειώθηκε στατιστικά σημαντικά το επίπεδο της ινσουλίνης ύστερα από την παρέμβαση με συμπλήρωμα μαστίχας ($p=0,043$ και $p=0,037$ αντίστοιχα για τις ομάδες A και B).

Επιπλέον, από την τελευταία στήλη φαίνεται πως μόνο για τον δείκτη NFS υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στους μέσους όρους των επί τοις εκατό μεταβολών της τιμής αυτής για τις δύο ομάδες πριν και μετά την παρέμβαση της μαστίχας. Πιο συγκεκριμένα, το NFS στην ομάδα A μειώθηκε κατά μέσο όρο $21,3 \pm 74,6 \%$ ύστερα από την παρέμβαση, ενώ στην ομάδα B το NFS αυξήθηκε κατά μέσο όρο $37,2 \pm 24,8 \%$ ύστερα από την παρέμβαση, και η διαφορά στις επί τοις εκατό μεταβολές στις δύο ομάδες είναι στατιστικά σημαντική, όπως παρουσιάζεται και το επόμενο διάγραμμα.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συμμετοχή της διατροφής καθώς και της γενετικής προδιάθεσης στην εμφάνιση της μη αλκοολικής λιπώδους διήθησης του ήπατος, συγκεντρώνει ολοένα και μεγαλύτερο ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Ωστόσο, έως τώρα, ο δυνητικός ρόλος των διατροφικών συνηθειών και διαφόρων γενετικών πολυμορφισμών, έχει μελετηθεί περιορισμένα. Σκοπός της συγκεκριμένης κλινικής δοκιμής ήταν η αξιολόγηση της επίδρασης ενός φυσικού συμπληρώματος διατροφής, αυτού της μαστίχας Χίου, σε ασθενείς με ηπατική στεάτωση ή στεατοηπατίτιδα, σε σχέση με το γενετικό προφίλ που διαθέτουν και τις υπόλοιπες διατροφικές συνήθειες που ακολουθούν. Από την άλλη, σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, ήταν η ανταπόκριση στην παρέμβαση των συγκεκριμένων ασθενών σύμφωνα με τον γονότυπο που διαθέτουν ως προς τον πολυμορφισμό rs641738 του γονιδίου MBOAT7. Η σημασία της συγκεκριμένης πολυκεντρικής κλινικής δοκιμής, επομένως, είναι μεγάλη, διότι αν και η μαστίχα έχει συσχετισθεί με ποικίλα οφέλη, λίγα είναι τα τρόφιμα που έχει φανεί να επιδρούν θετικά στην αντιμετώπιση της NAFLD. Καθώς, λοιπόν, η NAFLD είναι μία νόσος με σημαντικό επιπολασμό, η οποία σχετίζεται άμεσα με την παχυσαρκία, την ινσουλινοαντίσταση και το μεταβολικό σύνδρομο, κρίθηκε αναγκαίος ο έλεγχος της επίδρασης ενός φυσικού προϊόντος στην αντιμετώπιση της νόσου.

Στην παρούσα μελέτη, συμμετείχαν 60 εθελοντές, οι οποίοι πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία. Από αυτούς, 22 εισήχθησαν στο πρόγραμμα της παρέμβασης στην πρώτη φάση, ενώ 13 στην δεύτερη φάση η οποία και μένει να ολοκληρωθεί. Αρχικά, παρουσιάστηκαν τα χαρακτηριστικά των εθελοντών που πραγματοποίησαν μαγνητική τομογραφία μεταξύ των δύο ομάδων ύπαρξης και μη NASH, σύμφωνα με το LIF και το ηπατικό λίπος. Από τη σύγκριση των δύο ομάδων για τις διάφορες μεταβλητές, το BMI, το ηπατικό λίπος και το CT1 εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις δύο ομάδες. Από την εξέταση του βιοχημικού προφίλ των εθελοντών, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως οι τιμές AST και ALT εμφανίζονται εντός φυσιολογικών ορίων. Το γεγονός αυτό είναι κάτι που επισημαίνεται και στη βιβλιογραφία, και για τον λόγο αυτόν υπάρχει ανάγκη για ανάπτυξη κάποιων σκορ πρόβλεψης και αξιολόγησης της νόσου.

