



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞERLİ HASTALARDA
İLERİ EVRE FİBROZİSİN SAPTANMASINDA NON-
İNVAZİV FİBROZİS TESTLERİNİN TANISAL
PERFORMANSI**

Dr. CEMAL FIRAT SUBAŞI
UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL, 2015



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞERLİ HASTALARDA
İLERİ EVRE FİBROZİSİN SAPTANMASINDA NON-
İNVAZİV FİBROZİS TESTLERİNİN TANISAL
PERFORMANSI**

**Dr. CEMAL FIRAT SUBAŞI
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN: Doç. Dr. YUSUF YILMAZ

İSTANBUL, 2015

ÖNSÖZ:

Öncelikle her zaman yanımda olan ve her türlü desteklerini eksik etmeyen sayısız çalışmasıyla tıp dünyasına önemli katkılarda bulunan değerli hocam Doç. Dr. Yusuf Yılmaz'a teşekkür ederim. Ayrıca 4 yıllık asistanlık hayatımda ve tıp fakültesindeki öğrenciliğim boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Çetin Özener'e; desteklerini her zaman hissettiğimiz Gastroenteroloji Bilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Osman Özdoğan'a; müthiş özverisiyle genç hekimlere örnek olan Prof. Dr. Neşe İmeryüz'e, eğitmenliğinin yanı sıra bir arkadaş gibi yanımda olan Doç. Dr. İzzet Hakkı Arıkan'a teşekkürü borç bilirim. Asistanlık sürecimde gerek iş hayatında gerek sosyal hayatta yanımda olan başta Uzm. Dr. Umut Emre Aykut olmak üzere tüm asistan ve uzman meslektaşlarıma, değerli hocalarımıza ve bu günlere gelmemdeki en büyük etken ailem ve hayat arkadaşım Dr. Esra Atasoy'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

ÖZET

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında (NAFLD) ileri evre karaciğer fibrozisinin varlığı kötü prognoza işaret eder. Çalışmamız ile biyopsi kanıtlı NAFLD'lı hastalarda ileri evre(F≥3) fibrozisi saptamada beş ayrı non-invaziv skorlama sisteminin (APRI, BARD, FIB-4, NFSA ve FibroMeter™) tanısal performansını karşılaştırmaya çalıştık.

APRI, BARD, FIB-4, NFSA ve FibroMeter™ skorlama sistemleri 142 NAFLD hastasına uygulandı. Hastaların karaciğer biyopsilerinin histopatolojik analizi altın standart olarak kabul edildi. Her 5 skorlama sistemi için duyarlılık ve özgüllük belirlemede receiver operating characteristic(ROC) analizi kullanıldı. İleri evre fibrozis için eşik değeri F≥3 alındı. Tanısal performanslar belirlenirken 'area under the ROC curve' (AUROC) 'den yararlanıldı. Skorlama sistemlerinin farklı AUROC değerleri bir kaç farklı testin yardımıyla kıyaslandı.

Histopatolojik olarak 142 hastanın; 40'ı (%28,2) F0, 50'si (%35,2) F1, 22'si (%15,5) F2, 20'si (%14,1) F3 ve 10'u(%7) F4 karaciğer fibrozisine sahipti. APRI, BARD, FIB-4, NFSA ve FibroMeter™ skorlarının ileri evre fibroziste duyarlılıkları sırasıyla %70, %73.3, %70, %66.7, %66.7; özgüllükleri sırasıyla %74.5, %66.4, %71.8, %71.8, %74.5 olarak bulundu. Beş skorlama sistemi arasında anlamlı duyarlılık ve özgüllük farkı saptanmadı. Ek olarak skorlama sistemlerinin AUROC'ları da anlamlı fark göstermedi.

Çalışmamızda NAFLD hastalarında ileri evre karaciğer fibrozisini saptamada beş non-invaziv testte de birbirine yakın sonuçlar elde edildi.

Anahtar sözcükler: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, fibrozis, non-invaziv skorlar, biyopsi, tanı

ABSTRACT

The presence of advanced liver fibrosis portends a poor prognosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). We sought to compare the diagnostic performance of five non-invasive scores (APRI, BARD, FIB-4, NFSa, and FibroMeter™) for the assessment of advanced stages of fibrosis ($F \geq 3$) in patients with biopsy-proven NAFLD. APRI, BARD, FIB-4, NFSa, and FibroMeter™ scores were determined in 142 patients with NAFLD. The histopathological analysis of liver biopsies was taken as the gold standard. Sensitivity and specificity were calculated for each non-invasive test by using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, with a cut-off value of $F \geq 3$ for advanced fibrosis. The diagnostic accuracies were assessed by measuring the area under the ROC curve (AUROC). The AUROCs for different non-invasive tests were compared with paired significance tests. At histopathological examination, 40 patients (28,2%) had a fibrosis stage F0, 50 (35,2%) had F1, 22 (15,5%) had F2, 20 (14,1%) had F3, and 10 (7,0%) had F4. Sensitivity of APRI, BARD, FIB-4, NFSa, and FibroMeter™ scores for advanced fibrosis was 70%, 73,3%, 70,0%, 66,7%, and 66,7%, respectively, and specificity was 74,5%, 66,4%, 71,8%, 71,8%, and 74,5%, respectively. No significant differences in terms of sensitivity and specificity were evident for the five non-invasive scores. Moreover, the AUROCs did not differ significantly for all scores. Our study suggests that different non-invasive scores have a similar accuracy for the diagnosis of advanced hepatic fibrosis in NAFLD.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease, Fibrosis, Noninvasive Diagnostic scores, biopsy, diagnosis

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ:.....	i
ABSTRACT	iii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. NAFLD'ın Epidemiyolojisi	7
2.2. NAFLD'ın Doğal Seyri.....	8
2.3. NAFLD'ın Etiyolojisi	9
2.4. NAFLD'ın Patogenezi	10
2.5. NAFLD Kliniği ve Tanısının Koyulması	13
2.6. NAFLD Tanısını Koymada Karaciğer Biyopsisinin Rolü	14
2.7. NAFLD'ın Tedavisi.....	18
2.8. NAFLD Tanısında Noninvaziv Yöntemler	19
2.9. NAFLD Fibrozis Skor (NFSA)	19
2.10.FibroMeter™ NAFLD skor	21
2.11.FIB-4 skor	22
2.12.APRI skor.....	23
2.14.BARD skor.....	24
3. ARAÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Etik Kurul ve BAPKO	26
3.2. Çalışma Popülasyonu.....	26
3.2.1. Dahil edilme kriterleri	26
3.2.2. Dışlanma kriterleri.....	27
3.3. Klinik ve Biyokimyasal Özellikler.....	27
3.4. Karaciğer Histolojisi	28
3.6. Biyokimyasal Analiz	29

3.7. İstatiksel Analiz.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. ROC Analizi.....	34
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları ve Yorum.....	38
6. KAYNAKLAR	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

AASLD	:American Association for the Study of Liver Diseases
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ADA	:American Diabetes Association
ALT	:Alanin aminotransferaz
AST	:Aspartat aminotransferaz
AUROC	:Area under receiver operating characteristic curve
BT	:Bilgisayarlı Tomografi
DM	:Diyabetes mellitus
ELISA	:Enzyme-linked immunosorbent assay
ER	:Endosplasmik retikulum
HCC	:Hepatosellüler karsinom
HDL	:High-density lipoprotein
KKH	:Koroner kalp hastalığı
IFG	:Bozulmuş açlık glukozu
IL	:Interlökin
İR	:İnsülin rezistansı
LDL	:Low-density lipoprotein
LPS	:Lipopolisakkarid
MH	:Mallory Hiyaleni
MRI	:Manyetik rezonans görüntüleme
MS	:Metabolik sendrom

NAFLD	:Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
NAS	:NAFLD aktivite skoru
NASH	:Nonalkolik steatohepatit
NFSA	:NAFLD Fibrosiz Skor
PLT	:Platalet
ROC	:Receiver operating charactetistic
ROS	:Reaktif oksijen türleri
SYA	:Serbest yağ asidleri
TE	:Transient Elastografi
TGF	:Transforming growth factor
TNF	:Tümör nekrozis faktör
USG	:Ultrasonografi
VKİ	:Vücut kitle indeksi
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

NAFLD günümüzde dünyada en sık görülen kronik karaciğer hastalığıdır. Klinik spektrumu basit karaciğer yağlanması, steatohepatit, siroz ve karaciğer yetmezliğine uzanır. NAFLD tanısı için hastaların alkol kullanımının hiç olmaması ya da çok düşük miktarlarda alkol kullanımı (< 30 g/gün erkeklerde , <20 g/gün kadınlarda), olması gerekmektedir^{1,2}.

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı ile ilgili gün geçtikçe daha çok çalışma yapılmakta klinik önemi özellikle son 20 senede giderek anlaşılmaktadır. NAFLD prevalansı dünya genelinde artmakta olup; önümüzdeki 20 sene içinde siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatosellüler karsinom gibi komplikasyonlara bağlı olarak karaciğer transplantasyonunun en sık nedeni olması öngörülmektedir⁷. Non-alkolik steatohepatit (NASH) NAFLD'ın progresif formu olup; siroza gidiş ve HCC nedenidir. NASH'te ileri evre fibrozis en sık %20-25 oranlarında olup prognozla ilişkili en önemli faktördür⁷. Bu nedenle noninvaziv tanı çalışmalarında bu faktörler dikkate alınmalıdır⁴.

Günümüzde NAFLD'lı hastalarda basit yağlanmayı NASH'den ayırmada karaciğer biyopsisi altın standart olarak kabul edilir. Karaciğer biyopsisi hastalar için kabullenilmesi zor, zaman zaman ciddi klinik komplikasyonları olabilen, invaziv bir işlemdir. Uzun süreli takip için uygun olmayıp geniş populasyon taramaları için de kullanılamaz. Ayrıca patolojik incelemede yetersiz materyal, örneklem hataları, değerlendirici hataları gibi sorunlar dolayısıyla non- invaziv bir yöntem ihtiyacı vardır⁵.

Son yıllarda çeşitli noninvaziv fibrozis tanı testleri geliştirilmekte ve kronik karaciğer hastalarında ileri evre fibrozisin tanısında kullanılmaktadır. Biz bu çalışmamızda şu ana kadar en çok tercih edilen ve daha çok kabul görmüş non-invaziv testlerden NAFLD fibrozis, Fibrometer™, FIB-4, APRI, BARD skorlarını, NAFLD hastalarında aynı anda test etmeyi ve doğruluklarını birbiriyle karşılaştırmayı hedefledik.

NAFLD fibrozis skoru günümüzde dünya genelinde en çok çalışılan ve valide edilen non-invaziv tanı yöntemidir. NAFLD fibrozis skor hesaplanırken altı değişik parametre ele alınır. Bunlar; yaş, hiperglisemi, BKİ, trombosit sayısı, albümin, AST/ALT oranıdır ve ileri karaciğer fibrozisi için bağımsız indikatörlerdir^{9,10}. NAFLD fibrozis skor= $-1.675 + 0.037 \times \text{yaş}(\text{yıl}) + 0,0094 \times \text{BKİ}(\text{kg}/\text{m}^2) + 1.13 \times \text{IFG}(\text{Bozulmuş Açlık Glukozu})/ \text{DM} (\text{evet:1,hayır:0}) + 0.99 \times \text{AST/ALT oranı} - 0.013 \times \text{trombosit sayısı}(\times 10^9/\text{L}) - 0.66 \times \text{albümin}(\text{g}/\text{dl})$ şeklinde hesaplanmaktadır¹⁰. NAFLD fibrozis skoru değerlendiren ve 733 biyopsi ile tanı almış NAFLD hastasını ele alan geniş bir çalışmada ileri derecede fibrozisin varlığını ya da yokluğunu tespit eden iki eşik değere ulaşılmıştır⁹. Bu çalışmada, düşük cut-off değeri (-1.455) alındığında, ileri fibrozisin dışlanmasında %93 ve %88 tahmin ve doğrulama gruplarında negatif prediktif değer başarısı sağlanmıştır. Öte yandan yüksek cut-off değeri (0.676) alındığında, ileri fibrozisi göstermede %90 ve %82 tahmin ve doğrulama gruplarında pozitif prediktif değer başarısı sağlamıştır⁹. Uzakdoğu popülasyonlarında yapılan diğer bir çalışmada NAFLD fibrozis skorunun ileri derece fibrozisi dışlamasında negatif prediktif değer; Japondarda %89, Çinlilerde %91 olarak bulunmuştur^{11,12}. NAFLD fibrozis skoru morbid obezite, obezite cerrahisi uygulanan hastalarda da çalışılmış ve ileri evre fibrozisi saptamada anlamlı sonuçlar bulunmuştur¹³. Tüm bu çalışmalarda NAFLD fibrozis skorun basit klinik parametrelerle hesaplanabilen ve geniş popülasyonlarda kullanılabilecek bir sistem olduğu kanıtlanmıştır.

Yararlanacağımız ikinci non-invaziv test Fibrometer'dir. Fibrometer™, NAFLD için poliklinik ve klinik ortamda kolayca elde edilen parametrelerle hesaplanabilir¹⁵. Fibrometer™ parametreleri; yaş, ağırlık, trombosit sayısı, ferritin, glukoz, AST ve ALT, hyaluronik asit, protrombin indekstir¹⁵. Gizli bir formülü olan bu sistem ticari olarak kullanıma açıktır. Fibrometer™ ile yapılabilecek kombine edilen iki çalışmada cut-off değerleri negatif prediktif değer için (< 0.611) ve pozitif prediktif değer için (> 0.175) saptanmıştır. Aynı çalışmalarda test hastalarının %92,4'ünde fibrozisi belirlemiş ve böylece birçok gereksiz karaciğer biyopsisini engellemiştir^{15,16}. Başka bir çalışmada 235 NAFLD

hastası ele alınmış; ileri evre fibrozis için, duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer sırasıyla %79, %96, %88 ve %92 olarak saptanmıştır¹⁷. Yapılan tüm bu çalışmalar göstermiştir ki Fibrometer™ kullanımı son derece kolay ve pratiktir. NAFLD şüphesi olan hastalarda karaciğer biyopsisine gerek kalmadan önemli oranda fibrozis derecesini göstermede etkili olduğu saptanmıştır¹⁷. Fibrometer™ testi gizli ve ücretli bir test olmasıyla diğer skorlama sistemlerinden ayrılır.

