

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

" Μεθοδολογία Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική Βιοπληροφορική "

Διπλωματική εργασία

Προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή κλινική μελέτη για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της πραβαστατίνης στη θεραπεία της Μη-Αλκοολικής Λιπώδους Νόσου του Ήπατος.

Ιωάννα Παπαγιουβάννη

Επιστημονικός Συνεργάτης, Δ' Παθολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης Ιπποκράτειο, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Επιβλέπων Καθηγητής: **κ. Δοξάνη Χρυσούλα**

Τριμελής Επιτροπή: *Δοξάνη Χρυσούλα, Στεφανίδης Ιωάννης, Ζιντζαράς Ηλίας*

Λάρισα, Σεπτέμβριος 2019

UNIVERSITY OF THESSALY

SCHOOL OF MEDICINE

MSc Programme

"Research Methodology in Biomedicine, Biostatistics and
Clinical Bioinformatics"

Diploma Dissertation

***A prospective, randomized, double- blinded, single
center clinical trial to evaluate the efficacy of
pravastatin in the treatment of Non-Alcoholic Fatty
Liver Disease.***

Ioanna Papagiouvanni

*Scientific Associate, 4th Department of Internal Medicine,
Hippokration General Hospital of Thessaloniki, AUTH*

Supervisor: **Dr. Doxani Chrysoula**

Larisa, September 2019

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος "Μεθοδολογία Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική Βιοπληροφορική" και αφορά τη συγγραφή ενός πρωτοκόλλου για τη διενέργεια παρεμβατικής κλινικής μελέτης για την αξιολόγηση της δράσης της παραβασταίνης στη μείωση της ηπατικής στεάτωσης σε ασθενείς με Μη Αλκοολική Λιπώδη Νόσο τους Ήπατος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια της εργασίας μου, κα Δοξάνη Χρυσούλα, η οποία μέσα από τα μαθήματά της μου έδωσε το ερέθισμα να ασχοληθώ και να επιλέξω τη συγγραφή πρωτοκόλλου. Οι γνώσεις που μου μετέφερε ήταν καθοριστικές για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κο Ζιντζαρά Ηλία για τις γνώσεις που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου η οποία με στήριξε τόσο κατά τη διάρκεια των σπουδών μου όσο και κατά την εκπόνηση αυτού του εγχειρήματος.

Περιεχόμενα

Πρόλογος	ii
Συνοπτικές Σημειώσεις	v
Περίληψη	vi
1. Σύνοψη.....	1
2. Σελίδα Υπογραφών	3
3. Σκεπτικό και Αναδρομή	4
4. Σκοποί της μελέτης	5
4.1. Κύριος σκοπός	5
4.2. Δευτερεύοντες σκοποί.....	5
5. Σχεδιασμός Μελέτης.....	6
5.1. Γενικά.....	6
5.2. Διάρκεια Μελέτης.....	6
5.3. Μέθοδος Τυχαιοποίησης.....	6
5.4. Τυφλοποίηση	6
6. Συμμετέχοντες στη Μελέτη	7
6.1. Πληθυσμός Μελέτης.....	7
6.2. Κριτήρια Εισαγωγής.....	7
6.3. Κριτήρια Αποκλεισμού.....	7
7. Διαδικασία Μελέτης	8
7.1. Screening και Αξιολόγηση Καταλληλότητας.....	8
7.2. Γραπτή Ενήμερη Συγκατάθεση	8
7.3. Αρχική (baseline) επίσκεψη – Αξιολόγηση	8
7.4. Επακόλουθες Επισκέψεις	9
7.5. Πρόωρη Αποχώρηση Συμμετεχόντων.....	9

7.6. Ορισμός Τέλους Μελέτης	9
8. Παρέμβαση	10
8.1. Περιγραφή Μελετούμενου Φαρμακευτικού Προϊόντος	10
8.2. Τυφλοποίηση Φαρμάκου	10
8.3. Αποθήκευση Φαρμάκου	10
9. Ασφάλεια	11
9.1. Ορισμός Ανεπιθύμητων Συμβαμάτων και Κατηγορίες Σοβαρών Ανεπιθύμητων Συμβαμάτων	11
9.2. Ορισμός Μη-Αναμενόμενων Ανεπιθύμητων Ενεργειών	11
9.3. Βαρύτητα	11
9.4. Αναφορά Ανεπιθύμητου Συμβάματος.....	11
9.5. Αναφορά Εγκυμοσύνης	12
10. Στατιστική Ανάλυση	12
10.1. Καταληκτικά Σημεία.....	12
10.2. Καθορισμός Μεγέθους Δείγματος.....	12
10.3. Ανάλυση Δεδομένων	13
10.4. Ορισμός Επιπέδου Στατιστικής Σημαντικότητας	13
11. Διαχείριση Δεδομένων	13
11.1. Καταγραφή και Αποθήκευση Δεδομένων	13
11.2. Πρόσβαση στα Δεδομένα	13
12. Επίβλεψη Μελέτης	14
13. Ηθικές Παράμετροι.....	14
14. Πολιτική Δημοσιοποίησης	15
15. Χρηματοδότηση	15
16. Παραπομπές	16

