



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

**NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA  
FİBROZİSİN NONİNVAZİV YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Dr. UMUT EMRE AYKUT  
UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL, 2014**



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

**NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA  
FİBROZİSİN NONİNVAZİV YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Dr. UMUT EMRE AYKUT  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. YUSUF YILMAZ**

**İSTANBUL, 2014**

## ÖNSÖZ

Öncelikle her zaman yanımda olan gençliğinin verdiği dinamizmine tecrübelerini katan; bu genç yaşında sayısız çalışma ve makale yayınlayarak şimdiki ve gelecek nesillere örnek bir bilim insanı nasıl olunacağını gösteren, maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Yusuf Yılmaz'a; aynı zamanda 4 yıllık asistanlık hayatımda kendisinden çok şey öğrendiğim Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Çetin Özener'e; ayrıca desteklerini her zaman hissettiğimiz Gastroenteroloji Bilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Osman Özdoğan'a; bitmek bilmeyen enerjisiyle her zaman bize yol gösteren, anamnez ve fizik muayenenin ne kadar önemli olduğunu bir kez daha hatırlamamızı sağlayan Prof. Dr. Neşe İmeryüz'e; asistanlık döneminde ve gastroenteroloji stajlarında bize yardımcı olan uzmanlarımız Dr. Ercan Bıçakçı'ya ve Dr. Yücel Aydın'a; bu çalışmada zor zamanlarımızda yanımda olan Yard. Doç. Dr. Fatih Eren ve ekibine; çalışmanın veri ve hasta toplama kısmında büyük emeği olan Dr. Nurcan Parker ve ekibine; çalışmadaki emeklerinden dolayı Dr. Fatma Gerin'e ve Prof. Dr. Çiğdem Ataizi Çelikel'e; asistanlığımın ilk gününden beri beni yalnız bırakmayan, sabah toplantıları olsun nöbetlerde olsun her zaman beni destekleyen ve üzüntüleriyle sevinçleriyle çok güzel bir 4 yıl geçirmemi sağlayan kıdemli, eş kıdemli ve çömez asistan arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkürü borç bilirim.

Bu yoğun asistanlık hayatı boyunca beni bir an olsun yalnız bırakmayan ve beni bugünlere getiren; doğruluktan, dürüstlükten ve çalışmaktan ödün vermemeyi öğreten sevgili babama ve rahmetli anneme; bir kardeşden daha ötesi olan desteğini her zaman hissettiğim sevgili kız kardeşim Ebru Aykut'a teşekkürü borç bilirim.

## ÖZET

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı(NAFLD) olan bireylerde önemli orandaki fibrozisin tanısında noninvaziv yöntemlerin doğruluğu klinik pratikte halen sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı yağlı karaciğerli hastalarda karaciğer fibrozisinin saptanmasında 3 farklı noninvaziv metodun [FibroMeter™ NAFLD skor, NAFLD Fibrosis skor (NFSA), ve Transient Elastografi (TE)] tanısal performanslarını karşılaştırmaktır. Çalışmaya biyopsi ile kanıtlanmış 88 NAFLD hastası dâhil edilmiştir. Karaciğer biyopsilerinde fibrozis dereceleri Kleiner sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir. FibroMeter™ NAFLD skor tescilli bir algoritim (regresyon skoru) kullanılarak hesaplanmıştır. NFSA ise; yaş, hiperglisemi, vücut kitle indeksi, trombosit, albümin ve serum aminotransferaz seviyeleri kullanılarak hesaplanmıştır. TE, Fibroscan aleti kullanılarak yapılmıştır. FibroMeter™ NAFLD skor, NFSA ve TE için önemli oranda fibrozis ( $\geq F2$ ) için hesaplanan duyarlılık/özellik oranları sırasıyla; %38,6 /%86,4, %52,3/%88,6 ve %75,0/%93,2 olarak bulunmuştur. TE'nin ROC eğrisi(receiver operating characteristic) altında kalan alanı(AUROC), FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA'ya göre belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur. Önemli oranda ve ileri evre fibrozisi saptamada FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA arasında anlamlı bir fark saptanmazken, FibroMeter™ NAFLD skor sirozlu hastaları saptamada NFSA'ya göre daha başarılı bulunmuştur. Özetle; TE, NAFLD hastalarında karaciğer fibrozisini göstermede diğer noninvaziv yöntemler içinde en başarılı olanıdır. Önemli oranda fibrozisi ve ileri evre fibrozisi göstermede FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

**Anahtar sözcükler:** Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, fibrozis, tanı, biomarkır, steatohepatit

## ABSTRACT

The accuracy of noninvasive methods for the diagnosis of significant fibrosis in subjects with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in clinical practice is still limited. The aim of this study is to compare the diagnostic performances of three different noninvasive methods (FibroMeter™ NAFLD score, NAFLD Fibrosis score (NFS), and Transient Elastography [TE]) for the detection of liver fibrosis in NAFLD patients. A total of 88 patients with biopsy-proven NAFLD were included. The Kleiner system was used for grading fibrosis in liver biopsies. The FibroMeter™ NAFLD score was determined using a proprietary algorithm (regression score). The NFS score was calculated based on age, hyperglycemia, body mass index, platelets, albumin, and serum aminotransferase levels. TE was performed using the Fibroscan device. The sensitivities/specificities for the FibroMeter™ NAFLD score, NFS, and TE for the diagnosis of significant fibrosis ( $\geq$ F2 fibrosis) were 38.6%/86.4%, 52.3%/88.6%, and 75.0%/93.2%, respectively. The areas under the receiver operating characteristic curves of TE were significantly higher than those of both the FibroMeter™ NAFLD score and NFS. No significant differences were found between the FibroMeter™ NAFLD score and NFS for the detection of significant and advanced fibrosis, although the diagnostic performance of the FibroMeter™ NAFLD score was higher than that of the NFS score for cirrhosis. In summary, TE showed the best diagnostic performance for the non-invasive assessment of liver fibrosis in NAFLD patients. The diagnostic performances of the FibroMeter™ NAFLD score and NFS did not differ significantly for the detection of both significant and severe fibrosis.

**Keywords:** Non-alcoholic fatty liver disease, fibrosis, diagnosis, biomarker, steatohepatitis

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	i
ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. NAFLD'ın Epidemiyolojisi .....	6
2.2. NAFLD'ın Doğal Seyri.....	7
2.3. NAFLD'ın Etyolojisi .....	9
2.4. NAFLD'ın Patogenezi .....	11
2.5. NAFLD Kliniği ve Tanısının Koyulması .....	14
2.6. NAFLD Tanısını Koymada Karaciğer Biyopsisinin Rolü .....	15
2.7. NAFLD'ın Tedavisi.....	20
2.8. NAFLD Tanısında Noninvaziv Yöntemler .....	22
2.9. NAFLD Fibrozis Skor (NFSA) .....	23
2.10.FibroMeter™ NAFLD skor .....	26
2.11.Fibroscan® .....	27
3. ARAÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Etik Kurul ve BAPKO .....	31
3.2. Çalışma Popülasyonu.....	31
3.2.1. Dahil edilme kriterleri .....	31
3.2.2. Dışlanma kriterleri.....	31
3.3. Klinik ve Biyokimyasal Özellikler.....	32
3.4. Karaciğer Histolojisi .....	32
3.5. Transient Elastografi(Fibroscan).....	33

3.6. Biyokimyasal Analiz .....	34
3.7. İstatiksel Analiz .....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. ROC Analizi .....	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	41
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları ve Yorum.....	43
6. KAYNAKLAR .....	44

## 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
ATP III	:Adult Treatment Panel III
AUROC	:Area under receiver operating characteristic curve
BT	:Bilgisayarlı Tomografi
CAP	:Controlled attenuation parameter
DM	:Diyabetes mellitus
ELISA	:Enzyme-linked immunosorbent assay
ER	:Endosplasmik retikulum
HRP	: Horseradish Peroxidase
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
TLR	:Toll like reseptör
TNF	:Tümör nekrozis faktör
USG	:Ultrasonografi
VKİ	:Vücut kitle indeksi
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı(NAFLD), hastaların alkol kullanmadığı ya da çok düşük miktarlarda alkol alımının olduğu( < 30 g/gün erkeklerde, <20g/gün kadınlarda) durumlarda; basit yağlanmadan, non-alkolik steatohepatit (NASH)'e uzanabilen yelpazede; beraberinde fibrozisin eşlik etmesi sonucunda siroza ve karaciğer yetersizliğine neden olabilen bir hastalıktır(6).

NAFLD günümüzde dünyada en sık görülen kronik karaciğer hastalığıdır(1). Sıklığının artmaya devam etmesi, siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatosellüler karsinom(HCC) gibi komplikasyonları nedeniyle 2020 yılında karaciğer transplantasyonunun en sık nedeni olması beklenmektedir. NAFLD'da(özellikle daha ciddi formu olan NASH'de) belirgin artmış kardiyovasküler mortalite riski vardır(2,3). Yağlı karaciğer hastalığının klinik önemi giderek daha iyi anlaşılmıştır. Özellikle son iki dekada çok sayıda bilim adamı bu hastalığın alt tiplerinin ayırt edilmesi üzerine odaklanmıştır. Çünkü, basit yağlanmadan farklı olarak NASH hastalığının progresif formudur. Günümüzde basit yağlanma ve NASH'in NAFLD spektrumunun iki histolojik alt tipi olduğu kabul edilmesine rağmen bu iki durum sadece klinik sonuçları bakımından değil histolojik ve patofizyolojik açıdan da muhtemelen tamamen farklıdır(4). Fibrozisin basit yağlanmaya eşlik etmesi beklenmez. NASH'e ise fibrozis eşlik edip siroza kadar progrese olabilir. NASH'li hastaların %20'sinde ileri evre fibrozis saptanmaktadır ve bu da hastalığının prognozu ile birebir ilişkilidir(7). Bu nedenle noninvaziv tanı çalışmalarında bu hususların da dikkate alınarak yapılması önerilmektedir(4).

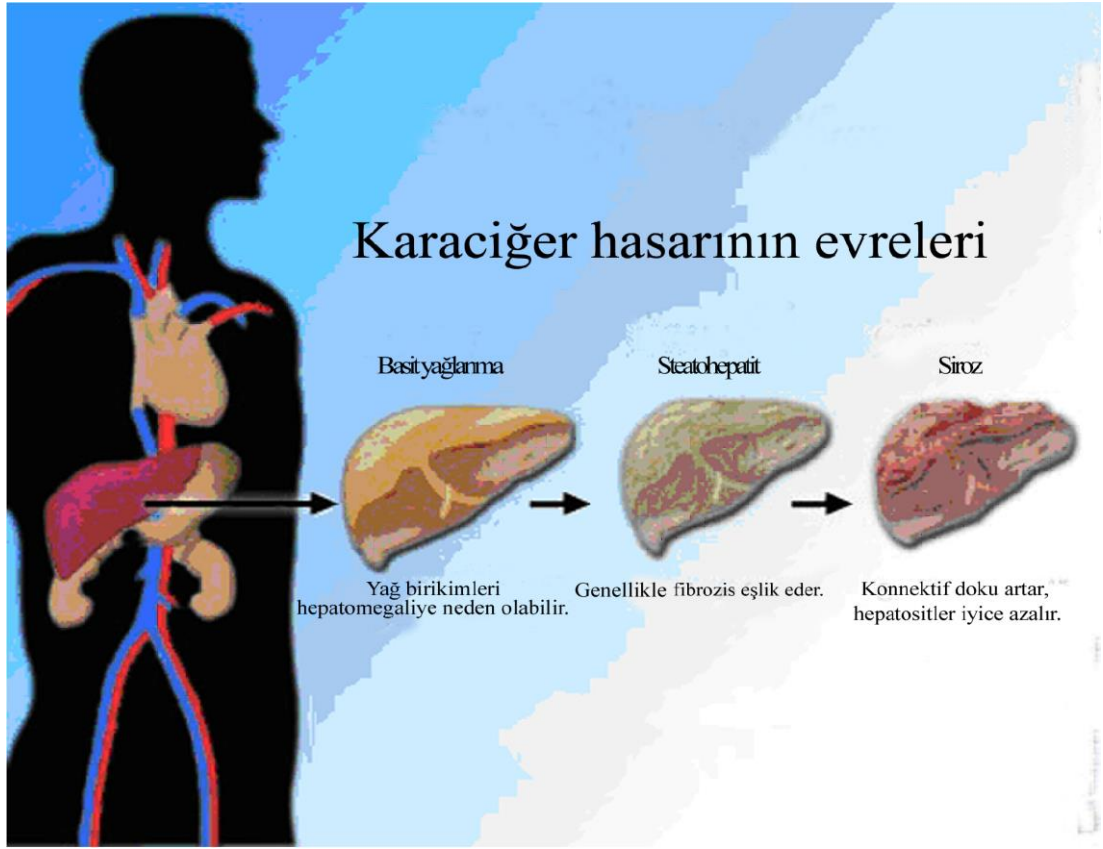
Karaciğer biyopsisi NAFLD'lı hastalarda basit yağlanmayı NASH'den ayırmada altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak ciddi klinik komplikasyonları olabilen, hastalar tarafından kolay kabullenilmeyen invaziv bir işlemdir. Takip için oldukça kullanışsızdır ve risk altındaki hastalarda (obezite, tip 2DM, hiperlipidemi gibi) yapılacak bir geniş tarama için ise tamamiyle uygunsuzdur. Obezitenin ve diyabetin artık salgın boyutlarına ulaşmasından dolayı bu son nokta çok önemlidir ve olması gereken; pahalı,

invaziv ve özelleşmiş yöntemler yerine ucuz, basit ve kolay ulaşılabilir tarama testlerinin bulunmasıdır. Ayrıca patolojik incelemede yetersiz materyal, örneklem hataları, değerlendirici hataları sorun olabilmektedir. Bu nedenle invaziv olmayan bir yöntem ihtiyacı vardır. Ayrıca NAFLD için ideal tek bir marker bulunmamasıyla beraber farklı patofizyolojik mekanizmaya ait modellerin(panellerin) veya skorlama sistemlerinin kullanılması tanısal doğruluğu artırabilir(5).

Bizim bu çalışmadaki amacımız NAFLD tanısı biyopsi ile konmuş bireylerde 3 ayrı noninvaziv yöntemin (FibroMeter™ NAFLD skor, NFSA ve Transient elastografi) özellikle önemli orandaki fibrozisi saptamadaki( $\geq F2$ ) tanısal performanslarını belirlemek ve birbirleriyle karşılaştırmaktır. FibroMeter™ NAFLD skor çeşitli serum biyomarkırları kullanılarak elde edilebilen formülü gizli patentli bir skorlama sistemidir. NFSA, hastanın çeşitli klinik ve laboratuvar bilgilerinin bir formülde kullanılmasıyla sonucun elde edilebildiği herkese açık bir skorlama sistemidir. Transient elastografi (Fibroscan) ise, karaciğer sertliğinin (liver stiffness) bir çeşit elastik dalga yardımıyla ölçerek fibrozisi tahmin eden ultrasonik bir tıbbi cihazdır(6-8). Şu ana kadar Türk toplumunda FibroMeter™ NAFLD skor, NFSA ve TE 'in birlikte kullanıldığı bir çalışma yapılmamıştır. NAFLD düşünülen birçok hastada poliklinik ve klinik şartlarında invaziv bir işleme gerek kalmadan, sadece kan alınarak ve/veya Fibroscan yapılarak fibrozisin güvenilir bir doğrulukla saptanması gerçekten karaciğer biyopsisi yapılması gereken hastaları belirlememize yardımcı olabilir, birçok biyopsinin gereksiz yere yapılmasını önleyebilir. Bu noninvaziv yöntemlerin kombine kullanılması tek başına kullanımlarına göre belki doğruluklarını artırabilir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı(NAFLD) terimi basit yağlanmadan steatohepatite kadar uzanan geniş bir spektrumu kapsayan durumlar için kullanılan genel bir isimdir(8). (Şekil 1)



**Şekil 1.** NAFLD'in klinik spektrumu

Tarihsel olarak, 1980 yılında Mayo Klinik'den Ludwig ve ark.'ı, alkol kullanmayan obez, diyabetik kadınlarda alkolik hepatit benzeri histolojik özellikler gösteren karaciğer hasarı tanımladılar. Bunu nonalkolik steatohepatit(NASH) olarak tarif ettiler(7). Bu gruptan 20 hastanın karaciğer biyopsisinde, orta dereceden ciddi dereceye kadar lobüler inflamasyonla birlikte olan makroveziküler steatoz gördüler. Hastaların %70'inde fibrozis,

%15'inde siroz mevcuttu. Sonuç olarak NASH'in NAFLD'in siroza kadar ilerleyebilen bir alt tipi olduğu anlaşıldı(7-9).