FIB-4 skor; yaş, AST, ALT, trombosit parametrelerinin kullanıldığı non-invaziv bir yöntemdir. FIB-4 skor formülü şu şekildedir: yaş (yıl) x AST (U/L) / trombosit ($\times 10^9 / L$) x ALT (U/L)¹⁹. FIB-4 skorunun kullanıldığı ve 541 NAFLD hastasını içeren bir çalışmada eşik değeri <1.30 olarak kabul edilmiş, bu çalışmada pozitif prediktif değer yalnızca %43 olarak saptanmış fakat negatif prediktif değer %90 oranında F3-F4 ileri evre fibrozisi dışlamıştır²⁰. FIB-4 skorunu kullanarak ileri evre fibrozisi dışlama amaçlı yapılan biyopsilerin %62'sinden kaçınılabileceği saptanmıştır²¹.

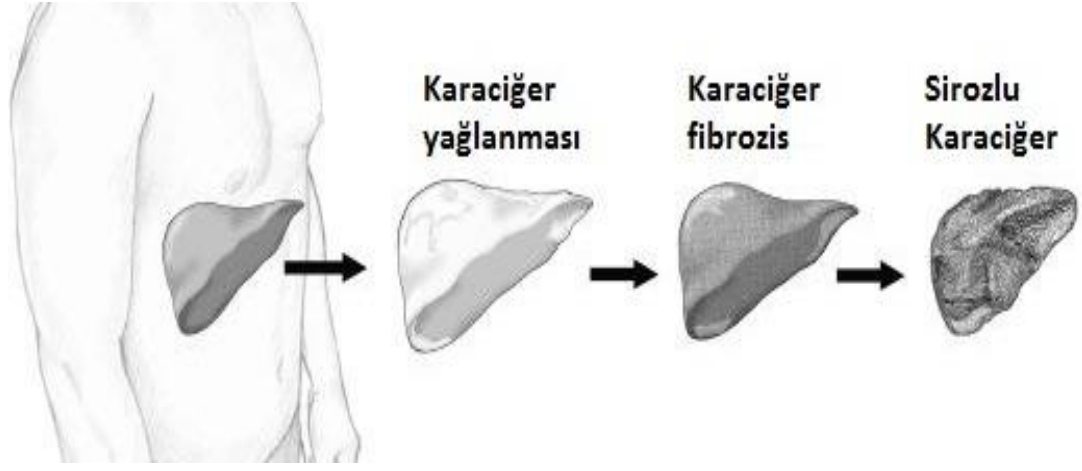
APRI skoru ilk kez kronik hepatit C hastalarında ileri evre fibrozisi değerlendirme amacıyla kullanılmıştır²². AST/PLT oranınının 100 ile çarpılmasıyla hesaplanır. Yukarıda FIB-4 skoru için referans verilen çalışmada APRI skoruda değerlendirilmiş; eşik değeri: 0.98 olarak alındığında ileri evre fibrozisi dışlamada %75 duyarlılık ve %86 özgüllüğü olduğu bulunmuştur²³.

BARD skoru VKİ, AST/ALT oranı, tip 2 DM varlığı ele alınarak hesaplanır. VKİ>28 1 puan, <28 0 puan, AST/ALT oranı >0,8 2 puan, tip 2 DM varlığı 1 puan olarak değerlendirilir. 2010 yılında Wysomirska tarafından yapılan ve NAFLD hastalarında uygulanan çalışmada, 2 ile 4 arasında skoru olan hastaların ileri evre fibrozisi olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışma sonuçları F3-F4 ileri fibrozisi saptamada değerli bulunmuş, birçok hastada biyopsiye gerek kalmayacağını ortaya koymuştur²⁴.

Bizim de bu çalışmadaki amacımız daha önce tanısı biyopsi ile kesinleştirilmiş NAFLD tanısı olan bireylerde non-invaziv tanı yöntemleri olan NAFLD fibrozis skor, Fibrometer NAFLD test, FIB-4 skoru, APRI skoru ve BARD skorunun ileri evre fibrozisi saptamadaki tanısal doğruluğunu belirlemek ve birbiriyle karşılaştırmaktır. Çalışma restrospektif bir çalışma olarak yapılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastalardan yeni herhangi bir numune alınmamıştır veya çalışma için davet edilmemişlerdir, sadece hastaların önceki mevcut verilerinden yararlanılmıştır. Non-invaziv testlerden dört tanesi ücretsiz olarak mevcut formüllerle hesaplanılabilmektedir, yalnızca patentli olan bir tanesinin hesaplanması mevcut veriler kullanılarak ticari olarak elde edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı(NAFLD) basit yağlanmadan steatohepatite kadar uzanan geniş bir spektrumu kapsar ve tüm bu durumlar için kullanılan genel bir isimdir⁸(Şekil 1).



Şekil 1. NAFLD'in klinik spektrumu

NAFLD ilk defa Mayo Klinik'den Ludwig ve ark.'ı, tarafından tanımlandı. Histolojik olarak inceledikleri hasta gruplarındaki karaciğer hasarlarının ortak özellikleri olması nedeniyle (alkol kullanmayan, obez, diyabetik kadın) alkolik hepatit benzeri karaciğer hasarı saptadılar ve bu duruma nonalkolik steatohepatit (NASH) dediler²⁵. Bu gruptan 20 hastanın karaciğer biyopsilerinin %70'inde fibrozis, %15'inde siroz mevcuttu. Sonuç olarak NASH'in; NAFLD'in siroza kadar ilerleyebilen bir alt tipi olduğu belirlendi²⁵.

NAFLD kadınlar ve erkeklerde, her ırkta ve çocuklar da dâhil olmak üzere her yaş grubunda görülebilmekte olup, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de kronik karaciğer hastalığının en sık nedenidir²⁶. Gelişmiş toplumlarda NAFLD prevalansı %20-30 kadar çıkabilirken, NASH'in ki %3,5-5 civarında görülmektedir²⁷. Dünya sağlık örgütü (WHO)'nün tahminlerine göre,

yakın gelecekte 20 milyondan fazla kişide NAFLD nedeniyle siroz gelişmesi beklenmekte olup önümüzdeki 10 senede NAFLD'ın karaciğer naklinin en sık nedeni olması öngörülmektedir².

NAFLD için günümüzde standart bir tedavi seçeneği yoktur ancak obezite, insülin resistansı (IR) gibi olası risk faktörlerini kontrol altına almak tedavinin en önemli parçasıdır. Yaşam ve beslenme değişiklikleri, medikal tedavi, alternatif tedaviler ve obez hastalar için cerrahi, NAFLD hastalarında risk faktörlerini kontrol altına almak amacıyla uygulanmaktadır²⁸. Karaciğer biyopsisi, NAFLD'lı hastalarda prognostik önemi olan steatohepatiti veya fibrozisi göstermede altın standarttır⁶. Karaciğer biyopsisi ciddi klinik komplikasyonlara neden olabilen invaziv bir işlemdir. Hasta takibi için kullanışsız bir yöntem olup yetersiz materyal, örneklem hataları, değerlendirici hataları olumsuzluklar yaratmaktadır. Bu nedenle NAFLD'lı hastalar içinde steatohepatit olanların ayırımında klinik kurallar çerçevesinde geliştirilen yeni non-invaziv belirteçlere ihtiyaç vardır⁶. NAFLD, tanım olarak karaciğerdeki yağın, karaciğer ağırlığının %5-10'undan fazla olmasıdır²⁹. NAFLD 'da görülen steatoz genellikle makroveziküler steatozdur. Makroveziküler steatoz; genellikle uzun dönemde iyi prognoz gösterir ve nadiren fibrozis ve de siroza ilerler. NASH'de ise NAFLD'dan farklı olarak; intralobüler inflamasyon ve hepatosellüler balonlaşma mevcuttur ve buna çoğu zaman fibrozis de eşlik eder¹. NASH histolojisinde Mallory's hyaleni (MH) de görülebilmekte olup intralobüler inflamasyon, az miktarda nötrofil, lenfosit, makrofaj içeren karışık hücre gruplarından oluşur. Portal inflamasyon genelde orta şiddette olup bazen yoğun kronik inflamasyon görülebilir. NASH'in önemli bir özelliği olan hepatosit hasarının tipik balon dejenerasyonunun perivenüler ve perisinüzoidal fibrozisle ilişkili olduğu kanıtlanmıştır³⁰.

NAFLD'ın obezite, tip 2 DM, hipertansiyon, dislipidemi ile ilişkili bir hastalık olduğu bulunmuştur. İnsülin direnci, NAFLD için bağımsız bir risk faktörü olup aynı zamanda başlatıcı faktör olduğu öngörülmektedir³². Ayrıca

NAFLD metabolik sendromun karaciğer komponenti olarak düşünölmektedir³¹.

2.1. NAFLD'ın Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik alışmalarda NAFLD'ın prevalansında coğrafi farklılıklar görölmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda prevalans, Avrupa'da ve Ortadoğu'da %20-30, Uzak doğu'da %15 ve ABD'de %10-35 olarak saptanmıřtır³³. Yapılan bir çalışmada kriptojenik siroz tanısı alan hastaların yaklaşık %40'ının aslında NAFLD olduğu anlařılmıřtır³⁴. Obezlerde NAFLD prevalansı normal popölasyondan çok sık görölmekte olup %75 civarındadır ve bu oran morbid obezlerde %90'a kadar yökselebilmektedir³⁵. Gelişmiş ve gelişmekte olan ölkelerde artan batı tipi beslenme ve sedanter yaşam sonucu ortaya çıkan obezite, insulin direnci, metabolik sendrom nedeniyle çocuklarda ve adölesanlarda NAFLD/NASH sıklığı giderek yökselemektedir. ABD'de genel pediyatrik popölasyonun %9,6'sında ve obez pediyatrik popölasyonun da %38'inde NAFLD görölmektedir³⁶. NAFLD sıklığı postmenopozal kadınlarda daha çok olup cinsiyet olarak erkeklerde daha yöksektir. NAFLD'ın derecesinin artmasıyla ilgili faktörler ileri yaş, yöksek VKİ, DM, hipertansiyon, yöksek trigliserid ve/veya IR'dır. Bariyatrik cerrahi yapılan hastaların yaklaşık %84-96'sında NAFLD, %25-55'inde NASH, %34-47'sinde fibrozis, %2-12'sinde köprüleşme gösteren fibrozis ya da siroz saptanmıřtır³⁷.

2.2. NAFLD'ın Doğal Seyri

NASH/NAFLD için bu güne kadar birçok klinik çalışma yapılmış olup bu çalışmaların hepsinde NAFLD hastalarında genel popülasyona göre mortalite ve morbitide oranı daha yüksek bulunmuştur. ABD ve İsveç'te yapılan bir çalışmada hastalar ortalama 7,5 yıl takip edilmiş ve %13'ünün malignite, koroner kalp hastalığı (KKH) ve son dönem karaciğer hastalığına bağlı öldüğü saptanmış ayrıca bu hastalardan ileri karaciğer fibrozisi olanların, olmayanlara göre daha çok karaciğer komplikasyonu geçirme eğiliminde olduğu anlaşılmıştır³⁷. NAFLD, obezite ile sıkı birliktelik gösterir ve genelde metabolik sendromun karaciğer komponenti olarak kabul edilir. NAFLD tip 2 diyabetlilerde %65-70 oranında görülür ve bu diyabeti olmayanlarla kıyaslandığında iki kat fazladır. Ayrıca, NAFLD'ın kardiovasküler hadiselerle de ilişkisi vardır³⁸. 2004 yılında Brunt ve Ark.'nın yaptığı bir çalışmada karaciğer biopsisiyle kanıtlanmış NASH hastaları ortalama 7,6 yıl izlenmiş. Hastaların karaciğer kaynaklı ve kardiyovasküler nedenlere bağlı mortalite ve morbitide oranı genel popülasyona göre yüksek bulunmuştur³⁸ (Tablo 1).

Tablo 1. NAFLD/NASH de karaciğer ve kardiyak nedenlere bağlı mortalite

	Karaciğer	Kalp
Genel popülasyon	%0,2	% 7,5
Basit yağlanma	%0	%8,6
NASH	%1,6–6,8	%12,6–36

2.3. NAFLD'ın Etiyolojisi

NAFLD'la ilişkili hem klinik olarak hem de yaşam stiline bağlı olan risk faktörleri de vardır (tablo 2.)³⁹.

Tablo 2. NAFLD ile ilişkili değiştirilebilen ve değiştirilemeyen risk faktörleri

Değiştirilebilen Risk Faktörleri	Değiştirilemeyen Risk Faktörleri
Obezite	İrk
İnsülin resistansı	Yaş
Tip 2 DM	Cins
Metabolik sendrom	Aile anamnezi (obezite, DM)
Kardiyovasküler hastalık	
Uyku apne sendromu	
Açlık/Malnütrisyon	
Batı ülkelerinde yaşamak	
Batı tipi beslenme	
Fiziksel inaktivite	

Coğrafi dağılıma ve ırksal farklılıklara bağlı olarak NAFLD prevalansındaki değişiklikler tam olarak anlaşılammıştır ancak genetik ve metabolik faktörlerin etken olduğu düşünülmektedir. Örneğin, Güney Amerika popülasyonlarında beyazlara oranla daha fazla yağ dokusu ve insülin direnci olması nedeniyle prevalansta artış göze çarpmaktadır. Öte yandan siyahilerde, beyaz ve Hispaniklere göre daha fazla yağ dokusu ve diyabet görülmesine karşın, trigliserid seviyelerinin düşüklüğü nedeniyle NASH prevalansı daha düşüktür^{40,41}. Genetik açıdan bakıldığında; 313 dizigotik ve monozigotik bireylerde yapılan bir çalışmada serum ALT ve açlık insülin düzeyleri ile karaciğer yağlanması arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada monozigot ve dizigotik ikizlerde benzer oranlarda sonuçlar bulunmuş, serum ALT ve açlık insülin düzeyleri yüksekliği ile karaciğer yağ içeriği arasında doğru orantılı bir birliktelik tespit edilmiştir⁴².