Συντομογραφίες

ALP: αλκαλική φωσφατάση

ALT: alanine aminotransferase

AST: aspartate aminotransferase

CRF: case report form

GCP: good clinical practice

HbA1c: γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη

HDL: high density lipoprotein

HIV: human immunodeficiency virus

LDL: low density lipoprotein

MRI: magnetic resonance imaging

MRI-PDFF: MRI – proton density fat fraction

NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease

NAS: NAFLD activity score

γ-GT: gamma glutamyl transpeptidase

ΓΝΘ: Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης

ΜΑΛΝΗ: Μη-αλκοολική λιπώδης νόσος τους ήπατος

Περίληψη

Η συγκεκριμένη μελέτη είναι προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, placebo-controlled κλινική μελέτη ενός κέντρου που εξετάζει την αποτελεσματικότητα της πραβαστατίνης στη μείωση της ηπατικής στεάτωσης στους ασθενείς με NAFLD. Ο κύριος σκοπός της είναι η αξιολόγηση της μεταβολής της στεάτωσης με τη μέθοδο MRI-PDFF στους ασθενείς που έλαβαν πραβαστατίνη, ενώ δευτερεύοντες σκοποί είναι η μεταβολή των εργαστηριακών δεικτών, η μεταβολή της ηπατικής ίνωσης και η εκτίμηση της ασφάλειας του φαρμάκου. 50 ασθενείς θα συμμετάσχουν και θα τυχαιοποιηθούν είτε στην ομάδα πραβαστατίνης, όπου θα λάβουν 40mg/ημέρα πραβαστατίνη, είτε στην ομάδα placebo. Η διάρκεια στρατολόγησης ασθενών έχει υπολογιστεί στους 12 μήνες και η μελέτη θα διεξαχθεί μέχρι την ολοκλήρωση της παρακολούθησης όλων των συμμετεχόντων. Αρχικά, θα γίνει ανάλυση per protocol.

Λέξεις κλειδιά: πραβαστατίνη, NAFLD, ηπατική στεάτωση, κλινική μελέτη

1. Σύνοψη

Τίτλος Μελέτης: Προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή κλινική μελέτη για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της πραβαστατίνης στη θεραπεία της Μη-Αλκοολικής Λιπώδους Νόσου του Ήπατος.

Ερευνητής: Ιωάννα Παπαγιουβάννη, MD

Σκοπός/Αντικείμενο Μελέτης: Κύριος σκοπός της μελέτης είναι ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας της πραβαστατίνης στη μείωση της ηπατικής στεάτωσης σε σύγκριση με placebo σε ασθενείς με NAFLD. Δευτερεύοντες σκοποί αποτελούν η αξιολόγηση της δράσης της πραβαστατίνης στη βελτίωση των ALT, AST, ALP, γ-GT, ολικής και άμεσης χολερυθρίνης, LDL, HDL και τριγλυκεριδίων καθώς και της ηπατικής ίνωσης, μετρούμενη με Fibroscan.

Πληθυσμός/ Μέγεθος Δείγματος: Ασθενείς με εξακριβωμένη NAFLD που παρακολουθούνται στο τακτικό εξωτερικό ηπατολογικό ιατρείο της Δ' Παθολογικής Κλινικής, ΓΝΘ Ιπποκράτειο. Το δείγμα θα αποτελείται από 50 ασθενείς, οι οποίοι θα τυχαιοποιηθούν σε δύο ομάδες. Η μία ομάδα θα λάβει πραβαστατίνη και η άλλη placebo.

Κριτήρια Εισαγωγής και Αποκλεισμού:

Κριτήρια Εισαγωγής

- 1) Ασθενείς άνω των 18 ετών
- 2) Ασθενείς με εξακριβωμένη ηπατική στεάτωση (>5% στην MRI-PDFF)
- 3) Ασθενείς με τιμές ALT πάνω από τα φυσιολογικά όρια (45 U/L)
- 4) Ασθενείς με υπογεγραμμένη γραπτή συγκατάθεση κατόπιν ενημέρωσης

Κριτήρια Αποκλεισμού

- 1) Ασθενείς με κατανάλωση αλκοόλ πάνω από 30gr/ημέρα (3 ποτά/ημέρα) μέσα στα προηγούμενα 10 χρόνια ή πάνω από 10gr/ημέρα μέσα στον προηγούμενο ένα έτος
- 2) Ασθενείς με άλλη ηπατική νόσο (χρόνια ηπατίτιδα Β, χρόνια ηπατίτιδα C, αυτοάνοση ηπατίτιδα, πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα, πρωτοπαθής

- σκληρηντική χολαγγειίτιδα, νόσος Wilson, αιμοχρωμάτωση, έλλειψη 1-α αντιθρυψίνης, φαρμακοεπαγόμενη ηπατοπάθεια)
- 3) Ασθενείς που λαμβάνουν φάρμακα τα οποία προκαλού ηπατική στεάτωση
 - 4) Ασθενείς που ξεκίνησαν ή τροποποίησαν αντιδιαβητική αγωγή μέσα στις προηγούμενες 90 μέρες από την τυχαιοποίηση
 - 5) Ασθενείς που ξεκίνησαν θεραπεία με στατίνη μέσα στις προηγούμενες 90 μέρες από την τυχαιοποίηση
 - 6) Ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα
 - 7) Ασθενείς με θετικό HIV τεστ
 - 8) Ασθενείς σε ενεργό χρήση ενδοφλεβίων ουσιών
 - 9) Ασθενείς σε εγκυμοσύνη
 - 10) Ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
 - 11) Ασθενείς που παρουσιάζουν οποιαδήποτε αντένδειξη χορήγησης στατίνης
 - 12) Ασθενείς που αδυνατούν για οποιοδήποτε λόγο να υποβληθούν σε MRI
 - 13) Ασθενείς με σοβαρή συστηματική νόσο (π.χ λοίμωξη, νεόπλασμα)

Σχεδιασμός: Η συγκεκριμένη κλινική μελέτη είναι προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, placebo-controlled ενός κέντρου που ερευνά την δράση της πραβαστατίνης (δοσολογία 40mg ημερησίως από του στόματος) έναντι placebo σε διάστημα 24 εβδομάδων στη βελτίωση της ηπατικής στεάτωσης, μετρούμενη με τη μέθοδο MRI-PDFF

Διάρκεια: Η περίοδος εγγραφής των ασθενών στη μελέτη ορίζεται από τις 01.10.2019 μέχρι 30.09.2020. Η διάρκεια μελέτης κάθε ασθενούς ανέρχεται στις 24 εβδομάδες. Υπολογίζεται η μελέτη να ολοκληρωθεί μέχρι 30.03.2021

Ανάλυση Δεδομένων: Στη συγκεκριμένη μελέτη, η ανάλυση των δεδομένων θα γίνει per protocol.