Η παρουσία του πολυμορφισμού rs641738 στο γονίδιο MBOAT7 δεν φάνηκε να συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με το ηπατικό λίπος, γεγονός που είχε αναφερθεί στην βιβλιογραφία, αλλά ούτε και με τις τιμές LIF score και CT1 που εξάγονται από την μαγνητική τομογραφία.. Επιπλέον, σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η παρουσία του συγκεκριμένου πολυμορφισμού, έχει συσχετισθεί σημαντικά με την αυξημένη τιμή του ενζύμου ALT σε παχύσαρκα παιδιά και έχει προσθετική επίδραση σε γενετικό προγνωστικό σκορ με τα γονίδια PNPLA3 και TM6SF2. Καμία τέτοια συσχέτιση δεν επιβεβαιώθηκε στον συγκεκριμένο πληθυσμό. Κατά τη μελέτη πρόσφατης βιβλιογραφίας, φάνηκε πως η ύπαρξη τουλάχιστον ενός αλληλόμορφου κινδύνου συνδέεται θετικά με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων. Αυτή η ένδειξη επιβεβαιώθηκε και στον συγκεκριμένο πληθυσμό, όπου αυτοί που φέρουν τουλάχιστον ένα T-αλληλόμορφο κινδύνου παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων από αυτούς που είναι ομόζυγοι ως προς το φυσιολογικό αλληλόμορφο ($p=0,008$). Επιπλέον, στο δείγμα της μελέτης, αυτοί που φέρουν τουλάχιστον ένα T-αλληλόμορφο κινδύνου έχουν μεγαλύτερο ΔΜΣ ($p=0,003$), γεγονός που επίσης επιβεβαιώνει η βιβλιογραφία, καθώς αναφέρει την ύπαρξη του συγκεκριμένου γονιδίου ως μέρος γενετικού σκορ που λειτουργεί ως παράγοντας πρόγνωσης της παχυσαρκίας, χωρίς βέβαια να αξιολογείται η μεμονωμένη επίδραση του MBOAT7 σε αυτήν.

Στη συνέχεια έγιναν συσχετίσεις κάποιων από τα αποτελέσματα της μαγνητικής τομογραφίας (LIF score και CT1) με τα σκορ που χρησιμοποιήθηκαν στην επιλογή των εθελοντών, το NASH Score και το NFS. Δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική σχέση του NFS με το LIF Score και με το CT1. Αντίθετα, το NASH Score, παρουσίασε μέτρια αρνητική σχέση τόσο με το LIF Score όσο και με το CT1, γεγονός που αποπροσανατολίζει σε ένα βαθμό τις αρχικές υποθέσεις και συγχύζει τα συμπεράσματα. Το λογισμικό LiverMultiScan είναι ένα πολυπαραμετρικό εργαλείο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου καθώς και της NASH. Η συγκεκριμένη τεχνική μετρά το σίδηρο, το ηπατικό λίπος και ποσοτικοποιεί τη φλεγμονή και την ίνωση. Το σκορ NFS χρησιμοποιεί κάποιες παραμέτρους και κατατάσσει τα άτομα ανάλογα με την πιθανότητα για ίνωση, ενώ το σκορ NASH Score, έχει και μία επιπλέον παράμετρο, την παρουσία του πολυμορφισμού PNPLA3. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα, γεννούν την ανάγκη ανάπτυξης κάποιων σκορ πρόβλεψης της νόσου με μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα.

Στη συνέχεια, στα 22 άτομα που μπήκαν στη μελέτη έγιναν οι ίδιες συγκρίσεις μέσω των τιμών μεταξύ των δύο ομάδων παρέμβασης στην αρχή της προκειμένου να ελεγχθεί η τυχαιοποίηση

του πληθυσμού. Από αυτές τις συγκρίσεις, εντοπίστηκε τυχαίο εύρημα υψηλότερης τιμής CT1 στην ομάδα B σε σχέση με την ομάδα A. Είναι γεγονός, πως καθώς η μελέτη Mast4Health είναι πολυκεντρική, η τυχαιοποίηση στις δύο ομάδες παρέμβασης δεν ελέγχεται στα επιμέρους κέντρα αλλά στο σύνολο των συμμετεχόντων.