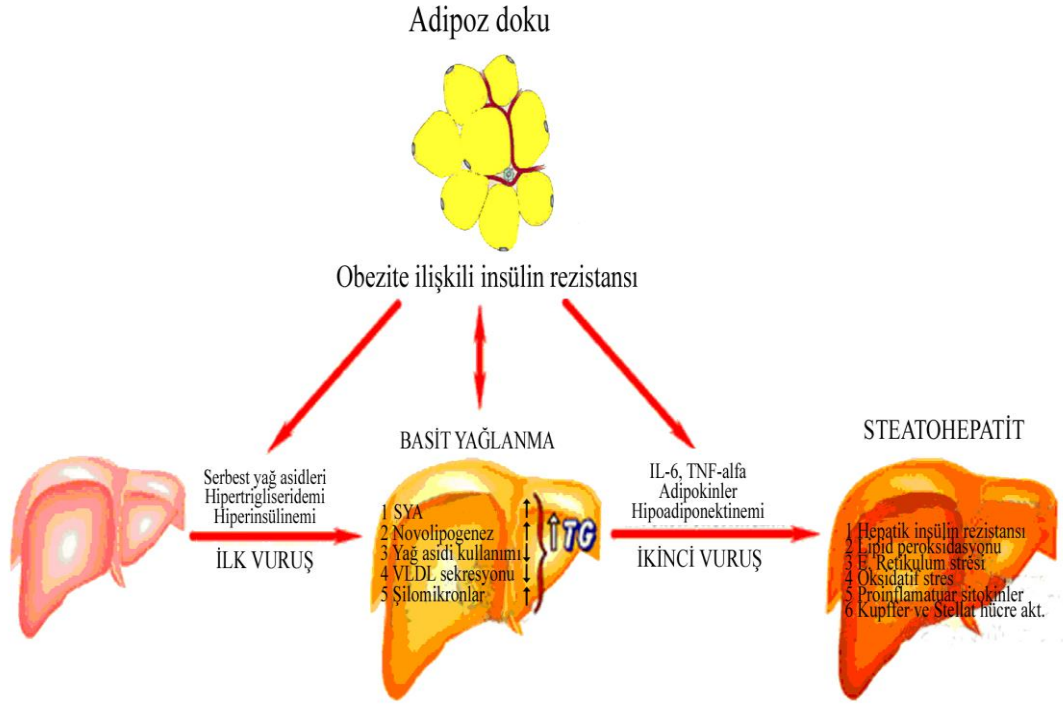
NAFLD, Amerika Birleşik Devletleri(ABD)'nde kronik karaciğer hastalığının en sık nedenidir(10). Toplumda NAFLD prevalansı ortalama olarak %20-30 iken, NASH'in ki %3,5-5 civarındadır(11). NAFLD her cinste, her ırkta ve çocuklar da dâhil olmak üzere her yaş grubunda görülebilmektedir(12). Dünya sağlık örgütü(WHO)'nün tahminlerine göre, önümüzdeki dekadlarda 20 milyondan fazla kişide NAFLD nedeniyle siroz gelişmesi beklenmekte ve 2020 yılında NAFLD'in karaciğer transplantasyonunun en sık nedeni olması beklenmektedir(2,13). Bu kadar yaygın bir halk sağlığı sorunu olmasından dolayı devletlerin, hükümetlerin ve sağlık kuruluşlarının, karaciğerin bu basit gibi görünen fakat sonuçları felaket olabilecek bu hastalık için önlem alması ve farkındalığı artırması gerektiği aşîkardır.

NAFLD için ana hedefimiz steatohepatiti geriletmek ve fibrozis gelişimini önlemektir. NAFLD için günümüzde standart bir tedavi seçeneği yoktur ancak tedavi obezite, insülin resistansı(IR) gibi olası risk faktörlerini hedeflemektedir. Günümüzde NAFLD ilişkili risk faktörleri için yaşam değişiklikleri, medikal tedavi, alternatif tedaviler ve cerrahi uygulanmaktadır (14). NAFLD basit yağlanmadan, NASH'e, siroza, karaciğer yetmezliğine ve karaciğer kanserine kadar gidebilen geniş bir yelpazedeki hastalıktır. NAFLD'in kabaca iki alt tipi vardır: Basit yağlanma ve NASH. Basit yağlanmadan farklı olarak NASH'in hastalığın progresif formu olduğu kabul edilir. NAFLD'lı hastalarda prognostik önemi olan steatohepatiti veya fibrozisi göstermede şu anda altın standart yöntem karaciğer biyopsisidir(15). Bilindiği gibi karaciğer biyopsisinin örneklem hatası, işlemle ilişkili morbidite ve mortalite gibi çeşitli kısıtlılıkları vardır. Serum alaninaminotransferaz(ALT) seviyeleri gibi rutin laboratuvar testleri; ultrasonografi(USG), bilgisayarlı tomografi(BT) ve manyetik rezonans(MR) gibi görüntüleme yöntemleri NAFLD'lı hastalarda steatohepatit ve fibrozisi ortaya koymada istenilen başarıyı gösterememektedir. Bu nedenle NAFLD'lı hastalar içinde

steatohepatit olanların ayırımında klinik kurallar çerçevesinde geliştirilen yeni noninvaziv biyobelirteçlere ihtiyaç vardır(15). NAFLD, karaciğerdeki yağın, karaciğer ağırlığının %5-10'undan fazla olması olarak tanımlanmaktadır(16). NAFLD 'da görülen steatoz genellikle makroveziküler steatozdu(büyük damlacık steatozu) ki bu hepatosit hücresinde büyük vakuoller yağ damlacıkları nedeniyle nükleusu perifere iter. Genellikle makroveziküler steatozda büyük ve küçük yağ damlacıkları birleşme eğilimi gösterirler(18-19). Mikroveziküler steatozda, çok sayıda yağ damlacığı hepatosit sitoplazmasını doldurur, nükleusu perifere itmez(17). Makroveziküler steatoz; tek başına genellikle uzun dönemde iyi prognoz gösterir ve nadiren fibrozis ve de siroza ilerler. Öte yandan, yaygın mikroveziküler yağlanma sık ensefalopati ve karaciğer yetmezliği ile karakterize ayrı bir klinik varlık gösterir. (Örneğin gebeliğin akut yağlı karaciğeri yada Reye Sendromunda olduğu gibi çoğu karaciğer nakline kadar gider.) Öte yandan NAFLD 'da bu süreç kronik karaciğer hastalığı ya da siroza kadar çoğu zaman ilerlemez(18-19). NASH'de basit yağlanmadan farklı olarak; intralobüler inflamasyon ve hepatosellüler balonlaşma mevcuttur ve çoğu zaman fibrozisde eşlik eder(22). NASH histolojisinde Mallory's hyaleni(MH) de görülebilmektedir. NASH'de intralobüler inflamasyon tipik olarak az sayıda nötrofil, lenfosit, makrofaj içeren karışık hücre gruplarını içermektedir. Nötrofiller genellikle MH çevresini ve steatoz alanını infiltre etmeye meyillidirler. Portal inflamasyon genelde orta şiddettedir buna rağmen, bazen yoğun kronik inflamasyon portal alanlarda görülebilir. 2004 yılında Gramlich ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada NASH'in önemli bir özelliği olan hepatosit hasarının balon dejenerasyonu, MH ve perivenüler ve de perisinüzoidal fibrozisle ilişkili olduğu teyit edilmiştir(20-21). Karaciğer biyopsisi fibrozisi göstermede altın standart olmasına karşın, alınan materyalin kısıtlı bir alanı gösterdiği (tüm karaciğer alanının 1/50000'i) ve bu nedenle tüm parankim hasarını yansıtmadığı bilinmektedir(23).

NAFLD; obezite, tip 2 Diyabetes mellitus(DM), hipertansiyon, dislipidemi ile ilişkilendirilmiştir. Tüm bu anormalliklerin kardiovasküler hastalık riski vardır ve herbiri metabolik sendromun bir komponentidir.

NAFLD, metabolik sendromun karaciğer komponenti olarak kabul edilir(24). IR, NAFLD şiddeti için bağımsız bir risk faktörüdür(25). Aynı zamanda başlatıcı faktör olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.)(29).



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

## 2.1. NAFLD'ın Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik çalışmalarda NAFLD'ın prevalansında farklılıklar saptanmıştır(6). Büyük serilerde prevalans sırasıyla, Avrupa'da ve Orta doğu'da %20-30, Uzak doğu'da %15 ve ABD'de %10-35 olarak bildirilmiştir(27-29). NAFLD'ın bu kadar sık görülmesi ve sıklığının her geçen

gün giderek artması acil önlem alınması gerekliliğini düşündürmektedir(6). Hastalığın tanımlanmasıyla birlikte daha önce kriptojenik siroz tanısı alan hastaların yaklaşık %40'nın aslında NAFLD olduğu anlaşılmıştır(30). NAFLD prevalansı obezlerde %75 civarındadır ve bu oran morbid obezlerde %90'a kadar yükselebilmektedir(31). McCullough ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada; Avustralya ve ABD'de aşırı kiloluların oranı sırasıyla %60 ve %45 saptanmıştır ve bunların en az üçte biri obezdir. Yine aynı çalışmada tip 2 DM prevalansı %8 saptanmıştır. Tip 2 DM ya da obez olanlarda ortalama olarak %75 NAFLD görülmüştür ve obez olanlara yapılan biyopsi ve otopsiler sonucunda %20'sinde NASH saptanmıştır(33). Gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda artan batı tipi beslenme, sedanter yaşam sonucu ortaya çıkan obezite, IR, metabolik sendrom nedeniyle çocuklarda ve adölesanlarda NAFLD/NASH insidansı giderek artmaktadır(32). ABD'de ortalama olarak genel pediyatrik popülasyonun %9,6'sında ve obez pediyatrik popülasyonun da %38'inde NAFLD görülmektedir(37). NAFLD erkeklerde daha çok görülmekle birlikte sıklığı yaşla birlikte ve menopoz sonrasında artmaktadır. NAFLD'in derecesinin artmasıyla ileri yaş, yüksek vucüt kitle indeksi(VKİ), DM, hipertansiyon, yüksek trigliserid ve/veya IR'sı ile ilişki saptanmıştır(34). Bariyatrik operasyon yapılan hastaların yaklaşık %84-96'sında NAFLD, %25-55'inde NASH, %34-47'sinde fibrozis, %2-12'sinde köprüleşme gösteren fibrozis ya da siroz saptanmıştır(34).

## **2.2. NAFLD'in Doğal Seyri**

NAFLD; basit yağlanma, steatohepatit, siroz ve komplikasyonlarını içeren geniş bir yelpazedeki hastalıktır. Literatüre bakıldığında NASH/NAFLD için birçok klinik çalışma olduğu görülür ve bu çalışmalarda ki ortak nokta, bu hastalıkta genel popülasyona göre mortalite ve morbitide oranının artmış olduğudur. Ekstedt ve ark.'nın yaptığı çalışmada ABD ve İsveç'te NAFLD hastalarının mortalite oranı genel popülasyona göre daha yüksek bulundu. Bu hastalar ortalama 7,6 yıl takip edilmişler ve %13'ünün malignite, koroner



kalp hastalığı (KKH) ve son dönem karaciğer hastalığına bağlı öldüğü saptandı. Bu hastalardan ileri karaciğer fibrozisi olanların, olmayanlara göre daha çok karaciğer komplikasyonu geçirme eğiliminde olduğu anlaşıldı(35). 2005 yılında Adams ve ark.'nın Minnesota'da yaptığı bir kohort çalışmasında NAFLD hastalarının genel popülasyondaki aynı yaş ve cinsteki kişilere göre daha az sağkalıma sahip olduğu ortaya kondu. NAFLD genel popülasyondaki tüm ölüm nedenleri içinde 13. sırada bulunurken, karaciğer hastalıklarına bağlı ölüm nedenleri içinde 3. sırada yer almaktadır(36). Bu çalışmada 7 yıl süreyle izlenen 420 NAFLD (herhangi bir şiddeteki hastalığı olanlar) hastasında karaciğer ilişkili ölüm oranı %1,7 bulunmuştur; 1 hastaya karaciğer nakli gerekirken, 2 hastada HCC gelişmiştir. Çalışmada daha yüksek mortalite riskiyle ilişkili olarak ileri yaş, bozulmuş glukoz toleransı ve siroz bulunmuştur(36). NAFLD, obezite ile sıkı birliktelik gösterir ve genelde metabolik sendromun karaciğer komponenti olarak kabul edilir. Tip 2 diyabetliler içinde NAFLD prevalansı %65-70 oranında görülür ki bu oran diyabetli olmayanlara göre en az 2 kat fazladır(38). Ayrıca, NAFLD diyabetik popülasyonda kardiovasküler olayların gelecekteki riskini belirlemede bağımsız bir belirleyici olabilir(39). Bazı araştırmacılar NAFLD ile vasküler endotelial disfonksiyon arasında obezite, hipertansiyon ve diğer kardiovasküler hastalık risk faktörlerine bağlı olmaksızın bir ilişki rapor ettiler (40). Yedi kesitsel çalışmanın meta analizi(toplamda 3497 hasta incelenmiş) NAFLD ile karotid arter intima-media kalınlığı/karotid aterosklerotik plak prevalansı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir(41). İlginçtir ki bu çalışmalarda; kardiyometabolik risk faktörlerinden bağımsız olarak, karotis arter intima-media kalınlığı ile NAFLD'ın histolojik olarak şiddeti arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur(41). Brunt ve Ark.'nın yaptığı bir çalışmada NASH hastalarında karaciğer kaynaklı mortalite ve morbitide oranı genel popülasyona göre yüksekken, yine kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite ve morbitide oranının genel popülasyona göre daha fazla olduğu gösterilmiştir.(42) (Tablo 1).