Καταληκτικά Σημεία: Κύριο καταληκτικό σημείο αποτελεί η μεταβολή της ηπατικής στεάτωσης, μετρώμενη με MRI-PDFF, σε ασθενείς με NAFLD που θα λάβουν πραβαστατίνη σε σύγκριση με ασθενείς με NAFLD που θα λάβουν placebo. Δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελούν η μεταβολή των εργαστηριακών δεικτών και η μεταβολή της ηπατικής ίνωσης στις δύο ομάδες.

2. Σελίδα Υπογραφών

Κύριος Ερευνητής:

Ερευνητές:

Χορηγός:

ID Πρωτοκόλλου:

Ημερομηνίες:

Έκδοση Πρωτοκόλλου: version 1

3. Σκεπτικό και Αναδρομή

Η Μη-Αλκοολική Λιπώδης Νόσος του Ήπατος (ΜΑΛΝΗ, non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) αποτελεί τη πιο συχνή πάθηση του ήπατος στο δυτικό πολιτισμό και θεωρείται η πιο συχνή αιτία αύξησης των ηπατικών ενζύμων στις ανεπτυγμένες χώρες.(1) Η NAFLD αποτελεί την ηπατική εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου καθώς συσχετίζεται με παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, ινσουλινοαντίσταση, υπέρταση και τελικά με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως φαίνεται από το γεγονός ότι η στεφανιαία νόσος είναι η κύρια αιτία θανάτου αυτών των ασθενών.(2–4) Επιπλέον, η NAFLD συμπεριλαμβάνει ένα εύρος ιστολογικών αλλοιώσεων, από απλή στεάτωση μέχρι μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα με στοιχεία φλεγμονής και ίνωσης.(5) Επομένως, πρόκειται για μια κατάσταση που μπορεί να οδηγήσει σε επιπλοκές όπως κίρρωση ήπατος και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.(6)

Οι στατίνες είναι ένα από τα πιο συχνά συνταγογραφούμενα φάρμακα, μειώνοντας σημαντικά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο κατά τη πρωτογενή και τη δευτερογενή πρόληψη.(7–9) Υπάρχουν, όμως, ανησυχίες σχετικά με τις ανεπιθύμητες ενέργειες τους και τη πιθανή ηπατοτοξικότητά τους διότι η κάθαρσή τους πραγματοποιείται κυρίως από το ήπαρ και σχετίζεται με την υδροφοβικότητά τους.(10) Αξίζει να σημειωθεί ότι η πιο υδρόφιλη ουσία μεταξύ των στατινών είναι η πραβαστατίνη που απεκκρίνεται κυρίως από τους νεφρούς μειώνοντας, έτσι, την όποια ηπατική βλάβη.(7) Παρόλλο αυτά, οι πλειοψηφία των ασθενών που λαμβάνουν στατίνη την ανέχονται καλά. Περιστασιακά, μπορεί να εμφανιστεί μικρή αύξηση των τρανσαμινασών και πολύ σπάνια αυτή είναι σοβαρή (ποσοστό <1%).(11,12) Επιπλέον, το ποσοστό εμφάνισης οξείας ηπατικής ανεπάρκειας που σχετίζεται με στατίνη είναι ίδιο με αυτό του γενικού πληθυσμού.(13) Πιο συγκεκριμένα, στους ασθενείς με ήδη αυξημένες τρανσαμινάσες που λαμβάνουν στατίνη, οι ηπατικές ανεπιθύμητες ενέργειες ανέρχονται στο 1.1% και δεν διαφέρουν μεταξύ των ασθενών που δεν λαμβάνουν, όπως φαίνεται στη μελέτη GREACE.(14) Στην ίδια μελέτη φαίνεται ότι η χορήγηση στατίνης είναι ασφαλής στους ασθενείς με διαταραγμένες

τρανσαμινάσες και οδηγεί σε βελτίωση αυτών, βελτίωση του καρδιαγγειακού κινδύνου και πιθανώς βελτίωση της NAFLD.(14)

Οι στατίνες έχουν αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική και αντιθρομβωτική δράση πέρα από την υπολιπιδαιμική τους δράση.(15,16) Για την αντιμετώπιση της NAFLD δεν υπάρχει κάποια ειδική φαρμακευτική ουσία, και μέχρι τώρα έχει χρησιμοποιηθεί η βιταμίνη E λόγω αντιοξειδωτικής δράσης.(17) Πλέον, υπάρχουν μελέτες που αξιολογούν τη δράση των στατινών στην NAFLD. Ειδικότερα, οι Wang et al. υποστήριξαν ότι η σιμβαστατίνη μειώνει την εξέλιξη της ηπατικής ίνωση που σχετίζεται με τη NAFLD σε ποντίκια.(18) Σε μετανάλυση της Cochrane, που όμως είχε μικρό αριθμό ασθενών, βρέθηκε ότι οι στατίνες βελτιώνουν την ηπατικούς δείκτες και τα υπερηχογραφικά ευρήματα χωρίς να γίνεται αναφορά στην ίνωση.(19) Σε μικρή πιλοτική μελέτη με 13 ασθενείς με NAFLD φαίνεται μικρή, αλλά μη σημαντική, μείωση του NAS score.(20) Τέλος, σε τυχαίοποιημένη μελέτη βρέθηκε ότι στους ασθενείς που έλαβαν σιμβαστατίνη δεν βελτιώθηκαν σημαντικά οι τρανσαμινάσες, η στεάτωση και η ίνωση.(21)