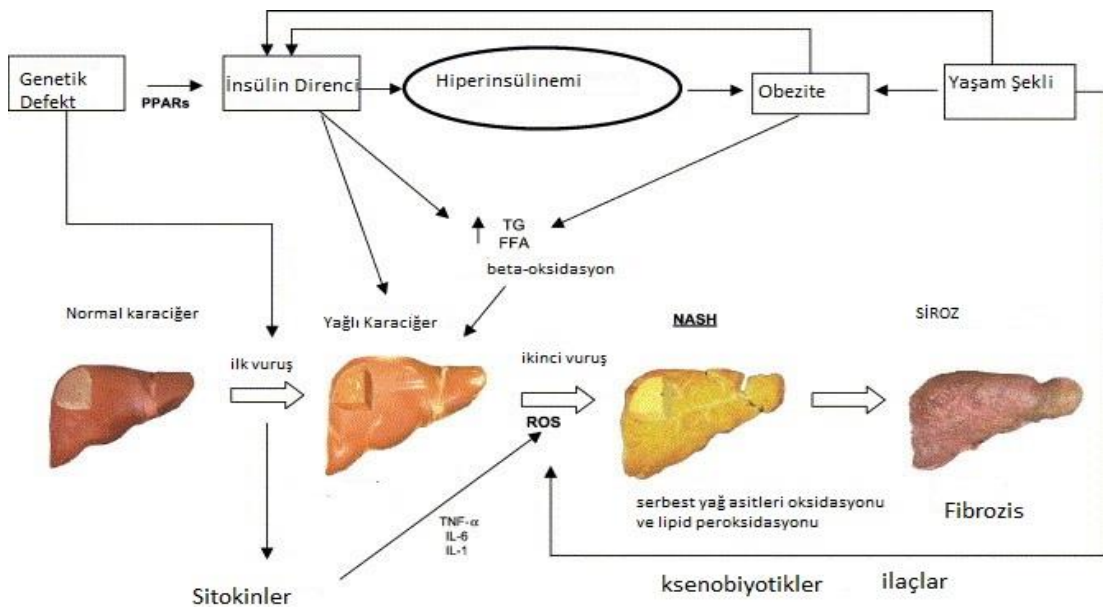
NAFLD hastalarında risk faktörleri aynı olsa da hastalığın ciddi formu olan NASH'e ilerleme herkeste olmamakta veya değişik oranlarda olmaktadır. Bunda bazı genetik faktörlerin rol alabileceği gösterilmiştir. 2008 yılında yapılan 2 bağımsız çalışmada, PNPLA3 (I148M) genindeki rs738409 polimorfizminin ALT seviyeleri ve karaciğer yağ içeriğine etki eden genetik faktörler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bu poliformizm ile karaciğer yağ seviyesi arasında; lipoprotein seviyeleri, diyabet ve vücut kompozisyondaki büyük farklara rağmen bunlardan bağımsız olarak bir ilişki saptanmıştır⁴³. Bir başka çalışmada I148M aleli Hispaniklerde, Avrupalı ve siyahlara oranla daha fazla oranda saptanmıştır. Bu da, ırklar arasında ortaya çıkan NAFLD prevalans farkını açıklayan bir örnek olarak kabul edilebilir⁴⁴. Günümüzde ve ilerleyen yıllarda genetik bilimi daima gelişme göstermekte olup NAFLD hastalarında henüz tam anlaşılmamış genetik faktörlerin zamanla açığa çıkması beklenmektedir⁴⁴.

2.4. NAFLD'ın Patogenezi

NAFLD patogenezinde ele alınan patolojik süreç; basit yağlanmadan başlayarak, steatohepatit, fibrozis ve siroza kadar ilerleyen ilk olarak çift vuruş hipotezi ile açıklanmaya çalışılmıştır⁴⁵. İlk vuruş, IR ve hepatositlerdeki lipid birikiminin rol aldığı metabolik süreçlerin kontrolündedir. Patogenez çalışmalarında hiperinsülinemi ve hipergliseminin, karaciğerde serbest yağ asitleri(SYA) oksidasyonunu ve lipid eksportasyonunu inhibe edip, *de novo* lipogenezi uyararak hepatositlerde lipid birikimini arttırdığı görülmüştür⁴⁶(Şekil 2). İnsulin direncinin adipositokinler olarak adlandırılan peptid mediyatörlerce etkilendiği düşünülmektedir. Bu maddelerin en bilinenleri tümör nekrozis faktör -alfa (TNF-alfa), leptin ve adiponektindir. TNF-alfa, adipoz dokudan karaciğere SYA'nin salınımını stimüle ederek steatoz oluşumunu artırır ve stellat hücrelerde aktivasyon yaparak ve fibrozisi uyararak, hepatositlerde apoptozise gidişi arttırabilir⁴⁷. Leptinin ise trombosit ilişkili büyüme faktörü ve hepatosit stellat hücrelerinin proliferasyonunu

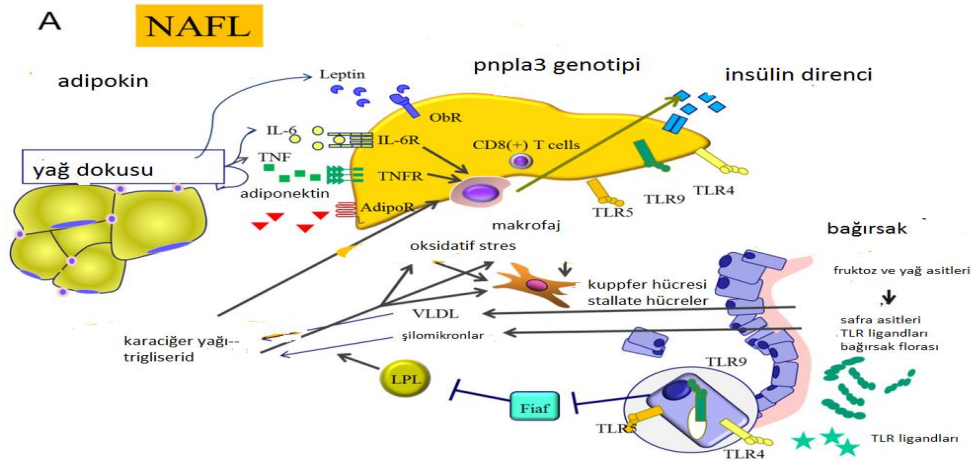
uyararak fibroze gidişte rol aldığı düşünülmektedir⁴⁸. Adiponektinin NAFLD'a karşı koruyucu olduğu düşünülmekte olup NAFLD hastalarında kontrol gruplarına göre adiponektin düzeylerinin düşük olduğu bulunmuş ve IR ile adiponektin arasında ters orantı olduğu saptanmıştır⁴⁹.

Lipid birikimi hepatositler içinde toksik düzeye ulaşınca 'ikinci vuruş' başlar ve hepatosit içinde inflamasyon ve oksidatif stres oluşumu tetiklenir. Sonuç olarak, programlı hücre ölümü ve nekroz başlayarak fibrozis ve NASH gelişir⁵⁰. NASH'te aşırı oksidatif stres'e bağlı olarak mitokondriyal, peroksizomal ve mikrozomal reaktif oksijen türleri (ROS) indüklenir, mitokondriyal ve nükleer DNA'da hasar oluşur ve apoptozis başlar⁵¹. Bazı mitokondriyal anormallikler, basit yağlanması olanlarda görülmezken NASH hastalarında görülmektedir. Sanyal ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, IR olup mitokondriyal anormallikleri olmayan hasta grubunda basit yağlanma görülmesine karşılık hiçbirinde steatohepatite ilerleme gösterilememiştir⁵⁰. Diğer bir hipoteze göre bakteriyel aşırı çoğalma durumunda artan bakteriyel translokasyon portal ve sistemik dolaşımdaki lipopolisakkaridler, endotoksinler, TNF-alfa, IL-6 gibi NASH patogenezinde yer alan maddelerin yükselmesine neden olur. Bunun da inflamasyonu indükleyerek NAFLD ve NASH gelişimine neden olduğu savunulmuştur⁵². Malat ve ark.'nın yaptığı bir diğer çalışmada ise endokannabinoid sistemin pozitif uyarımı sonucunda karaciğerde nekroz, inflamasyon ve fibrogenezin uyarıldığı gösterilmiştir⁵³.



Şekil 2. İnsülin rezistansı ile NAFLD/NASH arasındaki potansiyel mekanizmalar

Çift vuruş hipotezinden sonra ilerleyen yıllarda *patatin-benzeri fosfolipaz 3* (PNPLA3) gen poliformizminin de NASH gelişiminde rolü olabileceği gösterildi. PNPLA3 gen aleline sahip bireylerde basit yağlanmanın ilerleyici olabildiği ve NASH sıklığının arttığı görülmüştür. Bu çalışmaların ışığında NASH gelişiminde gen polimorfizmlerinin de dâhil olduğu 'çoklu vuruş' teorisi gündeme gelmiştir.⁵⁴ (şekil 3.).



Şekil 3. Çoklu vuruş teorisi

Günümüzde en çok kabul gören 'çift vuruş' ve 'çoklu vuruş' teoremlerinde karaciğer hasarının zamanla ilerlediği ve hastalık progresyonunun doğrusal bir şekilde şiddetlendiği düşünülmektedir. Bu teorilere göre NASH ve NAFLD içi içe geçmiş iki klinik spektrum olarak kabul edilmektedir. Yeni bir hipotez olan 'Distinct Hit' hipotezine göre risk faktörleri aynı olmasına rağmen NAFLD ve NASH'in ayrı iki spektrum olduğu savunulmaktadır. SYA'nin toksik ve oksidatif strese neden olup NASH oluşumuna yol açtığı, aksine trigliserid birikiminin koruyucu bir mekanizma olup NASH yerine NAFLD'a neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu modele göre 2 farklı yolak olduğu, moleküler ve genetik olayların

zamanlaması ve kombinasyonu sonrasında; karaciğer hasarlanarak basit yağlanma ve NASH'e ilerleyecek farklı yolların aktive olduğu savunulmaktadır⁵⁵(Şekil 4.)



Şekil 4. Distinct vuruş hipotezi

2.5. NAFLD Kliniği ve Tanısının Koyulması

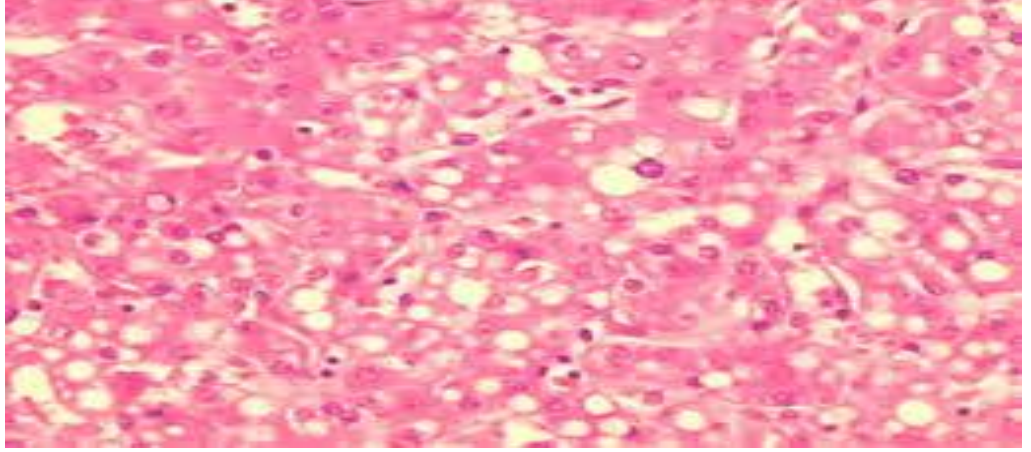
NAFLD hastalarının tanısı büyük oranda rastlantısal konulur, çoğu hasta tanı anında asemptomatiktir. Semptom bildiren hastalar da ise en sık halsizlik, yorgunluk, sağ üst kadranda ağrısı gibi non-spesifik semptomlar bulunur. Yalnızca %5-10 kadar hasta tanı anında dekompanse karaciğer yetmezliği veya siroz ile başvurur. Fizik muayene bulgusu olarak %55-85 arasında hepatomegali saptanabilir⁵⁶. Tanı koyarken karaciğer yağlanması ve transaminaz yüksekliği yapabilecek diğer tüm hastalıklar dışlanmalı ve alkol kullanım hikâyesi dikkatli alınmalıdır. Yağlanmanın alkole bağlı olmadığını söyleyebilmek için günlük alkol tüketiminin kadınlarda 20 gr'ın, erkeklerde 30 gr'ın altında olması gerekir. Çoğu NAFLD hastasında ilk başvuruda hafif transaminaz yüksekliği saptanır ve bu yükseklik dalgalanmalı seyir gösterir²¹. Aminotransferaz yüksekliği çoğu hastada görülse de, normal değerler steatohepatiti ve fibrozisi dışlamaz. Mofrad ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada

normal ALT seviyelerine sahip 51 hasta incelenmiş ve bunların 12'sinde köprüleşme fibrozu, 6'sında siroz görülmüştür⁵⁷. NAFLD tanısını koymada görüntüleme yöntemlerden de yararlanır. USG, BT, MR gibi yöntemler karaciğerde steatozu gösterebilir, basit yağlanma ile NASH ayrımını yapamazlar. Pratikte en sık kullanılan USG; karaciğerde histolojik olarak %33'den daha fazla yağlanma olduğunda tanı için tatmin edici duyarlılık ve özgüllüğe sahip olup, karaciğer yağ oranı azaldıkça USG'nin duyarlılık ve özgüllüğü ciddi oranda düşer⁵⁸.