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

	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 için şu ana kadar en bilinen risk faktörleri obezite, tip 2 DM ve hiperlipidemidir(7). Öte yandan hastalıkla ilişkili hem klinik olarak hem de yaşam stiline bağlı olan risk faktörleri de vardır.(tablo 2.)(43)

**Tablo 2.** NAFLD ile ilişkili klinik ve yaşam şekli risk faktörleri.

Klinik Risk Faktörleri	Yaşam Tarzı Risk Faktörleri
Obezite	Batı tipi beslenme
İnsülin resistansı	Fiziksel inaktivite
Tip 2 DM	Batı ülkelerinde yaşamak
Metabolik sendrom	İrk
Kardiyovasküler hastalık	Yaş
Uyku apne sendromu	Cins
Açlık/Malnütrisyon	Aile anamnezi (obezite, DM)
Safra kesesi hastalığı	
Pankreato-duodenal rezeksiyon	
Polikistik over sendromu	

İrksal farklılığa bağlı olarak NAFLD prevalansında ki değişiklik tam olarak anlaşılammış olsa da bu farklılıklarda genetik ve metabolik faktörlerin rol aldığı düşünülmektedir(44). Özellikle, hispaniklerde beyazlara oranla daha fazla yağ dokusu ve IR olması nedeniyle prevalansında artış görülmektedir(45). Siyahlarda, beyaz ve hispaniklere göre daha fazla yağ

dokusu ve diyabet oranı görülmesine karşın, trigliserid seviyelerinin düşük olması nedeniyle daha az NASH prevalansı vardır(46). Yaşam tarzı risk faktörleri arasında yer alan yüksek karbonhidrat ve fruktoz tüketimi, steatohepatit ile ilişkili bulunmuştur(47). Yapılan bazı ailesel çalışmalarda kalıtımın NASH ile güçlü bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir(48). Makkonen ve ark.'nın yaptığı çalışmada alkol tüketimi, düzenli ilaç kullanımı ve kronik karaciğer hastalığı olmayan monozigot ve dizigot ikiz bireyler (n=313) değerlendirilmiştir. Çalışmada serum ALT ve açlık insülin düzeyleri ile karaciğer yağlanması arasındaki ilişki araştırılmış. Hem monozigot hem de dizigotik ikizlerde serum ALT ve açlık insülin düzeyleri yüksekliği ile karaciğer yağ içeriğinin güçlü bir birliktelik saptanmıştır(49).

NAFLD'nin doğası gereği kişiler aynı risk faktörlerine sahip olsalar bile, bu kişilerde değişik oranlarda NASH'e ilerleme söz konusudur. Bu ilerlemede; tek nükleotid polimorfizmlerin(SNP) rol alabildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir(52). 2008 yılında yapılan 2 bağımsız genom çalışmasında, PNPLA3 (I148M) genindeki rs738409 polimorfizminin ALT seviyeleri ve karaciğer yağ içeriğiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir(50). Dikkate değer şekilde, PNPLA3(I148M) ile karaciğer yağ seviyesi arasında lipoprotein seviyeleri, diyabet ve vücut kompozisyonundaki büyük farklara rağmen bunlardan bağımsız olarak ilişki vardır(50). Ayrıca I148M aleli Hispaniklerde, Avrupalı ve siyahlara oranla daha fazla oranda saptanmıştır. Bu da, ırklar arasında ortaya çıkan NAFLD prevalans farkını açıklamaya yardımcı olabilir(51). NAFLD etyolojisinde çevresel ve genetik faktörlerin olduğu kadar bulunduğumuz habitattaki mikroorganizmalarında payı olduğu da düşünülmektedir. Özellikle de periodontal patojenlerin rolü araştırılmıştır. Masato ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, NAFLD/NASH olan grupta kontrol grubuna göre *P.gingivalis* sıklığı daha fazla bulunmuştur. Yine fare modeli çalışmalarda *tipII P.gingivalis*le enfekte olan farelerin NAFLD progresyonunda hızlanma tespit edilmiştir(52).

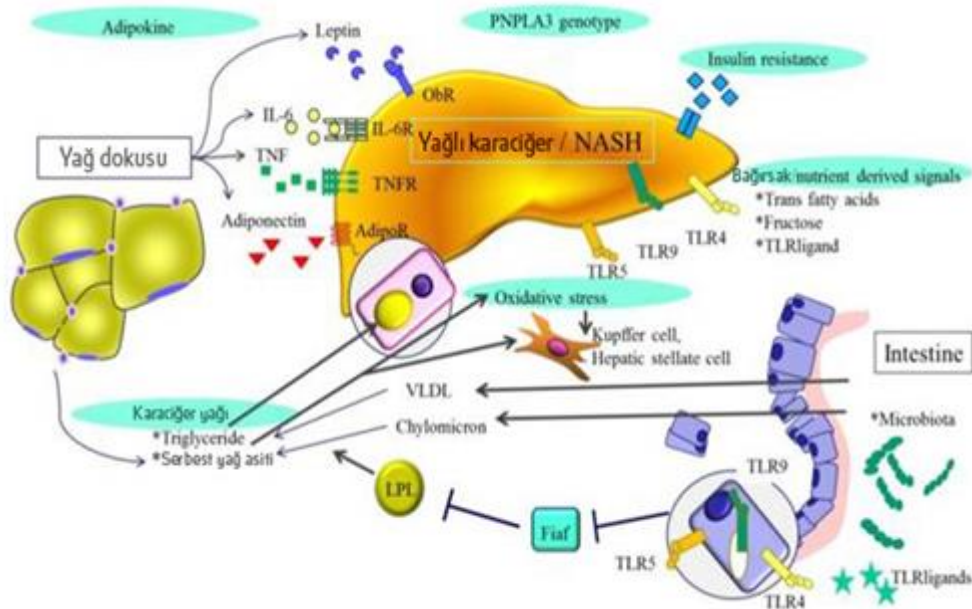
## 2.4. NAFLD'ın Patogenezi

NASH patogenezinde inflamasyon merkezi bir rol almaktadır. Karaciğerdeki kronik inflamasyon histolojik progresyonun anahtarı konumundadır (53). Basit yağlanmadan başlayarak, steatohepatit, fibrozis ve siroza kadar ilerleyen patolojik süreç başlangıçta çift vuruş hipotezi ile açıklanmaya çalışılmıştır(54). İlk vuruş, IR'sı ve hepatositlerdeki lipid birikiminin rol aldığı metabolik süreçlerin kontrolündedir(55). Karaciğer steatozu, karaciğer ve yağ dokusundaki IR'sı hemde sistemik insülin duyarlılığındaki azalma ile ilişkilidir. IR, periferik yağ dokusundaki lipolizi artırarak, karaciğere serbest yağ asitleri (SYA)'nin akışını arttırmaktadır. Son yapılan mekanizma çalışmalarında görülmüştür ki, hiperinsülinemi ve hiperglisemi, karaciğerde SYA oksidasyonunu ve lipid eksportasyonunu inhibe ederken, *de novo* lipogenezi uyarmak süretiyle hepatositlerde ki lipid birikimini arttırmaktadır(56). Teorik olarak, IR'sının peptid mediyatörlerce etkilendiği düşünülmektedir. Adipositokinler olarak da adlandırılan bu maddelerin en bilinenleri tümör nekrosiz faktör -alfa (TNF-alfa), leptin ve adiponektindir. TNF-alfa, adipoz dokudan karaciğere SYA'nin salınımını stimüle ederek steatoz oluşumunu artırır. TNF-alfa hepatik stellat hücrelerinde aktivasyon yaparak ve fibrozisi uyatarak, hepatositlerde apoptozise gidişi arttırabilir(57). Leptin, muhtemelen trombosit ilişkili büyüme faktörü ve hepatosit stellat hücrelerinin proliferasyonunu uyatarak fibrozise gidişte rol alır(58). Adiponektinin NAFLD'a karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir. Son yapılan çalışmalar göstermektedir ki; NAFLD olan hasta gruplarında, kontrol gruplarına göre adiponektin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiş ve bu hasta grubunda IR'sı ile adiponektin arasında ters orantı olduğu saptanmıştır(59). Bu gözlemler sayesinde NAFLD'ın tedavisinde gelecekte yeni yöntemler geliştirilip, uygulanabilir bir tedavi ortaya çıkarılabilir.

İkinci vuruş, lipid birikiminin hepatositler içinde toksik düzeye ulaşmasıyla başlar. Oluşan bu süreçle birlikte hepatosit içinde inflamasyon ve oksidatif stresi oluşumunu tetikler. Bu da karaciğerde stres yanıtını ortaya çıkartır. Bunun sonucunda, programlı hücre ölümü, nekroz başlayarak

fibrozis ve NASH gelişimi görülür(56). NASH'te aşırı oksitadif stres'e bağlı olarak mitokondriyal, peroksizmal ve mikrozomal reaktif oksijen türleri (ROS) indüklenir, mitokondriyal ve nükleer DNA'da hasar oluşur ve apoptozis başlar(60). Mitokondriyal anormallikler, ilginç olarak basit yağlanması olanlarda görülmezken NASH olanlarda görülür. Bu mitokondriyal anormallikler, mitokondriyal serbest yağ asidi beta oksidasyonunun artmasına yol açar; serbest radikaller ortaya çıkarak sonunda hepatosit hasarı ve steatohepatit meydana gelir. Sanyal ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, IR'sı olup mitokondriyal anormallikleri olmayan hasta grubunda basit yağlanma görülmesine karşılık hiçbirinde steatohepatite ilerleme gösterilememesi, bu hipotezi desteklemektedir(61). Endoplazmik retikulum(ER) stresi NASH patogenezinde yer alan başka bir yoldur. ER, hücrenin en büyük organeli olup kendi membranından salgılanan proteinlerin translokasyonu, membran proteinlerinin hücre içine sokulması, kendi lümeninde proteinlerin katlanması ve modifikasyonu, fosfolipid biyosentezi ile detoksifikasyon gibi özel işlevlere sahiptir. Hiperinsülinemi, hiperlipidemi gibi durumlarda ER homeostazı bozularak, ER stresi ortaya çıkmaktadır. ER stresi daha sonra IR, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptozla sonuçlanacak sinyal yollarını upregüle etmektedir(62). Yakın gelecekte ER stress mekanizmasının daha iyi anlaşılmasıyla hastalara anti-ER stress tedavilerinin başlanma potansiyeli vardır. NASH patogenezinde ayrıca barsaklar ile karaciğer arasındaki ilişki ilgi çekicidir. Örneğin bakteriyel aşırı çoğalma durumunda bakteriyel translokasyonun artmasıyla portal ve sistemik dolaşımda lipopolisakkarid seviyeleri, endotoksinler, TNF-alfa, IL-6 gibi NASH patogenezinde yer alan maddelerin serum seviyeleri artar. Bu durum sadece NAFLD değil diğer birçok kronik karaciğer hastalığında inflamasyonun patogenezinde yer alır(65). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda kannabinoid sistemin kronik karaciğer hastalıklarında anahtar rollerden birini oynadığı gösterilmiştir. Malat ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada endokannabinoid sistemin pozitif uyarımı sonucunda karaciğerde nekroz, inflamasyon ve fibrogenezin uyarıldığı gösterilmiştir(66).

NAFLD patogenezinde çift vuruş teorisi yaklaşık 15 yıl önce ortaya atıldı ve ilk vuruş hepatik steatoz ikinci vuruşta oksidatif stres, pro-inflamatuar sitokinler ve endotoksinler rol alır(63). Sonradan *patatin-benzeri fosfolipaz 3* (PNPLA3) gen poliformizminin de NASH gelişiminde rolü olabileceği gösterilmiştir. Normalde basit yağlanmanın ilerleyici olmadığı bilinmekle birlikte, PNPLA3 gen aleline sahip bireylerde ilerleyici olabildiği görülmüştür. Böylece NASH gelişiminde gen polimorfizmlerinin de dâhil olduğu 'çoklu vuruş' teorisi ortaya atılmıştır(64) (şekil 3.).



**Şekil 3.** Çoklu vuruş teorisi.

Takip eden genom çalışmaları da *patatin-benzeri fosfolipaz 3* (PNPLA3) gen polimorfizminin NAFLD'da NASH progresyonunda önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir. Steatozu olan *ob/ob* farelerde bazı durumlarda inflamasyon steatozun önüne geçebilir ve TNF-alfa antikoru geliştirebilir. Obezite ve diyabet ayrı ayrı ya da birlikte olarak, IR'nı, adiposit proliferasyonunu ve barsak florasında değişikliği indükler. Yağ dokusundan üretilen adipokinler (IL-6, TNF-alfa gibi) hepatosit yağ içeriğini ve çevresel

karaciğer inflamasyonunu etkiler. Barsak kökenli sinyaller; trans yağ asitleri, fruktoz ve toll-benzeri reseptör (TLR) ligandları tarafından uyarılırlar. Vücuda alınan SYA'lar ve serbest kolesterol ER ve oksidatif stresi indükleyerek, hepatik inflamasyonu uyarırlar ve olayın fibrogenezis ile sonuçlanmasına yol açarlar(64).

Genel olarak, 'çift vuruş' ve 'çoklu vuruş' hipotezlerinde karaciğer hasarının zaman içinde yavaşça geliştiği ve hastalık progresyonunun doğrusal bir şekilde şiddetinin arttığı öngörülmektedir(67-68). Bununla birlikte, doğrusal ilerleme modellerine göre NAFLD spektrumundaki her bir hastalığın aslında tek bir hastalık olduğu ve farklı patolojik yollarla oluştuğu da düşünülmektedir. Bu modele göre, NAFLD patagonezinde ana belirleyici en az iki farklı yolak vardır. Moleküler ve genetik olayların zamanlaması ve kombinasyonu sonrasında; karaciğer hasarlanarak basit yağlanma ve NASH'e ilerleyecek farklı yollar aktive olur. Özellikle genetik faktörler farklı kaskadları başlatarak karaciğer progenitör hücreleri aktive edebilir, bu da NASH gelişimine yol açabilir(69).

## **2.5. NAFLD Kliniği ve Tanısının Koyulması**

NAFLD hastalarının büyük bir kısmı(%50-75) tanı anında asemptomatiktir. Semptom gösteren hastaların çoğunda(%30-40) halsizlik, yorgunluk, sağ üst kadranda ağrısı gibi non-spesifik semptomlar vardır. Sadece %5-10 kadar hasta tanı anında dekompanse karaciğer hastalığı ile başvururlar. Hastaların fizik muayenesinde %55-85 arasında hepatomegali saptanabilir (70). Hastalığı tanısını koymada önemli bir kriterde iyi bir sorgulama ile hastaların kullandığı alkol miktarının belirlenmesidir. Yağlı karaciğerin alkola bağlı olmadığını söyleyebilmek için günlük alkol tüketiminin kadınlarda 20 gr'ın erkeklerde 30 gr'ın altında olması gerekir. Çoğu NAFLD hastasında ilk başvuru sırasında hafif transaminaz yüksekliği saptanır ve bu yükseklik dalgalanmalı seyir gösterir(21). Tanı sırasında karaciğer enzim yüksekliği yapacak diğer etyolojik nedenlerin dışlanması gerekmektedir(70).