Δεδομένου ότι απαιτούνται επιπλέον τυχαίοποιημένες μελέτες για την κατανόηση της θέσης των στατινών στη θεραπεία της NAFLD αποφασίσαμε να διεξάγουμε τη συγκεκριμένη μελέτη. Η πραβαστατίνη επιλέχθηκε καθώς είναι η πιο υδρόφιλη στατίνη και προκαλεί δυνητικά τη μικρότερη ηπατική βλάβη.(7)

4. Σκοποί της μελέτης

4.1. Κύριος σκοπός

Ο κύριος σκοπός είναι να αξιολογήσουμε την αποτελεσματικότητα της πραβαστατίνης στη μείωση της ηπατικής στεάτωσης, όπως αυτή μετράται με τη μέθοδο της MRI-PDFF, σε σχέση με placebo σε ασθενείς με NAFLD, που θα ορίζεται επακριβώς με απεικονιστική μέθοδο (MRI-PDFF).

4.2. Δευτερεύοντες σκοποί

Θα αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της πραβαστατίνης στη βελτίωση των ηπατικών ενζύμων ALT, AST, ALP, γ-GT, ολική και άμεση χολερυθρίνη καθώς και

των LDL, HDL και τριγλυκεριδίων. Επιπλέον, θα αξιολογηθεί η δράση της πραβαστατίνης στη μείωση της ηπατικής ίνωσης όπως αυτή μετράται με ελαστογραφία/Fibroscan. Ακόμη θα αξιολογηθούν πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες της πραβαστατίνης και η ασφάλεια χορήγησής της.

5. Σχεδιασμός Μελέτης

5.1. Γενικά

Πρόκειται για προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, placebo-controlled κλινική μελέτη ενός κέντρου που εξετάζει την αποτελεσματικότητα της πραβαστατίνης σε δοσολογία 40mg ημερησίως από του στόματος έναντι placebo σε διάστημα 24 εβδομάδων στη βελτίωση της ηπατικής στεάτωσης, όπως αυτή μετράται με τη μέθοδο MRI-PDFF.

5.2. Διάρκεια Μελέτης

Η μελέτη θα διεξάγεται μέχρι όλοι οι συμμετέχοντες να ολοκληρώσουν την παρακολούθησή τους (24 εβδομάδες). Το χρονικό διάστημα στρατολόγησης ασθενών ορίζεται σε 12 μήνες και συγκεκριμένα από 01.10.2019 έως 30.09.2020. Η διάρκεια μελέτης κάθε ασθενή ανέρχεται στις 24 εβδομάδες. Υπολογίζεται ότι η μελέτη θα έχει ολοκληρωθεί μέχρι 30.03.2021.

5.3. Μέθοδος Τυχαιοποίησης

Θα εφαρμοστεί μέθοδος απλής τυχαιοποίησης. Στην αρχική επίσκεψη θα δοθεί σε κάθε ασθενή ένας σειριακός αριθμός ο οποίος θα αναγράφεται στο CRF. Ο αριθμός αυτός θα είναι μοναδικός και ειδικός για τον κάθε ασθενή και δεν θα μπορεί να αναδιανεμηθεί σε άλλον ασθενή. Οι ασθενείς θα κατανέμονται είτε στην ομάδα πραβαστατίνης είτε στην ομάδα placebo σε αναλογία 1:1 μέσα από πιστοποιημένο λογισμικό ελεγμένο από τους στατιστικολόγους της μελέτης.

5.4. Τυφλοποίηση

Η μελέτη θα είναι διπλά-τυφλή. Τα δύο σκευάσματα (πραβαστατίνη και placebo) θα είναι πανομοιότυπα σχεδιασμένα και αποθηκευμένα σε πανομοιότυπες

συσκευασίες. Η τυφλοποίηση θα διατηρείται από έναν ανεξάρτητο φαρμακοποιό του ΓΝΘ Ιπποκρατείου Νοσοκομείου που θα διαθέτει τα δύο σκευάσματα. Στην κάθε συσκευασία θα αναγράφεται ο μοναδικός σειριακός αριθμός. Άρση της τυφλοποίησης θα γίνει στο τέλος της μελέτης ή σε περίπτωση εμφάνισης σοβαρού ανεπιθύμητου γεγονότος, σοβαρής ανεπιθύμητης αντίδρασης ή εγκυμοσύνης.

6. Συμμετέχοντες στη Μελέτη

6.1. Πληθυσμός Μελέτης

Θα αποτελείται από ασθενείς με NAFLD που παρακολουθούνται στο τακτικό εξωτερικό ηπατολογικό ιατρείο της Δ' Παθολογικής Κλινικής του ΓΝΘ Ιπποκρατείου.

6.2. Κριτήρια Εισαγωγής

1. Ασθενείς άνω των 18 ετών
2. Ασθενείς με εξακριβωμένη ηπατική στεάτωση (>5% στην MRI-PDFF)
3. Ασθενείς με τιμές ALT πάνω από τα φυσιολογικά όρια (45 U/L)
4. Ασθενείς με υπογεγραμμένη γραπτή ενήμερη συγκατάθεση

