

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARASTIRMA HASTANESİ
GASTROENTEROLOJİ KLİNİĞİ**

**NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI OLAN
HASTALARDA LEKTİN BENZERİ OKSİDE DÜŞÜK
YOĞUNLUKLU LİPOPROTEİN RESEPTÖRÜ-1
DÜZEYİNİN BİYOBELİRTEÇ OLARAK ÖNEMİ
VE KARACİĞER FİBROZİSİYLE KORELASYONU**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. OĞUZHAN ÖZTÜRK

İSTANBUL – 2011

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARASTIRMA HASTANESİ
GASTROENTEROLOJİ KLİNİĞİ**

**NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI OLAN
HASTALARDA LEKTİN BENZERİ OKSİDE DÜŞÜK
YOĞUNLUKLU LİPOPROTEİN RESEPTÖRÜ-1
DÜZEYİNİN BİYOBELİRTEÇ OLARAK ÖNEMİ
VE KARACİĞER FİBROZİSİYLE KORELASYONU**

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Dr. OĞUZHAN ÖZTÜRK

Danışman: Doç. Dr. İLYAS TUNCER

İSTANBUL – 2011

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
NAFLD'İN EPİDEMİYOLOJİSİ.....	6
NAFLD'İN DOĞAL SEYRİ.....	7
NAFLD'İN ETYOLOJİSİ.....	9
NAFLD'İN PATOGENEZİ.....	10
NAFLD TANISINDA LABORATUVAR VE NONİNVAZİV YÖNTEMLER.....	14
NAFLD TANISINDA KARACİĞER BİYOPSİSİNİN YERİ.....	16
NAFLD TANISINDA BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER.....	21
LEKTİN BENZERİ OKSİDE DÜŞÜK YOĞUNLUKLU LİPOPROTEİN RESEPTÖRÜ-1.....	24
NAFLD'İN TEDAVİSİ.....	26
GEREÇ VE YÖNTEM	27
ETİK KURUL.....	27
ÇALIŞMA GURUPLARI.....	27
Alınma kriterleri.....	27
Dışlanma kriterler.....	27
KLİNİK ve BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER.....	28
KARACİĞER HİSTOLOJİSİ.....	29
BİYOKİMYASAL ANALİZ.....	29
Serum LOX-1 düzeyi.....	30
VERİLERİN ANALİZİ.....	30
BULGULAR	32
TARTIŞMA VE SONUÇ	39
KAYNAKLAR	42

TEŞEKKÜR

Gelecekteki çalışma hayatımı belirleyecek olan Gastroenteroloji uzmanlık eğitimimde büyük katkıları olan, etik kurallara saygısıyla örnek aldığım çalışkan, bilgi ve tecrübesiyle iyi bir klinisyen olan Klinik Şefimiz Doç. Dr. İlyas Tuncer'e öncelikle teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca eğitimimizin ilk gününden itibaren bize güven veren, akademisyenliği ve büyüklüğü ile sürekli yanımızda olduğunu hissettiren değerli hocamız Prof. Dr. Aytekin Oğuz'a çok teşekkür ederim.

Yine bu süreçte ellerinden geleni esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini sürekli bizimle paylaşan ve yardıma ihtiyacımız olduğunda hemen yardımımıza koşan değerli uzmanlarımız Uzman Dr. Güralp Taşan, Uzman Dr. Hak Celal Ulaşoğlu, Doç. Dr. Şafak Kızıлтаş, Uzman Dr. Feruze Enç'e çok teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında bana çok yardımcı olan ihtisas arkadaşım Dr. Yaşar Çolak'a ve özellikle yoğun iş temposuna rağmen bize yardımcı olan hemşire arkadaşımız Özlem Akgüneş'e çok teşekkür ederim. İhtisasıma birlikte başladığım ve özellikle ilk günlerde karşılaştığımız zorlukları birlikte aştığımız arkadaşım Dr. Levent Doğanay'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışma hayatımız boyunca acı tatlı günlerimizi paylaştığımız hem iş hem de hayat tecrübelerim açısından katkıları olan diğer ihtisas arkadaşlarım Dr. Gupse Adalı ve Dr. Elif Yorulmaz'a da teşekkür ederim. Dahiliye ihtisasım sırasında tanışma mutluluğuna eriştiğim iyi bir dostum olan Mehmet Kovacıoğlu'na da ayrıca teşekkür ederim.

Yoğun iş temposunda sürekli birlikte olduğumuz Endoskopi ünitesindeki çalışma arkadaşlarımızdan sorumlu hemşiremiz Rahşan Hanım ve diğer hemşire arkadaşlarımız; Gülay Hanım, Serap Hanım, Funda Hanım, Elmas Hanım, Fatma Hanım, Aysel Hanım, Aysun Hanım ve yardımcı arkadaşlarımız Aykut Bey, Mine Hanım, Elif Hanım, Murat bey ve Hayri Bey'e teşekkür ederim. Aynı şekilde klinikte birlikte çalıştığımız hemşirelerimizden Yasemin Hanım, Melike Hanım, Zeliha Hanım, Funda Hanım, Sabriye hanım, Ayça Hanım ve diğer çalışma arkadaşlarımıza da teşekkür ederim.

Özellikle varlığı ile bana daima moral ve güç veren, yoğun çalışma tempoma sabretme inceliğini gösterebilen, mutluluk kaynağım, biricik eşim Kevser'e çok teşekkür ederim. Ayrıca hayatım boyunca her zaman yanımda olan güzel emeklerini ve dileklerini benden esirgemeyen annem ve babama da sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Uzm. Dr. Oğuzhan Öztürk
MART-2011

KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALP	: Alkalen fosfataz
CRN	: Klinik Araştırma Ağı
CK-18	: Sitokeratin-18
DGAT	: Diaçilgliserol açıltransferaz
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
GGT	: Gama-glutamil transferaz
HCC	: Hepatosellüler karsinom
HSH	: Hepatik stellat hücre
HDL	: High-density lipoprotein
HOMAIR	: Homeostasis model of insulin resistance
IL	: İnterlökin
İR	: İnsülin rezistansı
JNK	: c-jun-N terminal kinaz
LDL	: Low-density lipoprotein
LOX-1	: Lektin benzeri okside düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1
MR	: Manyetik rezonans görüntüleme
MDC	: Mallory-Denk cisimleri
MPO	: Myeloperoksidaz
miR	: Mikro RNA
NAFLD	: Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
NASH	: Nonalkolik steatohepatit
NAS	: :NAFLD aktivite skoru
NF-KB	: Nüklear faktör-K β
PPAR $-\gamma$: Peroksizom proliferatör aktive eden reseptör- γ
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri

SYA	: Serbest yağ asitleri
sRAGE	: İleri glikasyon son ürünleri için çözünür reseptör
SREBP-1c	: Sterol duyarlı element bağlayıcı protein-1c
TNF- α	: Tümör nekroz faktör-alfa
USG	: Ultrasonografi
VKİ	: Vücut kitle indeksi
WHO	: Dünya sağlık örgütü
XBP1	: X-Box bağlayıcı protein1

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1 : NAFLD'lı Bireylerde Yapılan Ardışık Karaciğer Biyopsileri ile Fibrozis Evresindeki Değişikliklerin Değerlendirildiği Çalışmalar.....	8
Tablo 2 : LOX-1 Ekspresyonunu Uyararak Düzenleyen Moleküller	25
Tablo 3 : NAFLD'lı Bireyler ve Sağlıklı Kontrollerin Genel Özellikleri.....	32

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİL 1. NAFLD'ın klinik seyri.....	3
ŞEKİL 2. NAFLD patogenezinde etkili mekanizmalar.....	11
ŞEKİL 3. Karaciğerdeki basit steatozun mikroskopik görüntüsü.....	18
ŞEKİL 4. Steatohepatit ve karaciğer fibrozisinin mikroskopik görüntüsü.....	19
ŞEKİL 5. NAFLD'lı bireylerin dağılımı.....	33
ŞEKİL 6. NAFLD'lı bireylerin fibrozis evrelerine göre dağılımı.....	34
ŞEKİL 7. NAFLD ve sağlıklı kontrollerdeki serum LOX-1 düzeyinin karşılaştırılması.....	35
ŞEKİL 8. Çalışma gruplarında saptanan ortalama LOX-1 seviyelerinin karşılaştırılması.....	36
ŞEKİL 9. NASH (kesin + olası NASH) grubu ile sağlıklı kontrol grubu ayırımında serum LOX-1 düzeyleri kullanılarak oluşturulan ROC eğrisi.....	38

ÖZET

Amaç: Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) günümüzde kronik karaciğer hastalıklarının en yaygını haline gelmiştir. NAFLD tanısını koymak için karaciğerdeki inflamasyon şiddeti ve fibrozis derecesini belirlemek gereklidir. Günümüzdeki altın standart yöntem karaciğer biyopsisidir. Ancak işlemin invaziv olması nedeni ile noninvaziv tanı yöntemlerinin geliştirilmesi konusunda çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmada karaciğer biyopsisi ile tanı konulmuş NAFLD olgularında, serum Lektin benzeri okside düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1 (LOX-1) düzeyleri ile hastalarının klinik ve histopatolojik özellikleri arasındaki ilişkileri araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 53 hasta ve 26 sağlıklı kontrol dahil edildi. Kişilerden alınan serum örneklerinde ELISA yöntemiyle LOX-1 düzeyleri araştırıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiyi test etmek için lojistik regresyon analizi kullanıldı.

Bulgular: Serum LOX-1 düzeyleri biyopsi kanıtlı NAFLD olgularında ortalama $8,49 \pm 6,43$ ng/ml iken sağlıklı grupta $4,08 \pm 4,32$ ng/ml saptandı. Serum LOX-1 düzeyi NAFLD grubunda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ($P=0,001$). LOX-1 serum düzeyi için belirlenen cutt off değeri $5,35$ ng/ml alınarak oluşturulan ROC eğrisi analizinde, serum LOX-1 düzeyinin, steatohepatit grubunu sağlıklı kontrollerden ayırmadaki duyarlılığının %69,8, özgüllüğünün %69,2 olduğu gösterildi.

Sonuç: Serum LOX-1 düzeyi NAFLD'lı olgularda sağlıklı gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulundu. Yine serum LOX-1'in, steatohepatit grubunu sağlıklı kontrollerden yüksek duyarlılıkla ayırabildiği gösterildi. Bulgularımızın daha geniş çaplı çalışmalarla desteklenmesi halinde LOX-1 düzeylerinin hem hastalık patofizyolojisindeki rolünün aydınlatılabileceğini hem de tanıda kullanılabilen noninvaziv bir biyobelirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Biyobelirteç, Karaciğer fibrozisi, Lektin benzeri okside düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1, Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, Steatohepatit

THE SIGNIFICANCE OF LECTIN-LIKE OXIDIZED LOW-DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR-1 IN PATIENTS WITH NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AND ITS CORRELATION WITH LIVER FIBROSIS

ABSTRACT

Aim: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become the most common subgroup of the chronic liver diseases. The degree of inflammation and the grade of fibrosis should be determined for the diagnosis of NAFLD. The gold standard tool for diagnosis is liver biopsy. The invasiveness of the biopsy motivate investigators to find a noninvasive alternative method. In this study, we aimed to evaluate the relation between serum lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1(LOX-1) levels and clinical and histo-pathologic features of biopsy confirmed NAFLD patients.

Materials and Methods: Fifty-three patients and 26 healthy controls were included in this study. Serum LOX-1 levels were measured by ELISA in the samples obtained from both patients and healthy controls. Logistic regression test was performed to evaluate the relation between variables.

Results: The mean serum LOX-1 level in biopsy proven NAFLD patients was 8,49+6,43 ng/ml and it was 4,08+4.32 ng/m in healthy controls. The difference was statistically significant ($p=0,001$). The cut off value for serum LOX-1 level was set at 5,35 ng/ml and the ROC curve analysis were done. The sensitivity and specificity of the serum LOX -1 level were 69,8% and 69,2%, respectively for distinguishing steatohepatitis and healthy controls.

Conclusion: Serum LOX-1 levels were significantly higher in NAFLD patients compared to healthy controls. Also serum LOX-1 levels could successfully differentiate steatohepatitis patients from healthy controls at a high sensitivity. In our opinion, if it is confirmed with further studies including more patients, the role of LOX-1 in disease

pathology could be established and then probably it will turn out to be a noninvasive marker for diagnosis for NAFLD.

Key Words: Biomarkers, Liver fibrosis, Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1, Nonalcoholic fatty liver disease, Steatohepatitis

GİRİŞ VE AMAÇ

Alkol alımı olmamasına rağmen karaciğer yağlanması nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH=NAFLD) olarak kabul edilmektedir (1). Nonalkolik karaciğer yağlanması tüm dünyada en sık görülen kronik karaciğer hastalıklarından birisidir ve giderek daha da yaygınlaşmaktadır (2, 3).

NAFLD terimi basit yağlanmadan nonalkolik steatohepatite (NASH) kadar uzanan geniş bir yağlı karaciğer değişikliği yelpazesini tanımlamak için kullanılır (4). Nonalkolik karaciğer yağlanması olmasına rağmen, histopatolojik olarak nekroinflamasyon bulgularının olmaması nonalkolik karaciğer yağlanması ya da basit steatoz olarak isimlendirilir. Nonalkolik karaciğer yağlanması ile birlikte nekroinflamasyonun varlığı ise NASH olarak isimlendirilir. Basit yağlanma genellikle selim bir seyre sahipken, steatohepatit karaciğer fibrozisine yol açarak siroza kadar ilerleyebilir. Bu nedenle ortaya çıkacak morbidite ve mortalitenin de artmasına yol açabilir (5). Bu nedenle NASH'li hastalar erken dönemde tanınmalı ve müdahale edilmelidir (6, 7).

Günümüzde karaciğer biyopsisi, NAFLD tanısı koymada, eşlik eden inflamasyon ve fibrozis derecesinin belirlenmesinde, NASH'in ayrımında ve diğer ayırıcı tanıdaki hastalıkların dışlanmasında altın standart yöntemdir (8). Karaciğer biyopsisi NAFLD tanı ve takibinde çok önemli bir yere sahip olsa da bazı zorluklarla karşılaşmamıza yol açmaktadır (7). Bu yüzden klinik yaklaşımda NASH ve karaciğer fibrozisi riskini taşıyan hastaları tanımlayabilmek için, klinik değerlendirmeye yardımcı olacak ek tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu konuda yeterli düzeyde araştırılmış biyobelirteçler, NASH hastalarını basit karaciğer yağlanması olan hastalardan ayırarak hastaların prognozunu belirlemede etkili olabilirler. Ancak bu konuda istenilen düzeyde kanıt sağlanamadığından NAFLD'lı hastalarda birçok biyomolekül halen araştırılmaktadır.

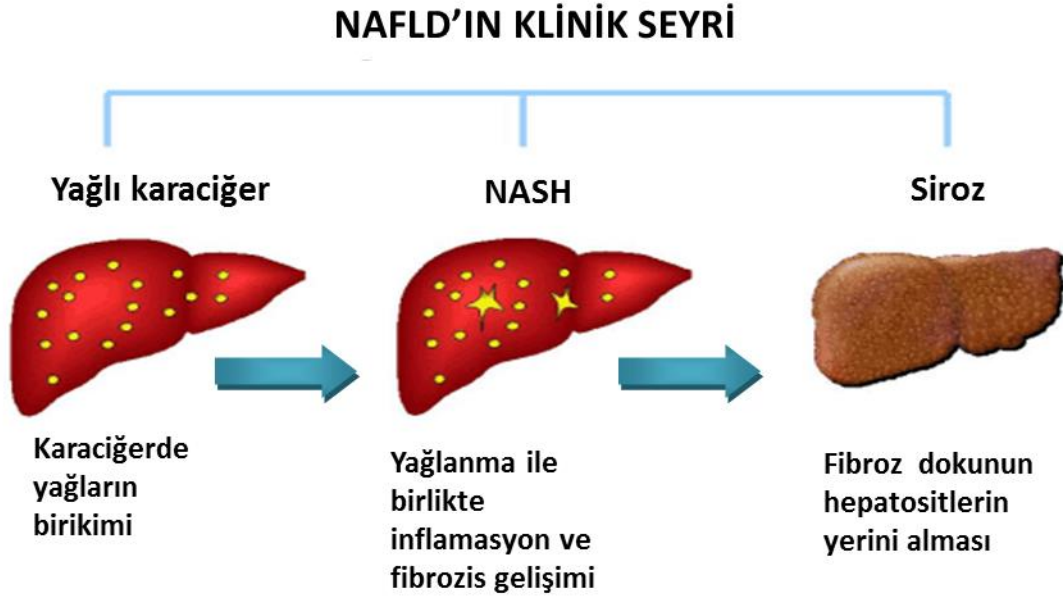
Son yıllarda yapılmış çalışmalarda, serum lektin benzeri okside düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1 (LOX-1) düzeylerinin diyabet, metabolik sendrom ve

koroner arter hastalığı olan bireylerde artmış olduğu gösterilmiştir (9). Ancak günümüzde, literatürde NAFLD olgularında LOX-1 düzeyleri ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Metabolik sendrom ve bu tablo ile ilişkili olan diyabet ve koroner arter hastalıkları gibi durumlarda önemi gösterilen LOX-1 düzeylerinin, metabolik sendromun hepatik bir komponenti olan NAFLD olgularında da yüksek olacağını öngörmekteyiz. Bu tez ile biyopsi kanıtlı NAFLD'lı bireylerde serum LOX-1 düzeyi ile hastaların klinik, biyokimyasal ve histopatolojik özellikleri arasındaki ilişkileri araştırmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı kronik karaciğer hastalıklarının en sık nedenlerinden biridir ve tüm dünyadaki insidansı giderek artmaktadır (8). Alkol alımı olmayan bireylerde saptanan karaciğer yağlanması bu isim verildiği için alınan alkol miktarına vurgu yapılmıştır. Buna göre alkol almama kadınlar için 20 gram/gün, erkekler için 30 gram/gün altında alkol alımı şeklinde tanımlanmıştır (1).