Κατά την ολοκλήρωση της 6μηνης παρέμβασης, συγκρίθηκαν οι μέσες τιμές για όλες τις μεταβλητές στις δύο ομάδες ξεχωριστά, πριν και μετά την παρέμβαση. Από αυτή την ανάλυση, φάνηκε πως μόνο το NASH Score και η Ινσουλίνη μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά και στις δύο ομάδες, ύστερα από την παρέμβαση με φυσικό συμπλήρωμα μαστίχας Χίου. Τέλος, ελέγχθηκαν οι μέσοι όροι των επί τοις εκατό μεταβολών των διάφορων τιμών για τις δύο ομάδες πριν και μετά την παρέμβαση της μαστίχας. Ωστόσο, μόνο το NFS παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά στην επί τοις εκατό μεταβολή κατά μέσο όρο στις δύο ομάδες, δηλαδή στην ομάδα A μειώθηκε κατά μέσο όρο $21,3 \pm 74,6 \%$ ύστερα από την παρέμβαση, ενώ στην ομάδα B το NFS αυξήθηκε κατά μέσο όρο $37,2 \pm 24,8 \%$ ύστερα από την παρέμβαση, και η διαφορά στις επί τοις εκατό μεταβολές στις δύο ομάδες είναι στατιστικά σημαντική.

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

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η NAFLD είναι μία καλά μελετημένη νόσος, για την οποία είναι γνωστοί τόσο οι παράγοντες κινδύνου όσο και οι τρόποι αντιμετώπισης και αναστροφής της εξέλιξής της. Ωστόσο, ελάχιστα φυσικά συμπληρώματα διατροφής, ύστερα από μελέτες, έχουν παρουσιάσει θετική επίδραση στην νόσο και στην εξέλιξη αυτής. Μέσα από την μελέτη MastHealth, δίνεται η δυνατότητα ανάδειξης ενός ελληνικού φυσικού προϊόντος, της μαστίχας Χίου, και φυσικά αναμένεται η όποια επίδρασή της στην NAFLD με έμμεσο ή άμεσο τρόπο. Καταλήγοντας, λοιπόν, στην παρούσα χρονική φάση δεν μπορούν να διεξαχθούν ασφαλή και ολοκληρωμένα συμπεράσματα για τη δράση της μαστίχας Χίου στην NAFLD και την ενδεχόμενη εμπλοκή συγκεκριμένων γενετικών παραγόντων στην ανταπόκρισή της, οπότε με την ολοκλήρωση της μελέτης αναμένονται ευκρινέστερα αποτελέσματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Angulo P, et al., Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346:1.221.
2. Ratziu V, et al., A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol.* 2010 Aug;53(2):372-84.
3. Georgiadis I et al., Beneficial health effects of Chios Gum Mastic and peroxisome proliferator-activated receptors: indications of common mechanisms., *J Med Food.* 2015 Jan;18(1):1-10.
4. Blachier M, et al., The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013 Mar;58(3):593-608
5. Serfaty L¹, et al., Definition and natural history of metabolic steatosis: clinical aspects of NAFLD, NASH and cirrhosis. *Diabetes Metab.* 2008 Dec
6. Caballeria, L. et al., Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 22, 24-32 (2010).
7. Bedogni, G. et al., Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 42, 44-52 (2005).
8. Fan, J. G. et al., Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: update 2010: (published in Chinese on Chinese Journal of Hepatology 2010; 18, 163-166). *J. Dig. Dis.* 12, 38-44 (2011).
9. Farrell, G. C., et al., NAFLD in Asia—as common and important as in the West. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10, 307-318 (2013).
10. Eguchi, Y. et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J. Gastroenterol.* 47, 586-595 (2012).
11. Jimba, S., et al., Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med*, 2005. 22(9): p. 1141-5.
12. Marchesini, G., et al., Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*, 2003. 37(4): p. 917-23.
13. Tsantoulas D CE. Alcoholic Fatty Liver Disease. *Iatrika Analekta.* 2010(3).
14. Babusik, P., et al., Nonalcoholic fatty liver disease of two ethnic groups in Kuwait: comparison of prevalence and risk factors. *Med. Princ. Pract.* 21, 56-62 (2012).
15. Day CP. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002;16(5):663-78
16. Tilg H, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology* 2006;131:934-45
17. Sanyal AJ, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001;120:1183-92
18. Liu, Q., S. et al., The role of hepatic fat accumulation in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids Health Dis*, 2010. 9: p. 42.
19. Badman MK, et al. The adipocyte as an active participant in energy balance and metabolism. *Gastroenterology* 2007;132:2103-15
20. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liv Dis* 2001;21:27-41
21. Parekh S, et al. Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2007;132:2191-207
22. Papatheodoridis GV, et al. High prevalence of elevated liver enzymes in Greek blood donors: Associations with male gender and central adiposity. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007;19(4):281-7

23. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liv Dis.* 2001;21:3-16
24. Nonomura A, et al. Clinical and pathological features of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2005
25. Dowman, J.K., et al., Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*, 2010. 103(2): p. 71-83.
26. Mirza, M.S., Obesity, Visceral Fat, and NAFLD: Querying the Role of Adipokines in the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *ISRN Gastroenterol*, 2011. 2011: p.592404.
27. Finelli, C. and G. Tarantino, What is the role of adiponectin in obesity related nonalcoholic fatty liver disease? *World J Gastroenterol*, 2013. 19(6): p. 802-12.
28. Tsochatzis, E.A, et al., Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm*, 2009. 2009: p. 83167
29. Dowman, J.K., J.W. Tomlinson, and P.N. Newsome, Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*, 2010. 103(2): p. 71-83.
30. Koplay, M., et al., Importance of imaging and recent developments in diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 2015. 7(5): p. 769-76.
31. Pavlides, M., et al., Multiparametric magnetic resonance imaging predicts clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *J Hepatol*, 2016. 64(2): p. 308-15.
32. Musso, G., et al., Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*, 2011. 43(8): p. 617-49.
33. Angulo, P., et al., The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 2007. 45(4): p. 846-54.
34. Hyysalo, J., et al., A population-based study on the prevalence of NASH using scores validated against liver histology. *J Hepatol*, 2014. 60(4): p. 839-46.
35. Ratziu, V., et al., Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*, 2006. 6: p. 6.
36. McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 521-533.
37. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:27-41.
38. Delanote, V., J. Vandekerckhove, and J. Gettemans, Plastins: versatile modulators of actin organization in (patho)physiological cellular processes. *Acta Pharmacol Sin*, 2005. 26(7): p. 769-79.
39. Targher, G., et al., Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2007. 17(7): p. 517-24.
40. Takiishi, T., et al., Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010. 39(2): p. 419-46, table of contents.
41. Agius, L., Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *Biochem J*, 2008. 414(1): p. 1-18.
42. Luo, W., et al., Identification of polymorphisms associated with hypertriglyceridemia and prolonged survival induced by bexarotene in treating non-small cell lung cancer. *Anticancer*
43. Adams, L.A., et al., Association between liver-specific gene polymorphisms and their expression levels with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2013. 57(2): p. 590-600.
44. Petersen, K.F., et al., Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 2010. 362(12): p. 1082-9.