6.3. Κριτήρια Αποκλεισμού

- 1) Ασθενείς με κατανάλωση αλκοόλ πάνω από 30gr/ημέρα (3 ποτά/ημέρα) μέσα στα προηγούμενα 10 χρόνια ή πάνω από 10gr/ημέρα μέσα στον προηγούμενο ένα έτος
- 2) Ασθενείς με άλλη ηπατική νόσο (χρόνια ηπατίτιδα Β, χρόνια ηπατίτιδα C, αυτοάνοση ηπατίτιδα, πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα, πρωτοπαθής σκлерηνητική χολαγγειίτιδα, νόσος Wilson, αιμοχρωμάτωση, έλλειψη 1-α αντιθρυψίνης, φαρμακοεπαγόμενη ηπατοπάθεια)
- 3) Ασθενείς που λαμβάνουν φάρμακα τα οποία προκαλούν ηπατική στεάτωση
- 4) Ασθενείς που ξεκίνησαν ή τροποποίησαν αντιδιαβητική αγωγή μέσα στις προηγούμενες 90 μέρες από την τυχαιοποίηση

- 5) Ασθενείς που ξεκίνησαν θεραπεία με στατίνη μέσα στις προηγούμενες 90 μέρες από την τυχαιοποίηση
- 6) Ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα
- 7) Ασθενείς με θετικό HIV τεστ
- 8) Ασθενείς σε ενεργό χρήση ενδοφλεβίων ουσιών
- 9) Ασθενείς σε εγκυμοσύνη
- 10) Ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
- 11) Ασθενείς που παρουσιάζουν οποιαδήποτε αντένδειξη χορήγησης στατίνης
- 12) Ασθενείς που αδυνατούν για οποιοδήποτε λόγο να υποβληθούν σε MRI
- 13) Ασθενείς με σοβαρή συστηματική νόσο (π.χ λοίμωξη, νεόπλασμα)

7. Διαδικασία Μελέτης

7.1. Screening και Αξιολόγηση Καταλληλότητας

Η αρχική αξιολόγηση καταλληλότητας θα γίνει με έλεγχο όλων των ασθενών που παρακολουθούνται στο τακτικό εξωτερικό ηπατολογικό ιατρείο μέσα από το ηλεκτρονικό αρχείο τους όπου διατηρούνται όλες οι απαραίτητες πληροφορίες. Όσοι κριθούν δυνητικά κατάλληλοι θα καλούνται σε προγραμματισμένη επίσκεψη όπου θα ενημερώνονται για την μελέτη.

7.2. Γραπτή Συγκατάθεση κατόπιν ενημέρωσης

Όλοι οι ασθενείς που θα λάβουν μέρος στη μελέτη θα πρέπει να υπογράψουν γραπτή ενήμερη συγκατάθεση πριν την αρχική (baseline) επίσκεψη. Η ενημέρωση θα γίνεται από τον κύριο ερευνητή της μελέτης. Θα υπογράφονται δυο (2) αντίγραφα της συγκατάθεσης, το ένα θα κρατάται στο φάκελο της μελέτης και το δεύτερο θα δίνεται στον ασθενή. Θα πρέπει, επίσης, να αναγράφεται η ημερομηνία αποκτήσης της συγκατάθεσης και να υπογράφεται από τον κύριο ερευνητή. Οι ασθενείς έχουν το δικαίωμα να άρουν τη συγκατάθεσή τους οποιαδήποτε στιγμή της μελέτης.

7.3. Αρχική (baseline) επίσκεψη – Αξιολόγηση

Μετά την υπογραφή της γραπτής ενήμερης συγκατάθεσης, θα πραγματοποιείται η αρχική αξιολόγηση (baseline visit). Θα λαμβάνεται αναλυτικό ιατρικό ιστορικό, θα διεξάγεται πλήρης κλινική εξέταση και θα διενεργούνται αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις. Σε αυτές θα περιλαμβάνονται: γενική αίματος, ALT, AST, γ-GT, αλκαλική φωσφατάση, ολική χολερυθρίνη, άμεση χολερυθρίνη, ολικά λευκώματα, αλβουμίνη, σάκχαρο νηστείας, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, INR, ολική χοληστερόλη, LDL, HDL, τριγλυκερίδια. Οι εργαστηριακές εξετάσεις θα πραγματοποιούνται στο Μικροβιολογικό εργαστήριο του ΓΝΘ Ιπποκράτειου. Η αιμοληψία θα γίνεται από περιφερική φλέβα, μετά από τουλάχιστον 8 ώρες νηστεία. Επιπλέον, οι ασθενείς θα υποβληθούν σε MRI-PDFF στο τμήμα Μαγνητικού Τομογράφου του ΓΝΘ Ιπποκρατείου Νοσοκομείου. Η εξέταση θα πραγματοποιείται από εξειδικευμένους ακτινολόγους του τμήματος οι οποίοι δεν θα γνωρίζουν το ιστορικό και τις εργαστηριακές εξετάσεις των ασθενών. Στη συνέχεια οι ασθενείς θα τυχαιοποιούνται με τη μέθοδο που έχει ήδη αναφερθεί.

7.4. Επακόλουθες Επισκέψεις

Η παρακολούθηση των ασθενών θα γίνει σε προγραμματισμένες επισκέψεις την 4^η, 12^η και 24^η εβδομάδα. Σε κάθε επίσκεψη θα λαμβάνεται εκ νέου ιατρικό ιστορικό και θα διενεργείται κλινική εξέταση προκειμένου να καταγραφούν πιθανές ανεπιθύτες ενέργειες. Επίσης, θα αξιολογείται προσεκτικά η συμμόρφωση στη θεραπεία. Οι εργαστηριακές εξετάσεις που ζητήθηκαν στην baseline visit θα ζητούνται εκ νέου. Τέλος, την 24^η εβδομάδα, θα πραγματοποιείται επιπλέον MRI-PDFF για την εκτίμηση της μεταβολής της ηπατικής στεάτωσης.

7.5. Πρόωρη Αποχώρηση Συμμετεχόντων

Όπως αναφέρεται και στην γραπτή ενήμερη συγκατάθεση, ο κάθε ασθενής μπορεί να αποχωρήσει από τη μελέτη οποιαδήποτε στιγμή επιθυμεί, χωρίς κάποιο προσωπικό ή ιατρικό κόστος. Το ποσοστό αποχώρησης δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 10%.