NAFLD terimi inflamasyon ve fibrozisin eşlik etmediği basit yağlı karaciğerden, steatoz ile birlikte nekroinflamatuvar aktivitenin olduğu nonalkolik steatohepatite kadar olan geniş bir yelpazeyi tanımlar (4,10). NASH olgularının siroza kadar ilerleme potansiyeli mevcuttur. Ayrıca çalışmalarda, hem sirotik hem de non sirotik NAFLD'lı bireylerde hepatosellüler karsinom (HCC) gelişme riski sağlıklı bireylere göre artmış olarak saptanmıştır (11-13).



Şekil 1. NAFLD'ın klinik seyri

İlk olarak 1980 yılında, Mayo Klinik'ten Ludwig ve arkadaşları, alkol kullanmamış olmasına rağmen karaciğer fonksiyon testleri yüksek olan ve histopatolojik olarak alkole bağlı karaciğer hastalığında görülen bulguları içeren 20 hastalık bir seri sunmuş ve bu tabloyu da nonalkolik steatohepatit olarak tanımlamıştır (14). Sonrasında ise klinik olarak benzer olan ancak histopatolojik olarak NASH'de belirtilen bulguların sadece bir kısmını içeren olgular tanımlanmış. Bu nedenle bu konuda yeni tanımlamalar getirilmiştir. Karaciğer ağırlığının %5'den fazlasının yağ olması karaciğer yağlanması olarak tanımlanmıştır (1).

Tüm dünyada giderek yaygınlaşan NAFLD, batı toplumlarında en sık görülen karaciğer hastalığı olarak bilinmektedir ve metabolik sendromla çok yakın ilişki göstermektedir (15). Dünya sağlık örgütünün (WHO) tahminlerine göre, hastalığın insidansının bu hızla artması, NAFLD'ı gelecekteki en sık karaciğer transplantasyon sebeplerinden biri yapacağı yönündedir (16).

Yapılmış birçok çalışmada NAFLD'ın metabolik sendrom diyabet, obezite, insülin rezistansı, dislipidemi ile yakın ilişkisi gösterilmiştir (4, 8). Bunun yanında bazı ilaçlar kalıtsal hastalıklar ve cerrahi girişimlerden sonra da gelişebileceği gösterilmiştir (4). İnsülin direncinin varlığı NAFLD gelişiminde en önemli mekanizma olarak düşünülmektedir ve buna yol açan obezite, diyabet, hiperlipidemi varlığında NASH daha sık olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsülin direncini sağlayan bunun gibi birçok sistemik hastalığın varlığı NAFLD'ın izole karaciğer hastalığından çok sistemik bir hastalığın karaciğer tutulumu olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle günümüzde metabolik bozuklukların eşlik ettiği metabolik sendromun hepatik manifestasyonu olarak kabul edilmektedir (10, 17, 18). Metabolik anormalliği olan bireylerde ilginç olarak NAFLD mevcudiyeti ile karotis intima media kalınlığı arasında da bağımsız bir ilişki saptanmıştır (19). Karotid plaklar NAFLD'lı kişilerde %60 iken diğer durumlarda %38 saptanmıştır. Bu bulgularda NAFLD'ın diğer metabolik bozukluklardan farklı sistemik etkilerinin olduğunu göstermektedir (20).

Günümüzde NASH ve basit karaciğer yağlanmasını ayıran en güvenilir yöntem karaciğer biyopsisidir (21-23). NASH'ın kesin tanısı için diğer kronik karaciğer hastalıklarının da dışlanması gerekmektedir (10, 17, 22, 24). Karaciğer biyopsisi

güvenilir olmasına karşın hastalar tarafından kabulü zor ve komplikasyon riski olan bir işlemdir. Ayrıca alınan biyopsilerin bir kısmı doğru değerlendirme için yetersiz olabilmektedir (23, 25). Bu yüzden klinisyenler için kolay, güvenilir ve daha az invaziv tanı yöntemleri gerekmektedir. Bu amaçla çeşitli biyobelirteçler araştırılmaktadır (6, 7). Ayrıca NAFLD'lı hastalardaki fibrozisi değerlendirmek için değişik fibrozis hesaplama panelleri de oluşturulmuştur (26).

Hepatik steatoz, hepatositler içinde yağ birikimidir ve karaciğer biopsilerinde sık saptanabilen bir bulgudur. Lipid damlacıklarının morfolojisi ve boyutu, yağ birikiminin akut veya kronik olması ve etyopatogenez hakkında bilgi verebilir (10).

Mikroveziküler steatozda, çok sayıda küçük yağ damlacığı hepatosit sitoplazmasını doldurur, nükleusu perifere iter (27). Genellikle şiddetli karaciğer fonksiyon bozukluklarıyla birlikte ve serbest yağ asidi beta-oksidasyonunun son ortak yollarındaki bozuklukları paylaşan bazı kalıtsal veya kazanılmış hastalıklarda gözlemlenebilir (10). Makroveziküler steatozda ise büyük tek bir yağ vakuolu veya daha küçük sınırları belirgin yağ damlacıkları hepatosit sitoplazmasını doldurur, nükleusu perifere doğru iter ve karakteristik taşlı yüzük görünümüne neden olur (27, 28). Karaciğerde artmış yağ asidi yükü, yetersiz oksidasyon ve karaciğerden değişik formdaki yağların azalmış sekresyonu gibi patolojik değişikliklerin olduğu karmaşık olaylar sonucu oluşur (29). NAFLD'da hakim olan makroveziküler steatozdur. Mikst tipte steatoz görülebilmekle birlikte hemen daima makroveziküler steatoz ön plandadır. Mikroveziküler steatozun hakim olması durumunda tanı gözden geçirilmeli ve başta ilaç toksitesi olmak üzere diğer nedenler araştırılmalıdır (28).

Hepatik steatoz altta yatan nedenin düzelmesine bağlı olarak gerileyebilir veya devam etmesiyle birlikte NASH'e ilerleyebilir (23). NASH ise steatozis, inflamasyon, fibrozis, hepatositlerin balonlaşması, apoptotik hücreler ve "Mallory"nin hyalini ile karakterizedir. İnflamasyonun derecesi her zaman fibrozisle korele değildir (4, 5, 8) Hepatositlerdeki balonlaşma NASH için çok önemli bir özelliktir. Çalışmalarda balonlaşmanın varlığı ile şiddetli hastalık ve yüksek siroz insidansı arasındaki ilişki gösterilmiştir (30).

Apoptotik cisimler (asidofilik) programlanmış hücre ölümünün bir özelliğidir ve hepatosit hasarının gelişmesinde diğer bir yolu sağlar. Bu yolla görülen hücre hasarı da NASH'lı hastalarda yaygındır. Rutin boyalarla kolayca tanımlanır. Fakat immunhistokimyasal boyamalarla saptanan keratin-18 fragmentleri aynı antijendir ve son zamanlarda NASH'de biyomarkır olarak kullanılabilceği vurgulanmaktadır (31, 32).

NAFLD'lı hastalarda artmış portal inflamasyon hastalığın şiddetiyle koreledir ve NASH tanısında önemlidir (33). Önceden Mallory cismi veya Mallory'nin hyalini olarak bilinen Mallory-Denk cisimleri de nekroinflamasyon dercesiyle ve siroz gelişme insidansı ile korele bulunmuştur (30).

Fibrozis asiner zon 3 bölgesinden başlar. Ekstrasellüler matriks fibrilleri ve kollajenler zon 3'ün sinüzoidleri boyunca ve hepatositler etrafında birikmeye başlar (34, 35). İlerlemiş hastalarda da köprüleşme fibrozisi ve siroz gelişebilir (28). Sirotik dönemde perisinüzoidal fibrozis ve aktif hastalığın diğer bulguları olabilir veya olmayabilir. Bu yüzden NASH'i veya diğer kronik karaciğer hastalıklarını gösteren başlangıç biyopsisi yoksa bu tür hastalar kriptojenik siroz olarak adlandırılırlar (36).

NAFLD'da tedavi direkt olarak insülin rezistansının ve metabolik risklerin azaltılmasına yöneliktir. Yaşam tarzı değişiklikleri etkin ve güvenilir olmakla birlikte cerrahi, diyet desteği, farmakoterapi için yıllar içinde değişik sonuçlar bildirilmiştir. Kilo verilmesi karaciğer histolojisinde kalıcı iyileşme sağlarken ilaçlarla yapılmış kontrollü randomize çalışmalarda hem karaciğer histolojisi hem de uzun dönem sonuçlar bakımından yetersizlikler vardır (15). Bugün için NAFLD tedavisinde güvenilir ve etkin bir ilaç kesin olarak gösterilememiştir (37, 38).

NAFLD'IN EPİDEMİYOLOJİSİ

Batı toplumlarında NAFLD'nin prevalansı %20-30 arasında tahmin edilirken morbid obezlerde %90'lara kadar çıkmaktadır (39-41). NAFLD'nin çocuklardaki prevalansı ise genel popülasyonda %3 iken obez çocuklarda %53'lere kadar çıkmaktadır (42, 43). NAFLD yaş ve etnik gruba göre de farklı oranlarda karşımıza çıkar. Amerikada

hispaniklerde %45 iken, beyazlarda %33 ve siyahlarda %24 olarak görülmektedir. Yine beyaz erkeklerde %42 iken beyaz kadınlarda %24 olarak tespit edilmiştir. Hispanik ve siyahlarda ise cinsiyet farkı saptanmamıştır (39).

Yine çocukluk döneminde ve adolesan dönemde etnik gruplara göre farklılıklar olabilmektedir (44). Bu durum daha çok farklı etnik gruplarda vücut yağ dağılımının farklı olmasıyla açıklanmaktadır. Mesela hispaniklerde vücut yağ oranı daha fazla ve bel/kalça oranı daha yüksek saptanmıştır (45). Yine Asyalı'larda, benzer vücut kitle indeksi (VKİ) olan beyazlara göre visseral yağ oranı daha yüksek, yağsız vücut oranı daha düşük oranda tespit edilmiştir (46). Bu yüzden farklı etnik gruplardaki lipid dengesinde görülen farklılıkların NAFLD sürecini etkilediği düşünülmektedir (39). NAFLD'ın klinik olarak daha şiddetli ve önemli formu olan NASH ise genel popülasyonda %2-3'den az olmakla birlikte morbid obez popülasyonda %37'lere kadar çıkmaktadır (41, 47). NASH siroza progrese olabilir ve sonuçta hastalarda karaciğer karsinomu gelişebilir (39, 40).

NAFLD'lı bireylerde genellikle tek başına olan ve en sık görülen laboratuvar anormallığı serum transaminazlarındaki hafif ya da orta dercedeki yüksekliklerdir (48). Genellikle obez olan bu bireylerde hiperlipidemi, tip-2 diyabet, hipertansiyon ve insülin rezistansı tabloya sıklıkla eşlik etmektedir (8).

NAFLD'IN DOĞAL SEYRİ

NAFLD'ın doğal seyrinde, basit yağlanma olgularının genellikle normal bireylere yakın oranda sağkalıma sahip olduğu gözlenirken, steatohepatit gelişenlerde karaciğer fibrozisine ve siroza ilerleme eğilimi nedeniyle morbidite ve mortalitenin arttığı saptanmıştır (5, 49). Ayrıca bu hastalardaki HCC görülme sıklığının sağlıklı bireylere göre arttığı bulunmuştur (12).

Yüksek VKİ ve artmış insülin rezistansı veya tip-2 diyabet varlığı fibrozis progresyonunu artıran önemli risk faktörleridir (50, 51). Tanı sırasında saptanan histolojik bulgulardan hepatositlerdeki steatoz, inflamasyon ve balonlaşma önemli şekilde düzelebilir veya tamamen ortadan kaybolabilir. Önemli olan fibrozis varlığıdır.

Bu yüzden fibrozis yaygınlığı dışındaki bu bulgular NAFLD’ın uzun dönem prognozunu tahmin etmede gerçekçi olmayabilir (51). Bu konuda yapılmış çalışmalarda hastaların genellikle %30-40 oranında progresyon gösterdiği saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. NAFLD’lı Bireylerde Yapılan Ardışık Karaciğer Biyopsileri ile Fibrozis Evresindeki Değişikliklerin Değerlendirildiği Çalışmalar

Yazar (yıl)	Hasta sayısı	Biyopsiler arası ortalama zaman aralığı (yıllar)	Hastalığı İlerleyenler n (%)	Hastalığı stabil kalanlar n (%)	Hastalığı iyileşme gösterenler n (%)
Harrison (2003)	22	5.7 (1.4-15.7)	7 (32)	11 (50)	4 (18)
Fassio (2004)	22	4.3 (3-14.3)	7(32)	11(50)	4 (18)
Adams (2005)	103	3.2(0.7-21.3)	38 (37)	35 (34)	30 (29)
Ekstedt (2006)	70	13.8 (10.3-16.3)	29 (41)	30 (43)	11 (16)

NAFLD’ın ileri evrelere progresyonu genellikle yavaştır yıllar hatta dekadlar sürebilir. Ancak tanı konduğu andaki evresi önemlidir. Sadece steatoz olanlarda prognoz çok selimdir. Danimarka’da çoğu morbid obez olan 109 hastalık bir çalışmada yaklaşık 17 yıl gibi uzun bir süre hastalar takip edilmiş. Bu süre sonundaki siroz insidansı %1’den az olarak tespit edilmiştir (52). Ancak yapılan son çalışmalarda sirotik aşamadaki NASH’lı hastalarda prognozun kötü olduğu saptanmıştır (53-55). Bu çalışmalardaki 4-10 yıllık takipler sonucunda hastaların %9-26’sının öldüğü tespit edilmiştir. Çoğu ölüm nedeninin ise son dönem karaciğer hastalığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

NAFLD’lı bireylerdeki sağkalımın, genel popülasyondaki aynı yaş ve cinsiyettekilere göre daha kısa olduğu yapılmış başka çalışmalarda da gösterilmiştir (50, 56). Amerikada yapılmış toplum tabanlı bir çalışmada; karaciğer ilişkili komplikasyonlardan ölüm, NAFLD’lı bireylerde 3. sırada saptanırken genel

populasyonda 13. sırada tespit edilmiştir. Yine bozulmuş açlık glukozu veya diyabet, ileri yaş ve siroz varlığının NAFLD'lı bireylerdeki yüksek mortaliteyle bağımsız ilişkisi olduğu saptanmıştır (56). NAFLD'ın ayrıca kronik hepatit C, alkolik karaciğer hastalığı, hemakromatozis gibi diğer kronik karaciğer hastalıklarının şiddetini arttırarak progresyonlarını hızlandırdığı da gösterilmiştir (57).