45. Kneeman JM, et al., Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol.* 2012 May;5(3):199-207.
46. Burger, M., et al., Crystal structure of the predicted phospholipase LYPLAL1 reveals unexpected functional plasticity despite close relationship to acyl protein thioesterases. *J Lipid Res*, 2012. 53(1): p. 43-50.
47. Economou F, et al., In overweight/obese but not in normalweight women, polycystic ovary syndrome is associated with elevated liver enzymes compared to controls. *Hormones (Athens)*. 2009 Jul- Sep;8(3):199-206.
48. McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 521-533.
49. Kleiner DE, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *HEPATOLOGY* 2005;41:1313-1321
50. American Gastroenterological Association. American Gastroenterological Association Medical Position Statement: Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123:1.702 - 1.704.
51. Hooper, A.J., L.A. Adams, and J.R. Burnett, Genetic determinants of hepatic steatosis in man. *J Lipid Res*, 2011. 52(4): p. 593-617.
52. Anstee QM¹, Day CP¹, The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2, *Semin Liver Dis.* 2015 Aug;35(3):270-90. doi: 10.1055/s-0035- 1562947. Epub 2015 Sep 17.
53. Beer, N.L., et al., The P446L variant in GCKR associated with fasting plasma glucose and triglyceride levels exerts its effect through increased glucokinase activity in liver. *Hum Mol Genet*, 2009. 18(21): p. 4081-8.
54. Alba LM, Lindor K. Non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17:977-986.
55. Allard JP, Other disease associations with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002 Oct; 16(5):783-95
56. Pillai AA, Rinella ME, Non-alcoholic fatty liver disease: is bariatric surgery the answer, *Clin Liver Dis.* 2009 Nov; 13(4):689-710.
57. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liv Dis.* 2001;21:3-16
58. Petersen, K.F., et al., Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 2010. 362(12): p. 1082-9.
59. Burkhead JL, Gray LW, Lutsenko S, Systems biology approach to Wilson's disease., *Biometals.* 2011 Jun; 24(3):455-66.
60. Hamaguchi, M., et al., The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*, 2005. 143(10): p. 722-8.
61. Preiss, D. and N. Sattar, Non-alcoholic fatty liver disease: an overview of prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment considerations. *Clin Sci (Lond)*, 2008. 115(5): p. 141-50.
62. Ahmed, M.H., E.O. Abu, and C.D. Byrne, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): new challenge for general practitioners and important burden for health authorities? *Prim Care Diabetes*, 2010. 4(3): p. 129-37.
63. McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 521-533.
64. Adams LA, Angulo P. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med* 2005; 22: 1129-1133.
65. Adams, L.A. and J.A. Talwalkar, Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol*, 2006. 40 Suppl 1: p. S34-8.

66. Angulo P, Keach J, Batts K, Lindor K. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-1362.
67. Musso, G., et al., Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2003. 37(4): p. 909-16
68. McCuskey, R.S., et al., Hepatic microvascular dysfunction during evolution of dietary steatohepatitis in mice. *Hepatology*, 2004. 40(2): p. 386-93.
69. Samuel, V.T., et al., Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem*, 2004. 279(31): p. 32345-53.
70. Kim, S.P., et al., Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. *Diabetes*, 2003. 52(10): p. 2453-60
71. Machado, R.M., et al., Intake of trans fatty acids causes nonalcoholic steatohepatitis and reduces adipose tissue fat content. *J Nutr*, 2010. 140(6): p. 1127-32.
72. Neuschwander-Tetri BA, Bacon E. Non-alcoholic steatohepatitis. *Med Clin North Am* 1996; 80: 1147-1166
73. Machado, M.V., et al., Blood oxidative stress markers in non-alcoholic steatohepatitis and how it correlates with diet. *Scand J Gastroenterol*, 2008. 43(1): p. 95-102.
74. Zivkovic, A.M., J.B. German, and A.J. Sanyal, Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr*, 2007. 86(2): p. 285-300.
75. Loguercio C, Simone TD, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Chicco MD, Carteni M. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2144-2146.
76. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*. 2005 Dec;330(6):326-35.
77. Takiishi, T., et al., Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010. 39(2): p. 419-46, table of contents.
78. Chatrath H, Vuppalandhi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2012 Feb;32(1):22-9.
79. Anstee QM¹, Day CP¹, The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2, *Semin Liver Dis*. 2015 Aug;35(3):270-90. doi: 10.1055/s-0035-1562947. Epub 2015 Sep 17.
80. Beer, N.L., et al., The P446L variant in GCKR associated with fasting plasma glucose and triglyceride levels exerts its effect through increased glucokinase activity in liver. *Hum Mol Genet*, 2009. 18(21): p. 4081-8.
81. Economou F, et al., In overweight/obese but not in normalweight women, polycystic ovary syndrome is associated with elevated liver enzymes compared to controls. *Hormones (Athens)*. 2009 Jul- Sep;8(3):199-206.
82. Markou A, Androulakis II, Mourmouris C et al. Hepatic steatosis in young lean insulin resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009
83. Pillai AA, Rinella ME, Non-alcoholic fatty liver disease: is bariatric surgery the answer, *Clin Liver Dis*. 2009 Nov; 13(4):689-710.
84. Crum-Cianflone N, et al., Nonalcoholic fatty liver disease among HIV-infected persons, *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Apr 15; 50(5):464-73
85. Langman G, Hall PM, Todd G, Role of non-alcoholic steatohepatitis in methotrexate-induced liver injury, *J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Dec; 16(12):1395-401