7.6. Ορισμός Τέλους Μελέτης

Η μελέτη θα λήξει όταν ολοκληρωθεί η παρακολούθηση 24 εβδομάδων όλων των ασθενών που θα συμμετάσχουν στη μελέτη. Κριτήρια διακοπής της μελέτης αποτελούν η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Ο χορηγός μπορεί να διακόψει τη μελέτη οποιαδήποτε στιγμή με γραπτή αναφορά όπου θα παραθέτονται οι αιτίες διακοπής. Σε περίπτωση που κάποιος ερευνητής επιθυμεί να αποχωρήσει από τη μελέτη, θα ενημερώνει το χορηγό με γραπτή αναφορά όπου θα παραθέτει τους λόγους αποχώρησής του.

8. Παρέμβαση

8.1. Περιγραφή Μελετούμενου Φαρμακευτικού Προϊόντος

Πρόκειται για δισκία πραβαστατίνης, ανταγωνιστικό αναστολέα της αναγωγάσης του HMG-CoA που καταλύει το πρώιμο στάδιο σύνθεσης της χοληστερόλης. Κάθε δισκίο περιέχει 40mg δραστικής ουσίας. Θα χορηγούνται 40mg (1 δισκίο) κάθε ημέρα από του στόματος. Η ώρα χορήγησης θα είναι στις 23:00 προ ύπνου.

8.2. Τυφλοποίηση Φαρμάκου

Τα δισκία πραβαστατίνης θα είναι πανομοιότυπα με τα δισκία placebo. Θα τοποθετούνται σε πανομοιότυπες συσκευασίες και στην καθεμία θα αναγράφεται ο μοναδικός σειριακός αριθμός του κάθε ασθενή. Για να διατηρηθεί η τυφλοποίηση, η συσκευασία και η διανομή των σκευασμάτων θα γίνεται από ανεξάρτητο φαρμακοποιό τους νοσοκομείου.

8.3. Αποθήκευση Φαρμάκου

Το φάρμακο θα φυλάσσεται σε ξηρό μέρος, μακριά από ηλιακή ακτινοβολία σε θερμοκρασία 15-30°C.

9. Ασφάλεια

9.1. Ορισμός Ανεπιθύμητων Συμβαμάτων και Κατηγορίες Σοβαρών Ανεπιθύμητων Συμβαμάτων

Ως ανεπιθύμητο σύμβαμα θα θεωρείται κάθε δυσάρεστη αντίδραση, σύμπτωμα, απορρύθμιση συνυπάρχουσας πάθησης, διαταραχή στις εργαστηριακές εξετάσεις που καταγράφηκε μετά την έναρξη της μελέτης ή κάθε νέα κλινική εκδήλωση που εμφανίστηκε τυχαία μετά την έναρξη της μελέτης. Ως σοβαρά ανεπιθύμητα συμβάματα θεωρούνται:

- 1) Θάνατος ανεξαρτήτως αιτίας
- 2) Οξεία ηπατική ανεπάρκεια
- 3) Οξεία νεφρική ανεπάρκεια
- 4) Κάθε σύμβαμα απειλητικό για τη ζωή
- 5) Κάθε νοσηλεία
- 6) Κάθε σύμβαμα που προκαλεί μόνιμη ή συμαντική αναπηρία στον ασθενή

9.2. Ορισμός Μη-Αναμενόμενων Ανεπιθύμητων Ενεργειών

Θα θεωρείται κάθε δυσάρεστη και μη προβλέψιμη αντίδραση στο υπό μελέτη φάρμακο που θα σχετίζεται με τη χορηγούμενη δόση. Κάθε ανεπιθύμητη ενέργεια θα χαρακτηρίζεται από ειδικό ιατρικό προσωπικό ως σχετική (αποτέλεσμα χορήγησης του φαρμάκου) ή μη-σχετική (προκαλούμενη από οποιαδήποτε συνυπάρχουσα κατάσταση) με το φάρμακο.

9.3. Βαρύτητα

Η βαρύτητα θα ορίζεται ως ήπια, μέτρια, σοβαρή με βάση το μέγεθος που θα περιορίζει τη καθημερινή δραστηριότητα του ασθενή.

9.4. Αναφορά Ανεπιθύμητου Συμβάματος

Κάθε ανεπιθύμητη ενέργεια θα καταγράφεται στη CRF με τρόπο αναλυτικό. Θα αναγράφονται το είδος του συμβάματος, η έναρξη, τα συμπτώματα, η σοβαρότητα, η διάρκεια, η ανάγκη νοσηλείας και η πιθανή ύπαρξη πριν τη

μελέτη. Ο χορηγός θα πρέπει να ενημερώνεται μέσα σε 24 ώρες και θα πρέπει να περιλάβει τις πληροφορίες στην αναφορά ασφάλειας του φαρμάκου. Οι ασθενείς που εμφάνισαν ανεπιθύμητη ενέργεια θα παρακολουθούνται μέχρι την επανασταθεροποίησή τους, ακόμη και αν έχουν αποχωρήσει από τη μελέτη.

9.5. Αναφορά Εγκυμοσύνης

Σε περίπτωση εγκυμοσύνης, θα γίνεται καταγραφή στη CRF και θα άρεται η τυφλοποίηση. Θα ενημερώνεται εντός 24 ωρών ο χορηγός και η ασθενής θα αποχωρεί από τη μελέτη.