NAFLD'IN ETYOLOJİSİ

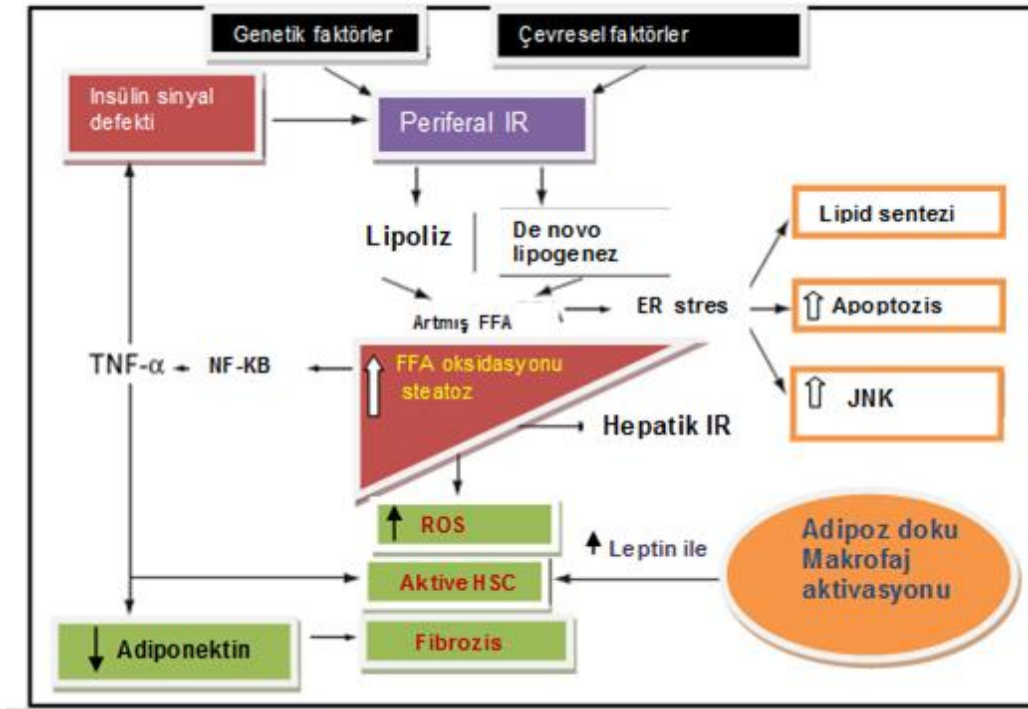
NAFLD'ın ana nedeni olarak insülin rezistansı ve buna yol açan tip-2 diyabet, obezite ve dislipidemi gibi metabolik değişiklikler sorumlu tutulmuştur (58). Santral tip obezite artmış visseral yağ toplanmasıyla ilişkilidir. Visseral yağ dokusunun lipolitik potansiyeli yüksektir ve serbest yağ asitlerinde (SYA) artışa yol açarak insülin rezistansında önemli mediatör görevi görür (59). Bu yüzden santral obeziteli hastalar olmayanlara göre daha sıklıkla insülin rezistansı ile birliktelik gösterir (60).

Çeşitli etnik toplulukların bulunduğu Amerikada yapılmış çalışmalarda, değişik etnik gruplardaki NAFLD prevalansının farklı olduğu saptanmıştır. Hispanik yetişkinler ve çocuklarda NAFLD daha fazla görülürken siyahlarda daha az tespit edilmiştir (39, 44). Bu durum ırksal farklılıklara bağlı olarak vücut kompozisyonlarının ve vücut yağ dağılımlarının farklı olmasıyla açıklanmaktadır (39). Zaten genetik yatkınlık nedeniyle gelişen santral obezite ve tip-2 diyabetin NAFLD gelişiminde rol oynadığı şüphesizdir (58). Genetik faktörlerle ilgili Dallas grubunun çalışmasında da NAFLD'a eğilimi artıran ve progresyonuyla ilişkili PNPLA3 gen varyantlarının etnik farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular kalıtsal farklılıkların NAFLD patogezindeki etkilerini ortaya çıkarmaktadır (61).

Çevresel faktörler ile azalmış fiziksel aktivite, yağdan zengin beslenme gibi yaşam stiliyle ilişkili faktörlerin, insülin rezistansı (İR) gelişmesine yol açarak NAFLD ve İR ilişkili hastalıkların gelişiminde etkili olduğu iyi bilinmektedir (58).

NAFLD'İN PATOGENEZİ

NAFLD patogenezinde ilk ortaya atılan patogenez mekanizması Day ve James tarafından öne sürülen çift vuruş (two hits) hipotezidir. Bu hipoteze göre ilk vuruş steatozu oluştururken, ikinci vuruş nekroinflamatuvar aktivitenin başlamasını ve NASH gelişimini oluşturmaktadır (62). Ancak daha sonra serbest yağ asitlerinin etkileri hakkındaki bilgiler arttıkça SYA'lerinin karaciğer hasarında direk etkilerinin olduğu anlaşıldı. Böylece bu teorinin modifiye edilmesini sağladı. Obezite ve İR varlığında karaciğere SYA sunumunda artış olur. SYA'leri hem beta oksidasyona uğrar hem de gliserolle esterleşerek trigliseride dönüşürler ve hepatik yağ birikimine yol açarlar. Böylece SYA'leri oksidatif stres ve inflamatuvar yolları aktive ederek direk toksisiteye yol açabilir (63). Bu patogenetik mekanizmalara başka bir komponent veya ‘‘üçüncü vuruş’’ da eklenmiştir ki bu da yetersiz hepatosit proliferasyonunu yansıtmaktadır (64). NAFLD patogenezinde, İR, oksidatif stres, hepatik stellat hücre aktivasyonu, apoptozis, inflamasyon ve genetik nedenlerin etyopatogenezdeki rolleri birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu faktörlerin NAFLD patogenezindeki muhtemel rolleri Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. NAFLD patogenezinde etkili mekanizmalar

Periferal insülin rezistansı, karaciğerde serbest yağ asitlerinin üretiminde artışa yol açar. Bu durum SYA'lerinin alımı, sentezi ve taşınması ile oksidasyonu arasında dengesizliğe yol açarak hepatic steatoza neden olur. Böylece ilk vuruş sonrası inflamasyona duyarlı hale gelen hepatositlerde SYA'lerinin oksidasyonu sonucu gelişen reaktif oksijen radikallerinin (ROS) üretimi apoptozis ve inflamatuvar hasarı tetikleyerek HSH'lerin aktivasyonunu sağlar ve karaciğer fibrozisine yol açar. Artmış hepatic SYA, endoplazmik retikulum stresine yol açar ve c-jun-N terminal kinazın (JNK) aktivasyonuna neden olarak hepatositlerde inflamasyon ve apoptozisi artırır. Yine adipoz dokudan sekrete edilen adipositokinlerden leptinin adiposit metabolizması ve insülin aracılı yollarda direkt etkisi vardır. Adiponektinin ise antiinflamatuvar ve antisteatotik etkisi vardır. Adiponektinin sentezi, özellikle NF- κ B aracılığıyla sentezi artırılan Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) tarafından düzenlenir (15).

Kilo artışıyla birlikte adipoz doku artışı ve hepatik insülin rezistansı, hipertrigliseridemi ve artmış serbest yağ asitleri (SYA) visseral adipoz dokunun artışına neden olurlar. Artmış visseral adipoz doku da henüz tam olarak anlaşılammış mekanizmalar aracılığıyla insülin rezistansını gelişiminde etkili olur (15). TNF- α ve interlökin (IL)-6'nın SYA'lerinin lipoliz yoluyla artışına ve insülin reseptör substratının aktivasyonunu engelleyerek bu kısır döngüde rol aldığı ileri sürülmüştür. Mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve de novo lipogenezin de bu kısır döngüde etkileri olduğu gösterilmiştir (65, 66).

Hepatik steatoz, lipid sentezi ve oksidasyonu arasındaki dengenin bozulmasıyla oluşur. Azalmış SYA oksidasyonuna neden olan potansiyel mekanizmalar olarak; peroksizom proliferatör aktive eden reseptör- α ekspresyonunun (PPAR- α) azalmasına bağlı yetersiz mitokondriyal β -oksidasyon, PPAR- γ ve sterol duyarlı element bağlayıcı protein-1c (SREBP-1c) yolunun aracılığıyla artmış de novo lipogenez ve artmış hepatik lipoliz düşünülmüştür. Endokannabinoid sistem ise hepatik cannabinoid CB1 reseptörlerinin aktivasyonu ile SREBP-1c ekspresyonunun artışına yol açar. Steatoz üzerine çalışmalar son zamanlarda daha da yoğunlaşmıştır. Diaçilgliserol açiltransferaz-1(DGAT-1)'in trigliserit sentezinde ve eksojen yağ asitlerinin esterifikasyonunda anahtar rolü olduğu son çalışmalarda gösterilmiştir. Bununla bağlantılı olarak DGAT1'in inhibisyonuyla, steatoz gelişiminin önlendiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (67).

Yine yağ asidi sentezinde rol alan genlerin kontrolünde etkili olduğu gösterilen X-Box bağlayıcı protein1'deki (XBP1) eksikliğin hipokolesterolemi ve hipotrigliseridemiye yol açtığı saptanmıştır. Ancak etkili olduğu mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır (68). NAFLD'lılarda değişmiş mikro RNA (miR) profili de saptanmıştır. Özellikle miR122'nin hücre metabolizmasında ve inflamasyonun düzenlenmesinde önemli rolü olduğu gösterilmiştir (69, 70).

Son zamanlarda tartışmalı olmakla birlikte bağırsak kaynaklı endotoksinlerin de NAFLD patogenezinde rol aldığını gösteren çalışmalar bildirilmiştir. Bağırsak permeabilitesinin NAFLD'lı bireylerde belirgin arttığı saptanmıştır. İnce bağırsakta

bakteriyel aşırı çoğalma sıklığında artış saptanmış olup bunu gösteren parametrelerin steatozun şiddetiyle korele olduğu gösterilmiştir (71).

Steatozun geliştiği karaciğerde tetikleyici mekanizmaların devreye girmesiyle inflamasyon aşaması ortaya çıkmaya başlar. Serbest yağ asiteri (SYA), nükleer faktör- $K\beta$ yolunun aktivasyonunu sağlayarak ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak inflamasyona neden olur. NAFLD'lı bireylerde C3 ve C4d kompleman sisteminin aktivasyonu ile birlikte karaciğerdeki apoptotik hücrelerde artış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Yine C3 birikiminin aktive olduğu hastalarda IL-6 ve IL-8 salınımının ve hepatik nötrofil infiltrasyonun önemli şekilde arttığı saptanmıştır (72). İntrahepatik naturel killer hücrelerde de artış görülür. Plazma myeloperoksidaz (MPO) agresif oksijen radikallerinin meydana gelmesini sağlayan bir nötrofil enzimidir ve NASH'lı hastalarda yüksek seviyelerde saptanmıştır (73). Çeşitli kemokinler ve hepatik nötrofil infiltrasyonu ile MPO aracılı oksidasyon ürünlerinin birikmesi NASH gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda da poliansature yağ asitlerinin yetersiz metabolizmasının ve yetersiz non enzimatik oksidasyonunun NASH progresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (74). Özetle nükleer transkripsiyon faktörlerinin bozulmasıyla ortaya çıkan anormal lipid metabolizmasının, inflamasyon patogenezindeki rolü çok önemlidir.

SYA aracılığıyla gelişen lipotoksisite birçok sinyal yolağının aktive olmasıyla gelişir. Mitokondriyal disfonksiyon, değişmiş lipid profili (özellikle n-3 poliansature yağ asitlerinin tüketilmesi), TNF- α aracılı sitotoksisite, c-jun-N terminal kinazın (JNK) aktivasyonu, lizozomal ve kaspaz yollarıyla hücre ölümü, endoplazmik retikulum stresinin aktivasyonu ve protein yanıt gelişmesindeki düzensizlik gibi çeşitli fizyopatolojik mekanizmalar hepatosit hasarında rol alır (75, 76). Son zamanlarda hepatosit hücre kültüründe yapılan bir çalışmada oleik asitin, palmitik asitten daha fazla steatojenik ve daha az apoptotik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Buna göre diyet farklılıklarının da NAFLD'ın patogenetik modellerindeki etkisi gösterilmiştir (77). Bunun yanında oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu JNK sinyal yolunun aktivasyonunu sağlar. Oksidantlar ve lipid peroksidasyon ürünü olan 4-hydroxynonenal

sinerjistik olarak JNK yolunu sürekli olarak aktive eder. Böylece NAFLD progresyonunda rol alarak hepatosit hasarı gelişimine katkıda bulunur (78).

NAFLD etyopatogenezinde rol aldığı düşünülen genetik varyantlardan en önemlisi patatin benzeri fosfolipaz etki alanı içeren-3 (PLPLA3) genetik polimorfizmidir. Adipositlerdeki triaçillerin hidrolizinden sorumlu triaçilgliserol lipaz enzimini kodlar (61, 79-81). Diğer genetik varyantlar; makrofaj migrasyon inhibitör faktör gen, adiponektin, metilentetrahidrofolat reduktaz, PPAR- γ koaktivatör1- α , haptoglobulin, TNF- α gen, ve ATP bağlayıcı kaset genden oluşmaktadır (82, 83). Anjiyotensin II tip 1 reseptör'ün ise özellikle fibrozis gelişiminde potansiyel önemi olduğu düşünülmektedir (84).

NAFLD'ın seyrinde fibrozis progresyonu basit yağlanmada beklenmezken steatohepatitli olgularda görülebilir. Proinflamatuvar sitokinler hepatik stellat hücre (HSH) aktivasyonunu sağlayarak kollajenoz matriks üretimini artırır ve hepatik fibrozis gelişimine yol açarlar. Matriks üretimi endokannabinoid reseptörlerin aktivasyonundan etkilenen HSH'lerin apoptozisi ile düzenlenir (85). Diaçilgliserol açıltransferaz inhibisyonu HSH aktivasyonunu azaltarak karaciğer fibrozisini azaltır. NAFLD VE NASH arasındaki temel fark hepatosit apoptozisinin yaygınlığıdır. Apoptotik hücrelerin fagositozu da HSH'lerin aktivasyonunu sağlar ve fibrozis progresyonunun artışına yol açar (86).

NAFLD TANISINDA LABORATUVAR VE NONİNVAZİV YÖNTEMLER

NAFLD genellikle rutin laboratuvar tetkikleri sırasında saptanan transaminaz yükseklikleri ve çoğunlukla NAFLD şüphesi dışındaki nedenlerle yapılmış ultrasonografik incelemeler veya diğer görüntüleme yöntemleri sonucunda rastgele teşhis edilir. Çoğu hasta asemptomatiktir. En sık semptomu yorgunluk ve sağ üst kadran ağrısıdır. Fizik muayenede genellikle obezite ve hepatomegali dışında özellik saptanmaz. Ancak ilerlemiş karaciğer hastalığı olanlarda sarılık, asit, ensefalopati ve sirozun diğer periferik bulguları saptanabilir (26).

En sık görülen laboratuvar anormalliği transaminaz yükseklikleridir. Genellikle normalin 3-4 katını geçmez. Genellikle Alanin aminotransferaz (ALT)/aspartat aminotransferaz (AST)>1 dir (87). Bu AST, ALT yüksekliği her zaman fibrozisle korele değildir ve fibrozis şiddetini yansıtmaz. Normal ALT değeri olan NAFLD'lı bireyler de mevcuttur (88). Serum alkalin fosfataz (ALP) ve gamaglutamil transferaz (GGT) yüksek olabilir (89). Tanıda en yaygın kullanılan görüntüleme yöntemi ultrasonografi (USG)' dir. Hastalardaki obezite varlığı duyarlılığı azaltmaktadır. Hamaguchi ve arkadaşlarının düşük VKİ'li bireylerde yaptığı çalışmada USG, yağlı karaciğer tanısını koymada %91,7 duyarlı ve %100 spesifik saptanmıştır (90). Ancak USG' nin duyarlılığı morbid obezlerde %49'lara kadar düşmektedir (91). Bilgisayarlı tomografi de steatozu saptamada faydalıdır. Steatoz > %30 olduğunda duyarlılığı %82, spesifitesi %100 olarak saptanmıştır. Ancak bu iki yöntem de NAFLD ve NASH ayırımını yapamaz ve hastalığın şiddeti hakkında bilgi veremez (92, 93).

Manyetik rezonans görüntüleme (MR) hepatik steatozu en doğru gösteren ve miktarını ölçebilen görüntüleme yöntemidir. Temel mekanizma yağ ve su arasındaki sinyal farklarına dayanır. Histolojik değerlendirmeylede korele olduğu saptanmıştır (94, 95). Non invaziv olmasına rağmen pahalı ve hastalardaki klastrofobi, vücutta implante cihazların varlığı kullanımını kısıtlamaktadır (22). Yeni geliştirilen metodlardan manyetik rezonans spektroskopi de hepatik trigliserid içeriğini ölçen yöntemdir. Düşük miktardaki trigliseridleri bile ölçer, besin alımından etkilenmez. Ancak küçük çaptaki araştırmalar için kullanılmaktadır (96).

Tranzient elastografi (TE) karaciğer fibrozisini tahmin etmek için son zamanlarda geliştirilen non invaziv bir yöntemdir. Titreşimle oluşturulan mekanik dalgalarla karaciğer elastikiyeti ölçülerek fibrozis tahmin edilir. İlerlemiş karaciğer hastalığını gösterir fakat erken dönem karaciğer fibrozisini göstermede yetersizdir (97, 98).