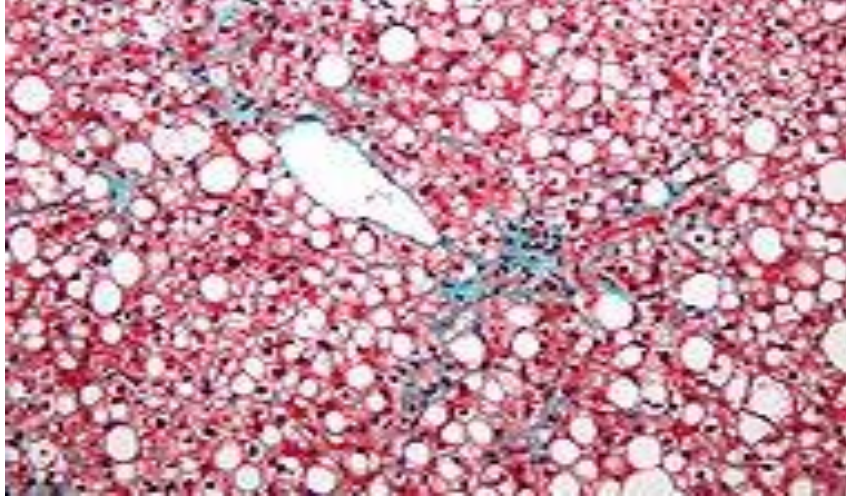
Aminotransferaz seviyelerindeki yükseklik çoğu hastada görülse de, normal olmaları hastalarda steatohepatiti ve fibrozisi dışlamamaktadır. Mofrad ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada normal ALT seviyelerine sahip 51 hasta incelenmiş ve bunların 12'sinde köprüleşme fibrozu, 6'sında siroz görülmüştür(71). NAFLD tanısını koymada klinik ve laboratuvar testleri non-spesifik olduğundan görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır. USG, BT, MR gibi yöntemler karaciğerde steatozu gösterebilir, basit yağlanma ile NASH ayrımını yapamamaktadırlar(73).Örneğin USG; karaciğerde histolojik olarak %33'den daha fazla yağlanma olduğunda tanı için tatmin edici duyarlılık ve özgüllüğe sahip iken, bu histolojik yağ oranı azaldıkça USG'nin duyarlılık ve özgüllüğü çok ciddi oranda düşmektedir(72).

## **2.6. NAFLD Tanısını Koymada Karaciğer Biyopsisinin Rolü**

Klinik, laboratuvar ve radyolojik testlerin sınırlı olması nedeniyle NAFLD tanısını koymada günümüzde altın standart halen karaciğer biyopsisidir(70). Karaciğer biyopsisi basit yağlanma ile NASH ayrımında şuana kadar geçerliliği olan en güvenilir yöntemdir. NASH-basit yağlanma ayrımının yanında hastalığın şiddeti ve prognozu hakkında da bilgi sağlayabilir (74).

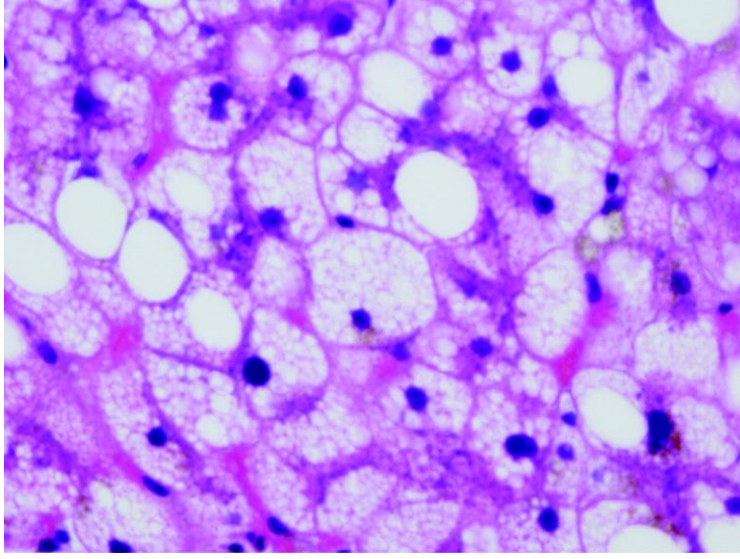
NAFLD'ın ana histolojik bulgusu, trigliserit şeklindeki yağ damlacıklarının hepatosit içinde birikmesidir. NAFLD'ın histolojik tanısı için hepatositlerin içinde %5'den fazla yağlanma bulunması şarttır (75). NAFLD 'da yağlanma makrovezikülerdir, genellikle tek bir büyük yağ damlacığı şeklinde hepatositte toplanır ve nükleusu periferine iter, bazen birden fazla iyi organize olmuş küçük damlacıklar şeklinde de hücrede toplanırlar(76) (Şekil 4.)





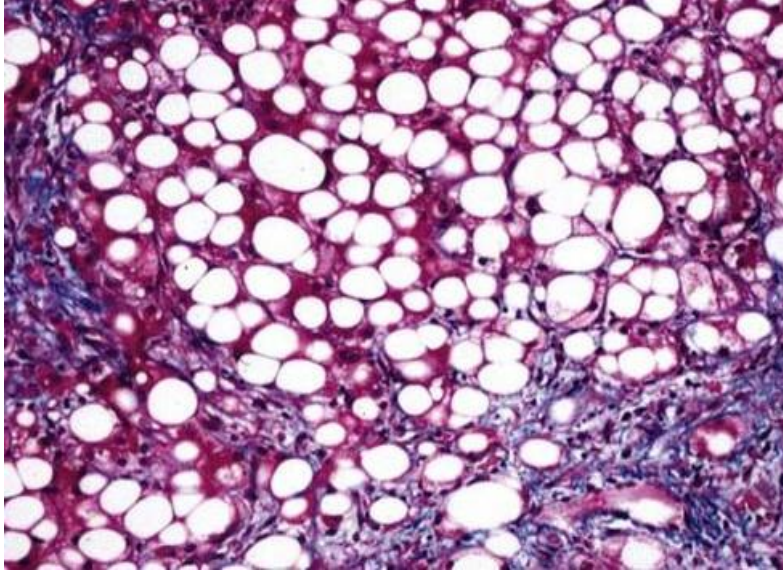
**Şekil 4.**NAFLD'da makroveziküler yağlanma

Steatozun ölçümü değerlendirilirken, yarı-nicel olarak rapor edilir. En çok kullanılan yöntem karaciğer parankiminin asinoslara ayrılarak yağ oranının değerlendirilmesi şeklinde olur; hepatositlerdeki steatoz:%5-33 arasındaysa hafif, %33-66 arasında ise orta, >%66 ise ciddi steatoz denir(77). Pediyatrik NAFLD grubundan farklı olarak steatoz yetişkinlerde asiner zone 3 (perivenular) alanda başlar. Ciddi steatozda tüm asinus işgal edilmiş olabilir. Ama siroz varlığında karaciğerde yağlanma gözlenmeyebilir. Aslında bu durum tek başına steatozun siroza gidişte önemli bir rolü olmadığını düşündürmektedir(41). NASH'de hepatosellüler hasar genellikle balonlaşma ve lobüler inflamasyon şeklindedir ve perivenular alanda lokalizedir. Fibrozis, NASH tanısı için zorunlu değildir, çünkü NASH'e fibrozis eşlik edebilir veya etmeyebilir(78). NASH'de hepatosit balonlaşmanın varlığı daha agresif hastalık ve daha yüksek siroz insidansı ile ilişkilidir. Ayrıca hepatosit balonlaşmasının metabolik sendromun bir özelliği olarak ortaya çıktığı da düşünülmektedir(77) (şekil 5.).



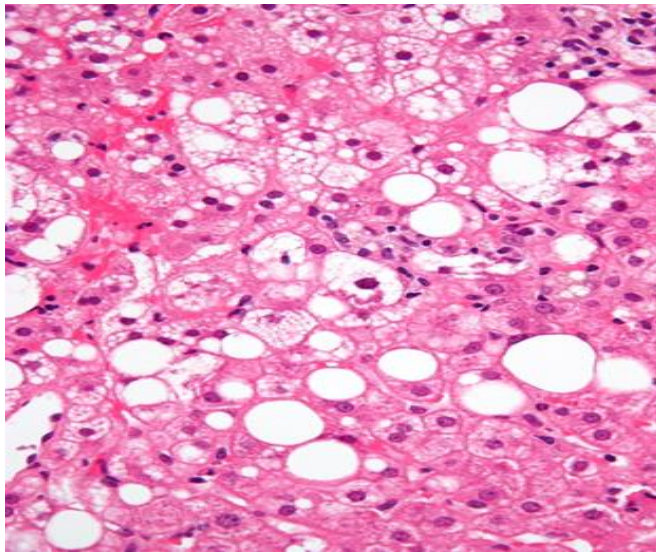
**Şekil 5.** Hepatositlerde balonlaşma

Lobüler inflamasyon; lenfosit, eosinofil ve bir kaç adet nötrofilden oluşan karışık tiptedir ve genellikle hafiftir(80). Portal mononükleer inflamasyon yetişkin NAFLD hastalarında nadir değildir ve genellikle hafif düzeydedir. Eğer asiner lezyonlarla birlikte ciddi oranda portal mononükleer inflamasyon saptanırsa olası diğer kronik karaciğer hastalığı nedenleri ekarte edilmelidir(81). NASH'de fibrozis asinar zon 3'de başlar. Hepatosit çevresinde ve asinus zon 3 etrafında kollejen ve ekstrasellüler matriks fibrillerinin birikmesi nedeniyle karakteristik olan tavuk tel görünümünü alır(82)(şekil 6.). Bazı pediyatrik ve morbid obeziteyle ilişkili NASH hastalarında perisünizoidal/perisellüler fibrozis olmadan portal fibrozisin görüldüğü vakalar bildirilmiştir(82). Bu vakalarda zamanla köprüleşme fibrozisi ve siroz gelişebilmektedir(76).



**Şekil 6.** Perisinüzoidal fibrosiz, tavuk tel görünümü

NASH'de megamitokondria, glikojene nükleuslar, demir birikimi ve Mallory-Denk Cisimciği(MDB) gibi histolojik tanı için patognomik olmayan lezyonlar görülebilir. Bu lezyonlar NASH dışında da birçok karaciğer hastalığında görülebilirler. MDB'nin, yüksek nekroinflamatuvar aktivite ve siroz riski ile ilişkili olabileceği iddia edilmektedir(83) (şekil 7.).



**Şekil 7.** Mallory Denk cisimcikleri

NAFLD hastalarında histopatolojik olarak tipik bulguların olması sayesinde tanı konulmaya çalışılmaktadır fakat birçok hasta tipik bulguları taşımadığından patoloğlar hastalığın tanısını koymada entegre kriterlere ihtiyaç duymaktadırlar(84). Mantteoni ve ark'ı NAFLD 'ı 4 sınıfa ayırdılar:Tip1; steatoz, Tip2; steatoz ile birlikte inflamasyonun olması, Tip 3; steatoz ile birlikte hepatik balonlaşmanın olması ve Tip4; Tip 3 bulgularının yanına MDB ya da fibrosizin olması şeklinde ayırmışlardı(86). Sonrasında yapılan çalışmalarda ilk 2 gruptaki hastaların karaciğer ilişkili mortalite oranlarının %2,7 olmasına karşın son iki gruptaki kişilerde bu oran %17,5'a kadar yüksek bulunmuştur(85). Tip 2 ve Tip 3 ayırımında sadece hepatosit balonlaşmasına bakılması ve bununda gözlemciye bağlı olması nedeniyle yeni skora sistemine ihtiyaç duyulmuştur(81). NAFLD aktivite skoru (NAS), steatoz (0-3), lobüler inflamasyon (0-3) ve balonlaşmaya (0-2) çeşitli puan verilen bir skora sistemidir ve toplamda 8 puandan oluşmaktadır. 5 ve üstü alan hastalar NASH kabul edilirken, 2 ve daha az alanlar NASH kabul edilmezler(87).NAS, tekrarlanabilir özelliktedir, özel boyama gerektirmez, pediyatrik NASH hastalarında ve klinik çalışmalarda teröpatik etkileri değerlendirmek için ideal kullanıma sahiptir(84). Günümüzde basit yağlanmayı NASH'den ayırabilmesi, fibrozisi göstermesi ve prognoz hakkında bilgi vermesi nedeniyle karaciğer biyopsisini NAFLD/NASH ayırımı şüphesi yaşadığımız hastalarda (ki bu hastaların belirlenmesi için ortak bir rehber henüz yoktur) kullanılmaktadır.

Öte yandan karaciğer biyopsisinin bazı kısıtlılıkları vardır(77). Karaciğer biyopsisi sırasında karaciğer dokusunun sadece 1/50000 kadarının alınması nedeniyle örnekleme hatası temel sorunlardan biridir. Örnekleme hatasını en aza indirmek için ideal boyutta bir iğne ile yeterli uzunlukta (özellikle fibrozisi göstermede 15mm ya da daha uzun dokuya ihtiyaç vardır) 2 ya da daha fazla doku alınması önerilmektedir(88). Ratziu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, 51 NAFLD hastasına aynı anda 2 karaciğer biyopsisi yapılmış, bu iki örnek arasında steatozun %78 oranında benzerlik gösterdiği, buna karşın fibrozisin %41 oranında farklı derecelendirildiği saptanmıştır. Hastaların ilk örneğinde köprüleşme fibrozisi rastlanırken, aynı hastaların

diğer örneklerinde fibrozisin saptanmaması veya hafif olması oranı %35 olarak izlenmiştir, bu da örneklem hatalarının vardığı oranları göstermektedir(89). Başka bir çalışmada karaciğer biyopsileri iki kez ve farklı karaciğer loblarından yapılmış, fibrozis evrelemelerinde yaklaşık %30 oranında fark bulunmuştur(90). Bir diğer sorun steatoz, inflamasyon, balonlaşma gibi lezyonların subjektif değeriendirilmesi nedeniyle patologlar arasında görece az uyumun olmasıdır(91). Karaciğer biyopsisinin komplikasyonları arasında ağrı %20 oranında rapor edilmektedir. Biyopsi sonrası hoşnutsuzluk duygusu sorulduğunda bu oran %85 'e kadar çıkmaktadır. Ciddi komplikasyonlar ve mortalite sırasıyla %0,3-0,57 ve %0,01 şeklinde rapor edilmiştir. Komplikasyonların azaltılması için, operatörlerin yeterli biopsi deneyimi olan bir eğitmen tarafından eğitilmesi ve aspirasyon biyopsi tipi iğne kullanılması önerilmektedir(92). Günümüzde basit yağlanma ve NASH ayırımında, fibrozisin doğru derecelendirilmesi konusunda karaciğer biyopsisi ile yarışabilecek biyobelirteçler, çeşitli matematiksel formüller geliştirilmiş ve halen daha geliştirilmektedir. Aslında ortak hedefimiz hasta ile doktor arasındaki güven duygusunu sarsmayan, komplikasyonlardan uzak ve tıbbi çalışmalarda kullanılabilen non-invaziv yöntemlerin ortaya çıkarılmasıdır.