10. Στατιστική Ανάλυση

10.1. Καταληκτικά Σημεία

Ως κύριο καταληκτικό σημείο θεωρείται η μεταβολή της ηπατικής στεάτωσης, μετρώμενη με MRI-PDFF, σε ασθενείς με NAFLD που θα λάβουν πραβαστατίνη συγκρινόμενη με ομάδα placebo. Η αξιολόγηση θα γίνει με σύγκριση της διαφοράς μέσων όρων στις δύο ομάδες σε διάστημα 24 εβδομάδων.

Δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελούν η μεταβολή των εργαστηριακών τιμών (ALT, AST, ALP, γ-GT, ολική και άμεση χολερυθρίνη, LDL, HDL και τριγλυκερίδια) και της ηπατικής ίνωσης (μετρούμενη με Fibroscan) στις δύο ομάδες, πραβαστατίνης και placebo. Η αξιολόγηση θα γίνει με σύγκριση της διαφοράς μέσων όρων στις δύο ομάδες.

10.2. Καθορισμός Μεγέθους Δείγματος

Με βάση τη βιβλιογραφία αναμένουμε ότι η ελάχιστη διακριτή και κλινικά σχετική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων είναι 5%. Αναμένουμε ότι η ομάδα πραβαστατίνης θα έχει μείωση ηπατικής στεάτωσης κατά 6% ενώ η ομάδα placebo μείωση 1%, και με ποσοστό αποχώρησης <10%. Προκειμένου να επιτύχουμε δύναμη τουλάχιστον 80% χρειαζόμαστε περισσότερους από 19 ασθενείς σε κάθε ομάδα. Για τους λόγους αυτούς, αποφασίστηκε η στρατολόγηση 50 ασθενών, από τους οποίους τουλάχιστον οι 44 θα

τυχαιοποιηθούν σε μία από τις δύο ομάδες, ώστε να επιτευχθεί επαρκής δύναμη ακόμα και με τα dropouts.

10.3. Ανάλυση Δεδομένων

Η αρχική ανάλυση θα γίνει με βάση την ανάλυση per protocol. Αρχικά θα ελεγχθεί αν οι παράμετροι ακολουθούν κανονική κατανομή με το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov ή Shapiro-Wilk αναλόγως το μέγεθος του δείγματος. Η σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων θα γίνει με χ^2 -τεστ ή Fisher's τεστ για τις κατηγορικές μεταβλητές και με t-τεστ για ανεξάρτητα δείγματα ή Mann-Whitney U τεστ για τις συνεχείς μεταβλητές. Επιπλέον αναλύσεις μέσα στο κάθε γκρουπ θα γίνει χρησιμοποιώντας paired t-test ή Wilcoxon τεστ. Η στατιστική ανάλυση θα πραγματοποιηθεί με το πρόγραμμα SPSS έκδοση 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

10.4. Ορισμός Επιπέδου Στατιστικής Σημαντικότητας

Ορίζεται ως 2-tailed p value ≤ 0.05 .

11. Διαχείριση Δεδομένων

11.1. Καταγραφή και Αποθήκευση Δεδομένων

Όλα τα δεδομένα της μελέτης θα είναι συγκεντρωμένα στο φάκελο της μελέτης. Ο κύριος ερευνητής θα είναι υπεύθυνος για την καταγραφή όλων των δεδομένων, τα οποία θα υπογράφονται από τον ίδιο. Ο κύριος ερευνητής είναι υπεύθυνος για τη φύλαξη των δεδομένων σε ασφαλές σημείο μέχρι την ολοκλήρωση της μελέτης. Μετά το πέρας αυτής, ο φάκελος της μελέτης με όλα τα δεδομένα θα μεταφέρεται και θα αποθηκεύεται στο γενικό αρχείο σύμφωνα με τις προδιαγραφές της καλής κλινικής πρακτικής (GCP).

11.2. Πρόσβαση στα Δεδομένα

Πρόσβαση στα δεδομένα θα έχει ο κύριος ερευνητής, οι δευτερεύοντες ερευνητές καθώς και ο χορηγός της μελέτης.

12. Επίβλεψη Μελέτης

Η πρόοδος της μελέτης θα βρίσκεται υπό αυστηρή επιτήρηση του χορηγού. Ο χορηγός θα είναι υπεύθυνος για τη συμφωνία, τη συνοχή, την ακεραιότητα και την αξιοπιστία των δεδομένων και γι' αυτό θα έχει πρόσβαση στα ιατρικά δεδομένα. Οι ερευνητές θα έχουν συχνή επικοινωνία με τον χορηγό και οφείλουν να τον ενημερώνουν άμεσα για οποιαδήποτε εξέλιξη αφορά τη μελέτη.

13. Ηθικές Παράμετροι

Πριν την έναρξη της μελέτης, αυτή θα εγκριθεί από την Επιστημονική και Ηθική Επιτροπή του ΓΝΘ Ιπποκρατείου. Κάθε αλλαγή στο πρωτόκολλο, στις συγκαταθέσεις των συμμετοχόντων ή στους ερευνητές θα πρέπει να επαναεγκρίνεται από την Επιτροπή. Όλοι οι ασθενείς, πριν συμμετάσχουν στη μελέτη, θα πρέπει να υπογράψουν γραπτή ενήμερη συγκατάθεση, η οποία θα διατηρείται στο φάκελο της μελέτης. Η ενημέρωση θα γίνεται από τον κύριο ερευνητή. Προκείμενου να εξακριβωθεί εάν ο ασθενής έχει καταλάβει τη διαδικασία, θα ζητείται να περιγράψει το τι περιλαμβάνει η μελέτη και ποια διαδικασία θα ακολουθηθεί. Θα ερωτάται επίσης αν έχει κάποια ερώτηση. Όλες οι ερωτήσεις θα απαντώνται πριν τη συμμετοχή του στη μελέτη. Ο ασθενής έχει το δικαίωμα να αρνηθεί να λάβει μέρος, ενώ μετά την γραπτή συγκατάθεσή του έχει το δικαίωμα να αποχωρήσει οποιαδήποτε στιγμή. Για κάθε ασθενή θα υπάρχει φόρμα αναφοράς περιστατικού (CRF) όπου θα συμπληρώνονται στοιχεία ιατρικού ιστορικού, αποτελέσματα κλινικής εξέτασης και εργαστηριακών εξετάσεων και οποιαδήποτε άλλη πληροφορία που σχετίζεται με τη μελέτη και τον ασθενή.