Klinik fibrozis modelleri oluşturmak için klinik ve biyokimyasal parametrelerin kombinasyonları kullanılarak bazı belirleyici paneller oluşturulmuştur. Bu sayede non invaziv olarak karaciğer fibrozisi tahmin edilmeye çalışılmıştır. Bunlardan biri olan BAAT skor sisteminde; VKİ, yaş, ALT ve serum trigliserit seviyeleri baz alınır. Bu sistem,

ilerlemiş fibrosis için iyi bir pozitif prediktif değere sahip iken hafif ve orta derecedeki hastalık için çok güvenilir değildir (34). Yine NAFLD fibrosis skor sistemi; yaş, hiperglisemi, VKİ, trombosit sayısı, albumin seviyesi ve AST/ALT oranından oluşan parametrelerle hesaplanır. 733 kişilik bir çalışmada NAFLD'lı hastaların %90'ında fibrosis varlığını veya yokluğunu tahmin edebilmiştir (99). Orijinal Avrupa Karaciğer Fibrosis (OELF) testi; yaş, hyaluronik asit ve Tip-III kollajenin N-terminal polipeptiti ve matriks metalloproteinaz-1'in doku inhibitörü baz alınarak oluşturulmuştur. Bu algoritmin fibrozisi göstermede duyarlılığı %90, ciddi fibrozisi dışlamadaki negatif prediktif değeri ise %92 saptanmıştır. Yaşın hesaba kalmadığı modifiye algoritim olan Gelişmiş Karaciğer Fibrosis panelinin (ELF), NAFLD'lı hastaları doğru teşhis etmede OELF'den daha iyi olduğu gözlenmiştir. Basit makırların panele eklenmesiyle diagnostik etkinlik artırılmıştır (100). Fibro test ise 2-makroglobulin, apolipoprotein A1, haptoglobulin, total bilirubin ve GGT'den oluşan biyokimyasal markır kombinasyonundan oluşmaktadır. Ratziu ve arkadaşları Fibro Test'in ilerlemiş karaciğer fibrozisini güvenilir olarak tahmin edebilen noninvaziv bir yöntem olduğunu göstermişlerdir. Ancak Gilbert sendromu, akut inflamasyon ve yüksek serum HDL-kolesterol gibi durumlar Fibro Test yetersizliğine yol açmaktadır (101). Bu testler noninvaziv olması nedeniyle önemlidir. Ancak farklı populasyonlarda, geniş, randomize prospektif çalışmalardan yoksundur. Ayrıca hastalığın aktivitesini veya progresyonunu monitorize etme konusunda yeterli değerlendirmeleri yapılmamıştır (102).

NAFLD TANISINDA KARACİĞER BİYOPSİSİNİN YERİ

Günümüzde NAFLD'lı hastlardaki hepatik steatozun şiddetini ve fibrozisin evresini belirlemede altın standart karaciğer biyopsisidir (15). İnvaziv olmayan yöntemlerden Fibro Test ve Steato Test'in klinik etkinlikleri sınırlı olmuştur. Yine potansiyel biyobelirteçler ve biyoistatistiksel modellerin etkinliği de genel kullanım için yeterli güçlü verilere ulaşmamıştır. Bu konuda geniş çaplı çalışmalar devam etmektedir (15). Bunun için karaciğerdeki steatoz, inflamasyon ve fibrozisi değerlendirmek için iyi bilinen karaciğer biyopsi konsepti geliştirilmiştir. Karaciğer biyopsisi invaziv, komplikasyon riski olan ve kimi zaman örnekleme hataları görülebilen bir yöntemdir

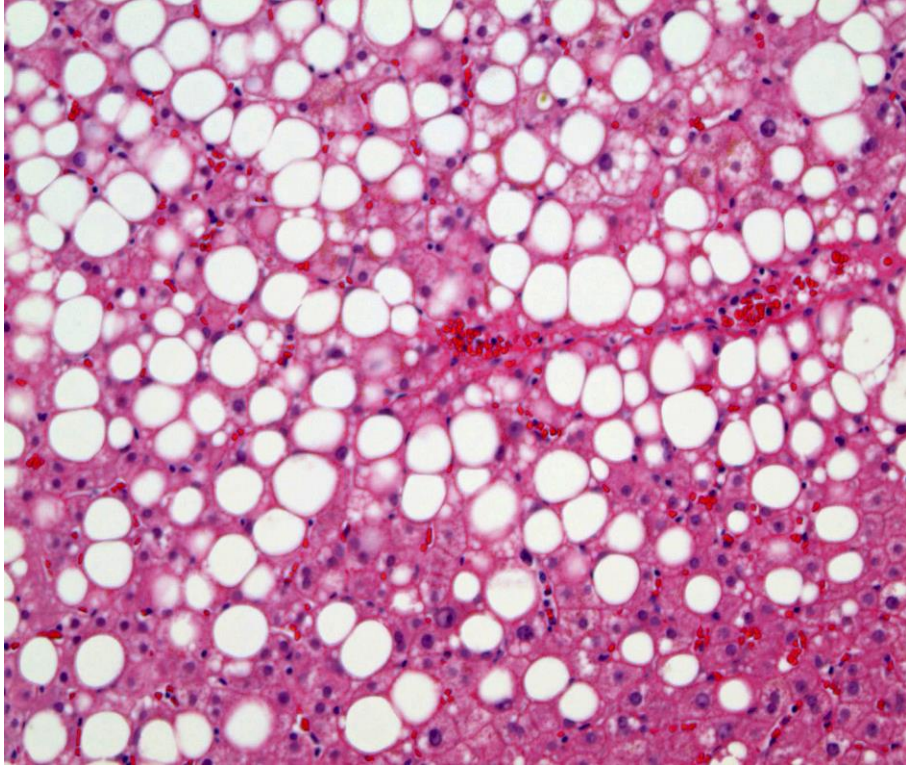
(103, 104). Ayrıca popülasyonda tarama aracı olarak kullanılamaz. Karaciğer biyopsisi NAFLD tansında standarttır ancak diğer klinik bulgularla birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (36).

Bu büyük organın 1/50.000-1/65.000'i büyüklüğündeki biyopsi yeterlidir. Bunun için karaciğer biyopsisinde başlıca önemli noktalar; yüksek kalite biyopsi teknikleri, uygun iğne seçimi, dikkatli örnekleme alanı, uygun doku hazırlığı ve iyi yorumlamadan oluşmaktadır (36). Yeterli örnekleme ile NAFLD tanısı arasında korelasyon mevcuttur. Bu yüzden değerlendirme için $\geq 1,5$ cm örnek kesin NAFLD tanısı için genellikle yeterli olmaktadır (105).

NAFLD'nin histolojik olarak karakteristik özelliği olan steatoz hepatositlerde trigliserit birikmesiyle oluşur. NAFLD'nin histolojik tanısı için minimum %5'ten fazla steatotik hepatositlerin varlığı gerekmektedir (28, 47). NAFLD'nin histolojik spektrumu genellikle makroveziküler steatozun bulunduğu basit steatozdan, inflamasyon ve hücre hasarının eklendiği NASH'a kadar değişebilmektedir.

Basit steatoz genellikle makrovezikülerdir. Tek bir büyük yağ damlacığı ya da küçük yağ damlacıkları hepatosit sitoplazması içinde birikir ve çekirdeği hücre periferine doğru iterler. Mikst tip steatoz da görülebilir. Bu tipte makroveziküler steatoza ek olarak çekirdeği merkezi yerleşim gösteren ve sitoplazmasında çok sayıda yağ damlacıkları içeren hepatosit grupları da görülür. Basit steatozda bazen steatoza ek olarak lobuler inflamasyon odakları, hafif portal inflamasyon ve lipogranülomlar görülebilir. Ancak hepatosellüler hasar ve fibrozis görülmez (28).

Steatoz asinar zon 3 (perivenüler) bölgeden başlar ve şiddeti steatotik hepatosit göre yapılır. %0-33 (ya da %0-5%, 5%-33%)-hafif, %33-66-orta ve >%66-şiddetli steatoz olarak adlandırılır (106, 107).



Şekil 3. Karaciğerdeki basit steatozun mikroskopik görüntüsü

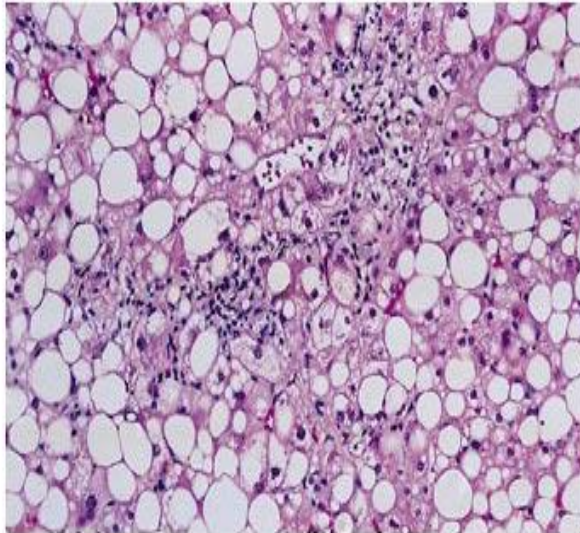
Çoğu patolog, erişkin NASH'ın histolojik tanısı için tipik asiner bölge 3'e lokalize steatoz, genellikle balonlaşma şeklinde ve lobüler inflamasyon içeren hepatosit hasarının minimum kriterler olduğunu düşünmektedir. Tanı için fibrozis şart değildir (108-110). NASH'te balonlaşma çok önemli özelliştir. Prognostik çalışmalarda balonlaşma ile hastalığın şiddeti ve siroza ilerleme arasında dikkat çekici ilişki saptanmıştır (30). Ayrıca hepatositteki balonlaşmanın varlığı metabolik sendromun bir özelliği olarak değerlendirilmiştir (111). Histolojik olarak hepatosit balonlaşması gözlemciye göre değişebilir. Bu yüzden normal hepatosit keratinlerinden 8 ve 18'in kaybının immunolojik boyama yöntemleriyle gösterilmesi, hepatosit balonlaşmasının daha objektif tespitini sağlayabilir (112).

Apoptotik cisimler NASH'de yaygın görülen hepatosit hasarının diğer formudur ve programlanmış hücre ölümünün bir özelliğidir (113). Rutin boyalarla kolayca tanınır. Ancak immunhistokimyasal yöntemle saptanan keratin 18 fragmentleri daha çok

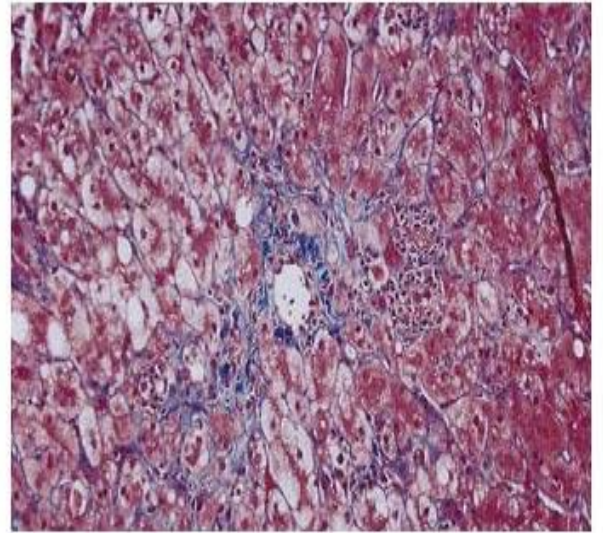
vurgulanır. Aynı antijen son zamanlarda NASH'ın biyobelirteci olarak ileri sürülmüştür (31, 32). Lobular inflamasyon genellikle hafiftir ve lenfosit, eozinofil, nadiren de nötrofillerden oluşan mikst inflamatuvar hücre infiltrasyonunu içerir. Polimorfların nadiren balonlaşmış hepatositleri çevrelediği görülür ki bu lezyona "satellitosis" denir (109, 114).

Portal kronik mononükleer hücre infiltrasyonu nadir değildir ve genellikle hafiftir. NAFLD'lı hastalarda artmış portal inflamasyon hastalık şiddeti için bir belirteçtir ve kesin steatohepatit tanısıyla koreledir (33).

Fibrozis genellikle asınar zon 3'ten başlar. Karakteristik olan "tavuk tel" paterni, zon 3 sinuzoidleri boyunca ve hepatositler çevresinde, kollajen ve ekstrasellüler matriks fibrillerinin birikmesiyle oluşur. Bazı morbid obez kişilerde, perisinuzoidal ve perisellüler fibrozis olmaksızın görülen portal fibrozisin NASH ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (34, 35). İlerlemiş hastalıkta köprüleşme nekrozu ve siroz gelişebilir. NASH ilişkili siroz genellikle makronoduler veya mikst tiptir. Sirotik aşamada aktif NASH bulguları saptanamayabilir. Bu durumdaki etyolojisi önceden bilinmeyen hastalar kriptojenik siroz olarak isimlendirilirler. Bu nedenle günümüzde kriptojenik sirozların önemli bir kısmının NAFLD nedeniyle geliştiği düşünülmektedir (28, 58).



A: STEATOHEPATİT



B: KARACİĞER FİBROZİSİ

Şekil 4. Steatohepatit ve karaciğer fibrozisinin mikroskopik görüntüsü

Diğer kronik karaciğer hastalıklarındaki gibi sinuzoidal kollajen formasyonunun oluşumu hepatik stellat hücre (HSH) aktivasyonu sonucu gelişir. HSH aktivasyon skorunun, NAFLD seyrinde fibrozis progresyonunu tahmin ettiği gösterilmiştir.

NAFLD'daki diğer histolojik bulgular olarak önceden Mallory cisimleri veya Mallory hiyalini olarak bilinen Mallory-Denk cisimleri (MDC), megamitokondri ve demir birikimi de görülebilir.

MDC zon 3'teki balonlaşmış hepatositin çekirdeğinin yakınında bulunan eozinofilik intrasitoplazmik cisimlerdir. Genellikle perisinuzoidal fibrozis alanında bulunur. Bu cisimler, keratin 8 ve 18 gibi yanlış katlanmış ara filamentler, ubikitin, sıcak şok proteinleri ve p62'den oluşur. MDC'i NAFLD seyrinde artmış nekroinflamatuvar aktivite ve yüksek siroz insidansı ile korele bulunmuştur (30,106).

Megamitokondri, çoğunlukla mikroveziküler yağlanmada görülen yuvarlak veya iğne şeklinde olan eozinofilik intrasitoplazmik inklüzyonlardır. NASH'da görülmesi lipid peroksidasyonu sonucu veya adaptif değişiklikler sonucunda olduğunu düşündürmüştür. Biyopsilerde steatohepatit ile megamitokondri birlikteliği, diyabet ve obezite gibi nonalkolik etyolojiyi destekler. Çünkü alkolik steatohepatitlerde çok nadir görülür (115-118).

Hepatik demir birikimi periportal hepatositlerde veya pansinar endotelyal hücrelerde görülür. Genellikle hafif demir birikimi olur. Eğer yoğun demir birikimi saptanırsa diğer demir metabolizmasıyla ilgili hastalıklar araştırılmalıdır (119, 120).

NASH tanısı koymak için nekroinflamatuvar aktivitenin derecesi ve fibrozis evresini değerlendiren skorlama sistemleri geliştirilmiştir. İlki 1999'da geliştirilen bu skorlar sayesinde NASH tanısı koymanın standartize edilmesi amaçlanmıştır. Bu skorlama sistemine göre steatoz, lobular ve portal inflamasyon ve hepatoselluler balonlaşma değerlendirilmiştir. Buna ek olarak fibrozis evrelemesi yapılmıştır (106). Günümüzde çok daha yaygın olarak NASH Klinik Araştırma Ağı (CRN) tarafından 2005'te yayınlanan histolojik skorlama sistemi ve fibrozis skorlaması kullanılmaktadır. Hem yetişkin hemde pediatrik NAFLD'lı bireylerin biyopsilerinde tespit edilen aktivite dereceleri sayısal olarak puanlandırılarak (Steatozis:0-3, lobüler inflamasyon:0-3, hepatosit balonlaşması:0-2) NAFLD aktivite skoru (NAS) oluşturulur. NAS skoruna

göre de sınıflandırma yapılır. NAS skoruna göre; 1-2 kesin NASH değil, 3-4 borderline (olası) vakalar, 5-8 kesin NASH olarak adlandırılır. NASH CRN sistemi ile fibrozis skorlaması, bazı farklılıklar içermesiyle birlikte Brunt ve arkadaşları tarafından önerilen yönteme dayanmaktadır (106).

NAFLD histolojik skorlama sistemlerinin kullanımı rutin pratikte yeterince değerlendirilmemiştir. Genellikle çalışmalar için kullanılmıştır. Portal kronik inflamasyon gibi kesin NASH ve ilerlemiş fibroziste tanımlanmış histolojik bulguların ve hepatosit apoptozisyle ilişkili biyobelirteçlerin birlikte kullanılması tanı ihtimalini artırabilir (31).

Sonuç olarak karaciğer biyopsisi teşhisin doğrulanması, fibrozis ve nekroinflamasyonun semikantifikasyonu ve değerlendirilmesinin yanı sıra remodelingi saptamada elimizdeki en güvenilir yöntemdir (103).