## **2.7. NAFLD'ın Tedavisi**

NAFLD için günümüzde standart bir tedavi bulunmamaktadır. Tedavideki ana hedef; obezite, IR, hiperlipidemi, kardiovasküler hastalıklar gibi risk faktörlerinin kontrol altına alınması veya önlenmesidir(93). Günümüz toplumlarında obezite ve IR'nın kötü beslenme alışkanlığı ve sedanter yaşamla ilişkisi vardır. Kilo kontrolünün doğru diyet ve artmış fiziksel aktivite sayesinde karaciğer histolojisi dâhil olmak üzere hastalığın progresyonunu geciktirdiği bilinmektedir(94). NAFLD hastaları için optimal diyet programı yoktur fakat NAFLD hastalarının diyetlerinde daha çok doymuş yağ asiti ve kolesterol varken daha az oranda lif, antioksidanlar bulunmaktadır(95). Kilo

vermenin en iyi yolu yaşam şekli değişikliği ve kalori alımını kısıtlamaktır(500-1000kcal/gün kadar). Asıl hedef 6 ayda vücut ağırlığının en fazla %10'u kadar zayıflamaktır. Hızlı kilo kaybının steatozu ve portal inflamasyonu arttırdığı gösterilmiştir(96). Yaşam değişikliği (diyet ve egzersiz) şu ana kadar yapılan çalışmalarda karaciğer ezimlerinde azalmaya, karaciğer histolojisinde iyileşmeye, insülin duyarlaşması ve glukoz kontrolünde artışa neden olduğundan; NAFLD hastalarında ilk basamak tedavisi olarak kullanılmalıdır (93). Bariatrik cerrahi ciddi obezitesi olanlarda (VKI >40) ya da obezite ile birlikte komorbiditeleri olan hastalarda kilo vermek için alternatif tedavi seçeneğidir(97). Şuana kadar NAFLD tedavisi için onaylanan hiçbir farmakolojik seçenek yoktur. Bugüne kadar NAFLD medikal tedavisi için yapılan randomize kontrollü çalışmaların sayısı sınırlıdır. Bu çalışmalarda genellikle metformin, tioglitazone, ursodeoksikolik asit, anti oksidasyon özelliği olan vitamin E ve C kombinasyonları kullanılmıştır. Bu tedavilerde genellikle ilk etapta karaciğer enzim düşüşleri olmasına karşın, takiplerinde steatoz ve fibrozis derecesinde bir iyileşme gözlemlenmemiştir. Bu çalışmaların genel özelliği gözlemsel oluşu, az örnekle yapılması ve kısa takip süreleridir (54). NAFLD'lı bireylerde hiperlipidemi sık görüldüğünden anti- hiperlipidemik tedavilerde gündeme gelmiştir. En sık kullanılan ajanlar statin grubu olmuştur. Statin verilen hasta gruplarında karaciğer enzimlerinde azalma ultrasonografik ve histolojik olarak steatozda gerileme saptanmıştır. Yine de statin grubu ilaçların günümüzde sadece NAFLD 'ı olanlara değil beraberinde kardiyovasküler hastalığı ve hiperlipidemisi olan grupta kullanılması tavsiye edilmektedir(98). NAFLD/NASH patogenezinin anlaşılmasıyla beraber alternatif tedavi seçenekleri de gündeme gelmiştir. Mitokondriyal fonksiyonların NAFLD da hayati öneme sahip olduğu anlaşıldıkça mitokondriye yönelik erken dönemde koruyucu tedaviler gelişme aşamasındadır. Curcumin ve silybin hepatoprotektif, antioksidan, antifibrotik ve antiinflamatuvar özelliği olan moleküllerdir. Yapılan hayvan deneylerinde mitokondriyal fonksiyonları düzelttikleri, oksidatif stresi ve TNF-alfa seviyelerini azalttıkları gösterilmiştir(99-100). Tip 2 DM için aday tedavi olan AdipoRon (adiponectin receptor agonisti) karaciğerde trigliserid alımını, oksidatif stresi

ve inflamatuvar sitokin ekspresyonunu azaltığı gösterildiğinden dolayı NASH içinde potansiyel tedavi ajanıdır(60). İlerleyen teknolojik gelişmeler ve insan genom çalışmaları sonucunda birçok hastalıkta olduğu gibi NAFLD içinde gen bazlı ve hastaya özgü yeni tedavi seçenekleri gelişecektir.

## 2.8. NAFLD Tanısında Noninvaziv Yöntemler

NAFLD spektrumu içinde basit yağlanma genellikle uzun yıllar sabit kalır ve birçok hastada ilerleme göstermez. Bununla birlikte hastaların bir kısmında ileri derecede fibrozis gelişir, bu durum zamanla siroz ve komplikasyonlarına(portal hipertansiyon, HCC) yol açabilmektedir. Basit yağlanması olan hastaların aksine ileri fibrozisi olan hastalar olası komplikasyonları nedeniyle yakın takip edilmelidir. Bu nedenle NAFLD hastalarında karaciğer fibrozisin varlığını ve ciddiyetini belirlemek çok önemlidir(101). Kronik karaciğer hastalıklarında ve NAFLD'da fibrozis 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 şeklindedir(102). Ortak görüş olarak; önemli oranda fibrozis (F2+F3+F4), ileri evre fibrozis (F3+F4), siroz (F4) şeklinde derecelendirilir ve ana hedefte bu derecelerin tanısı vardır (102). Şu anda, karaciğer fibrozisi ve inflamasyonu göstermede altın standart karaciğer biyopsisidir, ancak bu işlem invazif olması nedeniyle komplikasyonlara açıktır(103). Sonuçta karaciğer biyopsisi karaciğerin küçük bir kısmını yansıtmakta olup örnekleme hastasına neden olabilmektedir(104). NAFLD hastalarının popülasyondaki yüksek prevalansı ve çoğu hastanın basit yağlanma ya da düşük derecede NASH'e sahip olması nedeniyle bu hastaların çoğunda karaciğer biyopsisi gerekli değildir. Prognostik öneme sahip olan önemli orandaki veya ileri evredeki fibrozisi saptamak için noninvaziv testlere ihtiyaç vardır, böylelikle birçok gereksiz biyopsinin önüne geçilebilir(105). NAFLD'da fibrozisin ciddiyetinin saptanması için fibrozis oluşum yollarında yer alan bazı moleküllerin rutin laboratuvar testleri ile

kombine edildiği paneller bir arada kullanılmaktadır(106). Bu panellerin doğrulukları bilimsel araştırmalarda sınırlı sayıdaki hastalar üzerinde test edilmiştir. Bu testlerin çok büyük bir çoğunluğu çok sayıda hasta üzerinde farklı toplumlarda valide edilmemiştir(101). Günümüzde klinik ve laboratuvar verilerin kombine kullanıldığı çeşitli modeller NAFLD hastalarında fibrozis derecesinin tahmin edebilmek için geliştirilmekte ve valide edilmektedir. Çoğu geliştirilen model için olması gereken iki temel özellik vardır. Birincisi; kolay ulaşılabilir olmasıdır. Örneğin rutin klinik özellikler ve biyokimyasal veriler kullanılarak fibrozisi tahmin edebilmesi. İkincisi; bu modellerin değişik hasta gruplarında valide edilebilmesine olanak sağlamasıdır(101).

## 2.9. NAFLD Fibrozis Skor (NFSA)

NFSA; yaş, hiperglisemi, VKİ, trombosit(PLT) sayısı, albümin(Alb), AST/ALT oranının dahil olduğu ileri fibrozis için bağımsız göstergelerin yer aldığı altı değişkenden oluşmaktadır(107). Formülü şu şekildedir:

$$NFSA = -1.675 + 0.037 \times \text{yaş (yıl)} + 0.094 \times \text{VKI (kg/m}^2\text{)} + 1.13 \times \text{Bozulmuş Açlık glukozu (IFG)/diyabet (evet = 1, hayır = 0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT oranı} - 0.013 \times \text{trombosit sayımı (}\times 10^9\text{/L)} - 0.66 \times \text{albumin(g/dl)}$$
(104). Formüle göre çeşitli eşik değerler verilmekte ve NAFLD 3 gruba kategorize edilmektedir; (NFSA>0,676) yüksek olasılıklı, (NFSA:0.676 ile -1.455 arasında) orta olasılıklı ve (NFSA<-1.455) düşük olasılıklı olarak ayrılmaktadır(108).

NFSA'ya internet üzerinden <http://nafldscore.com/> adresi kullanılarak poliklinik şartlarında kolayca ulaşılabilir ve böylece ileri evre fibrozis için yüksek riski bulunan hastalar kolayca belirlenebilir(109). NFSA'nın en büyük avantajı rutin dışı bir test gerektirmemesi ve farklı toplumlarda birçok hasta üzerinde valide edilmiş olmasıdır. Son AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) rehberi karaciğer biyopsisinin yapılma kararının verilmesinde NFSA'nın kullanılabileceğini tavsiye etmektedir(110).



NFSA'nın çeşitli topluluklarda tek başına ya da diğer modellerle birlikte validasyonu yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir. 2008 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada; biyopsi ile kanıtlanmış 166 NAFLD hastası dâhil edilmiş olup bu hastalarda ileri evre fibrozisi göstermede NFSA'nın performansına bakılmış. NFSA skor ile bakılan bu hastaların sadece 18'i(%11) ileri evre fibrozis saptanmıştır. 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 bulunmuştur. NFSA bu hasta grubu için başlangıçta uygulansaydı hastaların %79 da gereksiz karaciğer biopsisinde kaçınılmış olunacağı bulunmuştur(111). 2012 yılında Japonya'da; Nakomo ve ark. 52 biyopsi kanıtlı NAFLD'lı bireyde NFSA'yı test etmişlerdir. Bu çalışmada ileri evre fibrozisin düşük olasılık dâhilinde olduğunu gösteren eşik değer orijinal çalışmadan daha yüksek bulunmuştur(<-1.455yerine -0.876). NFSA'nın bu çalışmadaki duyarlılığı %100, özgüllüğü %82, pozitif prediktif değeri %63, negatif prediktif değeri %100 olarak hesaplanmıştır. Sonuçta, Japon topluluğunun VKİ'nin batı toplumlarına göre daha düşük olması nedeniyle eşik değerin Japon toplumu için -0.876 şeklinde modifiye edilmesi düşünülmüştür(112). 2013 yılında Perez ve ark.'nın yaptığı Latin popülasyonundaki kohort çalışmasında; biyopsi ile NAFLD tanısı konulmuş 228 hasta çalışmaya dâhil olmuş. Bu çalışmada NFSA, BARD skor (AST/ALT oranı, VKİ, DM varlığı gibi parameterler ile oluşmaktadır), APRI (AST/PLT oranından oluşmaktadır), AAR(AST/ALT oranı ile hesaplanmaktadır) ve FIB-4 [(yaş) x ast/plt )x(alt/1/2)] kullanılmıştır. FIB-4, APRI ve NFSA Latin toplumunda fibrozis göstergesi için kullanılabilir bulunmuştur(114). NFSA'nın bariyatrik cerrahi popülasyonunda da ALT seviyeleri normal ya da yüksek olsun fibrozisi göstermede yararlı olduğu saptanmıştır(110). Qureski ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada da morbid obezlerde bariyatrik cerrahiye giden popülasyondakilerde NFSA ileri fibrosiz ayrımını doğru bir şekilde yapabildiği(114). Paul angulo ve ark.'nın yaptığı çok merkezli (ABD, İtalya, Avustralya, İngiltere) bir çalışmada 733 biyopsi kanıtlı NAFLD'lı hasta iki grubu ayrılmıştır. Test(n=480) ve validasyon(n=253). NFSA için düşük eşik değeri(-1.455) kullanıldığında ileri evre fibrozisin yüksek doğrulukla

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 ortaya çıktı. Eğer bu model kullanılsaydı hastaların %75'ine(733 hastanın 549'u) biyopsi gerekmecekti. Sonuç olarak bu çalışma NFSA'nın ileri evre fibrozisi olan ve olmayan NAFLD'lı hastaları yüksek doğrulukla ayırabileceğini ortaya koydu(107). NAFLD'lı hastaların mortalite oranı normal popülasyona göre daha yüksektir. Bu durum NFSA'nın prognostik amaçlı kullanılabilir kullanılamayacağını akla getirmiştir. Rafiq ve ark.'larının yaptığı çalışmada tip2 DM, ileri yaş ve düşük albümin seviyesi karaciğer kaynaklı mortalite ile ilişkili bulunmuştur(115). Bu faktörler NFSA komponentidir(107). Böylece NFSA, NAFLD hastalarında prognoz hakkında bilgi verebilir. Sombat ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 479 NAFLD hastasından 309 tanesi 12 yıl boyunca izlenmiş. Bu hastaların 181'i başlangıçta NFSA'ya göre ileri evre fibrozis yokken, 121 hastada yüksek olasılıklı ileri fibrozis vardır. Çalışma sonlanım noktası tüm genel ölümler, kardiyovasküler hastalık ve karaciğer ilişkili mortalite olarak belirlenmiştir. Hastaların takibinde 39 kişi ölmüştür; bunların 8'i kardiyovasküler hastalıklardan, 5'i karaciğer kaynaklıdır. 30 hastada yeni kardiyovasküler hastalık geliştiği saptanmıştır ki bu hastaların çoğu yüksek olasılıklı ileri fibrozisi olan gruptadır. Çalışmada ileri gruptaki hastaların yıllık NFSA değişim oranları, düşük gruba göre 4 kat daha fazla artmış bulunmuştur. Sonuçta, araştırmacılar bu çalışmayla NAFLD tanısı konulan hastalardan yüksek NFSA'sı olanların yeni başlangıçlı kardiyovasküler hastalık ve ölüm riski açısından yakından takip edilmelerini önermişlerdir (116).

Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında; NFSA'nın günümüzde 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 dünya genelinde sıkça tercih edilen bir hesaplama yöntemi 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 ( $\times 10^9/L$ ) parameterlerinden oluşan fibrozis tahmini için kullanılan noninvaziv bir yöntemdir(102).

FibroMeter™ NAFLD skor förmülü gizli olup Fransa'daki bir şirket tarafından ticari olarak kullanılmaktadır. FibroMeter™ NAFLD skor ilk olarak kronik hepatit C hastalarında fibrozis ciddiyetini karaciğer biopsisi yapmadan tahmin etmek amacıyla kullanılmıştır. 2006 yılında Vincent ve ark.'nın kronik hepatit C'li hastalarda yaptığı karaciğer biyopsisinin referans yöntem olarak kullanıldığı bir çalışmada FibroMeter™ NAFLD skor; Forn Skoruda içeren birkaç skorlama sistemi ile karşılaştırılmıştır. FibroMeter™ NAFLD skor'un hafif fibrozisi(F0-F1) önemli orandaki fibrozisten(F2-F3-F4) ayırmadaki performansı gösteren AUROC'ı 0,86 olarak hesaplanmıştır. Bu değer Forn skor için 0,78 olmuştur. İleri evre fibrozis( $\geq F3$ ) için Fibrometer'in AUROC'ı 0,91 olurken Forn için yine 0,78 olmuştur( $p < 0.02$ ). FibroMeter™ NAFLD skor'un karşılaştırdıkları diğer skorlar içinde hem tek başına hemde çoklu kombinasyonlar içinde fibrosizi göstermede oldukça başarılı bir skor olduğu gösterilmiştir(117). NAFLD'da fibrozis gelişimi büyük prognostik öneme sahiptir. Ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelen NAFLD'da fibrozisin FibroMeter™ NAFLD skor gibi non-invaziv yöntemlerde saptanması bu nedenle önemlidir. Paul ve Ark.'nın 2010 yılında yaptığı bir çalışmada NAFLD olan ve karaciğer biyopsisi ile fibrozis derecesi gösterilen 226 hastada NFSA ve FibroMeter™ NAFLD skor fibrozis evresinin tahmini için kullanılmıştır.

FibroMeter™ NAFLD skor için önemli oranda fibrozisi olan grupta (  $F \geq 2$ ), AUROC= 0,941, ( $p < 0,005$ ) olarak saptanmış. NFSA'ın AUROC 'u aynı grup için 0,867 saptanmış. FibroMeter™ NAFLD skor'un F2 ve üstü fibrozisde NFSA'ya göre daha başarılı olduğu fakat F3-F4 fibrosizde anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür(102). Paul ve ark.'nın 121 hastada yaptığı diğer bir çalışmada FibroMeter™ NAFLD skor; NFSA ve APRI ile

karşılaştırılmış. FibroMeter™ NAFLD skor'un diğer formüllerden daha yüksek(%90'in 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 sahiptir. Bu gri alanda NFSA'nın doğruluğu düşük olduğundan bu hastalara başka bir noninvaziv test ya da Fibroscan değerlendirmesi yapılması önerilir(118). Yine, 2009 yılında Cales P. ve ark.'nın yaptığı biyopsi ile kanıtlanmış 235 NAFLD'lı bireyi içeren bir çalışmada FibroMeter™ NAFLD skor'un AUROC'u önemli oranda fibrozis için 0.943, ileri evre fibrozis için 0.937, siroz için 0.904 olarak hesaplanmıştır. Yine bu çalışmada, FibroMeter™ NAFLD skor için özgülüğü %78, doğruluğu %95, pozitif prediktif değer %87 ve negatif prediktif değer %92 olarak bulunmuştur(118).