Η μελέτη θα διεξαχθεί σύμφωνα με την Διακήρυξη του Ελσίνκι και με βάση τις αρχές της καλής κλινικής πρακτικής. Υπογράφοντας το συγκεκριμένο πρωτόκολλο, οι ερευνητές δέχονται να διεξάγουν τη μελέτη σύμφωνα με τις τοπικές νομικές προδιαγραφές

14. Πολιτική Δημοσιοποίησης

Τα αποτελέσματα της μελέτης θα εξεταστούν από τους ερευνητές και τον χορηγό με σκοπό τη δημοσίευσή τους. Τα αποτελέσματα δεν θα ανακοινωθούν σε κανενά τρίτο μέχρι την υπογραφή συμφωνίας από τον χορηγό.

15. Χρηματοδότηση

Η μελέτη θα χρηματοδοτηθεί από τον χορηγό. Καμία επιπλέον χρηματοδότηση δεν θα είναι απαραίτητη.

16. Παραπομπές

1. Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 Nov;10(11):686–90.
2. Souza MR de A, Diniz M de FF de M, Medeiros-Filho JEM de, Araújo MST de. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arq Gastroenterol*. 2012 Mar;49(1):89–96.
3. Ballestri S. Risk of cardiovascular, cardiac and arrhythmic complications in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(7):1724.
4. Oni ET, Agatston AS, Blaha MJ, Fialkow J, Cury R, Sposito A, et al. A systematic review: Burden and severity of subclinical cardiovascular disease among those with nonalcoholic fatty liver; Should we care? *Atherosclerosis*. 2013 Oct;230(2):258–67.
5. Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol*. 2013 Sep;59(3):550–6.
6. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults: Systematic review: epidemiology of NAFLD and NASH. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Aug;34(3):274–85.
7. Pastori D, Polimeni L, Baratta F, Pani A, Del Ben M, Angelico F. The efficacy and safety of statins for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*. 2015 Jan;47(1):4–11.
8. Patti G, Cannon CP, Murphy SA, Mega S, Pasceri V, Briguori C, et al. Clinical Benefit of Statin Pretreatment in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A Collaborative Patient-Level Meta-Analysis of 13 Randomized Studies. *Circulation*. 2011 Apr 19;123(15):1622–32.
9. Taylor F, Ward K, Moore TH, Burke M, Davey Smith G, Casas JP, et al. Statins for the primary prevention of cardiovascular disease. In: The Cochrane Collaboration, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2011 [cited 2019 Sep 10]. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD004816.pub4>
10. Gazzero P, Proto MC, Gangemi G, Malfitano AM, Ciaglia E, Pisanti S, et al. Pharmacological Actions of Statins: A Critical Appraisal in the Management of Cancer. Gottesman MM, editor. *Pharmacol Rev*. 2012 Jan;64(1):102–46.

11. Bays H, Cohen DE, Chalasani N, Harrison SA. An assessment by the Statin Liver Safety Task Force: 2014 update. *J Clin Lipidol*. 2014 May;8(3):S47–57.
12. Cohen DE, Anania FA, Chalasani N. An Assessment of Statin Safety by Hepatologists. *Am J Cardiol*. 2006 Apr;97(8):S77–81.
13. Onofrei MD, Butler KL, Fuke DC, Miller HB. Safety of Statin Therapy in Patients with Preexisting Liver Disease. *Pharmacotherapy*. 2008 Apr;28(4):522–9.
14. Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, et al. Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: a post-hoc analysis. *The Lancet*. 2010 Dec;376(9756):1916–22.
15. Pignatelli P, Carnevale R, Pastori D, Cangemi R, Napoleone L, Bartimoccia S, et al. Immediate Antioxidant and Antiplatelet Effect of Atorvastatin via Inhibition of Nox2. *Circulation*. 2012 Jul 3;126(1):92–103.
16. Violi F, Calvieri C, Ferro D, Pignatelli P. Statins as Antithrombotic Drugs. *Circulation*. 2013 Jan 15;127(2):251–7.
17. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010 May 6;362(18):1675–85.
18. Wang W, Zhao C, Zhou J, Zhen Z, Wang Y, Shen C. Simvastatin Ameliorates Liver Fibrosis via Mediating Nitric Oxide Synthase in Rats with Non-Alcoholic Steatohepatitis-Related Liver Fibrosis. Rodriguez-Ortigosa CM, editor. *PLoS ONE*. 2013 Oct 2;8(10):e76538.
19. Eslami L, Merat S, Malekzadeh R, Nasser-Moghaddam S, Aramin H. Statins for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. Cochrane Hepato-Biliary Group, editor. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2013 Dec 27 [cited 2019 Sep 10]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008623.pub2>
20. Hyogo H, Ikegami T, Tokushige K, Hashimoto E, Inui K, Matsuzaki Y, et al. Efficacy of pitavastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dyslipidemia: An open-label, pilot study: Pitavastatin and its efficacy in NASH. *Hepatol Res*. 2011 Nov;41(11):1057–65.
21. Nelson A, Torres DM, Morgan AE, Fincke C, Harrison SA. A Pilot Study Using Simvastatin in the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis: A Randomized Placebo-controlled Trial. *J Clin Gastroenterol*. 2009 Nov;43(10):990–4.