

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALARINDA
HİSTOPATOLOJİK BULGULARIN NONİNVAZİV FİBROZ
GÖSTERGELERİ, LABORATUVAR VE RADYOLOJİK
TETKİKLER İLE KORELASYONU**

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatma Esra ERDEM PALAZ

**TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr.İ. Billur CANBAKAN**

İSTANBUL, 2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın her aşamasında desteğini, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Prof. Dr. Billur Canbağın'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tüm hocalarıma,

Tez çalışmamda yardımını esirgemeyen Uzm. Dr. Kadri Atay'a,

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma ve uzmanlarıma,

Çalışmalarında bana destek olan eşim ve kızım

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. TANIM	2
2.2. EPİDEMİYOLOJİ	2
2.3. RİSK FAKTÖRLERİ	3
2.4. GENETİK	5
2.5. PATOGENEZ	5
2.6. HİSTOPATOLOJİ	5
2.7. TANI	6
2.8. TEDAVİ	9
3. MATERYAL VE METOD	10
4. BULGULAR	11
5. TARTIŞMA	28
6. ÖZET	34
7. ABSTRACT	36
8. KAYNAKLAR	37

KISALTMALAR

ANOVA	: Analysis Of Variance
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AUROC	: Area Under The Receiver Operating Curve
FGF21	: Fibroblast Growth Factor 21
GGT	: Gamma Glutamik Transferaz
HCC	: Hepato Sellüler Karsinom
HDL	: High Density Lipoprotein
HOMA-IR	: Homeostatic Model of Assessment-Insulin Resistance
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
Kpa	: Kilopaskal
LDL	: Low Density Lipoprotein
LSM	: Liver Stiffness Measurement
MRE	: Manyetik Resonans Elastografi
NASH	: Nonalkolik Steatohepatit
NAYK	: Nonalkolik Yağlı Karaciğer
NAYKH	: Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
PNPLA3	: Patatin Like Phospholipae Domain Containing 3
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TEMĐ	: Türkiye Endokrin ve Metabolizma Derneđi
USG	: Ultrasonografi
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein
yk140	: Chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1)

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Tüm hastaların özellikleri	11
Tablo 2: Kadın-erkek gruplar arasındaki farklılık	13
Tablo 3: Biyopsi ve Fibroscan'e göre fibroz karşılaştırması 1.....	14
Tablo 4: Biyopsi ve Fibroscan'e göre fibroz karşılaştırması 2.....	14
Tablo 5: Obez ve obez olmayan hastalar için gruplar arası kıyaslama	15
Tablo 6: Bel çevresi normal ve yüksek olan hastaların karşılaştırılması	16
Tablo 7: AST normal ve yüksek grupların karşılaştırılması.....	17
Tablo 8: ALT normal ve yüksek grupların karşılaştırılması	18
Tablo 9: GGT normal ve yüksek grupların karşılaştırılması.....	19
Tablo 10: Biyopside hafif fibroz (f0-1), ileri fibroz (f2-4) karşılaştırılması	20
Tablo 11: Fibroscandaki fibroz derecesine göre hafif ve ileri fibroz karşılaştırması	21
Tablo 12: Fibroscan fibroz LSM değerine göre fibroz olan ve olmayan gruplar	22
Tablo 13: Fibroscan fibroz LSM değerine göre hafif ve ileri fibroz gruplarının Karşılaştırılması	23
Tablo14: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün HOMA -IR indeksi üzerindeki etkisi.....	24
Tablo 15: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün Fibroscan LSM değeri üzerindeki etkisi ...	24
Tablo 16: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün Fibroscan fibroz üzerindeki etkisi.....	24
Tablo 17: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün Fibroscan yağlanma üzerindeki etkisi	24
Tablo 18: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün USG yağlanma üzerindeki etkisi.....	25
Tablo 19: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün biyopsi yağlanma üzerindeki etkisi	25
Tablo 20: VKİ, trigliserid ve HDL kolesterolün biyopsi fibroz üzerindeki etkisi	25
Tablo 21: Fibroscan'deki fibroz artışı için hyalüronik asit, fibroblast growth faktör 21, kollajen tip4 ve ykl40 ile binary logistic regresyon analizi	27

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) alkol tüketimi ya da sekonder nedenler olmadan karaciğerden yağlanma ile karakterize karaciğer patolojilerini tanımlar. Gelişmiş ülkelerde prevalansı %20-25 olarak çeşitli çalışmalarda gösterilmiş ve dislipidemi, diabetes mellitus gibi risk faktörleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. NAYKH metabolik sendromun karaciğer bulgusu olarak tanımlanmaktadır. NAYKH basit yağlanmadan steatohepatite, fibroz ve siroza kadar geniş bir spektrum gösterir.

Prognozun en iyi göstergesi fibrozdur ve fibrozu değerlendirmede altın standart yöntem karaciğer biyopsisidir. İnvaziv olması, örnekleme hatası, maliyet, değerlendirilmesinde farklılıklar biyopsinin dezavantajlarıdır. Biyopsiye alternatif geliştirilen noninvaziv testlerin kullanımı giderek artmaktadır.