2.6. NAFLD Tanısını Koymada Karaciğer Biyopsisinin Rolü

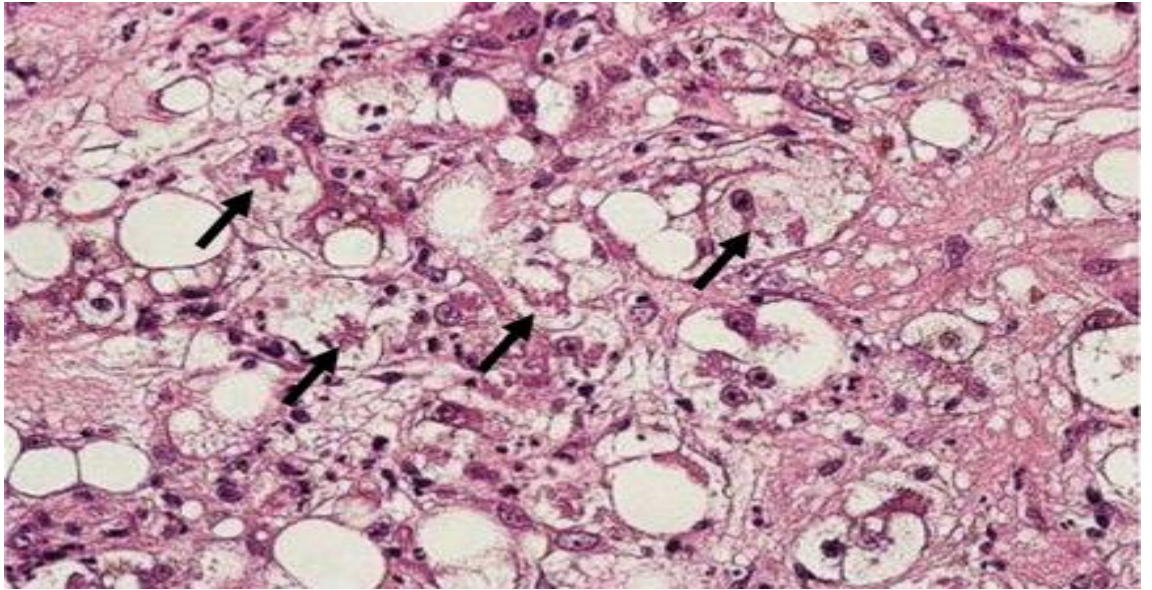
Karaciğer biyopsisi gerek NAFLD tanısı koymada gerekse NAFLD ile NASH ayrımını yapmada günümüzde geçerliliği olan en güvenilir yöntemdir. Ayrıca hastalığın şiddeti ve prognozu hakkında da bilgi sağlayabilir⁵⁹.

NAFLD hastalarında yağ damlacıkları trigliserit formunda hepatosit içinde birikir. Histolojik tanı için hepatositlerin içinde %5'den fazla yağlanma olması gerekmektedir. Makrovezikuler yağlanmanın tipik görünümü olarak, yağ; tek bir büyük yağ damlacığı şeklinde hepatositte toplanır ve nükleusu perifere iter, bazen de birden fazla iyi organize olmuş küçük damlacıklar şeklinde de görülebilir⁶⁰ (Şekil 5).



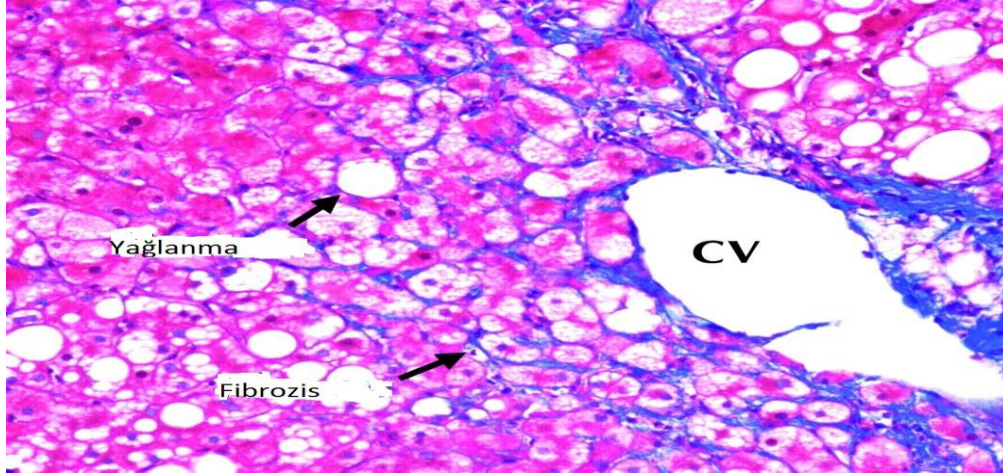
Şekil 5.NAFLD'da makroveziküler yağlanma

Karaciğer yağlanması değerlendirilirken, hepatositlerdeki steatoz:%5-33 arasındaysa hafif, %33-66 arasında ise orta, >%66 ise ciddi steatoz şeklinde raporlanır⁶¹. NASH'de hepatosellüler hasar genellikle balonlaşma ve lobüler inflamasyon şeklindedir ve perivenular alanda lokalizedir, ciddi steatozda tüm asinus tutulmuş olabilir. Fibrozis, NASH tanısı için zorunlu değildir, çünkü NASH'e fibrozis eşlik edebilir veya etmeyebilir. NASH'de hepatosit balonlaşmanın varlığı daha kötü prognoz ve daha yüksek siroz olasılığıyla ilişkilidir⁶²(Şekil 6).



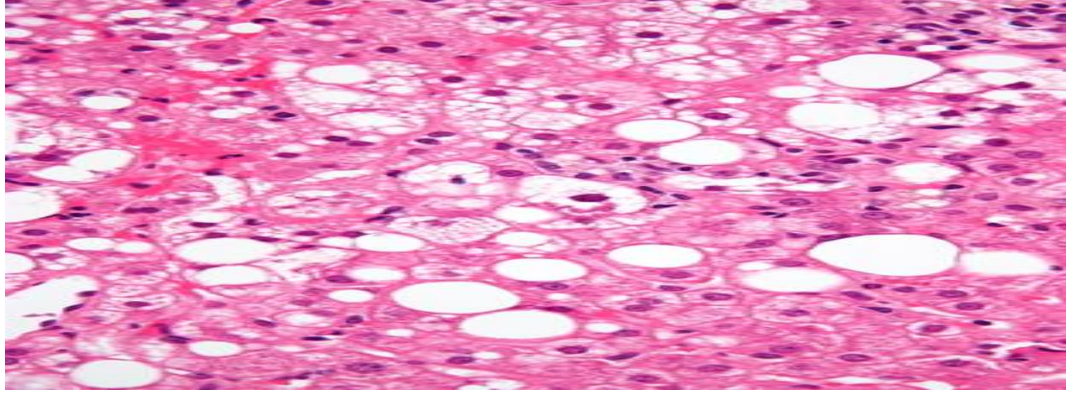
Şekil 6. Hepatositlerde balonlaşma

NAFLD'da görülen lobüler inflamasyon; lenfosit, eosinofil ve birkaç adet nötrofilden oluşan karışık tiptedir ve genellikle hafiftir ayrıca hafif düzeyde portal mononükleer inflamasyon izlenebilir. Asiner lezyonlara eşlik eden ciddi oranda portal mononükleer inflamasyon mevcutsa olası diğer kronik karaciğer hastalığı nedenleri gözönünde bulundurulmalıdır.⁶³ Fibrozis NASH'de asinar zon 3'de başlayıp hepatosit çevresinde ve asinus zon 3 etrafında kollajen ve ekstrasellüler matriks fibrillerinin birikimine neden olur. Bu karakteristik görünüme tavuk tel görünümünü denir⁶⁴ (şekil 7).



Şekil 7. Perisinüzoidal fibrozis, tavuk tel görünümü

NASH histolojisinde, NASH dışında diğer kronik karaciğer hastalıklarında da görülebilen ve patognomonik olmayan çeşitli lezyonlar gözlenebilir. Bunlardan başlıcaları; megamitokondria, glikojene nükleuslar, demir birikimi ve Mallory-Denk Cisimciği (MDB)'dir. Özellikle mallory cisimciğinin, yüksek inflamatuvar aktivite ve artmış siroz riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir⁶⁵ (Şekil 8).



Şekil 8. Mallory Denk cisimcikleri

NAFLD hastalarında histopatolojik tanı koyarken Mantteoni ve ark'ı NAFLD'ı dört sınıfta değerlendirdiler: Tip1; steatoz, Tip2; steatoz ile birlikte inflamasyonun, Tip 3; steatoz ile birlikte hepatik balonlaşmanın ve Tip4; Tip 3 bulgularının yanına MDB ya da fibrozisin olması şeklindeydi. Sonradan yapılan çalışmalarda ilk iki gruptaki hastaların karaciğer ilişkili mortalite oranları %2,7, son iki gruptaki hastaların ise %17,5'a kadar yüksek bulunmuştur⁶⁶. Patoloğa bağlı farklı yorumlar nedeniyle yeni bir skoreleme sistemine ihtiyaç duyulmuştur ve NAFLD aktivite skoru (NAS) tanımlanmıştır. Bu sistem steatoz (0-3), lobüler inflamasyon (0-3) ve balonlaşmaya (0-2) çeşitli puan verilen bir skoreleme sistemidir ve toplamda 8 puandan oluşmaktadır. 5 ve üstü skorlar NASH kabul edilirken, 2 ve daha az alanlar da NASH dışlanır⁶⁷.

Karaciğer biyopsisi; basit yağlanmayı NASH'den ayırabilmesi, fibrozisi göstermesi ve prognoz hakkında bilgi vermesi nedeniyle altın standarttır, yalnız karaciğer biyopsisinin bazı kısıtlılıkları vardır. Karaciğer biyopsisinde karaciğer dokusunun sadece 1/50000 kadarının elde edilebilmesi nedeniyle örneklem hatası temel sorunlardan biridir. Örneklem hatasını en aza indirmek için yeterli uzunlukta (özellikle fibrozisi göstermede 15mm ya da daha uzun dokuya ihtiyaç vardır) 2 ya da daha fazla doku örneği alınması önerilir⁶⁸. Örneklem hatalarını değerlendirme amaçlı Ratziu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, 51 NAFLD hastasına aynı anda 2 biyopsi yapılmış, bu iki örnek arasında steatozun %78 oranında uyduğu, buna karşın fibrozisin %41

oranında farklılık gösterdiği saptanmıştır. Hastaların alınan ilk dokularında köprüleşme fibrosizi saptanırken, ikinci dokularında fibrozisin saptanmaması veya hafif olması oranı %35 olarak izlenmiştir⁶⁹. Karaciğer biyopsisinin komplikasyonlardan en sık olanı ağrı %20 oranında görülür. Biyopsi sonrası huzursuzluk, halsizlik gibi non-spesifik semptomların oranı %90 'a kadar çıkmaktadır. Mortalite ve ciddi komplikasyonlar sırasıyla %0,3-0,57 ve %0,01 şeklinde bulunmuştur⁷⁰. Günümüzde tıp dünyasının ortak amacı komplikasyonlardan uzak ve tıbbi çalışmalarda kullanılabilir non-invaziv yöntemlerin ortaya çıkarılmasıdır, halen kullanılan birçok non-invaziv skorlama yöntemi olup yenilerinin geliştirilmesine devam edilmektedir.

2.7. NAFLD'ın Tedavisi

NAFLD için günümüzde standart bir tedavi olmayıp; ana hedef; obezite, insulin direnci, hiperlipidemi, kardiovasküler hastalıklar gibi risk faktörlerinin kontrol altına alınmasıdır⁷¹. Sedarter yaşamdan kaçınmak, düzenli spor yapmak, yaşam şekli değişikliği ve kalori alımını kısıtlamak (500-1000kcal/gün kadar) önemli bir yaklaşımdır. Dengeli ve programlı kilo verilmelidir zira hızlı kilo kaybının steatozu ve portal inflamasyonu arttırdığı gösterilmiştir⁷². Diyet ve egzersiz karaciğer ezimlerinde azalmaya, karaciğer histolojisinde iyileşmeye, insülin duyarlılığının artmasına ve kan glukoz kontrolünü sağladığından; NAFLD hastalarında ilk basamak tedavisi olarak kullanılmalıdır⁷¹. Bariatrik cerrahi ciddi obezitesi olanlarda (VKİ >40) ya da obezite ile birlikte komorbiditeleri olan hastalarda kilo vermek için uygulanan diğer bir tedavi seçeneğidir⁷³. Günümüzde NAFLD tedavisi için onaylanan hiçbir farmakolojik seçenek yoktur ve NAFLD medikal tedavisi için yapılan randomize kontrollü çalışmaların sayısı sınırlıdır. Genellikle metformin, tioglitazone, ursodeoksikolik asit, statinler, anti oksidasyon özelliği olan vitamin E ve C kombinasyonları kullanılan çalışmalar yapılmıştır. Bu medikasyonlarla ilk etapta karaciğer enzim düşüşleri olmasına karşın, takiplerinde steatoz ve fibrozis derecesinde düzelme sağlanamamıştır^{54,74}.

2.8. NAFLD Tanısında Noninvaziv Yöntemler

NAFLD spektrumu içinde basit yağlanması olan hastaların aksine ileri fibrozisi olan hastalar olası komplikasyonları nedeniyle yakın takip edilmelidir. Bu yüzden NAFLD hastalarında karaciğer fibrozisin varlığını ve derecesini saptamak çok önemlidir. Fibrozis derecesi kronik karaciğer hastalıklarında ve NAFLD'da F0'dan F4'e kadar olacak şekilde 5 evreye ayrılır; F0 Fibrozis yok; F1: perisinüzoidal veya periportal fibrozis; F2: perisinüzoidal ve portal / periportal fibrozis; F3: köprüleşme fibrozisi; F4: siroz şeklinde yorumlanır. Ayrıca; önemli oranda fibrozis (F2+F3+F4), ileri evre fibrozis (F3+F4), siroz (F4) şeklinde derecelendirilir⁷⁵. Karaciğer biyopsisi tanıda altın standart olmasına karşın NAFLD hastalarının yüksek prevalansı ve çoğu hastanın basit yağlanma ya da düşük derecede NASH'e sahip olması nedeniyle bu hastaların çoğunda karaciğer biyopsisi gerekli değildir. İleri evredeki fibrozisi olan veya prognostik önem arz eden hastaları saptamak için non-invasiv testlere ihtiyaç vardır, böylelikle birçok gereksiz biyopsinin önüne geçilebilir⁷⁶. Günümüzde klinik ve laboratuvar verilerin birlikte kullanıldığı çeşitli skorlama sistemleri NAFLD hastalarında fibrozis derecesini tahmin edebilmek için geliştirilmekte ve geniş populasyonlar üzerinde uygunluğu araştırılmaktadır. Çoğu geliştirilen sistemin etkin olması için, kolay ulaşılabilir olmaları ve bu sistemlerin değişik hasta gruplarında valide edilebilir sistemler olmaları gerekmektedir⁷⁵.