NAFLD TANISINDA BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER

NAFLD tanısında en iyi yöntem olan karaciğer biyopsisi, uygulaması çok pratik olmayan, komplikasyon riski olan ve hastalar tarafından da kabulü zor bir yöntemdir. Bu yüzden klinisyenler için daha az invaziv ve kolay uygulanabilir değerlendirme araçları gerekmektedir. Bu amaçla geçtiğimiz son birkaç yılda araştırmacılar NAFLD'lı hastaların karaciğer histolojisini tahmin edebilen noninvaziv yöntemler üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Çoğu çalışma ilerlemiş fibrozisi gösterirken, bazıları da fibrozisten çok steatohepatit derecesini göstermeye yönelik olmuştur (87, 121-123). Karaciğer histolojini tahmin için birçok biyobelirteç çalışılmıştır. Yeni geliştirilen biyobelirtecin klinik değerinin olabilmesi için standardize edilmesi gereklidir ve değerlendirilmesi kolayca yapılabilmelidir. Bunun yanında NAFLD'ın basit steatozdan steatohepatite kadar görülen dağılımında NASH ve basit steatoz ayırımını yapmada yüksek sensitivite ve spesifisiteye sahip olmalıdır. Hastalığın biyolojisinin iyi bilinmesi sonucunda bu alanda daha uygun yeni biyobelirteçler geliştirilebilir. Mesela hepatosit apoptozisinin ve insülin rezistansının, karaciğer hasarının patobiyojisi üzerindeki etkileri bilinerek kaspaz bağımlı sitokeratin-18 (CK-18) ve çok sayıda farklı adipokinler

gibi NASH'ın tanısında umut verici biyobelirteçler geliştirilmiştir (113, 124, 125). Artan bilgilerimize göre hepatoselluler apoptozisin NAFLD progresyonunda santral rol oynadığı görülmüştür. Apoptozis NASH'de belirgin görülürken basit steatozda belirgin değildir. CK-18 karaciğerde hepatosit apoptozisi sırasında, kaspazların en belirgin substratı olan en önemli ara filament proteindir. NAFLD'lı bireylerde, hepatositin apoptotik hücre ölümünün kan dolaşımına CK-18 salınmasıyla ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. NAFLD'lı hastalarda kontrol grubuna göre daha fazla arttığı ve karaciğer fibrozisiyle korele olduğu gösterilmiştir (32).

NAFLD'ın patogenezinin multifaktöryal olduğu ve metabolik sendromun hepatik manifestasyonu olduğu kabul edilmektedir. Aynı şekilde insülin rezistansının NAFLD patogenezinde önemli rolü olduğu bilinmektedir (126-128). Leptin, adiponektin, rezistin ve ileri glikasyon son ürünleri için çözünür reseptör (sRAGE) gibi metabolik sendrom biyobelirteçlerinin NAFLD tanısındaki yeri araştırılmış ve NASH ile bağlantılarını gösteren bazı bulgulara rastlanmıştır. Leptinin insan karaciğerinde insülin etkilerini zayıflattığı ve sonuçta insülin rezistansı geliştirdiği bilinmektedir. Aynı zamanda proinflamatuvar ve profibrojenik etkileri olduğu rapor edilmiştir (129-130). NAFLD'lı ve NASH'lı bireylerde yapılmış çalışmalarda leptin seviyesinin kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu tespit edilmiştir (131). Ancak leptin seviyesiyle fibrozis arasında korelasyon saptanmamıştır (132).

Adiponektin adipoz dokunun spesifik proteinidir. Hepatositler dahil olmak üzere birçok hücrede reseptörleri bulunur (133). Ana fonksiyonu inflamasyonu azaltmak, lipolizi artırmak ve yağ depolanmasını önlemektir (134). Yine adiponektinin karaciğerde antifibrojenik ve antiöstrojenik etkileri bilinmektedir (135). Bazı çalışmalarda karaciğer yağlanması olan bireylerde adiponektin seviyesi, kontrol gruba göre daha azalmış olarak saptanmıştır (136-138). Bazı otoriteler azalmış adiponektin seviyesinin NAFLD'lı bireylerdeki artmış nekroinflamasyonla ilişkili olduğunu ve NASH gelişimine katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (139, 140). Ancak azalmış adiponektin seviyesinin, NASH tanısında güvenilir bir laboratuvar bulgusu olarak rolü tartışmalıdır (141).

Rezistin adipoz doku ve makrofajlardan salgılanan son zamanlarda keşfedilmiş bir adipokindir (142). Hayvan modellerinde yüksek yağlı diyetle bağlı gelişen insülin

rezistansının ana belirleyicisidir. İlk bulgular NAFLD patogenezinde yer alan diğer adipokinlere benzerdi. Pagona ve arkadaşları serum rezistin seviyesinin NAFLD'lı bireylerde kontrol gruba göre önemli seviyede yüksek olduğunu ve karaciğer biyopsilerindeki nekroz miktarı, inflamasyon ve fibrozisin değerlendirilmesiyle hesaplanan NASH skoru ile korele olduğunu göstermiştir (143).

Klasik adipokinler yanında sRAGE, metabolik sendromun bazı komponentleri ve insülin rezistansı ile ilişkili bulunmuştur (144). Yılmaz ve arkadaşları sRAGE seviyelerini kesin NASH ve olası NASH olgularında kontrol grubuna göre belirgin düşük saptamışlardır. İlginç olarak serum aminotransferazlarıyla ters ilişki saptamışlar ve bunun NAFLD'nın şiddetli formlarıyla ilişkisi olduğunu göstermişlerdir (145).

NAFLD ve NASH için başka birçok potansiyel biyobelirteç kesitsel çalışmalarda araştırılmıştır. Anjiyopoinetin benzeri protein-3 (ANGPTL3) plazma trigliserid klirensini düzenlemede rol alır. NASH'lı hastalarda basit steatozlulara göre yüksek bulunmuştur ancak histolojik evre ve karakteristik patolojik bulgularla korelasyon saptanmamıştır (146).

Pentraksin-3 de akut faz proteinidir. NASH'lı olgularda, olmayanlara göre plazmada yüksek seviyede saptanmış ve hastalığın şiddeti ve hepatik fibroz ile ilişkili bulunmuştur (147, 148). Ancak bu biyokimyasal belirteçlerin, NAFLD progresyonunda rol oynayan diğer risk faktörlerinden (inflamasyon, insülin rezistansı gibi) hangisiyle bu sonuca yol açtığı bilinmiyor ve sadece NAFLD'nın varlığını yansıtmaktadır (6). Ülkemizde ve dünyada NAFLD'nın tanısı ve takibinde kullanılabilecek bir biyobelirteç veya birden fazla biyobelirteç grubu araştırılmaya devam etmektedir. Böylece oluşturulacak noninvaziv yöntem hastaların daha erken ve kolay tanı almasını sağlayacak ve tedavilerinin daha erken yapılmasını mümkün kılacaktır.

Lektin Benzeri Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör-1

Lektin benzeri okside düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1 (LOX-1), 12. kromozom üzerinde bulunan naturel killer gen kompleksi içinde bulunan okside düşük yoğunluklu lipoprotein (lektin-benzeri) reseptörü-1 geni tarafından kodlanan proteindir. C-tipi lektin ailesine ait bu molekül 50 kDa ağırlığında tip II membran proteindir. Bu reseptör monosit, dentritik hücre ve endotel hücrelerinin çöpçü fonksiyonları ve immun fonksiyonları açısından önemlidir (149, 150). Aterosklerozda rol aldığı bilinen endotel hücreleri, makrofaj ve düz kas hücrelerinin tümünden eksprese edilirler. Bir membran glikoproteini olan LOX-1 okside düşük yoğunluklu lipoproteini (oxLDL) bağlayarak internalize edilmesini ve indirgenmesini sağlar. Böylece bir çöpçü reseptör görevi yapar. Ayrıca bir multiligand reseptör olan LOX-1'e aktive platelet, nötrofiller, apoptotik hücreler ve bakterilere bağlanarak çok yönlü fonksiyonlarını yerine getirirler.

LOX-1'in ekstrasellüler bölgesine karşılık gelen solubl LOX-1 formu bulunmaktadır (151). Sirkülatuvar solubl form ekstrasellüler alandaki LOX-1'in güvenilir bir göstergesidir ve insan serumunda tanımlanmıştır (9).

Ateroskleroz ve koroner arter hastalıkları ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olan LOX-1'in ayrıca diyabetik hastalarda da yüksek seviyeler olduğu saptanmıştır. İyi glisemik kontrolden sonra görülen LOX-1 inhibisyonunun, hemoglobin A1c(HbA1c) seviyesi ve ileri glikasyon son ürünlerinde (AEGs) düzelme ile korele olduğu gözlenmiştir (152, 153). LOX-1 remnant-like lipoprotein partiküller (RLPs) için bir reseptör görevi görerek hem ekspresyonlarını artırır hem de hücre migrasyonunu sağlamasına neden olur. LOX-1'in bu etkisi özellikle postprandiyal hiperlipidemi, diyabet ve metabolik sendromdaki proaterojenik rolünü gösterir (154, 155). Düşük seviyede oxLDL, protein kinaz-C (PKC) aktivasyonu, düşük seviyede reaktif oksijen türleri(ROS) oluşmasına ve LOX-1 aracılı redoks duyarlı sinyal yollarıyla vasküler endotelial growth factor (VEGF) artışı sağlayarak anjiyogenez gelişmesine neden olur (156,157). Kondrositlerde oxLDL bağlı LOX-1, VEGF artışına ve peroksizom proliferatif erator aktive reseptör- γ (PPR- γ) sinyal yolunun aktivasyonuna yol açar (158). Bu bilgilerle korele olarak insülin rezistansının düzenlenmesinde rol alan PPR- γ akvitörleri ve metforminin, LOX-1 ekspresyonunu inhibe ettiği de bazı hayvan

deneysinde gösterilmiştir (159, 160). Yine tavşanlarda yapılan başka bir çalışmada Anjiyotensin-II (Anj-II) antagonisti olan losartanın LOX-1 ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (161).

LOX-1 ayrıca ileri glikasyon ürünleri, sıcak şok proteini70 (HSP70)'in endositik alımı ve C-reaktif protein (CRP) için de reseptör görevi görür. LOX-1 ekspresyonunu uyarak regüle ettiği saptanan başlıca moleküller; oxLDL, proinflamatuvar sitokinler, asetile LDL, anjiyotensin-II, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), CRP, yüksek glikoz seviyesi, interlökin-6 (IL-6)'dır (9) (Tablo 2).

LOX-1 hakkında yapılmış çalışmaların çoğu aterosklerotik kalp hastalıklarındaki araştırmalardır. Bu çalışmaların çoğunda LOX-1'in aterosklerotik kalp hastalıklarının gelişiminde etkili olduğu düşünülmüş ve hatta bir kısmında aterosklerozun biyobelirtici olarak da değerlendirilebileceği belirtilmiştir (9, 162). Bununla bağlantılı olarak aterosklerotik kalp hastalığı riskinin NAFLD'lı bireylerde de arttığı bilinmektedir (163).

Tablo 2. LOX-1 Ekspresyonunu Uyararak Düzenleyen Moleküller

Lipopolisakkaritler	Tümör Nekroz Faktör- α
Forbol 12-miristat 13-asetat	Fluid shear stres
OxLDL	Lizofosfatidilkolin
Anjiyotensin II	Transforming growth factor-B
Yüksek glukoz konsantrasyonu	Norepinefrin
Endotelin-1	Oksidanlar
Homosistein	C reaktif protein
HB-EGF	IL-6
IL1- α	IL1- β
Lipoprotein kalıntı benzeri partikülleri	İleri glikasyon son ürünleri
Glikookside LDL	

Bu bilgiler ışığında NAFLD patogenezinde de rol alan bu moleküllerin LOX-1 ekspresyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde, LOX-1'in NAFLD tanısında da yeri olabileceğini bize düşündürmüştür. NAFLD'lı bireylerin değerlendirmesinde noninvaziv bir biyobelirteç olarak klinik pratikte faydalı olup olmayacağı, bu alanda yapılacak geniş çaplı kontrollü, randomize çalışmaların değerlendirilmesiyle ortaya konabilir.

NAFLD'IN TEDAVİSİ

Her hastalığın etyopatogenezinin göre tedavinin düzenlenmesi esastır. NAFLD'ın etyopatogenezinin merkezinde bulunan metabolik sendrom ile mücadele tedavinin en önemli basamağını oluşturmaktadır. Bu yüzden günümüzde tek kabul görmüş tedavi yöntemi hayat tarzındaki değişikliklerdir (164). Bu amaçla kilo kaybını hedef alan, negatif kalori balansının sağlanması (özellikle de sature yağ ve karbonhidrat alımının azaltılması) ve fiziksel aktivitede artış, temel tedavi yaklaşımıdır.

Bariatrik cerrahi de karaciğer histolojisinde düzelleme sağlayan diğer bir tedavi yöntemidir. Ancak hızlı kilo kaybına dikkat edilmelidir. Çünkü hızlı kilo kaybı karaciğere sunulan yağ miktarında artışa yol açarak hastalığın progresyonuna yol açabilir (165).

İnsülin rezistansını ve metabolik riskleri azaltmaya yönelik ve hepatik sitoprotektif etkileri olan değişik farmakoterapiler denenmiştir. Metformin, E vitamini, Pioglitazon, Ursodeoksikolik asit, lipid düşürücü ajanlar, İncretinler, Orlistat, Anjiotensin reseptör blokerleri, Pentoksifilin, Rimonabant gibi ajanların bir kısmı insan çalışmalarında bir kısmı da hayvan çalışmalarında denenmiştir. Denenmekte olan başka ajanlar da mevcuttur (23, 94). Ancak etkinliği insanlar üzerinde kesin olarak kanıtlanmış farmakolojik bir ajan henüz saptanamamıştır. Bunun için randomize, kontrollü, geniş çaplı ve farklı populasyonları da kapsayan, standartize edilmiş çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (166-170).

GEREÇ VE YÖNTEM

ETİK KURUL

Çalışma protokolü Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylandı (Karar no:8/B, Tarih:28.12.2010) ve çalışmaya katılan tüm bireylerden aydınlatılmış onam alındı.

ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışma, 53 adet NAFLD olgusu (31 erkek ve 22 kadın, ortalama yaş, 42±10) ve 26 adet sağlıklı kontrolden (14 erkek ve 12 kadın, ortalama yaş, 39±11) oluşan bir vaka-kontrol çalışmasıdır. Çalışmaya alınan hastalar, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniğinden Eylül Ocak 2009 – Ekim 2010 tarihleri arasında biyopsi ile tanısı kesinleştirilmiş kişiler arasından seçildi. Kontrol grubu ise aynı tarihlerde Gastroenteroloji ve İç Hastalıkları Polikliniğine sağlık kontrolü amacıyla başvuran ve yapılan tetkikler sonucunda herhangi bir kronik hastalık saptanmayan bireylerden oluşturuldu.

Alınma Kriterleri

18-70 yaş arası biyopsi kanıtlı nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı olan hastalar

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, valproik asit 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 (kreatinin >1.4 mg/dl) olan hastalar
6. 26 adet yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş gönüllü sağlıklı kişiler kontrol grubu olarak belirlendi. Kontrol grubundaki tüm vakalar, normal karaciğer fonksiyon testleri ve normal karaciğer ultrason bulguları olan sağlıklı kişilerden seçildi. 20 g/gün'ün üzerinde alkol tüketimi olan ve herhangi bir ilaç kullanımı olan bireyler kontrol grubuna dahil edilmedi.

KLİNİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER

Tüm vakalara fizik muayene, antropometrik ve biyokimyasal ölçümler yapıldı. Vücut kitle indeksi, boy ve kilo ölçümlerine göre hesaplandı. Kişilerin kan basınçlarının ölçümü sessiz bir odada en az 10 dakika dinlendikten sonra sfigmomanometre ile yapıldı. Sigara içme durumları sorgulandı. Biyokimyasal tetkikler Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi laboratuvarlarında çalışıldı. Diyabetes mellitus tanısı, ADA kriterlerine göre konuldu (171). Metabolik sendrom tanısı, ATP III kriterleri kullanılarak konuldu. İnsülin rezistansının tahmini HOMAIR indeksi hesaplanarak yapıldı.