### 2.11.Fibroscan®

Fibroscan®(Echosens, Paris, France); bir prob, elektronik sistem ve kontrol ünitesinden oluşur (Şekil8.).



**Şekil 8.** Fibroscan® 502 touch (Echosens, Paris, France) cihazı

Probtaki ultrasonik dönüştürücü karaciğer dokusuna düşük frekanslı( 50 MHz) ve amplitüdü titişimler gönderir. Bunun sonucunda oluşan elastik dalga(enine dalga; share wave) doku içerisinde çoğalarak yayılır. Dalganın iletim hızı içinden geçtiği dokunun elastikiyeti ile ilişkilidir. Sertlik (stiffness) arttıkça dalganın yayılım hızı artar, bu hız probdaki dedektör ile saptanır, kilopaskal (kPa) cinsinden ifade edilir ve karaciğerdeki fibrozis miktarını yansıtır. Fibroscan® ile sertliği ölçülen karaciğer hacmi 3 cm<sup>3</sup> tür, bu da karaciğer biyopsisi ile alınabilen dokunun en az 100 katı büyüklüktedir. Dolayısıyla bu yöntemin karaciğer parankimini daha iyi yansıttığı ileri sürülmektedir(119). Ölçüm derinliği kullanılan proba göre 15-75 mm arasında değişir(Tablo3). Fibroscan®'in pediyatrik vakalardan obez erişkinlere kadar kullanılabilen dört farklı probu vardır(120).

**Tablo 3.** Fibroscan® problemleri ve özellikleri

Prob	Frekans (Mhz)	Ölçüm derinliği	Toraks çapı*	CAP özelliği#
S1	5	15-40 mm	≤ 45 cm	Yok
S2	5	20-50 mm	45-75 cm	Yok
M	3.5	25-65 mm	>75 cm	Var
XL	2.5	35-75 mm	>75 cm	Yok

\*Ksifoidden #Controlled attenuation parameter

Fibroscan® uygulaması birkaç dakika sürer, ağrısızdır. Hasta sırt üstü yatarken sağ kolunu ensesine götürerek kosta aralığını daha genişletir; bu operatöre ölçüm sırasında kolaylık sağlar. Ölçüm probun doğru konumda yerleştirilmesiyle ekranda anında belirlir. Eğer operatör uygun olmayan açıda ya da yanlış prob kullanımı varsa geçersiz ölçüm diye ekranda belirir. Başarı oranının yüksek olması için en az on geçerli ölçüm yapılmalıdır ve en az başarı oranının %60 düzeyinde tutulması önerilir. Karaciğer elastikiyetini doğru olarak yansıtan geçerli ölçümlerin median değeri 2,5 ile 75 kPa aralığında rapor edilmektedir(121). Fibroscan® kolayca kullanım özelliklerinin yanında bazı kısıtlılıkları da vardır. Asitli hastalarda elastik dalganın yayılımı

değişeceğiinden kullanımı kısıtlıdır. Üretici firma tarafından gebe ve implate cihazı olanlarda kullanılması tavsiye edilmemektedir. Hastaların fiziksel özellikleri prob seçeneğinin değiştirilmesiyle çözülebilir fakat VKİ >28 olan hastalarda ilk yıllarda başarılı ölçümler yapılamamıştır(122). Günümüzde teknolojik gelişmeler sayesinde obezlerde kullanılacak yeni bir prob üretilmiş (XL prob), böylece ölçüm başarısı artırılmıştır (123). Ancak XL proba rağmen, özellikle VKİ >40 kg/m<sup>2</sup> olanlarda obezite hala önemli bir kısıtlayıcı faktör olarak karşımıza çıkabilmektedir(124). Viral hepatit hastalarında nekroinflamatuvar aktivite ile transient elastografi arasında etkileşim olması ve olduğundan yüksek değerler saptanması nedeniyle akut viral hepatit evresinde kullanımı önerilmemektedir(125-126). Hemodiyaliz, sağ kalp yetmezliği, sarılık veya kolestaz LSM değerini etkileyebileceğinden bu durumlarda yapılması tavsiye edilmez(127).

Fibroscan<sup>®</sup>; sağlıklı popülasyonda, Asyalı organ nakli dönerlerinde yapılmış bir çalışmada ortalama median LSM değerleri 4,6.±0,5 kPa (Aralık 3,3-5,6 kPa) olarak bulunmuştur(128). Avrupa'da yapılmış bir çalışmada genel popülasyonda sağlıklı bireyler arasında (ki bunların %14'de metabolik sendrom saptanmış) 5.49±1.59 kPa olarak bulunmuştur. Bu çalışmayla LSM ile metabolik sendrom arasında güçlü bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur(129).

NAFLD dünya genelinde giderek sıklığı artan kronik karaciğer hastalığıdır. Kabaca iki alt tipi vardır: Basit yağlanma ve NASH. Basit yağlanma ve NASH ayırımı kesin olarak karaciğer biyopsisi ile yapılabilir(5). Transaminaz yüksekliği NASH anlamına gelmediği gibi düşüklüğü de NASH ekartasyonu yaptırmaz(8). Fibroscan<sup>®</sup> ile fibrozis saptanması hastanın dolaylı olarak NASH olduğunu gösterir çünkü basit yağlanmada fibrozis beklenmez. Fibroscan<sup>®</sup> normal ise NASH ekarte edilemez, bu durumda CK-18 fragmanları içeren ve serum biomarkırlarından yararlanan algoritmelerin kullanılması önerilmiştir(130). Böylece hangi hastalara biyopsi yapılması gerektiği kolaylıkla ortaya konabilir. Fibroscan<sup>®</sup>'in özellikle ileri evre fibrozis

de diagnostik performansı mükemmel yakındır (Tablo 4). 2010 yılında Wong ve ark.'nın yaptığı 246 NAFLD hastasında; TE performansına bakılmış ve 2 farklı etnik grup için bakılan önemli orandaki fibrozis için 0,84, ileri evre fibrozis için 0,93 ve siroz için 0,95 AUROC'u olarak bulunmuştur(134). Yine, 2011'de yapılan bir metaanalizde ileri evre fibrozisin saptanmasında Fibroscan®'in AUROC'ı 0,94, duyarlılığı %94 özgüllüğü %95 olarak hesaplanmıştır(131). Fibroscan®'in yakın zamanda kullanıma giren controlled attenuation parameter (CAP) özelliği ile NASH'li hastada fibrozis ile birlikte eş zamanlı yağlanmanın da kantitatif belirlenmesi büyük avantaj oluşturacaktır.

**Tablo 4.** Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında ileri evre fibrozisin (F≥3) saptanmasında Fibroscan®'in diyagnostik performansı

Kaynaklar	Eşik değer (kPa)	AUROC	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Negatif prediktif değer (%)
Yoneda ve ark.(132)	9,8	0,90	85	81	93
Nobili ve ark.(133)	10,2	1	100	100	100
Wong ve ark.(134)	8,7	0,93	84	83	95
Lupsor ve ark.(135)	10,4	0,98	100	97	100
Petsa ve ark.(136)	8,75	0,87	76	78	92

### **3. ARAÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Etik Kurul ve BAPKO**

Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı(Protokol no:09.2013.0377,Tarih:07.02.2014) ve çalışmaya katılan tüm bireylerden aydınlatılmış onam alındı. Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir(SAG-TUP-050614-0222).

#### **3.2. Çalışma Popülasyonu**

Bu çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğinin Gastroenteroloji Enstitüsü'nün biyopsi kanıtlı yağlı karaciğer hastaları alınmıştır. Çalışmaya 88 NAFLD (38 kadın,50 erkek,ortalama yaşları 49±9 yıl) tanısı olan hasta dahil 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 vakalara fizik muayene, antropometrik ve biyokimyasal ölçümler yapıldı. Vücut kitle indeksi, boy ve kilo ölçümlerine göre hesaplandı. Diyabetes mellitus tanısı ADA kriterlerine göre, metabolik sendrom tanısı ATP III kriterlerine göre konuldu(137). Hastaların NFSA ve FibroMeter™ NAFLD skor için gereken bilgiler hasta kayıtlarından elde edildi. Fibrometer için gereken bazı parametrelerin ölçümü için hastalardan kan numunesi alındı. NFSA ve FibroMeter™ NAFLD skor hesaplamaları mevcut formülleri kullanılarak yapılmıştır(102-109).

### **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 Skorum Sistemi'ne göre değerlendirdi (138). Steatoz, 0 dan

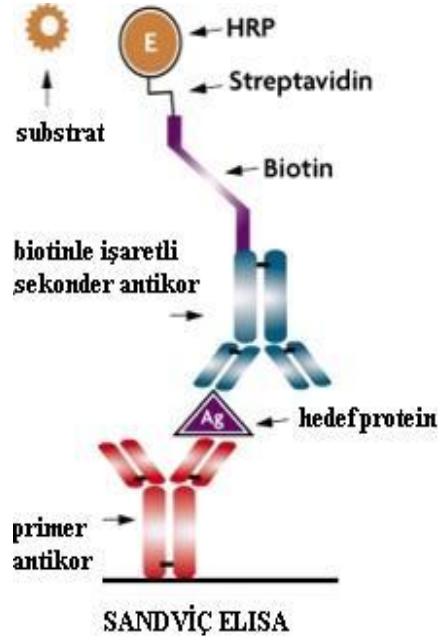
3'e kadar 4 derece olarak skorlandı (S0: Steatoz olmaması ya da % 5'ten daha az olması; S1: %5-33; S2: %33-66; S3: >%66 olarak tanımlanmıştır). Lobüler inflamasyon evrelemesi, Evre 0: Odak yok; Evre 1: her 200x alanda <2 odak; Evre 2: her 200x alanda 2-4 odak; Evre 3: her 200x alanda >4 odak olarak tanımlanmıştır. 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(138). Tüm fibrozis evrelemesi NAFLD aktivite skor'a göre yapıldı.

### **3.5. Transient Elastografi(Fibroscan)**

Tüm NAFLD hasta grubunun TE değerleri Fibroscan aleti ile hastalara uygun problemler kullanılarak yapılmıştı. Hastaların Fibroscan sonuçları mevcut kayıtları incelenerek elde edildi. Hastalardan en az 10 geçerli ölçüm alınmış olması, LSM değeri için IQR/M oranının <%30 ve başarı oranının >%60'ın üstünde olması güvenilir ölçüm olarak kabul edildi.

### 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 aligotlanmış olup, her ELISA testi için bir kez kullanılmıştır. Kullanılan tüm kitler “sandviç ELISA” prensibine (Şekil 9.) 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.



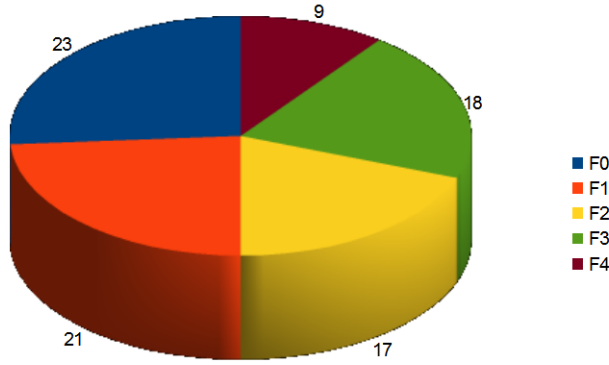
**Şekil 9.** Sandviç ELİSA prensibi

### 3.7. İstatiksel Analiz

Veriler uygun olduğu şekilde ortalama ve standart sapma veya ortanca ve çeyreklerarası aralık şeklinde ifade edilmiştir. Önceki çalışmalara uygun olarak fibrozis için 3 adet sonlanım noktası belirledik. Bu sonlanım noktaları şunlardır; önemli oranda fibrozis(F2+F3+F4 derecelerinden oluşmakta), ileri evre fibrozis(F3+F4 derecelerinden oluşmakta) ve siroz (F4 derecesinden oluşur)(139). 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 AUROC's; Metz ve ark.'ı tarafından tarif edildiği gibi eşleştirilmiş anlamlılık testleri ile karşılaştırıldı(140). Tüm hesaplamalar SPSS istatistik paketi, sürüm 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı.

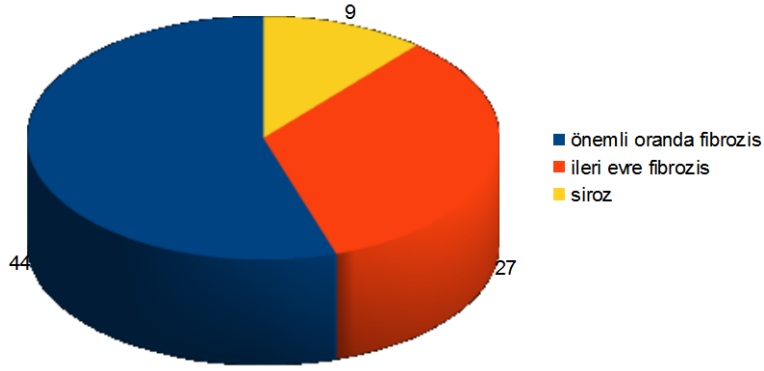
#### 4. BULGULAR

Çalışmaya dışlanma ve dâhil edilme kriterleri kullanılarak onam veren 88 NAFLD hastası ( 38 kadın, 50 erkek, ortalama yaşları:49±9 yıl) alınmıştır. Hasta grubunun ortalama VKİ'si 30,3±4,6 kg/m<sup>2</sup> olarak bulunmuştur. Hastaların karaciğer biyopsilerinin fibrozis evreleri incelendiğinde; 23'ünün(%26) F0, 21'inin(%24) F1, 17'sinin(%19) F2, 18'inin(%21) F3 ve 9'unun(%10) F4 olduğu görüldü (şekil 10.).



**Şekil 10.** Hasta gruplarının fibrosiz dağılımları(n=88)

Hastaları önemli oranda fibrozisi olanlar(n=44, %50), ileri evre fibrozisi olanlar(n=27, %31) ve sirozu olanlar(n=9, %10) olarak ayrıca sınıfladık(şekil 11.).



**Şekil 8.** Fibrozisi olan hastaların fibrozis ciddiyetlerine göre dağılımı

Hasta gruplarının TE sonuçlarına bakıldığında; LSM değerleri ortalama olarak  $8,9 \pm 5,8$  kPa bulunmuştur. 35 (%42) hastanın LSM değerleri eşik değer olan 7,9 kPa değerine ya eşit ya da daha yüksek saptanmıştır. Çalışma popülasyonunun genel özellikleri Tablo 5.'de özetlenmiştir.