2.9. NAFLD Fibrozis Skor (NFSA)

NFSA hesaplanırken; yaş, hiperglisemi, BKİ, trombosit(PLT) sayısı, albümin ve AST/ALT oranı kullanılır. Formülü şu şekildedir:

$$\text{NFSA} = -1.675 + 0.037 \times \text{yaş (yıl)} + 0.094 \times \text{VKI (kg/m}^2\text{)} + 1.13 \times \text{Bozulmuş Açlık glukozu (IFG)/diyabet (evet = 1, hayır = 0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT oranı} - 0.013 \times \text{trombosit sayımı (}\times 10^9\text{/L)} - 0.66 \times \text{albumin(g/dl)(104)}.$$

Formüle göre NAFLD tanısı, üç grupta ele alınır;

(NFSA>0,676) yüksek olasılıklı, (NFSA:0.676 ile -1.455 arasında) orta olasılıklı ve (NFSA<-1.455) düşük olasılıklı olarak değerlendirilir⁷⁵.

NFSA'nın avantajları rutin ve basit parametrelerle hesaplanması, farklı toplumlarda birçok hasta üzerinde valide edilmiş olması ve kolay ulaşılabilir olmasıdır. Son yayınlanan AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) rehberinde karaciğer biyopsisinin yapılma kararının verilmesinde NFSA'nın kullanılabileceği söylenmektedir⁷⁷. NFSA'nın etkinliğini değerlendirme için 2008 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada; biyopsi ile kanıtlanmış 166 NAFLD hastasında ileri evre fibrozisi göstermede NFSA'nın performansına bakıldı. Hastalarda sadece %11(18 hastada) oranında ileri evre fibrozis saptandı. 128 hasta NFSA'nın ileri evre fibrozis için düşük olasılıklı eşik değeri'nin (<-1.455) altında kalmış olup, NFSA'nın negatif prediktif değeri %91 olarak bulundu. Sonuçta şayet NFSA bu hasta grubu için başlangıçta uygulanmış olsaydı hastaların %79 da karaciğer biopsisine gerek kalmayacağı bulundu⁷⁸. 2013 yılında Latin popülasyonunu ele alan bir kohort çalışmasında; biyopsi ile NAFLD tanısı konulmuş 228 hasta çalışmaya alındı. Bu çalışmada NFSA, BARD skor, APRI skor, AAR (AST/ALT oranı ile hesaplanmaktadır) ve FIB-4 skor değerlendirildi. Çalışma sonucunda FIB-4, APRI ve NFSA Latin popülasyonunda fibrozis tanısı için uygun bulundu⁷⁹. Angulo ve ark.'nın yaptığı çok merkezli (ABD, İtalya, Avustralya, İngiltere) bir çalışmada 733 biyopsi kanıtlı NAFLD'lı hasta iki gruba ayrıldı; test (n=480) ve validasyon (n=253). NFSA için düşük eşik değeri(-1.455) alındığında ileri evre fibrozisin yüksek oranda dışlanabildiği (negatif prediktif değeri test grubu için %93, validasyon grubu için %88) gösterildi. Yüksek eşik değeri (0.676) kullanıldığında ise ileri evre fibrozis varlığının yüksek doğrulukla (pozitif prediktif değeri test grubu için %90, validasyon grubu için %82) tahmin edilebildiği saptandı. Şayet bu sistem biyopsi öncesi kullanılsaydı, hastaların %75'ine (733 hastanın 549'u) biyopsi gerekmeyeceği bulunmuştur⁷⁵. NFSA'nın prognostik amaçlı kullanılabilirliği üzerine Rafiq ve ark.'larının yaptığı çalışmada tip2 DM, ileri yaş ve düşük albümin seviyesi gibi NFSA komponentleri karaciğer kaynaklı mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Sombat ve ark.'nın yaptığı prospektif bir çalışmada 479

NAFLD hastasından 309 tanesi 12 yıl boyunca izlenmiş. Bu hastaların 181'in de başlangıçta NFSA'ya göre ileri evre fibrozis yokken, 121 hastada yüksek olasılıklı ileri fibrozis gözlenmiştir. Hastaların izlemi süresince 39'u ölmüş olup bunların 8'i kardiovasküler; 5'i karaciğer kaynaklıdır. 30 hastada yeni kardiovasküler hastalık geliştiği saptanmıştır ki bu hastaların çoğu yüksek olasılıklı ileri fibrozisi olan gruptadır. Çalışmada ileri fibrozisli hastaların yıllık NFSA değişim oranları, düşük fibrozisli hastaların dört katı daha fazla saptanmıştır. Sonuçta, bu çalışmayla yüksek NFSA'sı olan NAFLD hastalarının yeni başlangıçlı kardiovasküler hastalık ve ölüm riski açısından yakın takip edilmelerin gerekliliği ortaya çıkmıştır⁸¹.

Dünyanın çeşitli merkezlerinde yapılan birçok çalışmada NFSA'nın; çok sayıda hastada ve farklı topluluklarda valide edilmiş olması, performansının birçok diğer modele göre görece iyi olması, poliklinik şartlarında kolayca kullanılabilir olması ve ileri evre fibrozisi iyi doğrulukla tahmin edebilmesi nedeniyle sıkça tercih edilen bir skorlama sistemi olmasını sağlamıştır.

2.10.FibroMeter™ NAFLD skor

FibroMeter™ NAFLD skor; yaş (yıl), hyalüronik asit (mg/dl) ,protrombin indeks(%), ALT(mg/dl), AST(mg/dl), kilo(kg), açlık glukozu (mg/dl) ,ferritin (mg/dl), trombosit ($\times 10^9/L$) parameterlerini ele alan fibrozis tahmini için kullanılan non-invaziv bir yöntemdir. Formülü gizli olup Fransa'daki bir şirket tarafından ticari olarak kullanılmaktadır⁸².

FibroMeter™ NAFLD skor ilk defa kronik hepatit C hastalarında fibrozis derecesini saptama amaçlı kullanılmıştır. 2006 yılında kronik hepatit C'li hastalarda yapılan ve biyopsi ile tanı almış hastaların kullanıldığı bir çalışmada FibroMeter™ NAFLD skor; Forn skoru da içeren birkaç skorlama sistemi ile karşılaştırılmıştır. FibroMeter™ NAFLD skor'un hafif fibrozisi (F0-F1) önemli oranda fibrozisten (F2-F3-F4) ayırmadaki performansını gösteren AUROC'ı 0,86 olarak bulunmuştur. Bu değer Forn skor için 0,78 olmuştur.

İleri evre fibrozis($\geq F3$) için Fibrometer'in AUROC'ı 0,91 bulunmuş, Forn için ise yine 0,78 olmuştur($p<0.02$). FibroMeter™ NAFLD skor'unun hem tek başına hem de diğer skorlar ile çoklu kombinasyonlarında, fibrosizi göstermede oldukça başarılı bir skor olduğu gösterilmiştir⁸³. 2010 yılında yapılan bir çalışmada biyopsiyle fibrozis derecesi saptanmış 226 hasta incelenmiş; NFSA ve Fibrometer™ skorları hesaplanmıştır. FibroMeter™ NAFLD skor için önemli oranda fibrozisi olan grupta ($F\geq 2$), AUROC= 0,941, ($p<0,005$), NFSA'nın AUROC 'u aynı grup için 0,867 bulunmuştur. FibroMeter™ NAFLD skor'unun F2 ve üstü fibrozisde NFSA'ya göre daha başarılı olduğu fakat F3-F4 fibrozisde anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür⁸². Cales ve ark.'nın 121 hastada yaptığı diğer bir çalışmada FibroMeter™ NAFLD skor; NFSA ve APRI ile karşılaştırılmış. FibroMeter™ NAFLD skor'unun diğer formüllerden daha yüksek (%90'ın üzerinde) doğruluk gösterdiği ortaya konmuştur. FibroMeter™ NAFLD skor için AUROC 0,95 olarak saptanmıştır. NFSA'da hastaların yaklaşık %25-50'si düşük ve yüksek eşik değer arasındaki skora sahiptir⁸³.

2.11.FIB-4 skor

FIB-4 skoru ilke kez Sterling ve arkadaşları tarafından HCV ve HIV ile ko-infekte hastaların fibrozis derecesini değerlendirme amacıyla 2006 yılında tanımlandı ve formüleleştirildi⁸⁴. Formülü şu şekildedir: yaş (yıl) x AST (U/L) / trombosit ($\times 10^9 / L$) x ALT (U/L).

Önce HCV hastalarında kullanılan formülü NAFLD hastalarına da uygulayan çeşitli çalışmalar yapıldı, amaç diğer non-invaziv testlerde olduğu gibi fibrozis derecesini saptayıp, gereksiz biyopsilerden kaçınmaktı. 2010 yılında Mcpherson ve ark.'ı tarafından yapılan bir çalışmada 145 biyopsiyle kanıtlanmış NAFLD hastası değerlendirildi. Çalışmada FIB-4 skoru; NFSA, BARD skoru, APRI skoru ve AST/ALT oranı ile birlikte değerlendirdi. İleri evre fibrozisi saptama açısından FIB-4 skor için AUROC: 0,86, diğerleri için sırasıyla 0,81, 0,77, 0,67 ve 0,83 bulundu. Sonuç olarak FIB-4 skorun

diğerlerine üstün oranda ileri evre fibrozisi tespit ettiği saptandı¹⁸. 2012 yılında 576 biyopsiyle NAFLD tanısı almış Japon hastada uygulanan çalışmada FIB-4 skoru, NFSA, PT indeks, APRI ve AST/ALT indeks skorlama sistemleriyle karşılaştırıldı. Çalışmada FIB-4 skor diğer formüllerden daha yüksek oranda (%91) ileri evre fibrozis hastalarını saptadı ve bu hastaların %58'inde karaciğer biyopsisinin gereksiz olduğu bulundu⁸⁵. ABD'de yapılan ve 541 NAFLD hastasını ele alan bir çalışmada hastaların FIB-4 skoru diğer altı skorlama sistemi (NFSA, BARD, APRI, AAR, GUCI, AST/PLT index) ile kıyaslandı. İleri evre fibrozisi göstermede FIB-4 skoru diğer altı skorlama sistemine de üstün bulundu (AUROC: 0,802)⁸⁶.

Diğer bir çok çalışmada da incelenen FIB-4 skorunun ileri evre fibrozisi belirlemede önemli ve geçerli bir formül olduğu saptandı. Özellikle diğer skorlama sistemlerine nazaran ileri evre fibrozisi daha yüksek oranda tespit etmesi, rutin laboratuvar testleriyle kolayca hesaplanabilmesi ve beden kitle indeksinden etkilenmemesi sistemin diğer bir avantajı olarak ortaya kondu⁸⁷.

2.12. APRI skoru

APRI skoru ilk kez 2003 yılında kronik hepatit C hastalarında fibrozis ve sirozu saptama amacıyla Wai ve arkadaşları tarafından tanımlandı ve toplam 270 hastada hesaplandı. Formülü şu şekildedir: APRI: (AST/AST laboratuvar üst sınırı) / (Hasta PLT değeri (10⁹ / Lt) X 100 ⁸⁸.

APRI skorunun çeşitli kronik karaciğer hastalıklarında uygunluğu ve kullanılabilirliği birçok çalışmada değerlendirildi. Wui ve arkadaşları tarafından yapılan orijinal çalışmada eşik değer > 1.5 alındığında ileri evre fibrozisi saptamada AUROC değeri 0.8 olarak bulundu⁸⁸. 2014 yılında Tapper ve arkadaşlarının yaptığı biyopsiyle NAFLD tanısı almış 358 hastayı içeren retrospektif bir çalışmada APRI skoru ve NAFLD fibrozis skoru karşılaştırıldı. İleri evre fibrozisi saptamada APRI skoru NAFLD fibrozis

skoruna kıyasla daha iyi performans gösterdi (%92,8 duyarlılık ve özgüllük)⁸⁹. Kruger ve arkadaşlarınınca yapılan 111 biopsi tanı NAFLD hastasını içeren bir çalışmada APRI, NAFLD fibrozis skor ve AST/ALT oranı ileri evre fibrozisi saptama açısından değerlendirildi. Sonuç olarak APRI skoru için diğerlerine oranla daha olumlu sonuçlar alındı. Çalışmada APRI için eşik değer >1,5 alındığında AUROC değeri 0.85, %75 duyarlılık ve %86 özgüllük bulundu⁹⁰.

APRI skoru NAFLD dışında kronik hepatit B ve C hastalarında da uygulanarak fibrozis derecesini saptama amacıyla kullanıldı. 2008 yılında yapılan ve 264 kronik hepatit B hastasını içeren bir çalışmada hastaların APRI skoru hesaplandı ve ileri evre fibrozisi saptama performansı açısından değerlendirildi. Eşik değer > 1,4 alındığında hastalarda ileri evre fibrozis saptamada AUROC değeri 0.85; pozitif prediktif değer %83, negatif prediktif değer %74 bulundu⁹¹. Kronik hepatit C hastalarını ele alan başka bir çalışmada ise APRI skoru için eşik değeri >1,4 alındı. Sonuçlarda ileri evre fibrozisi saptamada %91 duyarlılık ve %75 özgüllük bulundu. Ayrıca skorun kadın hastalarda daha olumlu sonuçlara ulaştığı belirlendi. Kadın ve erkek hastalar için AUROC değeri sırasıyla 0.87 ve 0.75 bulundu⁸⁶.

APRI skoru ilk kez kullanılmaya başlandığından beri birçok farklı kronik karaciğer hastalığında denendi ve olumlu sonuçlar elde edildi. Kolay hesaplanabilmesi, diğer parametre ve hastalıklardan etkilenmemesi nedeniyle günümüzde devam eden çalışmaları ile kullanılmaya devam etmekte; karaciğer biyopsisine gerek kalmadan fibrozisi saptamada uygun bir sistem olarak göze çarpmaktadır.

2.13. BARD skor

BARD skoru ilk kez 2008 senesinde Harrison ve ark.'ı tarafınca tanımlandı ve 827 biyopsi ile tanı almış NAFLD hastasında uygulandı. Formülü şu şekildedir: $VKİ \geq 28 \text{ kg/m}^2 = 1 \text{ puan}$, $VKİ < 28 \text{ kg/m}^2 = 0 \text{ puan}$; $AST/ALT \text{ oranı} \geq 0,8 = 2 \text{ puan}$, $AST/ALT \text{ oranı} < 0,8 = 0 \text{ puan}$; Tip 2 DM varlığı = 1 puan. Sisteme göre 2-4 puan alan hastalar ileri evre fibrozisli olarak değerlendirilir²⁴.