86. Jia Y, Viswakarma N, Fu T, Yu S, Rao MS, Borensztajn J, Reddy JK, Conditional ablation of mediator subunit MED1 (MED1/PPARBP) gene in mouse liver attenuates glucocorticoid receptor agonist dexamethasone-induced hepatic steatosis, *Gene Expr.* 2009; 14(5):291-306
87. Solga SF, Clark JM, Alkhuraishi AR, Torbenson M, Tabesh A, Schweitzer M, et al. Race and comorbid factors predict nonalcoholic fatty liver disease histopathology in severely obese patients. *Surg Obes Relat Dis.* 2005 Jan-Feb;1(1):6-11.
88. Speliotes EK, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet.* 2011 Mar;7(3):e1001324
89. Araújo MRdASMdFFdMDJEMdM-FMSTd. Síndrome metabólica e fatores de risco para a doença hepática gordurosa não-alcoólica. *Arquivos de Gastroenterologia.* Mar. 2012;49(1):89-96.
90. Musso, G., et al., Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia*, 2012. 55(4): p. 885-904.
91. Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου. 26/05/2017]; Available from: <https://www.gummastic.gr/el/>.
92. Zhou, L., et al., Re-evaluation of anti-inflammatory activity of mastic using activated macrophages. *In Vivo*, 2009. 23(4): p. 583-9.
93. Kaliora, A.C., et al., Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World J Gastroenterol*, 2007. 13(5): p. 748-53.
94. Loizou, S., et al., Chios mastic gum extract and isolated phytosterol tirucallol exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2009. 234(5): p. 553-61.
95. Takahashi, K., et al., A pilot study on antiplaque effects of mastic chewing gum in the oral cavity. *J Periodontol*, 2003. 74(4): p. 501-5.
96. Al-Habbal, M.J., Z. Al-Habbal, and F.U. Huwez, A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1984. 11(5): p. 541-4.
97. Loughlin, M.F., D.A. Ala'Aldeen, and P.J. Jenks, Monotherapy with mastic does not eradicate *Helicobacter pylori* infection from mice. *J Antimicrob Chemother*, 2003. 51(2): p. 367-71.
98. Peek, R.M., *Helicobacter pylori* infection and disease: from humans to animal models. *Dis Model Mech*, 2008. 1(1): p. 50-5.
99. Paraschos, S., et al., In vitro and in vivo activities of Chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007. 51(2): p. 551-9.
100. Triantafyllou, A., et al., Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress. *Nutr J*, 2011. 10: p. 64.
101. Andrikopoulos, N.K., et al., Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytother Res*, 2003. 17(5): p. 501-7.
102. Dedoussis, G.V., et al., Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 2004. 174(2): p. 293- 303.
103. Triantafyllou, A., et al., Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *J Ethnopharmacol*, 2007. 111(1): p. 43-9.
104. Assimopoulou, A.N. and V.P. Papageorgiou, GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *Chia*. *Biomed Chromatogr*, 2005. 19(4): p. 285-311.
105. Balan, K.V., et al., Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. *chia*. *Phytomedicine*, 2007. 14(4): p. 263-72.

106. He, M.L., et al., Mechanisms of antiprostata cancer by gum mastic: NF-kappaB signal as target. *Acta Pharmacol Sin*, 2007. 28(3): p. 446-52.
107. [Umano GR](#), et al., The rs626283 Variant in the MBOAT7 Gene is Associated with Insulin Resistance and Fatty Liver in Caucasian Obese Youth., [Am J Gastroenterol](#). 2018 Mar;113(3):376-383.
108. [Mancina RM](#), et al., The MBOAT7-TMC4 Variant rs641738 Increases Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Individuals of European Descent., [Gastroenterology](#). 2016 May;150(5):1219-1230.e6