**Tablo 5.** Çalışma grubunun genel özellikleri.

	Hastalar(n=88)
Cinsiyet(E/K)	50/38
Yaş(Yıl)	46±9
Vücut kitle indeksi(kg/m <sup>2</sup> )	30,3 ± 4,6
AST(U/L)	53 ± 31
ALT(U/L)	84 ± 56
Bel çevresi(cm)	101 ± 11
Kalça çevresi(cm)	107 ± 10
Sistolik kan basıncı(mmHg)	126 ± 15
Diastolik kan basıncı(mmHg)	80 ± 11
Diabetes mellitus (var/yok)	17/71
Metabolik sendrom (var/yok)	49/39
Total kolesterol(mg/dl)	201 ± 43
LDL kolesterol(mg/dl)	123 ± 36
HDL kolesterol(mg/dl)	44 ± 11
Trigliserid(mg/dl)	182 ± 109
Albümin(g/dl)	4,8 ± 0,3
Ferritin(ng/ml)	165 ± 141
Açlık kan şekeri(mg/dl)	121 ± 55
Protrombin index(%)	101 ± 6
Serum hyaluronic acid(ng/ml)	104 ± 77

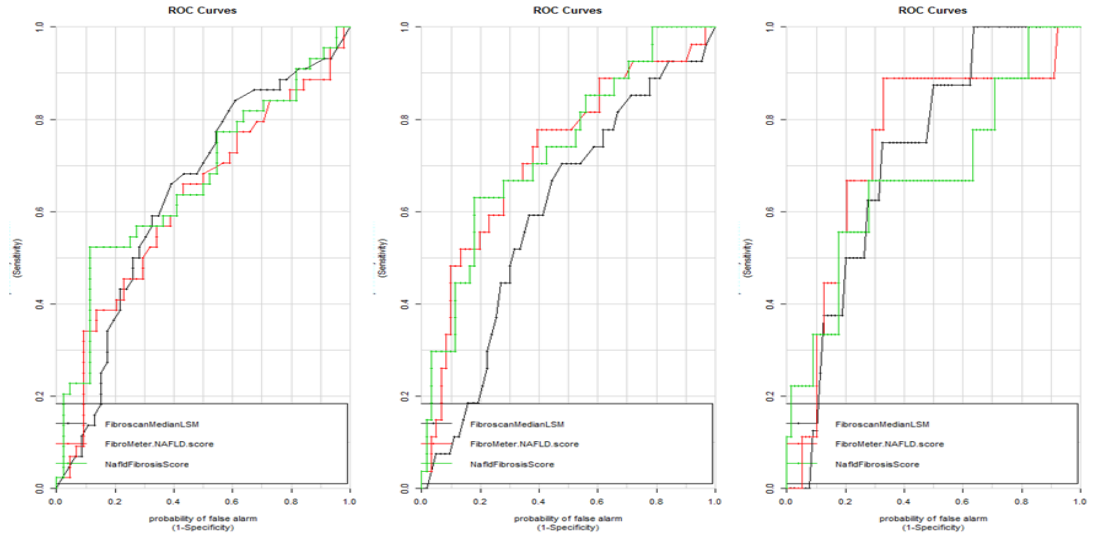
AST: aspartat aminotransferaz; ALT: alanin aminotransferaz

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

Veriler; ortalama±standart sapma şeklinde ifade edildi.

#### 4.1. ROC Analizi

Üç farklı noninvaziv yöntemin karaciğer biopsisi ile tanı konulmuş yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde önemli oranda fibrozis, ileri evre fibrozis ve siroz tanısı koymadaki tanısal performansını karşılaştırmak için ROC eğrisi analiz yapıldı(şekil 12.).



**Şekil 12.** Önemli oranda fibrozis, ileri evre fibrozis ve siroz tanısı koymada FibroMeter™ NAFLD skor, NAFLD Fibrosiz Skor ve Transient elastografi'nin Receiver operating characteristic(ROC) curve analizi

Her bir noninvaziv yöntem için AUROC değerleri, duyarlılık/özgüllükler hesaplanarak tablo 6'da gösterilmiştir.



**Tablo 6.** FibroMeter™ NAFLD skor, NAFLD Fibrozis Skor ve Transient elastografi'nin önemli oranda fibrozis( $\geq F2$ ), ileri evre fibrozis( $\geq F3$ ) ve siroz( $F4$ ) tanısı için AUROC değeri, duyarlılık ve özgüllükleri

	FibroMeter™ NAFLD skor		NAFLD Fibrozis Skor		Transient elastografi	
	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük
$\geq F2$	AUROC=0.622 $\pm$ 0.061		AUROC=0.666 $\pm$ 0.059		AUROC=0.902 $\pm$ 0.033	
	38,6	86,4	52,3	88,6	75,0	93,2
$\geq F3$	AUROC=0.725 $\pm$ 0.062		AUROC=0.735 $\pm$ 0.059		AUROC=0.938 $\pm$ 0.034	
	66,7	72,1	63,0	82,0	95,7	90,2
F4	AUROC=0.745 $\pm$ 0.094		AUROC=0.678 $\pm$ 0.108		AUROC=0.907 $\pm$ 0.034	
	88,9	67,1	66,7	72,2	100,0	76,3

AUROC = area under the receiver operating characteristic curve

Üç noninvaziv yöntem içinde en iyi AUROC değerinin Fibroscan'e ait olduğu gözlemlendi. Özellikle  $\geq F2$  fibrozis tanısı koymada Fibroscan için hesaplanan AUROC değeri (0.902  $\pm$  0.033), FibroMeter™ NAFLD skor'un AUROC değerine göre (0.622  $\pm$  0.061) anlamlı olarak daha iyiydi(P < 0.001). Aynı şekilde Fibroscan(AUROC: 0.902  $\pm$  0.033) NFSA'ya(AUROC:0.666  $\pm$  0.059) göre daha yüksek tanısal performansa sahipti(P < 0.001). FibroMeter™ NAFLD skor ile NFSA arasında önemli oranda fibrozis( $\geq F2$ ) tanısı koymada istatistiksel anlamlı fark saptamadık. Aynı hesaplamalar ileri evre fibrozis tanısının koyulması için yapıldığında Fibroscan'ın AUROC değeri(0.938  $\pm$  0.034), FibroMeter™ NAFLD skorun(0.725  $\pm$  0.062) ve NFSA'nın değerine göre (0.735  $\pm$  0.059) anlamlı olarak daha iyi çıkmıştır(her bir karşılaştırma için P < 0.001). İleri evre fibrozis( $\geq F3$ ) tanısı koymada FibroMeter™ NAFLD skor ile NFSA arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Son olarak, siroz tanısı koymak için AUROC değerlerine baktığımızda; Fibroscan'ın AUROC değeri(0.907  $\pm$  0.034), FibroMeter™ NAFLD skorun(0.745  $\pm$  0.094) ve NFSA'nın AUROC değerine göre(0.678  $\pm$  0.108)

istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek bulunmuştur(her bir karşılaştırma için  $P < 0.001$ ). Siroz grubu için FibroMeter™ NAFLD skor ile NFSA'yı karşılaştırdığımızda FibroMeter™ NAFLD skor lehine anlamlı bir fark saptanmıştır( $p < 0.005$ ).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışmada iki önemli sonuç bulduk. İlki, Fibroscan(transient elastografi)'in NAFLD hasta grubunda her üç fibrozis grubunu( $\geq F2$ ,  $\geq F3$ , F4) saptamada diğer non-invaziv yöntemlere göre daha başarılı olduğunu gösterdik. İkincisi, FibroMeter™ NAFLD skor ile NFSA'nın  $\geq F2$  ve  $\geq F3$  fibrozisi göstermede kendi aralarında anlamlı fark olmadığı gösterilmiş oldu, ancak sirozu saptamada FibroMeter™ NAFLD skor'un NFSA'a göre daha başarılı olduğu anlaşıldı.

NAFLD hastalarının sadece küçük bir kısmı klinik öneme sahip olan fibrosiz evrelerine ilerleme gösterir, bu grubun henüz siroz ve karaciğer kanseri gibi komplikasyonlara yol açmadan erken teşhis edilmesi hayati önem arz etmektedir(141-142). Hastaların çoğunluğuna fibrozis eşlik etmemektedir. Bu hastaların karaciğer biyopsisine maruz kalması hem doktor hem de hasta tarafından pek istenmeyen bir durumdur. Çünkü karaciğer biyopsisi invaziv bir işlemdir, çok ciddi olabilen komplikasyonları vardır(143). Belki hastaların az bir kısmında fibrozis mevcuttur ancak yağlı karaciğer hastalığının prevalansı o kadar çok yüksektir ki bu fibrozisi olan hastalar önemli bir sayıdadır. Gerek tarama gerek tanı amaçlı fibrosiz derecesini doğru oranda tahmin eden ve gereksiz invaziv işlemlerden kaçınmamızı sağlayan birçok non-invasiv model denenmektedir(144-145). Bizim sonuçlarımız Fibroscan'ın NAFLD hastalarında fibrosizi göstermede çok başarılı olduğunu göstermiştir. Üstelik Fibroscan tekrar tekrar kullanılabilir, üstelik elastografi sonuçlarının operatörden bağımsız olduğu iddia edilir(146). Çalışmamızda Fibroscan'ın, FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA göre fibrozis derecesini doğru oranda göstermede daha iyi olduğunu saptadık. Ancak Fibroscan ülkemizde çok sınırlı sayıda merkezde mevcuttur. Bu nedenle şuan için yaygın olarak kullanılabilirliği pek mümkün gözükmemektedir.

FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA'nın AUROC degerleri TE'ye göre daha düşük olmasına rağmen daha önceki çalışmalar da dikakte alındığında özellikle ileri evre fibrozisi veya sirozu saptama halen kullanılabilirler(102,118). FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA'nın kendi içinde karşılaştırmamızda; sirozu göstermede FibroMeter™ NAFLD skor'un daha başarılı olduğu saptanırken diğer fibrosiz derecelerinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak Fibrometer'in patentli bir ürün olduğu ve her bir test için hastanın numune ve para vermesi gerektiği de düşünüldüğünde NFSA'nın günlük pratiğimizde kullanılması daha akılcı gibi olacaktır. Bulgularımızı mevcut geçmiş bilgilerimizle birlikte değerlendirdiğimizde, TE'nin fibrozisi hastaların komorbid medikal durumlarından etkilenmeden tahmin etmesi, onu diğer laboratuvar bazlı testlere göre avantajlı hale getirmektedir(147). Bu bağlamda, daha doğru sonuçlar veren analitik metodlar geliştirmek ve validasyonunu yapabilmek için fibrozis ile ilişkili serum biomarkırları kullanmalıyız. Bu analitik metodların fizibilitesinin ve kalitesinin gösterilmesinde bu markırların rolü önemlidir(148). Serum markırları için özensiz geliştirilen ve validasyonu yapılmayan analitik metodlar yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara yol açabilirler. Bütün bunlar hasta ve doktorda kaygıya, gereksiz maliyet yükselmesine neden olabilir. Günümüzde, doğru ve kullanışlı olarak hepatik fibrozisi gösteren serum biomarkerlarını geliştirme ve validasyonunu yapmakta hala bazı zorluklar yaşanmaktadır. Bu zorluklar basitçe 3 nedene indirgenebilir. Birincisi, çok farklı tipte olan biomarkırlar için bir o kadar farklı tipte analitik metod geliştirilmesi gerekmesi; ikincisi, hastaların demografik yapılarının farklı olması nedeniyle hasta popülasyonundaki biomarkırların değişmesi ve son olarak da, doğru valide edilmiş analitik metodun nasıl olması gerektiğini gösteren bir rehberin olmamasıdır(149). Karaciğer fibrozisini göstermek için yeni biomarkırlar kullanacaksak; bunlar güvenilir sonuç vermeli, tekrarlanabilir, kolay ulaşılabilir ve ucuz olmalıdır(150). Ayrıca eşlik eden inflamatuvar(romatodi artrit gibi) durumlardan etkilenmemeleri gerekir.

## 5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları ve Yorum

Yayınladığımız bu çalışmada birçok kısıtlılık mevcuttur. İlk olarak, örneklem sayımız görece olarak azdır ve sadece Türk popülasyonundan oluşmaktadır. İkinci olarak hasta popülasyonumuz içinde sirozu olanların sayısı oldukça azdır. Genellikle fibrozis evresi arttıkça noninvaziv testlerin diyagnostik performansı lineer bir artış gösterir bizim sonuçlarımızda bu lineer artışın saptanmaması sirozu olan hasta sayının azlığından kaynaklanabilir. Çalışmamıza konu olan tanısal noninvasiv testlerin birbirinden farklı çalışma prensiplerine sahip olmaları başka bir kısıtlayıcı faktördür. TE'nin fibrozisi göstermede çok iyi bir performansı olmasına karşılık, FibroMeter™ NAFLD ve NFSA skorlarının farklı toplumlarda tanısal ve takip amaçlı kullanımı konusu hala cevap bekleyen ve yeni çalışmaların yapılmasını gerektiren bir durumdur. Son olarak, çalışmamızda bu üç farklı noninvaziv tanı yöntemini(Fibroscan, FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA) tam fibrozis evresini saptamadaki tanısal performansını bulmak yerine fibrozis gruplarının( $\geq F2, \geq F3$  gibi) saptanmasındaki tanısal performansını değerlendirdik. Bunun temel nedeni her bir fibrozis evresi için yeterli sayıda hastamızın bulunmaması idi. Ancak şu ana kadar yapılan hiçbir çalışmada her bir fibrozis evresini saptayabilecek bir noninvaziv yöntem bulunamamıştır. Bu yüzden fibrozis evrelerini gruplara ayırarak analiz yapmak daha akılcıdır. Bütün bu sınırlamalara rağmen, tüm hastaların histolojik incelemesinin olması ve histolojik fibrosiz evrelemesinin standartlara uygun yapılması bizim çalışmamızın güçlü tarafını oluşturmaktadır. Ayrıca, çalışmamızda karaciğer biyopsi örneklerinde sadece çok ileri fibrozis aşamasındaki hasta grubunu(F4) almayarak, değişik sonlanım noktaları kullanmak suretiyle biastan kaçındık.

Sonuç olarak, çalışmamız göstermiştir ki; TE, NAFLD hasta grubunda karaciğer fibrozisini göstermede noninvasiv yöntemler arasında en başarılı performansı olmaktadır. FibroMeter™ NAFLD skor ve NFSA arasında önemli oranda fibrozis( $\geq F2$ ) ve ileri evre fibrozisi( $\geq F3$ ) göstermede anlamlı fark

saptanmamıştır. Buna rağmen, FibroMeter™ NAFLD skor sirozu (F4) göstermede NFSA'ya göre daha başarılı bulunmuştur.

## 6. KAYNAKLAR

1. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009;49:306-317.
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. Wree A, Broderick L, Canbay A, Hoffman HM, Feldstein AE. From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:627–36.
5. Emanuele E. Is biopsy always necessary? Toward a clinico-laboratory approach for diagnosing nonalcoholic steatohepatitis in obesity. *Hepatology*. 2008;48:2086-7.
6. Festi D, Schiumerini R, Marzi L, Di Biase AR, Mandolesi D, Montrone L, Scaioli E, Bonato G, Marchesini-Reggiani G, Colecchia A. Review article:the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease-availability and accuracy of non-invasive methods. *Alimentary Pharmacol Ther* 2013;37:392-400.

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, Cavaro-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. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980;55:434-8
10. Collates R, Ong JP, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease and the epidemic of obesity. *Cleve J Med* 2004;71:657-64
11. 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;40:1387-95.
12. Weiß J, Rau M, Geier A. Non-alcoholic Fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2014;111:447-52.
13. Ong JP, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of NAFLD and NASH. *Clin Liver Dis* 2007;11:1-16.
14. Schwenger KJ, Allard JP. Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease. *World J gastroenterol* 2014;20:1712-1723.

15. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009;49:306-17.
16. Finelli C, Tarantino G. Is visceral fat reduction necessary to favour metabolic changes in the liver? *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21:205-208.
17. Cortez-Pinto H, Camilo ME. Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): diagnosis and clinical course. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18:1089-104.
18. Fromenty B, Pessayre D. Impaired mitochondrial function in microvesicular steatosis. Effects of drugs, ethanol, hormones and cytokines. *J Hepatol.*1997;26:43–53.
19. Fromenty B, Berson A, Pessayre D. Microvesicular steatosis and steatohepatitis: role of mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. *J Hepatol.*1997;26:13–22.
20. Takahashi Y, Soejima Y, Fukusato T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012;18:2300-2308
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. Festi D, Schiumerini R, Marzi L, Di Biase AR, Mandolesi D, Montrone L, Scafoli E, Bonato G, Marchesini-Reggiani G, Colecchia A. Review article: the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease – availability and accuracy of non-invasive methods. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37: 392-400

23. Hamaguchi M, Takeda N, Kojima T, Ohbora A, Kato T, Sarui H, Fukui M, Nagata C, Takeda J. Identification of individuals with non-alcoholic fatty liver disease by the diagnostic criteria for the metabolic syndrome. *World J Gastroenterol.*2012;18:1508-16.
24. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple Hits, Including Oxidative Stress, as Pathogenesis and Treatment Target in Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci.* 2013;14:20704-20728.
25. Scaglioni F, Ciccia S, Marino M, Bedogni G, Bellentani S. ASH and NASH. *Dig Dis* 2011; 29:202–10.
26. Shi JP, Fan JG, Wu R, Gao XQ, Zhang L, Wang H, Farrell GC. Prevalence and risk factors of hepatic steatosis and its impact on liver injury in Chinese patients with chronic hepatitis B infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:1419–25.
27. 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. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:274–85.
28. Vanni E, Bugianesi E, Kotronen A, De Minicis S, Yki-Järvinen H, Svegliati-Baroni G. From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa? *Dig Liver Dis.* 2010;42:320-30.
29. 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.



30. Gawrieh S, Opara EC, Koch TR. Oxidative stress in nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and antioxidant therapies. *J Investig Med.* 2004 ;52:506-14
31. 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.
32. McCullough AJ. Epidemiology of the metabolic syndrome in the USA. *J Dig Dis.* 2011 Oct;12:333-40.
33. Clark JM. The Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adults. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 2006;40:5-10.
34. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology.*2006;44:865–873.
35. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology.*2005;129:113–121.
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. Targher G., Bertolini L., Padovani R., Rodella S., Tessari R., Zenari L., Day C., Arcaro G. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.*2007;30:1212–1218.

38. Targher G., Day C.P., Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N. Engl. J. Med.* 2010;363:1341–1350.
39. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S, Bugianesi E, Magalotti D, Vanni E, Zoli M, Marchesini G. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.*2005;42:473–480.
40. Colak Y, Senates E, Yesil A, Yilmaz Y, Ozturk O, Doganay L, Coskunpinar E, Kahraman OT, Mesci B, Ulasoglu C, Tuncer I. Assessment of endothelial function in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrine* 2013;43:100–107.
41. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2004;24:3–20.
42. Conlon BA, Beasley JM, Aebersold K, Jhangiani SS, Wylie-Rosett J. Nutritional Management of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients.* Oct 2013;5:4093-4114.
43. 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.
44. 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.
45. 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.

46. Solga S, Alkhuraishe AR, Clark JM, Torbenson M, Greenwald A, Diehl AM, Magnuson T. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*.2004;49:1578–1583.

47. Schwimmer JB, Celedon MA, Lavine JE, Salem R, Campbell N, Schork NJ, Shieh-morteza M, Yokoo T, Chavez A, Middleton MS, Sirlin CB. Heritability of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2009;136:1585–1592.

48. 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.

49. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40:1461–1465.

50. 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.

51. 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.

52. Yoneda M, Naka S, Nakano K, Wada K, Endo H, Mawatari H, Imajo K, Nomura R, Hokamura K, Ono M, Murata S, Tohnai I, Sumida Y, Shima T, Kuboniwa M, Umemura K, Kamisaki Y, Amano A, Okanoue T, Ooshima T, Nakajima A. Involvement of a periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis* on the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. : *BMC Gastroenterol.* 2012;16:12-16.

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

54. M Raman, J Allard. Nonalcoholic fatty liver disease: A clinical approach and review. *Can J Gastroenterol* 2006;20:345-349.

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

56. 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.

57. Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: Clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev* 2004;5:27-42.

58. 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.
59. 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.
60. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Molecular Mechanisms and New Treatment Strategies for Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) .*Int. J. Mol. Sci.* 2014;15;7352-7379
61. 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.
62. Asaoka Y, Terai S, Sakaida I, Nishina H. The expanding role of fishmodelsin understanding non-alcoholic fatty liver disease. *Dis Model Mech.*2013 ;6:905-14.
63. Day C.P., James O.F. Steatohepatitis: A tale of two “hits”? *Gastroenterology* 1998;114;842–845
64. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple Hits, Including Oxidative Stress, as Pathogenesis and Treatment Target in Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH).*Int. J. Mol. Sci.* 2013;14; 20704-20728
65. Ilan Y. Leaky gut and the liver: A role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012;18:2609-18.

66. 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.
67. Periasamy S, Chien SP, Chang PC, Hsu DZ, Liu MY. Sesame oil mitigates nutritional steatohepatitis via attenuation of oxidative stress and inflammation: a tale of two-hit hypothesis. *J Nutr Biochem*. 2014 Feb;25:232-40.
68. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010;52:1836–46.
69. 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.
70. 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.
71. 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.
72. 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.

73. Z. M. YOUNOSSE: Review article: current management of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28:2–12.
74. 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.
75. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37:1202-1219
76. Brunt EM, Tiniakos DG. Alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2010 14;16:5286-96.
77. 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.
78. Tiniakos DG. Nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis: histological diagnostic criteria and scoring systems. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22:643-650.
79. Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA, Oliver D, Wehmeier KR, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: histologic features and clinical correlations with 30 blinded biopsy specimens. *Hum Pathol* 2004; 35:1070-1082.
80. Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49: 450-465.
81. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: pathologic features and differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22:330-338.

82. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, Khalil L, Turpin G, Opolon P, Poynard T. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000;118:1117-1123.
83. 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.
84. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2014 J; 20:475-485
85. 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.
86. 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.
87. 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.
88. 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.



89. 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.
90. Janiec DJ, Jacobson ER, Freeth A, Spaulding L, Blaszyk H. Histologic variation of grade and stage of non-alcoholic fatty liver disease in liver biopsies. *Obes Surg* 2005;15:497-501.
91. Pournik O, Alavian SM, Ghalichi L, Seifizarei B, Mehrnoush L, Aslani A, Anjarani S, Eslami S. Inter-observer and Intra-observer Agreement in Pathological Evaluation of Non-alcoholic Fatty Liver Disease Suspected Liver Biopsies. *Hepat Mon.* 2014;14:151-67.
92. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology* 2009;49:1017-1044
93. Schwenger KJ, Allard JP. Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20:1712-1723.
94. McCarthy EM, Rinella ME. The role of diet and nutrient composition in nonalcoholic Fatty liver disease. *J Acad Nutr Diet* 2012;112:401-409.
95. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Fagà E, Silli B, Pagano G. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003;37:909–16.
96. Cobo Martin M, Fernandez Gil P, Crespo J. Treatment of fatty liver disease. *Gastroenterol Hepatol* 2008;31:229-38.
97. Shaffer EA. Bariatric surgery: a promising solution for nonalcoholic steatohepatitis in the very obese. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:44-50.

98. 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 dyslipidemia: An open label, pilot study. *Hepatol Res* 2012;42:1065-72.
99. Ramirez-Tortosa MC, Ramirez-Tortosa CL, Mesa MD, Granados S, Gil A, Quiles JL. Curcumin ameliorates rabbits' steatohepatitis via respiratory chain, oxidative stress, and TNF- $\alpha$ . *Free Radic Biol Med* 2009;47:924–931.
100. Serviddio G, Bellanti F, Giudetti AM, Gnoni GV, Petrella A, Tamborra R, Romano AD, Rollo T, Vendemiale G, Altomare E. A silybin-phospholipid complex prevents mitochondrial dysfunction in a rodent model of nonalcoholic steatohepatitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2010, 332:922–932.
101. Paul Angulo, 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.
102. 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 Int.* 2010;30:1346-54.
103. Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int* 2007;27:1166-73.

104. 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;128:1898-906.
105. 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.
106. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, Tahiri M, Munteanu M, Thabut D, Cadranel JF, Le Bail B, de Ledinghen V, Poynard T. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterology* 2006;6:6.
107. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, Enders F, Saksena S, Burt AD, Bida JP, Lindor K, Sanderson SO, Lenzi M, Adams LA, Kench J, Therneau TM, Day CP. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45: 846-854.
108. Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between Non-invasive fibrosis markers and mortality among Adults with Non-alcoholic Fatty Liver Disease In the United States. *Hepatology*.2013 April;57:1357-1365
109. Naim Alkhouri, MD, and Arthur J. McCullough, MD. Noninvasive Diagnosis of NASH and Liver Fibrosis Within the Spectrum of NAFLD. *Gastroenterology & Hepatology* 2012; 8:10.

110. 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
111. 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.
112. Nakano M, Murohisa T, Imai Y, Hiraishi H. Validity of the NAFLD fibrosis score in a Japanese population. *Japanese Society of Gastroenterology* 2012;109:751-9.
113. 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.
114. 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.
115. 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

116. 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.
117. 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.
118. Calès P, Lainé F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, Hunault G, Rousselet MC, Hubert I, Laafi J, Ducluzeaux PH, Lunel F Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *J Hepatol* 2009;50:165–173.
119. Alahdab YÖ, Yilmaz Y. Transient elastografi (Fibroscan®):Karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesinde yeni ufuk. *Güncel Gastroenteroloji* 2013;17: 59-64.
120. Akyüz Ü, Yilmaz Y. Fibroscan'ın hepatolojide klinik kullanımı. *Skop Dergisi* 2014;in press
121. Jung KS, Kim SU. Clinical applications of transient elastography. *Clin Mol Hepatol* 2012;18 163-17.
122. Foucher J, Castéra L, Bernard PH, Adhoute X, Laharie D, Bertet J, Couzigou P, de Lédinghen V. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18:411-412.
123. de Lédinghen V, Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chu SH, Le Bail B, Choi PC, Chermak F, Yiu KK, Merrouche W, Chan HL. Diagnosis

of liver fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement: comparison between M and XL probe of FibroScan®. *J Hepatol* 2012;56:833-839.

124. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, Pollett A, Beaton M, Levstik M, Duarte-Rojo A, Wong D, Crotty P, Elkashab M. Discordance in fibrosis staging between liver biopsy and transient elastography using fibroscan XL probe. *J Hepatol* 2012;56:564-70.

125. Arena U, Vizzutti F, Corti G, Ambu S, Stasi C, Bresci S, Moscarella S, Boddi V, Petrarca A, Laffi G, Marra F, Pinzani M. Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography. *Hepatology* 2008;47:380-384.

126. Fung J, Lai CL, But D, Hsu A, Seto WK, Cheng C, Wong DK, Yuen MF. Reduction of liver stiffness following resolution of acute flares of chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2010;4:716-722.

127. Kellner P, Anadol E, Hüneburg R, Hundt F, Bös D, Klein B, Woitas RP, Spengler U, Sauerbruch T, Trebicka J. The effect of hemodialysis on liver stiffness measurement: a single-center series. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2013;25:368-72.

128. Kim SU, Choi GH, Han WK, Kim BK, Park JY, Kim do Y, Choi JS, Yang SC, Choi EH, Ahn SH, Han KH, Chon CY. What are 'true normal' liver stiffness values using FibroScan?: a prospective study in healthy living liver and kidney donors in South Korea. *Liver Int* 2010;30:268-274.

129. Roulot D, Czernichow S, Le Clésiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M. Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol* 2008;48:606-613.

130. Machado MV, Cortez-Pinto H. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal. *J Hepatol.* 2013 May;58(5):1007-19.
131. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med.* 2011;43:617-49.
132. Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Iida H, Nozaki Y, Yonemitsu K, Higurashi T, Takahashi H, Kobayashi N, Kirikoshi H, Abe Y, Inamori M, Kubota K, Saito S, Tamano M, Hiraishi H, Maeyama S, Yamaguchi N, Togo S, Nakajima A.. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis* 2008;40:371-8.
133. Nobili V, Vizzutti F, Arena U, Abrales JG, Marra F, Pietrobattista A, Fruhwirth R, Marcellini M, Pinzani M. Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2008 Aug;48:442-8.
134. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, Choi PC, Koww M, Chan AW, Merrouche W, Sung JJ, de Lédinghen V. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 454–62.
135. Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, Grigorescu M, Serban A, Radu C, Crişan D, Sparchez Z, Iancu S, Maniu A. Performance of unidimensional transient elastography in staging nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastrointest Liver Dis* 2010; 19: 53–60.

136. Petta S, Di Marco V, Cammà C, Butera G, Cabibi D, Craxì A. Reliability of liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease: the effects of body mass index. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1350–60.
137. ACE/ADA Task Force on Inpatient Diabetes. American College of Endocrinology and American Diabetes Association Consensus statement on inpatient diabetes and glycemic control. *Diabetes Care* 2006;29:1955-62.
138. Francque S, Verrijken A, Mertens I, Hubens G, Van Marck E, Pelckmans P, Van Gaal L, Michielsen P. Noncirrhotic human nonalcoholic fatty liver disease induces portal hypertension in relation to the histological degree of steatosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22:1449-57.
139. Choong CC, Venkatesh SK, Siew EP. Accuracy of routine clinical ultrasound for staging of liver fibrosis. *J Clin Imaging Sci* 2012;2:58.
140. Metz CE, Herman BA, Roe CA. Statistical comparison of two ROC-curve estimates obtained from partially-paired datasets. *Med Decis Making* 1998;18:110–21.
141. Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1160–74.
142. Castera L. Assessing liver fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008;2:541–52
143. Bedossa P. Liver biopsy. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32:4–7.
144. Denzer UW, Lüth S. Non-invasive diagnosis and monitoring of liver fibrosis and cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009;23:453–60.
145. Baranova A, Lal P, Binerdinc A, Younossi ZM. Non-invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol* 2011;11:91.



146. Wong GL. Update of liver fibrosis and steatosis with transient elastography (Fibroscan). *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2013;1:19–26.
147. Chang PE, Lui HF, Chau YP, Lim KH, Yap WM, Tan CK, Chow WC. Prospective evaluation of transient elastography for the diagnosis of hepatic fibrosis in Asians: comparison with liver biopsy and aspartate transaminase platelet ratio index. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:51–61.
148. Liu T, Wang X, Karsdal MA, Leeming DJ, Genovese F. Molecular serum markers of liver fibrosis. *Biomark Insights* 2012;7:105–17.
149. Yilmaz Y. Biomarkers for early detection of non-alcoholic steatohepatitis: implications for drug development and clinical trials. *Curr Drug Targets* 2013;14:1357–66.
150. Papastergiou V, Tsochatzis E, Burroughs AK. Non-invasive assessment of liver fibrosis. *Ann Gastroenterol* 2012;25:218–31.