2013 yılında Demir ve arkadaşlarının yaptığı 267 biyopsiyle kanıtlanmış NAFLD hastasını ele alan bir çalışmada hastaların NIKEI, APRI, NAFLD fibrozis skor, BARD skor ve FIB-4 skoru ileri evre fibrozisi değerlendirme amacıyla hesaplandı. Sonuçlarda skorlama sistemleri için AUROC değerleri sırasıyla 0,96, 0,92, 0,81, 0,67, 0,94 olarak bulundu. Skorlama sistemleri birlikte kullanılıp değerlendirildiğinde biyopsi yapılmış hastaların %84'ünde biyopsi yapılmadan ileri evre fibrozis tanısı koyulabileceği ortaya konuldu⁹². 2012 senesinde yapılan 126 NAFLD hastasını içeren bir çalışmada BARD skoru ve NAFLD fibrozis skoru hesaplandı. Çalışmada her iki sistemin kullanımının yararlı olduğu, gereksiz biyopsilerden kaçınmaya yardımcı olduğu saptandı ve sırasıyla her iki çalışmada ileri evre fibrozisi dışlamada AUROC değerleri 0,86 ve 0,91 olarak bulundu⁹³. Yine aynı yıl Çin popülasyonunda yapılan başka bir çalışmada biyopsiyle tanı konmuş NAFLD hastaları ele alındı. FIB-4 skoru, APRI skor, AAR skoru, NAFLD fibrozis skor ve BARD skorları incelenen hastalar ileri evre fibrozis açısından değerlendirildi. Çalışmada FIB-4 skoru diğer tüm sistemlerden üstün bulundu. İleri evre fibrozisi saptama açısından sistemlerin AUROC değerleri sırasıyla 0,75, 0,74, 0,67, 0,65 ve 0,64 olarak saptandı⁹⁴.

BARD skorunun ileri evre fibrozisi dışlamada yararlı olduğu yapılan bir çok çalışmada kanıtlanmış olup, tanı için karaciğer biyopsi gereksinimi azaltacağı öngörülmüştür. Kolay hesaplanabilir olması, non-invaziv olması BARD skorunun avantajları olmasının yanısıra yapılan çalışmalarda BARD skoru genellikle etkinlik açısından diğer skorlama sistemlerinin arkasında kalmıştır. Günümüzde ek parametrelerle desteklenip geliştirilmesine çalışılmaktadır⁹.

3. ARAÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul ve BAPKO

Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Protokol no:09.2014.0182,Tarih:14.08.2014).BAPKO'dan çalışma için bütçe kullanılmadı.

3.2. Çalışma Popülasyonu

Bu çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğinin ve Gastroenteroloji Enstitüsü'nün biyopsi kanıtlı yağlı karaciğer hastaları alınmıştır. Çalışmaya 142 NAFLD (65 kadın,77 erkek, ortalama yaşları 49±9 yıl) tanısı olan hasta dâhil edilmiştir.

3.2.1. Dahil edilme kriterleri

18 yaşından büyük, biyopsi ile kanıtlanmış non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan erişkin bireyler.

3.2.2. Dışlanma kriterleri

1-Erkeklerde 140 gr/hafta, kadınlarda 70gr/haftadan fazla alkol kullanımı olanlar.

2-Viral hepatit, hemokromatoz, Wilson hastalığı, otoimmün hepatit, primer biliyer siroz, sklerozan kolanjit, biliyer darlık, alfa-1 antitripsin eksikliği, iskemik kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık, malignite saptanan hastalar.

3-Östrojen, amiodaron, steroid, tamoksifen, metotreksat, valproate gibi yağlanma ile ilişkili olabilecek ilaç kullanımı olan hastalar ve antihiperlipidemik ilaç kullananlar

4-Diyabet için insülin tedavisi almakta olan hastalar

5- Gebeliği, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği (Cr>1. 4) olan hastalar

6-Fe eksikliği anemisi veya akut ciddi inflamatuvar hastalığı olanlar

3.3. Klinik ve Biyokimyasal Özellikler

Tüm vakaların fizik muayene, antropometrik ve biyokimyasal ölçümler, vücut kitle indeksleri, boy ve kilo ölçümleri, laboratuvar tetkikleri klinikte mevcut olan kayıtlarından elde edilerek hesaplandı. DM tanısı ADA kriterlerine göre, metabolik sendrom tanısı ATP III kriterlerine göre konuldu. Hastaların NFSA, FibroMeter™ NAFLD, FIB-4 , APRI , ve BARD skorları için gereken bilgileri retrospektif kayıtlarından elde edildi. Fibrometer için gereken bazı parametrelerin ölçümü için hastalardan kan numunesi alındı. Hastaların NFSA, FibroMeter™ NAFLD, FIB-4, APRI ve BARD skorları hesaplamaları mevcut formülleri kullanılarak yapılmıştır^{75,82,84,88,24}.

3.4. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer biyopsisi, lokal anestezi ile 16-gauge Hepafix iğnesi (Braun Melsungen AG, Melsungen, Almanya) kullanılarak ultrason eşliğinde yapıldı. Bütün biyopsi örnekleri, % 10'luk formaldehit ile fikse edildi ve sonrasında parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 4 mikron kalınlığında hazırlanan kesitler, Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikrom ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Klinik bilgilerden habersiz, tecrübeli bir patolog, NASH ön tanısı olan hastaların biyopsi materyallerini, NIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases) NASH Klinik Araştırma Ağı Skorlama Sistemi'ne göre değerlendirdi (138). Steatoz, 0 dan 3'e kadar 4 derece olarak skorlandı (S0: Steatoz olmaması ya da % 5'ten daha az olması; S1: %5-33; S2: %33-66; S3: >%66 olarak tanımlanmıştır). Lobüler inflamasyon evrelemesi, Evre 0: Odak yok; Evre 1: her 200× alanda <2 odak; Evre 2: her 200× alanda 2-4 odak; Evre 3: her 200x alanda >4 odak olarak tanımlanmıştır. Balonlaşma değerlendirilirken ise balonlaşmış hücre yoksa 0 puan, birkaç tane varsa 1 puan, çok sayıda varsa veya balonlaşma aşikâr ise 2 puan alır. Fibrozis evrelemesi, Evre 0: Fibrozis yok; Evre1: perisinüzoidal veya periportal fibrozis; Evre 2: perisinüzoidal ve portal / periportal fibrozis; Evre 3: köprüleşme fibrozisi; Evre 4: siroz olarak tanımlanmıştır. Fibrozisin, hastalık aktivitesinin bir sonucu olduğu ve genellikle geri dönüşümsüz olduğu düşünülür ve aktivite skorunun bir komponenti olarak puanlamaya dâhil edilmez. Histolojik NASH skoru, steatoz (0-3), lobüler inflamasyon (0-3) ve balonlaşma (0-2) skorlarının toplanması ile elde edilir. Bu toplama sonucunda 0 ile 8 arasında bir değer saptanır. 0-2 arasında skoru bulunanlar basit yağlanma, 5 ve üstünde skoru bulunanlar ise kesin olarak NASH olarak değerlendirilir. Skoru 3 ve 4 olarak saptanan vakalar ise olası NASH olarak tanımlanmıştır. Biyopsi materyalinin yeterliliği en az 20 mm uzunlukta olması veya 11'den fazla komplet portal alan içermesi olarak tanımlandı. Tüm fibrozis evrelemesi NAFLD aktivite skor'a göre yapıldı.

3.6. Biyokimyasal Analiz

Çalışmaya katılan ve tüm gece aç bırakılan bütün bireylerden sabah saat 8.00 – 11.00 arasında antekübital venden, kan numuneleri alındı. Hastalardan alınan serum örnekleri, çalışmaya alınmadan önce; kullanılacak miktarlara göre alıgotlanmış olup, her ELISA testi için bir kez kullanılmıştır. Kullanılan tüm kitler “sandviç ELISA” prensibine dayalıdır. Sırasıyla standartlar, çalışma kontrolleri ve hasta serumları, hedef proteine spesifik antikörlerle kaplı kuyulara eklendi. Hemen sonrasında biotinle işaretlenmiş hedef proteine spesifik sekonder antikörler ilave edildi. Böylece serumda düzeyi belirlenecek proteinlerin, kuyulardaki immobilize edilmiş primer antikörler tarafından yakalanması ve biotinle işaretli sekonder antikörlerin hedef proteine bağlanarak immobilize edilmesi sağlandı. Biotin haberci bir molekül olup streptavidine yüksek bağlanma afinitesi gösterir. İnkübasyon sonrası bağlanmamış materyalin ortamdaki uzaklaştırılması için yıkama işlemi yapıldı. Enzim aşamasında streptavidin ile konjuge edilmiş Horseradish Peroxidase (HRP) enzim solüsyonu, kuyulara eklendi. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi tekrarlandı. Bir sonraki adım olarak substrat solüsyonu kuyulara konularak ışıkla teması olmayacak şekilde inkübasyona bırakıldı. Bu süre içinde yıkama sonrası sekonder antikörün biotini ile kompleks yaparak ortamda kalan konjuge enzimin dolayısıyla da hedef proteinin miktarı kadar substrat parçalanarak renk oluşumu sağlandı. Son aşama olarak renk gelişimini durdurmak amacıyla durdurma solüsyonu eklenerek hemen ELISA okuyucusunun uygun dalga boylarında plaklar okutuldu. Standart absorbans değerleriyle bir standart eğri oluşturularak denek örneklerindeki hedef proteinlerin miktarı tayin edildi. Kontrol değerlerinin konfirmasyonu sağlandı. Sonuç değerlerin hesaplanması için bilgisayar programı kullanıldı. Test süresince uygulanan tüm aşamalar kitlerin talimatnamesine göre yapıldı.

3.7. İstatiksel Analiz

Çalışmanın istatiksel analizi SPSS (Statistical Package For The Social Sciences) programı aracılığıyla yapıldı. Önceki metodolojik sonuçlarla uyumlu olarak göre F3 ve F4 fibrozis ileri evre fibrozis olarak kabul edildi⁹⁵. Bağımsız değişkenler mutlak sıklıklar, numerik değişkenler ise standart deviasyonlar ve ortalama değerleri ile ifade edildi. Verilerin duyarlılığı ve özgüllüğü her bir tanısal yöntem için ROC (receiver operating characteristics) eğrisi altında kalan alan(AUROC) hesaplanarak bulunmuştur. ROC eğrisi, y eksenini üzerindeki gerçek pozitif oranlar ile x eksenini üzerindeki gerçek negatif oranların oluşturduğu bir grafikdir. Farklı non-invasiv testler için AUROCs; Metz ve ark.'ı tarafından tarif edildiği gibi eşleştirilmiş anlamlılık testleri ile karşılaştırıldı⁹⁶.

4. BULGULAR

Çalışmaya dışlanma ve dâhil edilme kriterleri kullanılarak onam veren 142 NAFLD hastası (67 kadın, 75 erkek, ortalama yaşları:45±9 yıl) alınmıştır. Hasta grubunun ortalama VKİ 30,9±5,5 kg/m2 olarak bulunmuştur. Çalışma grubunun genel özellikleri Tablo3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Çalışma grubunun genel özellikleri.

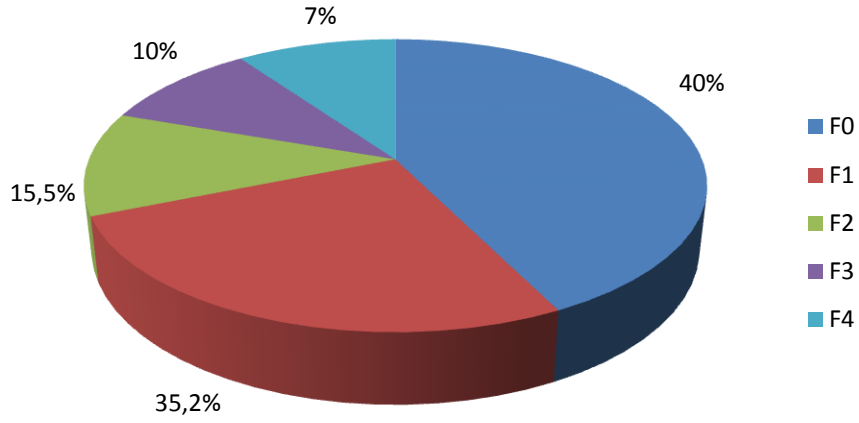
	Hastalar(n=142)
Cinsiyet(E/K)	75/67
Yaş(Yıl)	45±9
Vücut kitle indeksi(kg/m ²)	30,9 ± 5,5
AST(U/L)	58 ± 36
ALT(U/L)	91 ± 61
Bel çevresi(cm)	103 ± 12
Kalça çevresi(cm)	109 ± 12
Sistolik kan basıncı(mmHg)	124 ± 14
Diastolik kan basıncı(mmHg)	79 ± 10
Diabetes mellitus (var/yok)	24/118
Metaboliksendrom (var/yok)	78/64
Total kolesterol(mg/dl)	211 ± 53
LDL kolesterol(mg/dl)	131 ± 40
HDL kolesterol(mg/dl)	41 ± 10
Trigliserid(mg/dl)	194 ± 95
Albümin(g/dl)	4,9 ± 0,3
Ferritin(ng/ml)	172 ± 112
Açlık kan şekeri(mg/dl)	124 ± 47
Protrombin index(%)	100 ± 7

AST: aspartat aminotransferaz; ALT: alanin aminotransferaz

LDL: düşük ağırlıklı lipoprotein; HDL: yüksek ağırlıklı lipoprotein.

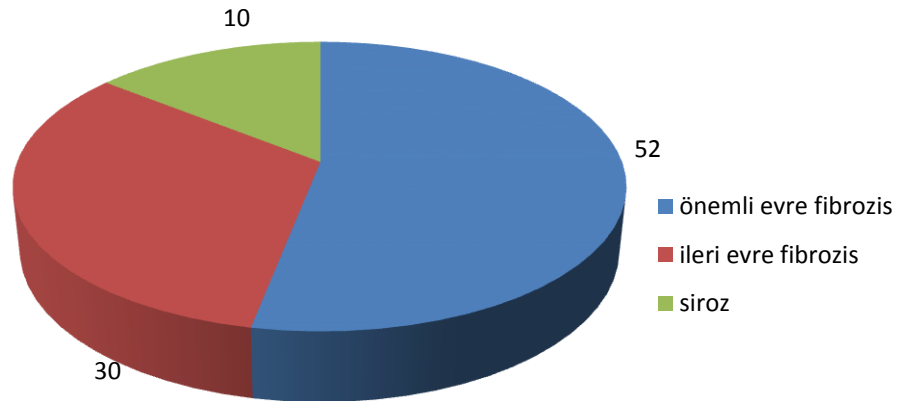
Veriler; ortalama±standart sapma şeklinde ifade edildi.