İnsülin rezistansı= $\frac{\text{Açlık plazma insülini (mikrounit/ml)} \times \text{Açlık plazma glukoza (milimol/l)}}{22.5}$

22.5

(<2.5 ise normal, ≥2.5 ise insülin rezistansı mevcut)

KARACİĞER HİSTOLOJİSİ

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 yerleştirildi. 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, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) NASH Klinik Araştırma Ağı Skorlama Sistemi' ne göre değerlendirdi (107). Steatoz, 0 dan 3'e kadar 4 derece olarak skorlandı (S0: Steatoz olmaması ya da % 5' ten daha az olması; S1: %5-33; S2: %33-66; S3: >%66 olarak tanımlanmıştır). Lobüler inflamasyon evrelemesi, Evre 0: Odak yok; Evre 1: her 200× alanda <2 odak; Evre 2: her 200× alanda 2-4 odak; Evre 3: her 200x alanda >4 odak olarak tanımlanmıştır. Balonlaşma değerlendirilirken ise balonlaşmış hücre yoksa 0 puan, birkaç tane varsa 1 puan, çok sayıda varsa veya balonlaşma aşık ar 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. 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, skoru 3 ve 4 olarak saptanan vakalar olası NASH, skoru 5 ve üstünde bulunanlar ise kesin NASH olarak değerlendirilir (107).

BİYOKİMYASAL ANALİZ

Çalışmaya katılan ve tüm gece aç bırakılan bütün bireylerden sabah saat 8:00 – 9:00 arasında antekübital venden, kan numuneleri alındı ve tüplere doldurularak 1000 G'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar -80°C'de inceleme öncesine kadar dondurularak saklandı ve inceleme için sadece bir defa çözüldü.

Serum LOX-1 Düzeyi

Serum LOX-1 düzeyi, ticari olarak elde edilen insan Lectin like oxidized low density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) ELISA kit (Uscn Life Science Inc. Wuhan) kullanılarak ölçüldü. Bu değerlendirme yüksek sensitivite ve mükemmel spesifisiteye sahiptir. Önemli bir çapraz reaksiyon veya karışıklık gözlenmemektedir.

Bu kit içi önceden LOX-1'e özgü antikorla kaplanarak mikrotitre plaka sağlandı. LOX-1'e spesifik olarak hazırlanmış, biotinle konjuge edilmiş poliklonal antikorlu uygun mikrotitre plaka kuyularına standart veya örnekler eklendi. Avidin ile horseradish peroksidaz konjuge edilerek her bir mikrotitre plaka kuyusuna eklendi ve inkübe edildi. Sonra TMB substrat solusyonu her bir kuyuya eklendi. Böylece sadece LOX-1, biotinle konjuge antikor ve enzimle konjuge avidin içeren kuyuda renk değişikliği gözlenmesi sağlandı. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit solusyonu eklenmesiyle sonlandırıldı ve renk değişikliği 450 nm dalga boyu aralığında spektrofotometrik olarak ölçüldü. Örneklerdeki LOX-1 konsantrasyonu, standart eğriyle örneklerin optik dansitelerileri karşılaştırılarak belirlendi. İnsan LOX-1 için saptanabilen minimum doz 0,03 ng/ml idi.

VERİLERİN ANALİZİ

Çalışmanın gücünü belirlemek için StatMate 2.0 (GraphPad Inc., San Diego, California, USA) kullanıldı. Veriler kişisel bir bilgisayara aktarıldı ve SPSS 16.0 (IL ABD SSPS Inc, Chicago) kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar Mann-Whitney testi ve Pearson's χ^2 testi ile analiz edildi. Dört grup arasında LOX-1 düzeylerindeki farklılıklar Kruskal Wallis testi takip varyansın tek yönlü analizi ile belirlendi. Lojistik regresyon analizi; NAFLD, steatoz ve fibrozisin farklı aşamaları ile değişkenler arasındaki ilişkiyi test etmek için kullanılmıştır. Tek değişkenli analizde istatistiksel olarak anlamlı olarak saptanan değişkenler daha sonra bir lojistik regresyon modeli kullanılarak çok değişkenli analize dahil edilmiştir ve %95 odds oranları (OR) olarak tanımlanmıştır.

Optimum duyarlılık ve özgüllük ile kesin NASH varlığını saptayabilmek için gerekli olan plazma LOX-1 düzeyinin, olası sınır değerlerini tahmin etmede receiver operating characteristic curve (ROC) analizleri kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki korelasyon analizi için Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. $P < 0.05$ (iki yönlü) değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

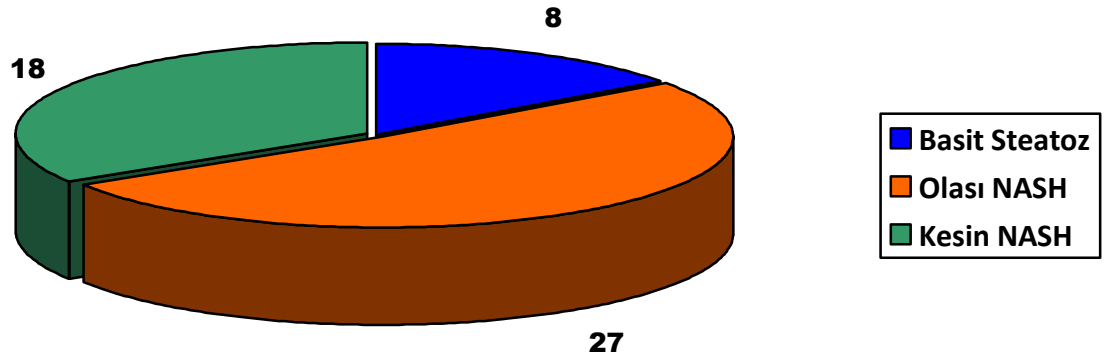
Çalışma gruplarında; yaş, cinsiyet, tansiyon arteriyal, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, CRP düzeyleri, alkol ve sigara kullanımı açısından anlamlı fark saptanmadı. Grupların genel özellikleri Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. NAFLD’lı Bireyler ve Sağlıklı Kontrollerin Genel Özellikleri

	NAFLD (n=53)	Kontrol (n=26)	P değeri
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	31/22	14/12	anlamsız
Yaş (yıl)	42±10	39±11	anlamsız
VKİ (kg/m ²)	31,6±5,3	28,7±5,1	<0,05
Diyabetes Mellitus (var/yok)	11/42	0/26	<0,001
Metabolik Sendrom (var/yok)	33/20	0/26	<0,001
Sistolik tansiyon (mmHg)	121±16	116±17	anlamsız
Diyastolik tansiyon (mmHg)	82±10	74±12	0,006
HOMAIR	2,9±1,8	1,9±0,8	0,001
AST (U/L)	40±20	20±9	<0,001
ALT (U/L)	59±34	19±10	<0,001
Total kolesterol	210±53	199±38	anlamsız
HDL kolesterol	46±9	47±8	anlamsız
LDL kolesterol	142±36	136±31	anlamsız
Trigliserit	222±188	124±53	0,005
Hemoglobin (gr/dl)	14,2±2	12,7±1,7	0,001
Ferritin	127±101	27±28	<0,001
CRP (mg/dl)	0,5±0,4	0,4±0,3	Anlamsız

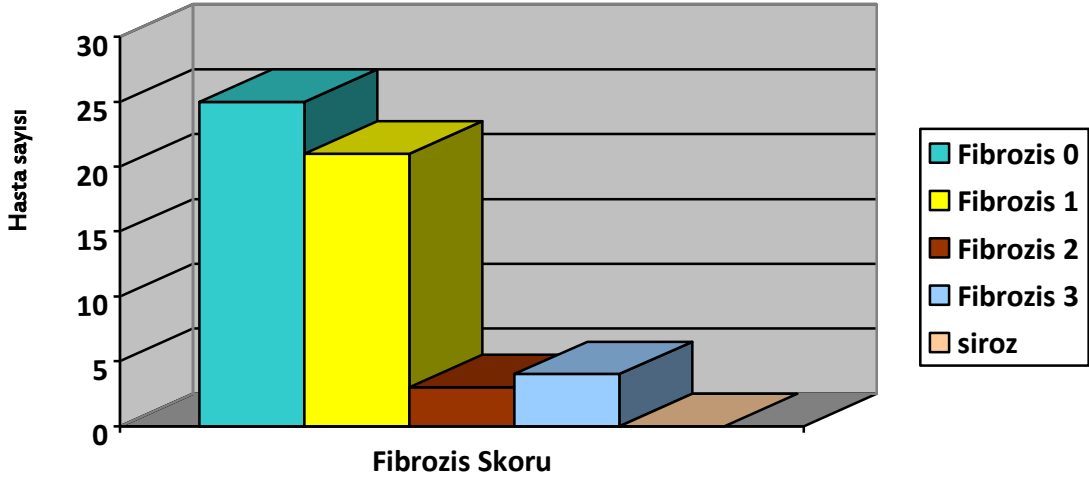
Veri, ortalama olarak (\pm standart sapma) ve sayılarla gösterilmiştir. Ortalamalar için yapılan istatistiksel analizlerde Mann–Whitney testi, sayılar için ise Pearson χ^2 testi kullanılmıştır. Normal laboratuvar değerler: Sedimentasyon (0-20 mm/saat); C-reaktif protein (<0.80 mg/dl); Hemoglobin (13–18 g/dl erkeklerde ve 11–16 g/dl kadınlarda); total kolesterol (100–200 mg/dl); trigliserid (60–150 mg/dl); LDL kolesterol (40-130 mg/dl); HDL kolesterol (45-65 mg/dl); AST (5–32 U/l); ALT (5–38 U/l); ferritin (24–336 ng/ml erkeklerde ve 11–336 ng/ml kadınlarda); VKİ, LOX-1, HOMA-IR ve metabolik sendrom metinde tanımlanmıştır.

Gruplar arasındaki değerlendirmelerde VKİ, diyastolik kan basıncı, HOMAİR, AST, ALT değerleri, trigliserit, hemoglobin ve ferritin düzeyleri arasında anlamlı fark saptandı . Diyabet ve metabolik sendrom prevalansı NAFLD' lı grupta daha yüksek saptandı. NAFLD'lı hasta grubunun dağılımı Şekil 5'de gösterildiği gibi basit steatoz 8 (%15), borderline (olası) NASH 27 (%51), kesin NASH 18 (%34) kişiden oluşmaktaydı.



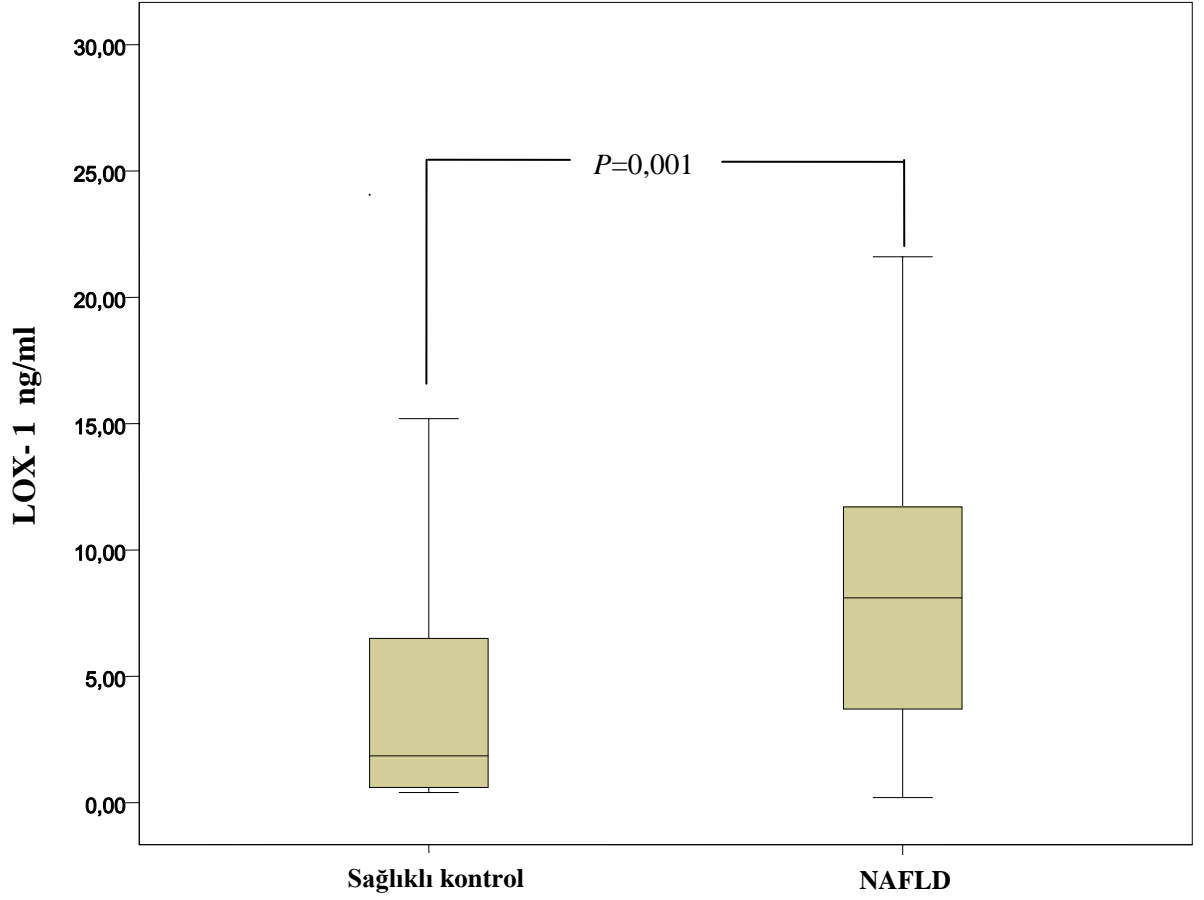
Şekil 5. NAFLD'lı bireylerin dağılımı

Fibrozis evrelerine göre NAFLD'lı hastaların dağılımı, Evre 0 (n=25), Evre 1 (n=21), Evre 2 (n=3) ve Evre 3 (n=4) şeklindeydi. Siroz tanılı hasta yoktu (Şekil 6).



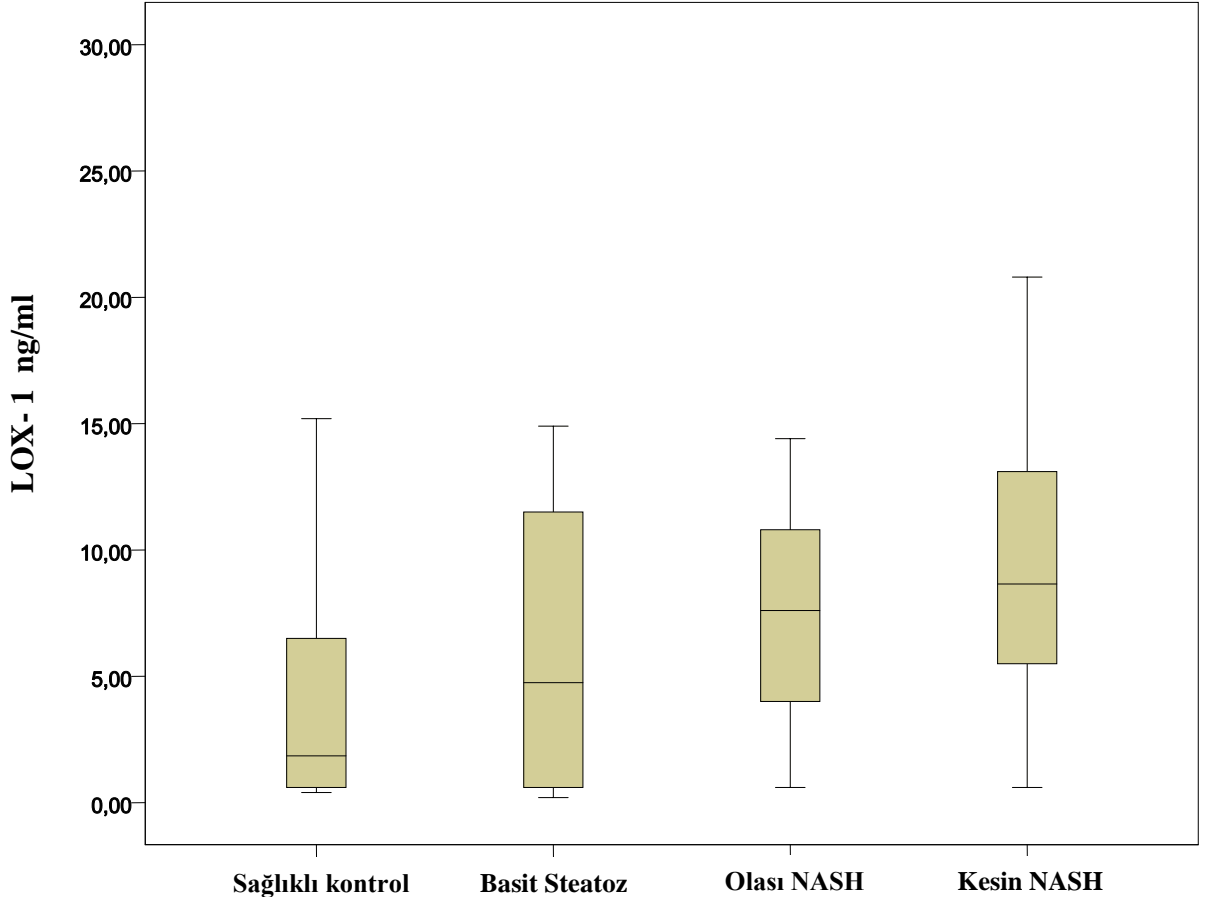
Şekil 6. NAFLD'lı bireylerin fibrozis evrelerine göre dağılımı

Sağlıklı grupta ortalama LOX-1 düzeyi $4,08 \pm 4,32$ ng/ml iken NAFLD grubunda $8,49 \pm 6,43$ ng/ml saptandı ve LOX-1 düzeyinin NAFLD grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlendi ($P=0,001$) (Şekil 7).