Hastaların karaciğer biyopsilerinin fibrozis evreleri incelendiğinde; 40'ının(%28,2) F0, 50'sinin(%35,2) F1, 22'sinin(%15,5) F2, 20'sinin(%14,1) F3 ve 10'unun(%7) F4 olduğu görüldü (Şekil 9).



Şekil 9. Hasta gruplarının fibrosiz dağılımları(n=142)

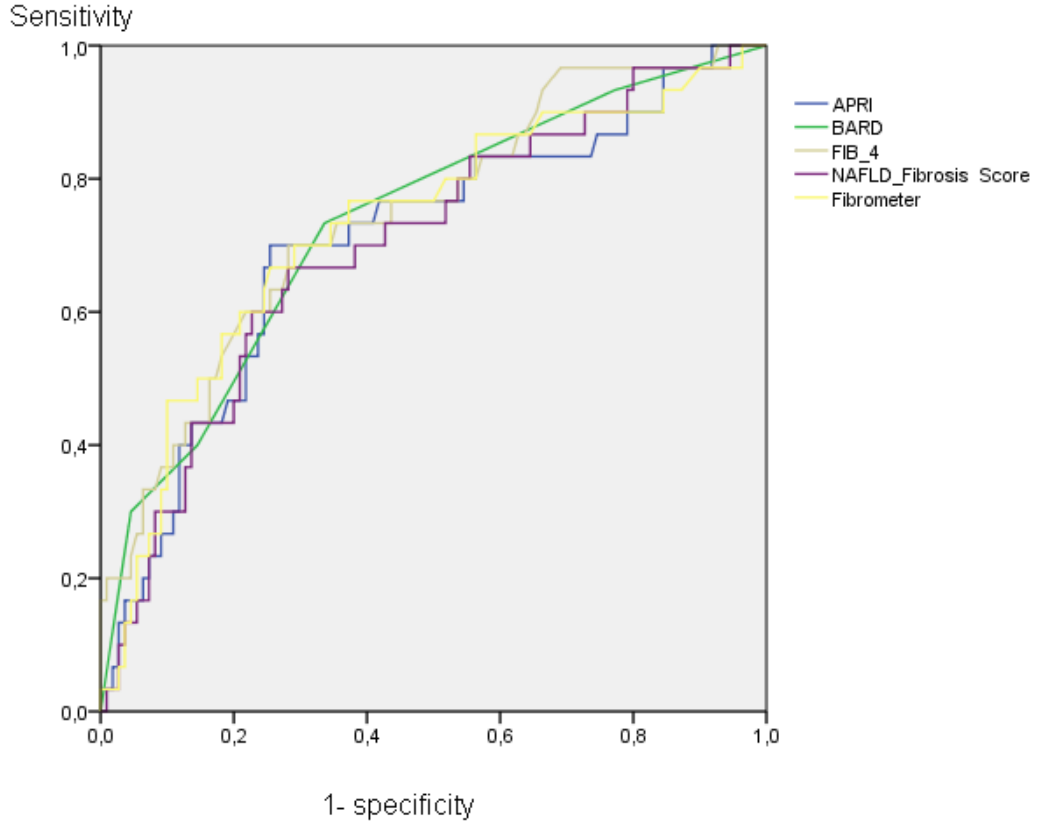
Sonuç olarak hastaların 52'sinde önemli evre fibrozis, 30'un da ileri evre fibrozis ve 10'nunda siroz saptandı (Şekil 10.).



Şekil 10. Fibrozisi olan hastaların fibrozis ciddiyetlerine göre dağılımı

4.1. ROC Analizi

Beş skorlama sistemi içinde ileri evre fibrozisi($\geq F3$) saptamada ROC eğrileri oluşturuldu ve karaciğer biyopsisi altın standart kabul edilerek kıyaslama yapıldı(Şekil 11).



Şekil 11. Biyopsi ile kanıtlanmış NAFLD hastalarında APRI, BARD, FIB-4, NFSA ve Fibrometer™ skorlarının ileri evre fibrozisi($\geq F3$) saptamasında ROC(Receiver Operating Characteristic) curve analizleri

Her bir noninvasiv yöntem için AUROC değerleri, duyarlılık/özgüllükler hesaplanarak Tablo 4'da gösterilmiştir.

Tablo 4. Biopsi ile kanıtlanmış NAFLD hastalarında APRI, BARD, FIB-4, NFSA ve Fibrometer™ skorlarının ileri evre fibrozisi(≥F3) saptamasında duyarlılık/özgüllük ve AUROC karşılaştırılması

Test	APRI	BARD	FIB-4	NFSA	Fibrometer™
AUROC	0.706±0.057	0.733±0.052	0.744±0.052	0.702±0.055	0.729±0.055
Duyarlılık	70,0	73,3	70,0	66,7	66,7
Özgüllük	74,5	66,4	71,8	71,8	74,5

AUROC = area under the receiver operating characteristic curve. AUROC, duyarlılık ve özgüllük için geçerli olan P değerleri beş fibrosiz skoru içinde anlamlı fark göstermedi.

İleri evre fibrozis (≥F3)'i göstermede APRI, BARD, FIB-4, NFSA, FibroMeter™ skorlarının duyarlılığı sırasıyla; %70, %73.3, %70, %66.7, %66.7; özgüllüğü sırasıyla: %74.5, %66.4, %71.8, %71.8 ve %74.5 bulundu. Tüm skorlar kabul edilebilir performans göstermiş olup özgüllük ve duyarlılık açısından beş test arasında anlamlı fark saptanmadı.(tüm p değerleri = ns) Ayrıca AUROC değerleri arasında istatistiksel olarak tüm skorlar için anlamlı farklılık bulunmadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

NAFLD hastalarında ileri evre fibrozisi saptamak, tedavi ve takip açısından çok önemlidir. Özellikle önemli oranda fibrozisin olması mortalite ve morbidite oranlarının artmasına neden olmaktadır⁹⁷. Kişisel risk faktörleri değişkenlik göstermekte ve tanı koymada kullanışsız olmaktadır. Bu nedenle son yıllarda NAFLD için altın standart olan karaciğer biyopsisine alternatif olarak çeşitli skorlama sistemleri geliştirilmiştir²⁰. Bu skorlama sistemleri genellikle basit biyokimyasal parametrelerden yararlanılarak hesaplanır. Biz de çalışmamızda APRI, BARD, FIB-4 ,NFSA ve FibroMeter™ skorlama sistemlerini ele aldık.

Çalışmamızda ele aldığımız beş non-invaziv skorlama sisteminin de ileri evre fibrozisi saptamada karaciğer biyopsisiyle benzer sonuçlar elde ettiğini, kolay ve kullanışlı olduğunu bulduk. Bu bulgular önceki yapılan benzer çalışmaları destekler nitelikteydi^{17,18,20}. Öte yandan çalışmamızda ele aldığımız skorlama sistemleri arasında duyarlılık, özgüllük ve AUROC değerleri açısından anlamlı farklılık saptamadık. Mc Pherson ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada AST/ALT oranı, FIB-4, NFSA ve BARD skorlarının ileri evre fibrozisi dışlamada güvenilir olarak kullanılabileceğini kanıtladı ve bu çalışmada FIB-4 skoru diğerlerine nispeten daha iyi bir AUROC değeri ortaya koydu, ancak bu ihmal edilebilir derecede küçük bir değeri¹⁸. İki çalışma arasındaki bu minimal farklılığa ele alınan hastaların farklı parametrelerinin neden olduğu düşünülebilir. Non-invaziv skorların büyük ve gelişmiş olanaklara sahip kliniklerde kullanılmasının yararlılığı çalışmamızda kanıtlanmış olup, daha küçük populasyonlara hitap eden kliniklerde kullanımının uygunluğu ve yararlılığı tartışmalıdır.

Çalışmamızda daha basit parametreler ile daha kolay ölçülen skorlar (APRI, BARD) ile, daha kompleks skora sistemlerinin(FIB-4, NFSA ve FibroMeter™) aynı etkinlikte olduğunu bulduk. Skora sistemleri arasındaki etkinlik açısından benzerlik olması fiyat-performans ve hesaplanma kolaylığı açısından da testlerin değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Örneğin formülü ticari olarak gizli tutulan ve daha çok parametre ile hesaplanan FibroMeter™ sisteminin daha pahalı bir test olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle non-invaziv testler fiyat-performans oranları açısından da değerlendirilmeli ve en uygun olanları seçilmelidir. Bu özellikle, düşük bütçeli kliniklerde önemli olacaktır. Öte yandan günümüzde 'en düşük maliyetli ve yüksek etkinlikte' olan skora sisteminin hangisi olduğu konusunda yeterli bilgi ve çalışma yoktur.

Çalışmamızda göz önünde bulundurmadığımız önemli noktalardan birisi de skora sistemlerinin aynı hasta üzerinde birlikte kullanılıp ileri evre fibrozisi gösterme için değerlendirilmemesiydi. Bu konuda 2013 yılında NAFLD hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada hastaların NIKEI, APRI, NFSA, BARD ve FIB-4 skorları hem ayrı ayrı hem kombine olarak değerlendirilmiş, hastaların %84'ünde biyopsiye gerek kalmadan ileri evre fibrozis tanısı konulabilmiştir⁹². Skora sistemlerinin kombine kullanılması poliklinik ve klinik hastalarında tanıya gitmede hasta ve doktor açısından büyük kolaylık sağlayabilir. Çalışmamızda hasta grubu olarak sadece Türk popülasyonunu değerlendirdik. Herhangi bir skora sisteminin yararlı ve global olarak uygulanabilir olması için tüm toplumlarda, ırklarda kullanılabilir olması gereklidir. Bu açıdan çalışmamızı yine 2013 senesinde tamamen Latin kökenli biyopsi ile tanı almış NAFLD hastaları(n=228) ile yapılan bir çalışma ile kıyaslayabiliriz. Bu çalışmada NFSA, FIB-4, BARD, APRI ve AST/ALT oranı ileri evre fibrozisi değerlendirme amacıyla kullanılmış. Çalışmamıza benzer şekilde bu beş skora sistemi arasında ileri evre fibrozis için duyarlılık, özgüllük ve AUROC değerleri benzer bulunmuştur¹⁰¹. (AUROC değerleri sırasıyla 0,72, 0,74, 0,65, 0,66, 0,67 olarak saptanmış.) Bu skora sistemlerinin dünya çapında validasyonunun kabul edilmesi için daha birçok farklı popülasyonda çalışılması gereklidir.

5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları ve Yorum

Yayınladığımız bu çalışmada birkaç kısıtlılık mevcuttur. İlk olarak, örneklem sayımız görece olarak azdır ve sadece Türk popülasyonundan oluşmaktadır, çalışmanın daha büyük popülasyonlara uygulanması daha anlamlı sonuçlar elde edilmesine olanak sağlayacaktır. İkinci olarak; çalışmamızda non-invaziv sistemlerin ileri evre fibrozisi saptama etkinliğine odakladık ve fiyat-performans açısından değerlendirme yapmadık. Üçüncü olarak; Hepascore⁹⁸, FibroTest⁹⁹, European Liver Fibrosis Panel¹⁰⁰ gibi diğer bir çok non-invaziv test çalışmada değerlendirilmemiştir. Dördüncü kısıtlayıcı faktörümüz ise çalışmamızda non-invasiv testler yalnızca NAFLD/NASH hastalarına uygulanmıştır. İlerde yapılacak diğer çalışmalarda hepatit B ve C'ye bağlı fibrozisi olan hastalar da ele alınmalı çeşitli non-invaziv skorlar bu hastalar üzerinde de uygulanmalıdır. Son olarak çalışma da beş farklı non-invaziv skora sistemi etkinlik açısından kıyaslandı, ancak sistemler kombine edilip yeni veya modifiye edilmiş bir skor sistemi bulmak amacıyla değerlendirilmedi. Bu kısıtlamalara rağmen çalışmamız günümüzde altın standart kabul edilen karaciğer biyopsini referans alarak yapıldı ve skora sistemiyle başarılı sonuçlara ulaşıldı.

Sonuç olarak, çalışmamız göstermiştir ki; NAFLD hasta grubunda karaciğer fibrozisini göstermede non-invasiv yöntemler önemli rol oynayabilecek ve gereksiz karaciğer biyopsilerinden kaçınmamıza yardımcı olacaktır. İlerleyen zamanlarda yapılacak yeni çalışmalar ve olası bulunacak yeni skora sistemleri ile maliyet ve komplikasyonlar azalacak; testler rutin hepatoloji kliniklerinde kullanılmaya başlanacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Festi D, Schuemerini R, Marzi L, Di Biase AR, Mandolesi D. Review Article: The diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease-availability and accuracy of non-invasive methods. *Alimentary Pharmacol Ther* 2013;37:392-400
2. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* .2012;32:22-9.
3. Khashab MA, Liangpunsakul S, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease as a component of the metabolic syndrome. *Curr Gastroenterol Rep* 2008;10:73-80.
4. Yilmaz Y, Review article: is non alcoholic fatty liver disease a spectrum or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions? *Aliment Pharmacol Ther* 2012;36:815-823
5. Emanuele E. Is biopsy always necessary? Toward a clinico-laboratory approach for diagnosing nonalcoholic steatohepatitis in obesity. *Hepatology*. 2008;48:2086-7.
6. Vuppalanchi R, Chalasani N, Non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009;49:306-317
7. Mehta K, Van Thiel DH, Shah N, Mobarhan S. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis and the Role of antioxidants. *Nutrition Reviews* 2002;60:289-293.

8. Calès P, Boursier J, Chaigneau J, Lainé F, Sandrini J, Michalak S, Hubert I, Dib N, Oberti F, Bertrais S, Hunault G, Cavarro-Ménard C, Gallois Y, Deugnier Y, Rousselet MC. Diagnosis of different liver fibrosis characteristics by blood tests in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International* ISSN 2010:1346-1353.
9. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, Enders F, Saksena S. The NAFLD fibrosis score: a non-invasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45 846-854
10. Treeprasertstruk S, Bjornsson E, Enders F, Suwanwalaikorn S, Lindor KD. NAFLD fibrosis score: a prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients. *World J Gastroenterology* 2013;28,19 1219-1229
11. Fujii E, Enomoto M, Fukushima M, Tamori A, Sakaguchi H, Kawada N. Applicability of BARD score to Japanese patients with NAFLD. *Gut* 2009;58 1566-1567
12. Wong VW, Wong GL, Chim AM, Tse AM, Tsang SW, Hui AY, Choi PC, Chan AW, Chan AW. Validation of NAFLD fibrosis score in a Chinese population with low prevalence of advanced fibrosis. *Am J Gastroenterology*:2008;103 1682-1688
13. Qureshi K, Clements RH, Abrams GA. The utility of the NAFLD fibrosis score in morbidly obese subjects with NAFLD. *Obes Surg* 2008;18 264-270
14. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: Natural history of NAFLD and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med* 2011;43 617-649

15. Bugianesi E. Review article:steatosis,the metabolic syndrome and cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22 40-43
16. Pessayre D, Fromenty B. NASH: a mitochondrial disease.*J Hepatol* 2005;42:928–40.
17. Cales P, Laine F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, Hunault G, Roussellet MC. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *J Hepatol* 2009;50 165-173
18. Mcpherson S, Stewart SH, Henderson E, Burt AD, Day CP Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced liver fibrosis in patients with NAFLD. *Gut* 2010;59 1265-1269.
19. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V,Nalpas A, Dhalluin Venier V, Fontaine H, Pol S. FIB-4:An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 2007;46 32-36.
20. Shah AG, Lydecker A.,Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. Comparison of non-invasive markers of fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2009;7 1104-1112.
21. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999;116:1413-1419.
22. Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn K, Van Rensburg C, Kotze M. APRI:a simple bedside marker for advanced fibrosis that can

avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. S Afr Med J 2011;101 477-480.

23. Yang HR, Kim HR, Kim MJ, Ko JS, Seo JK. Non-invasive parameters and hepatic fibrosis scores in children with NAFLD. World J Gastroenterology 2012;18 1508-1516

24. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuchwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. Gut 2008;57 1441-1447.

25. Ludwig J, Vigiano TR, McGill DB, Oh BJ. Non-alcoholic steohepatitis: Mayo Clinic experiences with an unnamed disease. Mayo Clinic Proc:1980;55 434-438

26. Aykut UE, Akyuz U, Yesil A, Yilmaz Y. A comparison of FibroMeter NAFLD score, NAFLD fibrosis score and transient elastography as noninvasive diagnostic tools for hepatic fibrosis in patients with biopsy proven non alcoholic fatty liver disease.

27. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. Hepatology 2004;40:1387

28. Schewenger KJ, Allard JP, Clinical approaches to non alcoholic fatty liver disease. World J gastroenterol 2014;20:1712-1723.

29. Finelli C, Tarantino G. Is visceral fat reduction necessary to favour metabolic changes in the liver? J Gastrointestin Liver Dis 2012; 21:205-208

30. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999;116:1413-1419.
31. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple hits including oxidative stress as pathogenesis and treatment target in NASH *Int J Mol Sci* 2013;14:20704-20728
32. Scaglioni F, Ciccia S, Marino B, Bedogni G, Bellentani S. ASH and NASH *Dig Dis* 2011;29:210-218
33. Weston SR, Leyden W, Murphy R, Bass NM, Bell BP, Manos MM, Terrault NA. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology* 2005;41:372–9
34. Gawrieh S, Opara C, Koch TR. Oxidative stress in NAFLD: pathogenesis and antioxidant therapies *J Investig Med* 2004;52:506-514
35. Holterman AX, Guzman G, Fantuzzi G, Wang H, Aigner K, Browne A, Holterman M. Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese adolescent and adult patients. *Obesity* 2013;21:591–597
36. Vajro P., Lenta S., Socha P., Dhawan A., McKiernan P., Baumann U., Durmaz O., Lacaille F., McLin V., Nobili V. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: Position paper of the espghan hepatology committee. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012;54:700–713.
37. Elstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Long term follow up patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006;44:865-873

38. Brunt EM. Non alcoholic steohepatitis Semin Liver Dis 2004;24:3-20
39. Caldwell SH, Ikura Y, Iezzoni JC, Liu Z. Has natural selection in human populations produced two types of metabolic syndrome (with and without fatty liver)? J Gastroenterol Hepatol 2007;22:11-19.
40. Bambha K, Belt P, Abraham M, Wilson LA, Pabst M, Ferrell L, Unalp-Arida A, Bass N. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network Research Group. Ethnicity and nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 2012;55:769-780.
41. Zoratti R. A review on ethnic differences in plasma triglycerides and high-densitylipoprotein cholesterol: is the lipid pattern the key factor for the low coronary heart disease rate in people of African origin? Eur J Epidemiol 1998;14:9-21.
42. Makkonen J, Pietiläinen KH, Rissanen A, Kaprio J, Yki-Järvinen H. Genetic factors contribute to variation in serum alanine aminotransferase activity independent of obesity and alcohol: a study in monozygotic and dizygotic twins. J Hepatol.2009;50:1035–104.
43. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF; GIANT Consortium; MIGen Consortium; NASH CRN, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. Hepatology. 2010 Sep;52:904-12.
44. Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Fazaeli A, Bahari A, Hashemzahi NA, Shafieipour S, Taheri M, Moazeni-Roodi A, Zakeri Z, Bakhshipour A, Ghavami S. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTT1, GSTM1, and GSTP1) and susceptibility to

nonalcoholic fatty liver disease in Zahedan, Southeast Iran. *DNA Cell Biol.*2012;31:672–677.

45. Chitturi S, Farrell G. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin.Liver Dis.*2001;21:27–41.

46. Perry RJ, Kim T, Zhang XM, Lee HY, Pesta D, Popov VB, Zhang D, Rahimi Y, Jurczak MJ, Cline GW, Spiegel DA, Shulman GI. Reversal of hypertriglyceridemia, fatty liver disease, and insulin resistance by a liver-targeted mitochondrial uncoupler. *Cell Metab* 2013 Nov 5;18:740-8.

47. Novo E., Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2008;1:5.

48. Ikejima K, Okumura K, Lang T, Honda H, Abe W, Yamashina S, Enomoto N, Takei Y, Sato N. The role of leptin in progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2005;33:151-154.

49. Sargin H1, Sargin M, Gozu H, Orcun A, Baloglu G, Ozisik M, Seker M, Uygur-Bayramicli O. Is adiponectin level a predictor of nonalcoholic fatty liver disease in nondiabetic male patients? *World J Gastroenterol.* 2005;11:5874-7.

50. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Clore JN. Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology.* 2001 Apr;120:1183-92.

51. Perry RJ, Kim T, Zhang XM, Lee HY, Pesta D, Popov VB, Zhang D, Rahimi Y, Jurczak MJ, Cline GW, Spiegel DA, Shulman GI. Reversal of

hypertriglyceridemia, fatty liver disease, and insulin resistance by a liver-targeted mitochondrial uncoupler. *Cell Metab* 2013 Nov 5;18:740-8.

52. Ilan Y. Leaky gut and the liver: A role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012;18:2609-18.

53. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids and liver disease. I. Endocannabinoids and their receptors in the liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294:9-12.

54. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010;52:1836–46.

55. Yilmaz, Y. Review article: Is non-alcoholic fatty liver disease a spectrum, or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions? *Aliment. Pharmacol. Therap.* 2012;36:815–823.

56. Martín-Domínguez V, González-Casas R, Mendoza-Jiménez-Ridruejo J, García-Buey L, Moreno-Otero R. Pathogenesis, diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Rev esp enfeRm dig Madrid* 2013: 105;409-420.

57. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, Sterling RK, Shiffman ML, Stravitz RT, Sanyal AJ. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003;37: 1286-1292.

58. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, Mullen KD, Cooper JN, Sheridan MJ. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;123:745–50.

59. Duvnjak M, Lerotić I, Barsić N, Tomasić V, Virović Jukić L, Velagić V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2007 September 14;13: 4539-4550.
60. Brunt EM, Tiniakos DG. Alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2010 14;16:5286-96.
61. Farrell GC, van Rooyen D, Gan L, Chitturi S. NASH is an Inflammatory Disorder: Pathogenic, Prognostic and Therapeutic Implications. *Gut Liver*. 2012;6:149-71.
62. Tiniakos DG. Nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis: histological diagnostic criteria and scoring systems. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22:643-650.
63. Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49: 450-465.
64. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: pathologic features and differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22:330-338.
65. Zatloukal K, French SW, Stumptner C, Strnad P, Harada M, Toivola DM, Cadrin M, Omary MB. From Mallory to Mallory-Denk bodies: what, how and why? *Exp Cell Res* 2007;313:2033-2049.
66. Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, Younossi ZM. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:234-238.
67. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough

- AJ, Sanyal AJ. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313-1321.
68. Goldstein NS, Hastah F, Galan MV, Gordon SC. Fibrosis heterogeneity in nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C virus needle core biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 382-387.
69. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128:1898-1906.
70. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology* 2009;49:1017-1044
71. Schwenger KJ, Allard JP. Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20:1712-1723.
72. Cobo Martin M, Fernandez Gil P, Crespo J. Treatment of fatty liver disease. *Gastroenterol Hepatol* 2008;31:229-38.
73. Shaffer EA. Bariatric surgery: a promising solution for nonalcoholic steatohepatitis in the very obese. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:44-50.
74. Nakahara T, Hyogo H, Kimura Y, Ishitobi T, Arihiro K, Aikata H, Takahashi S, Chayama K. Efficacy of rosuvastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dislipidemi: An open label, pilot study. *Hepatol Res* 2012;42:1065-72.
75. Angulo P, Jason M. Hui, Giulio Marchesini, Elisabetta Bugianesi, Jacob George, Geoffrey C. Farrell, Felicity Enders, Sushma Saksena, Alastair D. Burt, John P. Bida, Keith Lindor, Schuyler O. Sanderson, Marco Lenzi, Leon A. Adams, James Kench, Terry M. Therneau, and Christopher P. Day.

The NAFLD Fibrosis Score: A Noninvasive System That Identifies Liver Fibrosis in Patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45:846-854.

76. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease Stuart. *Gut* 2010;59:1265-1269.

77. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55:2005-2023

78. Wong VW, , Chim AM, Tse AM, Tsang SW, Hui AY, Choi PC, Chan AW, So WY, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. Validation of the NAFLD fibrosis score in a Chinese population with low prevalence of advanced fibrosis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103:1682-1688.

79. Pérez-Gutiérrez OZ, Hernández-Rocha C, Candia-Balboa RA, Arrese MA, Benítez C, Brizuela-Alcántara DC, Méndez-Sánchez N, Uribe M, Chávez-Tapia NC. Validation study of systems for noninvasive diagnosis of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease in Latin population. *Ann Hepatol.* 2013;12:416-24.

80. Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, Younossi ZM. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 234-238

81. Treeprasertsuk S, Björnsson E, Enders F, Suwanwalaikorn S, Lindor KD.. NAFLD fibrosis score: A prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients. *World J Gastroenterol* 2013;19:1219-1229.
82. Calès P, Boursier J, Chaigneau J, Lainé F, Sandrini J, Michalak S, Hubert I, Dib N, Oberti F, Bertrais S, Hunault G, Cavarro-Ménard C, Gallois Y, Deugnier Y, Rousselet MC. Diagnosis of different liver fibrosis characteristics by blood tests in non-alcoholic fatty liver disease. *LiverInt.*2010;30:1346-54.
83. Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, Trocme C, Renversez JC, Faure P, Morel F, Zarski JP. Prospective comparison of six non-invasive score for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007;46:775-782.
84. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* 2006; 43: 1317-25.
85. Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, Fujii H, Eguchi Y, Fujii H, Suzuki Y, Aoki N, Kanemasa K. Validation of FIB-4 index in a Japanese fatty liver disease population *BMC gastroenterology* 2012;5 12;2
86. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. Comparison of non-invasive markers of fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease *Clin Gastroenterology Hepatol*;2009 7;1104-1112
87. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease/non alcoholic steatohepatitis *World J Gastroenterology* 2014;14 475-485

88. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38(2): 518-26.
89. Simple non-invasive biomarkers of advanced fibrosis in the evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. Tapper EB, Krajewski K, Lai M, Challies T, Kane R. *Gastroenterology Rep*:2014 Jul 7
90. APRI: A simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn G, Kotze M. *S Afr Med J* 2011;6;27 477-480
91. APRI can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B. Shin WG, Park SH, Jang MG, Hahn TH, Kim JB, Lee MS, Kim DJ. *Dig Liver Di*:2008 April:40 267-274
92. NIKEL: a new inexpensive and non-invasive scoring system to exclude advanced fibrosis in patients with NAFLD. Demir M, Lang S, Schlattjan M, Wedemeyer I, Nierhoff D, Kaul I, Sowa J, Canbay A. *Plos One* 2013;8 3
93. The BARD score and the NAFLD fibrosis score in the assessment of advanced liver fibrosis in NAFLD disease. Cichoz-Lach H, Celinski K, Prozorow Krol B, Swatek J, Slomka M, Lach t. *Med Sci Monit* 2012;18 35-40
94. Suboptimal performance of simple non-invasive tests for advanced fibrosis in Chinese patients with NAFLD. Xun YH, Fan JG, Zang Gq, Liu H, Jiang XM, Xiang J, Huang Q. *J diq Dis* 2012;13 588-595

95. Alkhouri N, MD, and Arthur J. McCullough, MD. Noninvasive Diagnosis of NASH and Liver Fibrosis Within the Spectrum of NAFLD. *Gastroenterology & Hepatology* 2012; 8:10.
96. Metz CE, Herman BA, Roe CA, Statistical comparison of two ROC-curve estimates obtained from partially-paired datasets. *Med Decis Making* 1998;18:110-121
97. Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology* 2014; doi: 10.1002/hep.27368
98. Becker L, Salameh W, Sferuzza A, Zhang K, Chen R, Malik R, et al Validation of HepaScore, compared with simple indices of fibrosis, in patients with chronic hepatitis C virus infection in United States *Clin Gastroenterology Hepatol* 2009;7:696-701
99. Halfon P, Munteanu M, Poynard T, Fibro-test Acti test as a non-invasive marker of liver fibrosis. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;321:22-39
100. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al Noninvasive markers of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver fibrosis panel and exploring simple markers *Hepatology* 2008;47:455-460
101. Qureshi K, Clements RH, Abrams GA. The utility of the "NAFLD fibrosis score" in morbidly obese subjects with NAFLD. *Obes Surg* 2008;18: 264-270.