Şekil 7. NAFLD ve sağlıklı kontrollerdeki serum LOX-1 düzeyinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ve NAFLD alt gruplarındaki LOX-1 düzeyleri karşılaştırıldığında; kontrol grubunda ortalama $4,08 \pm 4,32$ ng/ml, basit steatoz alt grubunda $6,1 \pm 6,16$ ng/ml, olası NASH alt grubunda $7,99 \pm 6,09$ ng/ml ve kesin NASH alt grubunda $10,3 \pm 6,89$ ng/ml saptanmış olup tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde LOX-1 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($P=0,005$) (Şekil 8).



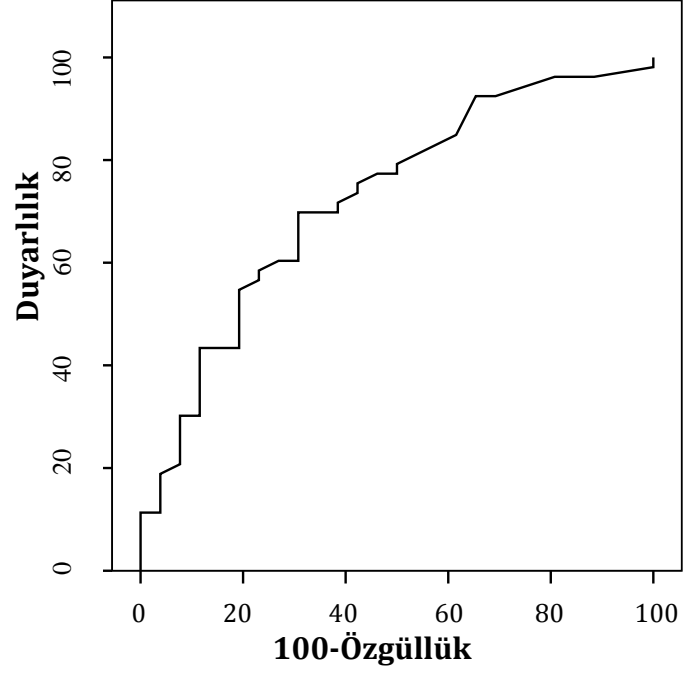
Şekil 8. Çalışma gruplarında saptanan ortalama LOX-1 seviyelerinin karşılaştırılması

NAFLD grupları arasındaki LOX-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı gözlemlendi ($P > 0,05$). Yine yapılan korelasyon analizlerinde LOX-1 düzeyleri ile metabolik sendrom varlığı, HOMAIR, AST, ALT ve VKİ arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. NAFLD grubunda, histolojik steatoz derecelerine göre LOX-1 düzeyleri incelendiğinde; birinci derece steatozlularda ($n=21$) ortalama LOX-1 seviyesi $7,75 \pm 5,62$ ng/ml, ikinci derece steatozlularda ($n=22$) ortalama $7,77 \pm 6,65$ ng/ml ve üçüncü derece steatozlularda ($n=10$) ortalama $11,6 \pm 7,2$ ng/ml saptanmış olup gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. ($P > 0,05$). Aynı şekilde hastalar fibrozis derecelerine göre

gruplandırılarak LOX-1 düzeyleri incelendiğinde; Evre 0'da (n=25) ortalama LOX-1 düzeyi $10,08 \pm 6,81$ ng/ml, Evre 1'de (n=21) ortalama $6,36 \pm 4,79$ ng/ml, Evre 2'de (n=3) ortalama $9,8 \pm 9,95$ ng/ml, Evre 3'de (n=4) ortalama $8,75 \pm 8,48$ ng/ml saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0,05$).

Sağlıklı kontroller ile NASH (olası ve kesin) olguları ayırımında LOX-1 düzeyleri için yapılan istatistiksel değerlendirmede en iyi cut-off değer $5,35$ ng/ml saptandı. Bu cut-off değere göre yapılan ROC eğrisi analizinde ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) %72,5 saptandı (Std. err: 0,060, Mann Whitney U test $P=0,001$). Yine aynı cut-off değer kullanılarak yapılan istatistiksel incelemelerde serum LOX-1 düzeylerinin NASH olgularını sağlıklı kontrollerden ayırmadaki duyarlılığı %69,8, özgüllüğü %69,2, negatif prediktif değeri %69,6 ve pozitif prediktif değeri %69,4 olarak saptandı (Şekil 9).

LOX-1



Şekil 9. NASH (kesin + olası NASH) grubu ile sağlıklı kontrol grubu ayırımında serum LOX-1 düzeyleri kullanılarak oluşturulan ROC eğrisi

TARTIŞMA VE SONUÇ

NAFLD günümüzde tüm dünyada en sık görülen kronik karaciğer hastalığıdır (8). Hastalık basit steatozdan, siroza ve hatta hepatoselüler karsinoma kadar varabilen geniş bir spektruma sahiptir (5). Özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaygınlaşan batı tipi beslenme ve sedanter yaşam tarzı, NAFLD'ın prevalansını belirgin şekilde artırmaktadır. Hastaların tanısının erken dönemde koyularak, gerekli yaşam tarzı modifikasyonları ve presipitan faktörlerin tedavisi NAFLD progresyonunu durdurmada ve geriletmede en önemli adımı oluşturmaktadır (6, 7). NAFLD tanısında bugün için en güvenilir yöntem karaciğer biyopsisidir. Ancak hastalar ve klinisyenler açısından invaziv bir işlem olması ve olası komplikasyon riskleri nedeniyle uygulama zorlukları bulunmaktadır (23, 25). Bu nedenle klinik pratikte karaciğer biyopsisine alternatif olabilecek noninvaziv tanısal yöntem ihtiyacı bulunmaktadır ve son yıllarda bu konudaki araştırmalar yoğunlaşmıştır.

Bu çalışma ile ilk kez serum LOX-1 düzeylerinin biyopsi ile kanıtlanmış NAFLD olgularında sağlıklı kontrollere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmayla benzer şekilde, daha önce yapılmış çalışmalarda da diyabet, obesite ve hipertansiyon gibi insülin rezistansı ile ilişkili hastalıklarda, serum LOX-1 düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir (9, 153, 172). Bu bilgilerle bağlantılı olarak LOX-1'in, NAFLD'lı olgularda yüksek düzeyde bulunması, hastalığın temel patofizyolojik mekanizması olan insülin rezistansıyla ilişkilendirilebilir (152, 153).

Ayrıca bu araştırmada, sağlıklı kontroller ve NAFLD'ın alt grupları (basit steatoz, olası NASH, kesin NASH) birlikte değerlendirildiğinde, serum LOX-1 düzeyinin hastalığın şiddetiyle doğru orantılı olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı. Bu bulgular bize hastalığın şiddetiyle korele olarak artan inflamasyonun LOX-1 düzeyini artırdığını düşündürmektedir. Nitekim Lubrano V ve arkadaşları çalışmalarında serum LOX-1 seviyesinin inflamatuvar belirteçler ve koroner arter hastalığının şiddetiyle korele olduğunu göstermişlerdir (173). Yine Sakurai K ve arkadaşları endotel

disfonksiyonu üzerine yaptığı çalışmada LOX-1'in, artan oksidatif stresle yakın ilişkisi olduğunu göstermiştir (174). Bu bulgular bize NAFLD' in seyrinde etkili olan oksidatif stres ve inflamasyonun aynı zamanda LOX-1 ekspresyonuna da yol açtığını düşündürmektedir.

Yağlı karaciğerde NASH gelişebilmesi için en önemli mekanizmalardan biri de reaktif oksijen radikallerinin oluşması ve proinflamatuvar sitokinlerin salınmasıdır. TNF- α , IL1- α , IL1- β , Transforming growth faktör- β gibi inflamatuvar sitokinlerin ve ROS' lerinin LOX-1 artışıyla ilişkili olduğunu gösteren birçok çalışmada mevcuttur (9). Ancak NAFLD'lı bireylerde bu mekanizmalardan hangisinin LOX-1 artışına yol açtığını bugünkü bilgilerle söyleyebilmek mümkün değildir.

LOX-1 düzeyinin steatohepatit grubunda (olası NASH+kesin NASH) belirgin yüksek bulunması da çalışmanın diğer bir dikkat çekici yönüdür. Serum LOX-1 düzeyi için optimum cut-off değer 5,35 ng/ml olarak belirlendi. Buna göre oluşturulan ROC eğrisinde, LOX-1'in %69,8 duyarlılık ve %69,2 özgüllükle NASH'lı hastaları sağlıklı bireylerden ayırabildiği saptandı. Saptanan bu duyarlılık ve özgüllük düzeyi, LOX-1'in gelecekte NASH'lı hastaların tanısında kullanılabilecek bir biyobelirteç adayı olabileceğini bize düşündürmüştür. Bununla birlikte biyopsi için uygun hasta seçiminde de LOX-1'in katkısı olabilir. Ancak bu yönde geniş vaka serileri ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada NAFLD'lı hastaların fibrozis evresiyle LOX-1 düzeyleri arasında bir ilişki saptanmadı. Kelly KJ ve arkadaşları obez ve diyabetik ratlardaki çalışmalarında, LOX-1 düzeyi ile böbrek fibrozisi ve fonksiyonları arasında ilişki saptamışlardır. Ratlara anti-LOX-1 antikorları enjekte edildiğinde böbrek fonksiyonlarında ve fibrozisinde düzelme saptanmıştır (175). Yine fibroziste potansiyel rolü olduğu bilinen anjiyotensin II' nin LOX-1 ile ilişkisini gösteren bir çalışmada, insan koroner arter endotel hücrelerinin kültüründe, anjiyotensin II tip 1 reseptör aktivasyonu ile LOX-1 düzeyinde artış olduğu saptanmıştır (176, 177) . Aynı şekilde Anjiyotensin II tip 1 reseptörünün karaciğer fibrozisinin gelişiminde de potansiyel önemi olduğu gösterilmiştir (84). Ancak bu bulgular LOX-1'in özellikle böbrek fibrozisiyle ilişkisini gösterse de karaciğer fibrozisi için bir nedensellik ilişkisi kurmaya yetmez. Bu konuda hücresel düzeyde LOX-1

ekpresyonunu ve bunun patogenezdaki rolünü inceleyen geniş çaplı arařtırmalara ihtiyaç vardır. Bu bulgular LOX-1'in NAFLD seyrinde fibrozisten çok inflamasyonun bir sonucu olan steatohepatit tablosuyla iliřkili olduđunu dűřündürműřtir.

Çalıřmanın bazı sınırlı yűnleri de bulunmaktadır. Bunlardan birincisi gűreceli olarak az sayıda olgu ile yapılmıř olmasıdır. Bu nedenle sonuçların geniř çaplı çalıřmalarla desteklenmeye ihtiyaı vardır. İkincisi çalıřmanın kesitsel, vaka-kontrol çalıřması olması ve bu nedenle hastalıđın etyopatogenezi hakkında bilgi verememesidir. Üçüncüsü alıřma serumda LOX-1 düzeylerinin ۆlűlmesi ile sınırlı olup karaciđer dokusundaki düzeyler bilinmemektedir. Bu nedenle NAFLD olgularında doku düzeyinde bir kanıt düzeyi bulunmamaktadır. Dördüncü olarak da çalıřmaya alınan olgular sadece Tűrk populasyonundan olup bu yűnde farklı etnik kűkenlerde olabilecek deđiřik sonuçlar yűnűnden de ek arařtırmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak çalıřmada, serum LOX-1 düzeylerinin biyopsi kanıtlı NAFLD olgularında, sađlıklı kontrol grubuna gűre yűksek olduđu, aynı zamanda hastalık ciddiyeti ile de korele olarak artıř gűsterdiđi ve histopatolojik skorlar için bađımsız bir prediktűr olduđu saptanmıřtır. Bulgular, hastalık patogenezinde LOX-1'in rolű olabileceđini dűřündürmekte ancak hastalık mekanizmasını açıklamak ve prognostik bir yargıya varabilmek için yeterli deđildir. Ancak verilerin bařka çalıřmalarla da desteklenmesi halinde LOX-1'in potansiyel tedavi hedeflerinden biri haline gelebileceđi kanaatindeyiz. Verilerimizin daha bűyűk ۆlekli randomize çalıřmalarla dođrulanması, analitik metodların standardizasyonu ve onaylanması halinde serum LOX-1 düzeyinin, NAFLD tanısında bir biyobelirteç olarak kullanılabileceđini ۆngűrmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Oh MK, Winn J, Poordad F. Review article: Diagnosis and Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28:503-22.
2. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37:917-23.
3. Rafiq N, Younossi ZM. Evaluation and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2009; 13:249-66.
4. Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Dig Dis Sci* 2005; 50:171-80.
5. Brunt EM. Histopathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2009; 13:533-44.
6. Yilmaz Y, Kedrah AE, Ozdogan O. Cytokeratin-18 fragments and biomarkers of the metabolic syndrome in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15:4387-91.
7. Yilmaz Y, Dolar E. Biomarkers for noninvasive biochemical diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis: tools or decorations? *World J Gastr.* 2009; 15:4346-7.
8. Erickson SK. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S412-6.
9. Navarra T, Del Turco S, Berti S, Basta G. The lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and its soluble form: cardiovascular implications. *J Atheroscler Thromb.* 2010; 17:317-31.
10. Brunt EM, Elizabeth M. Nonalcoholic steatohepatit: Definition and pathology. *Seminars In Liver Disease* 2001; 21:3-16.
11. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123:134-40
12. Guzman G, Brunt EM, Petrovic LM, et al. Does nonalcoholic fatty liver disease predispose patients to hepatocellular carcinoma in the absence of cirrhosis? *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132:1761-66

13. Paradis V, Zalinski S, Chelbi E, et al. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology* 2009; 49:851-59
14. 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.
15. Cheung O, Sanyal AJ. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2010; 26:202-8.
16. Ong JP, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of NAFLD and NASH. *Clin Liver Dis* 2007; 11:1-16.
17. Harrison SA, Kandaika S, Lang KA, Schenker S. Nonalcoholic steatohepatitis: What we know in the new millenium. *The American Journal of Gastroenterology* 2002; 97:2714-24.
18. 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.
19. Kim HC, Kim DJ, Huh KB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and carotid intima-media thickness according to the presence of metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2009; 204:521–5.
20. Ramilli S, Pretolani S, Muscari A, et al. Carotid lesions in outpatients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15:4770–4.
21. Alba ML, LindorK. Review article:non-alcoholic fatty liver diseases. *Alimentary Pharmacology And Therapeutics* 2003; 17:977-86.
22. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver diseases. *Gastroenterology* 2002; 123:1705-25.
23. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009; 49:306-17.
24. Shaffer EA. Nonalcoholic steatohepatitis: More than just being fat. *The Canadian Journal of Gastroenterology* 2002; 16:303-7.

25. Wieckowska A, Feldstein AE. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive. *Semin Liver Dis.* 2008; 28:386-95.
26. Paschos P, Paletas K. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 2009; 13:9-19.
27. 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.
28. Brunt EM, Tiniakos DG. Alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. In: Odze RD, Goldblum JR, eds. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas* (2nd ed). Elsevier, Philadelphia 2009, pp. 1007-14.
29. Dixon TB, Garion DE, Bhatol PS. A view on diagnostic criteria of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2002; 122:841-2.
30. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116:1413-9.
31. Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology* 2009; 50:1072-8.
32. Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006; 44:27-33.
33. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, et al. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009; 49:809-20.
34. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000; 118:1117-23.
35. Dixon JB, Bhatol PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001; 121:91-100.

36. Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2010; 16:5286-96.
37. Socha P, Horvath A, Vajro P, et al. Pharmacological interventions for nonalcoholic fatty liver disease in adults and in children: a systematic review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 48:587–96.
38. Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones and the liver in humans. *Curr Opin Lipidol* 2009; 20:477–83.
39. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40:1387–95.
40. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005; 42:44–52.
41. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol* 2006; 45:600–6.
42. Tominaga K, Kurata JH, Chen YK, et al. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity. An epidemiological ultrasonographic survey. *Dig Dis Sci* 1995; 40:2002–9.
43. Franzese A, Vajro P, Argenziano A, et al. Liver involvement in obese children. Ultrasonography and liver enzyme levels at diagnosis and during follow-up in an Italian population. *Dig Dis Sci* 1997; 42:1428–32.
44. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics*. 2006; 118:1388-93.
45. Lopez-Alvarenga JC, Montesinos-Cabrera RA, Velazquez-alva C, Gonzalez-Barranco J. Short stature is related to high body fat composition despite body mass index in a Mexican population. *Arch Med Res* 2003; 34:137-40.
46. Dudeja V, Misra A, Pandey RM, Devina G, Kumar G, Vikram NK. BMI does not accurately predict overweight in Asian Indians in northern India. *Br J Nutr* 2001; 86:105-12.

47. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37:1202–19.
48. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*. 2010; 103:71-83.
49. Dam-Larsen S, Becker U, Franzmann MB, Larsen K, Christoffersen P, Bendtsen F. Final results of a long-term, clinical follow-up in fatty liver patients. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44:1236-43.
50. Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006; 44:865-73.
51. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005; 42:132-8.
52. Dam-Larsen S, Franzmann M, Andersen IB, et al. Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. *Gut* 2004; 53: 750-5.
53. Hui J, Kench JG, Chitturi S, et al. Long term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic steatohepatitis compared with hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38:420-7.
54. Hashimoto E, Yatsuji S, Kaneda H, et al. The characteristics and natural history of Japanese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2005; 33:72-6.
55. Sanyal AJ, Banas C, Sargeant C, et al. Similarities and differences in outcomes of cirrhosis due to nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C. *Hepatology* 2006; 43:682-9.
56. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129:113-21.
57. Powell EE, Jonsson JR, Clouston AD. Steatosis: co-factor in other liver diseases. *Hepatology* 2005; 42:5-13.
58. Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; 25:883-9.
59. Angulo P. NAFLD, obesity and bariatric surgery. *Gastroenterology* 2006; 130:1848-52.
60. Stranges S, Dorn JM, Muti P, et al. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: a population based study. *Hepatology* 2004; 39:754-63.

61. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40:1461-5.
62. Day C, James O. Steatohepatitis: A tale of two “hits”? [editorial]. *Gastroenterology* 1998; 114:842-5.
63. Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology* 2004; 40:185–94.
64. Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28:370–9.
65. Qin X, Xie X, Fan Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- δ induces insulin-induced gene-1 and suppresses hepatic lipogenesis in obese diabetic mice. *Hepatology* 2008; 48:432–41.
66. Sanyal AJ. Mechanisms of disease: pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2:46–53.
67. Villanueva CJ, Monetti M, Shih M, et al. Specific role for acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase 1 (Dgat1) in hepatic steatosis due to exogenous fatty acids. *Hepatology* 2009; 50:434–42.
68. Glimcher LH, Lee AH. From sugar to fat: how the transcription factor XBP1 regulates hepatic lipogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1173 Suppl 1:2-9.
69. Cheung O, Puri P, Eicken C, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with altered hepatic MicroRNA expression. *Hepatology* 2008; 48:1810–20.
70. Dolganiuc A, Petrasek J, Kodys K, et al. MicroRNA expression profile in Lieber-DeCarli diet-induced alcoholic and methionine choline deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis models in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33:1704–10.
71. Miele L, Valenza V, La TG, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49:1877–87.
72. Rensen SS, Slaats Y, Driessen A, et al. Activation of the complement system in human nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 50:1809–17.

73. Rensen SS, Slaats Y, Nijhuis J, et al. Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol* 2009; 175:1473–82.
74. Puri P, Wiest MM, Cheung O, et al. The plasma lipidomic signature of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2009; 50:1827–38.
75. Pusl T, Wild N, Vennegeerts T, et al. Free fatty acids sensitize hepatocytes to bile acid-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 371:441–45.
76. Puri P, Mirshahi F, Cheung O, et al. Activation and dysregulation of the unfolded protein response in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2008; 134:568–76.
77. Alkhouri N, Dixon LJ, Feldstein AE. Lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease: not all lipids are created equal. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 3:445–51.
78. Singh R, Wang Y, Schattenberg JM, et al. Chronic oxidative stress sensitizes hepatocytes to death from 4-hydroxynonenal by JNK/c-Jun overactivation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297:907–17.
79. He S, McPhaul C, Li JZ, et al. A sequence variation (I148 M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 2010; 285:6706–15.
80. Sookoian S, Castano GO, Burgueno AL, et al. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res* 2009; 50:2111–16.
81. Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, et al. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia* 2009; 52:1056–60.
82. Hu ZW, Luo HB, Xu YM, et al. Tumor necrosis factor–alpha gene promoter polymorphisms in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver diseases. *Acta Gastroenterol Belg* 2009; 72:215–21.
83. Sookoian S, Castano G, Gianotti TF, et al. Polymorphisms of MRP2 (ABCC2) are associated with susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 2009; 20:765–70.

84. Yoneda M, Hotta K, Nozaki Y, et al. Association between angiotensin II type 1 receptor polymorphisms and the occurrence of nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2009; 29:1078–85.
85. Siegmund SV, Uchinami H, Osawa Y, et al. Anandamide induces necrosis in primary hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005; 41:1085–95.
86. Witek RP, Stone WC, Karaca FG, et al. Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2009; 50:1421–30.
87. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30:1356-62.
88. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003; 37:1286-92.
89. Pantsari MW, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease presenting with an isolated elevated alkaline phosphatase. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40:633-5.
90. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143:722-8.
91. Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, et al. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2004; 14:635-7.
92. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123:745-50.
93. Park SH, Kim PN, Kim KW, et al. Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment. *Radiology* 2006; 239:105-12.
94. Schreuder TC, Verwer BJ, van Nieuwkerk CM, Mulder CJ. Nonalcoholic fatty liver disease: An overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol* 2008; 14:2474-86.
95. Karcaaltincaba M, Akhan O. Imaging of hepatic steatosis and fatty sparing. *Eur J Radiol* 2007; 61:33-43.

96. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288:462-8.
97. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007; 56:968-73.
98. Wong GL, Wong VW, Choi PC, et al. Assessment of fibrosis by transient elastography compared with liver biopsy and morphometry in chronic liver diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6:1027-35.
99. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007; 45:846-54.
100. Guha IN, Parkes J, Roderick P, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology* 2008; 47:455-60.
101. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, et al. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2006; 6:6.
102. Baranova A, Younossi ZM. The future is around the corner: Noninvasive diagnosis of progressive nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2008; 47:373-5.
103. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future. *Hepatology* 2007; 46: 582-9.
104. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005; 128:1898-906.
105. Brunt EM. Do you see what I see? The role of quality histopathology in scientific study. *Hepatology* 2008; 47:771-4.
106. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander- Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:2467-74.

107. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41:1313-21.
108. Yeh MM, Brunt EM. Pathology of Fatty Liver: Differential Diagnosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Diagnostic Pathology* 2008; 14:586-97.
109. Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49:450-65.
110. Tiniakos DG. Nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis: histological diagnostic criteria and scoring systems. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22:643-50.
111. 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; 35:1070-82.
112. Lackner C, Gogg-Kamerer M, Zatloukal K, Stumptner C, Brunt EM, Denk H. Ballooned hepatocytes in steatohepatitis: the value of keratin immunohistochemistry for diagnosis. *J Hepatol* 2008; 48:821-8.
113. Feldstein AE, Gores GJ. Apoptosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *Front Biosci* 2005; 10:3093-9.
114. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: pathologic features and differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22:330-8.
115. Le TH, Caldwell SH, Redick JA, et al. The zonal distribution of megamitochondria with crystalline inclusions in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004; 39:1423-9.
116. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120:1183-92.
117. Caldwell SH, Chang CY, Nakamoto RK, Krugner-Higby L. Mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8:595-617.
118. Pinto HC, Baptista A, Camilo ME, Valente A, Saragoça A, de Moura MC. Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients. *Dig Dis Sci* 1996; 41:172-9.

119. Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2004; 39:179-87.
120. Valenti L, Fracanzani AL, Bugianesi E, et al. HFE genotype, parenchymal iron accumulation and liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010; 138: 905-12.
121. Alazmi WM, Regev A, Molina EG, Schiff ER. Predictors of cirrhosis in Hispanic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci* 2006;51:1725-9.
122. Kang H, Greenson JK, Omo JT, et al. Metabolic syndrome is associated with greater histologic severity, higher carbohydrate, and lower fat diet in patients with NAFLD. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:2247-53.
123. Wilson S, Chalasani N. Noninvasive markers of advanced histology in nonalcoholic fatty liver disease: are we there yet? *Gastroenterology* 2007;133:1377-8.
124. Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19:371-9.
125. Utzschneider KM, Kahn SE. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4753-61.
126. Kim CH, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease: a manifestation of the metabolic syndrome. *Cleve Clin J Med* 2008; 75:721-8.
127. Jiang J, Torok N. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 2008; 6:1-7.
128. Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16:421-7.
129. Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science* 1996; 274:1185-8.
130. Potter JJ, Womack L, Mezey E, Anania FA. Transdifferentiation of rat hepatic stellate cells results in leptin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244:178-182.

131. Nakao K, Nakata K, Ohtsubo N, et al. Association between nonalcoholic fatty liver, markers of obesity, and serum leptin level in young adults. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:1796-801.
132. Angulo P, Alba LM, Petrovic LM, Adams LA, Lindor KD, Jensen MD. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2004; 41:943-49
133. Lu JY, Huang KC, Chang LC, et al. Adiponectin: a biomarker of obesity-induced insulin resistance in adipose tissue and beyond. *J Biomed Sci* 2008; 15:565-76.
134. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116:1784-92.
135. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003; 112:91-100.
136. Targher G, Bertolini L, Scala L, Poli F, Zenari L, Falezza G. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely associated with nonalcoholic hepatic steatosis in obese individuals. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61:700-3.
137. Aygun C, Senturk O, Hulagu S, Uraz S, Celebi A, Konduk T, Mutlu B, Canturk Z. Serum levels of hepatoprotective peptide adiponectin in non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18:175-180.
138. Yoon D, Lee SH, Park HS, et al. Hypoadiponectinemia and insulin resistance are associated with nonalcoholic fatty liver disease. *J Korean Med Sci* 2005; 20:421-6.
139. Arvaniti VA, Thomopoulos KC, Tsamandas A, et al. Serum adiponectin levels in different types of non alcoholic liver disease. Correlation with steatosis, necroinflammation and fibrosis. *Acta Gastroenterol Belg* 2008; 71:355-60.
140. Lemoine M, Ratziu V, Kim M, et al. Serum adipokine levels predictive of liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2009; 29:1431-8.
141. Cho YK, Lee WY, Oh SY, et al. Factors affecting the serum levels of adipokines in Korean male patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepato gastroenterology* 2007; 54:1512-6.

142. Barnes KM, Miner JL. Role of resistin in insulin sensitivity in rodents and humans. *Curr Protein Pept Sci* 2009; 10:96-107.
143. Pagano C, Soardo G, Pilon C, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:1081-6.
144. Geroldi D, Falcone C, Emanuele E. Soluble receptor for advanced glycation end products: from disease marker to potential therapeutic target. *Curr Med Chem* 2006; 13:1971-8.
145. Yilmaz Y, Ulukaya E, Gul OO, et al. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE) in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem* 2009; 42:802-7.
146. Yilmaz Y, Ulukaya E, Atug O, Dolar E. Serum concentrations of human angiopoietin-like protein 3 in patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with insulin resistance. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21:1247-51.
147. Manfredi AA, Rovere-Querini P, Bottazzi B, Garlanda C, Mantovani A. Pentraxins, humoral innate immunity and tissue injury. *Curr Opin Immunol* 2008; 20:538-44.
148. Yoneda M, Uchiyama T, Kato S, et al. Plasma Pentraxin3 is a novel marker for nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *BMC Gastroenterol* 2008; 8:53
149. Sobanov Y, Bernreiter A, Derdak S, et al. A novel cluster of lectin-like receptor genes expressed in monocytic, dendritic and endothelial cells maps close to the NK receptor genes in the human NK gene complex. *Eur J Immunol*. 2001; 31:3493-503.
150. Huysamen C, Brown GD. The fungal pattern recognition receptor, Dectin-1, and the associated cluster of C-type lectin-like receptors. *FEMS Microbiol Lett*. 2009; 290:121-8.
151. Murase T, Kume N, Kataoka H, et al. Identification of soluble forms of lectin-like oxidized LDL receptor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 ; 20:715-20.

152. Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, et al. Expression of lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. *Circulation*. 1999; 99:3110-7.
153. Tan KC, Shiu SW, Wong Y, Leng L, Bucala R. Soluble lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in type 2 diabetes mellitus. *J Lipid Res*. 2008; 49:1438-44.
154. Shin HK, Kim YK, Kim KY, Lee JH, Hong KW. Remnant lipoprotein particles induce apoptosis in endothelial cells by NAD(P)H oxidase-mediated production of superoxide and cytokines via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 activation: prevention by cilostazol. *Circulation*. 2004; 109:1022-8.
155. Aramaki Y, Mitsuoka H, Toyohara M, et al. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) acts as a receptor for remnant-like lipoprotein particles (RLPs) and mediates RLP-induced migration of vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 2008; 198:272-9.
156. Cominacini L, Rigoni A, Pasini AF, et al. The binding of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) to ox-LDL receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells through an increased production of superoxide. *J Biol Chem*. 2001; 276:13750-5.
157. Dandapat A, Hu C, Sun L, Mehta JL. Small concentrations of oxLDL induce capillary tube formation from endothelial cells via LOX-1-dependent redox-sensitive pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007; 27:2435-42.
158. Kanata S, Akagi M, Nishimura S, et al. Oxidized LDL binding to LOX-1 upregulates VEGF expression in cultured bovine chondrocytes through activation of PPAR-gamma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 348:1003-10.
159. Mehta JL, Hu B, Chen J, Li D. Pioglitazone inhibits LOX-1 expression in human coronary artery endothelial cells by reducing intracellular superoxide radical generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23:2203-8.
160. Ouslimani N, Mahrouf M, Peynet J, et al. Metformin reduces endothelial cell expression of both the receptor for advanced glycation end products and lectin-like oxidized receptor 1. *Metabolism* 2007; 56:308-13.

161. Chen H, Li D, Sawamura T, Inoue K, Mehta JL. Upregulation of LOX-1 expression in aorta of hypercholesterolemic rabbits: modulation by losartan. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 276:1100-4
162. Ogura S, Kakino A, Sato Y, et al. Lox-1: the multifunctional receptor underlying cardiovascular dysfunction. *Circ J.* 2009; 73:1993-9.
163. Alkhoury N, Tamimi TA, Yerian L, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. The inflamed liver and atherosclerosis: a link between histologic severity of nonalcoholic fatty liver disease and increased cardiovascular risk. *Dig Dis Sci.* 2010; 55:2644-50.
164. Sullivan S. Implications of diet on nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26:160-4.
165. Pillai AA, Rinella ME. Non-alcoholic fatty liver disease: is bariatric surgery the answer? *Clin Liver Dis* 2009; 13:689-710.
166. Kiyici M, Gulten M, Gurel S, et al. Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol* 2003; 17:713-8.
167. Hyogo G, Tazuma S, Arihiro K, et al. Efficacy of atorvastatin for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis with dyslipidemia. *Metabolism* 2008; 57:1711-8.
168. Nelson A, Torres DM, Morgan AE, Fincke C, Harrison SA. A pilot study using simvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: A randomized placebo-controlled trial. *J Clin Gastroenterol* 2009; 10:990-4.
169. Ratziu V, Charlotte F, Bernhardt C, et al. Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial. *Hepatology* 2010; 2:445-53.
170. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KY, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362:1675-85.
171. 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.

172. Brinkley TE, Kume N, Mitsuoka H, Phares DA, Hagberg JM. Elevated soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 (sLOX-1) levels in obese postmenopausal women. *Obesity (Silver Spring)*. 2008; 16:1454-6.
173. Lubrano V, Del Turco S, Nicolini G, Di Cecco P, Basta G. Circulating levels of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 are associated with inflammatory markers. *Lipids*. 2008; 43:945-50.
174. Sakurai K, Sawamura T. Stress and vascular responses: endothelial dysfunction via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1: close relationships with oxidative stress. *J Pharmacol Sci*. 2003; 91:182-6.
175. Kelly KJ, Wu P, Patterson CE, Temm C, Dominguez JH. LOX-1 and inflammation: A new mechanism for renal injury in obesity and diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294:1136–45.
176. Li DY, Zhang YC, Philips MI, Sawamura T, Mehta JL. Upregulation of endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein (LOX-1) in cultured human coronary artery endothelial cells by angiotensin II type 1 receptor activation. *Circ Res*. 1999; 84:1043-9.
177. Zhong J, Guo D, Chen CB, et al. Prevention of angiotensin II-mediated renal oxidative stress, inflammation, and fibrosis by angiotensin-converting enzyme 2. *Hypertension*. 2011; 57:314-22.
178. Yoneda M, Hotta K, Nozaki Y, et al. Association between angiotensin II type 1 receptor polymorphisms and the occurrence of nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2009; 29:1078–85.