Bu çalışmada Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hepatoloji Polikliniği'nden takipli, karaciğer biyopsisi ile NAYKH tanısı kesinleşmiş hastalarda laboratuvar, görüntüleme tetkikleri ve noninvaziv fibroz parametrelerinin histopatolojik bulgularla uyumunu araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TANIM

NAYKH karaciğerde trigliserit ve serbest yağ asitlerinin birikimi olarak tanımlanır. NAYKH tanımı basit yağlanma (non-alkolik yağlı karaciğer, NAYK) ve non alkolik steatohepatiti (NASH) kapsar. NAYK hepatosit hasarı olmadan karaciğer dokusunun %5' inden fazlasında steatoz olması, NASH karaciğerde yağ artışına ek olarak hücre hasarı ve inflamasyonun olması olarak tanımlanır (1) . Basit yağlanma kısa dönemde mortalite ve morbidite ile ilişkili değilken, non-alkolik steatohepatite ilerlemesi siroz ve hepatosellüler karsinom gelişme riskini artırır. Aynı zamanda NASH hastalarında kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite ve morbiditenin de arttığı gösterilmiştir.

Sekonder steatoz nedenleri	
Makroveziküler yağlanma:	Mikoveziküler yağlanma:
<ul style="list-style-type: none">• Alkol• Hepatit C (genotip 3)• Wilson hastalığı• Çölyak hastalığı• Hipotiroidi, hipopituitarizm• Lipodistrofi• Açlık• Parenteral beslenme• Abetalipoproteinemi• İlaçlar (amiodaron, metotreksat, tamoksifen, steroid)	<ul style="list-style-type: none">• Reye sendromu• İlaçlar (valproik asit, antiretroviral)• Gebeliğin akut yağlı karaciğeri• HELLP sendromu• Doğumsal metabolizma bozuklukları (LCAT eksikliği, kolesterol ester depo hastalığı, Wolman hastalığı)

2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Obezite ve diğer metabolik sendrom parametrelerinin artışıyla birlikte tüm dünyada NAYKH görülme sıklığı artmaktadır ve gelişmiş ülkelerde en sık görülen karaciğer hastalığıdır (2, 3). Tahmini veriler gelişmiş ülkelerde yetişkinlerin %20-30' unda NAYKH , %2-5 kadarında da karaciğer hasarı (non-alkolik steatohepatit, NASH) ve %1-2 oranında NASH'e bağlı siroz gelişme olasılığını göstermektedir (4). NAYKH hastalarına klinik endikasyon varlığında yapılan biyopsilerde %59 NASH, spesifik bir klinik endikasyon olmadan yapılan biyopsilerde %6.6 NASH saptanmıştır (5).

Son 20 yılda diğer kronik karaciğer hastalıklarının sıklığı sabit kalıp, hatta azalırken NAYKH sıklığı iki katına çıkmıştır (6). 20 yıl sonra karaciğerle ilgili mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi olacağı tahmin edilmektedir (7).

2.3. RİSK FAKTÖRLERİ

2.3.1. Metabolik sendrom ve diyabet

Uluslararası diyabet federasyonu (IDF) metabolik sendrom kriterleri:

- Santral obezite, bel çevresi erkekte 94, kadında 80 cm (VKİ ≥30 ise bel çevresi ölçümü gerekmez santral obezite var denebilir),
- Trigliserid >150 mg/dL (ya da hipertrigliseritemi için ilaç kullanıyor olmak),
- HDL kolesterol erkekte <40 mg/dL, kadında <50 mg/dL (ya da tedavi alıyor olmak)
- Artmış kan basıncı ≥130/85 mm Hg (ya da antihipertansif tedavi alıyor olmak)
- Açlık glukozu ≥100 mg/dL (ya da mevcut tip2 diyabet tanısı)

Metabolik sendromun temelinde insülin direnci vardır. İnsülin direncinin değerlendirilmesinde en çok kullanılan yöntem HOMA-IR (Homeostatic Model of Assessment-Insulin Resistance) indeksi hesaplanmasıdır. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalarında önerilen sınır değer 1.9 olarak bulunmuştur (8).

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{açlık glukoz} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) \times \text{açlık insülin} \left(\frac{\text{mu}}{\text{ml}} \right)}{405}$$

TEMD' ne göre diyabet tanısı açlık plazma glukozu 126mg/dl nin üzerinde, OGTT de 2. Saat plazma glukozunun 200mg/dl'nin üzerinde olması, rastgele ölçülen kan şekere diyabet semptomlarının eşlik etmesi ya da hemoglobin A1C nin %6,5'in üzerinde olması ile konur. Açlık kan şekerinin 100-125mg/dl arasında olması bozulmuş açlık glukozu, OGTT de 2. saat plazma glukozunun 140-199mg/dl arasında olması ise bozulmuş glukoz toleransı olarak tanımlanır. Bozulmuş açlık glukozu ve bozulmuş glukoz toleransı diyabet öncülü olarak kabul edilir. 2017 TEMD diyabet kılavuzunda hemoglobin A1C nin %5,7' nin üzerinde olması da yüksek diyabet riski olarak tanımlanmıştır(9).

TEMD obezite, hiperlipidemi ve hipertansiyon grubu çalışma sonuçlarına göre Türk toplumu için belirlenmiş bel çevresi değerleri erkekler için >100cm, kadınlar için >90cm olarak belirlenmiştir. VKİ ne göre 18,5-24,9 arası normal kilolu; 25-29,9 arası fazla kilolu, 30-34,9 arası birinci derece obez, 35-39,9 ikinci derece obez, ≥40 morbid obez olarak sınıflandırılır.

Tip 2 diyabetli ve non diyabetik hastaların karşılaştırıldığı çalışmada tip 2 diyabetli hastalarda karaciğerde %80 daha fazla yağ birikimi saptanmıştır (10). Ayrıca tip 2 diyabetli hastalarda NAYKH ile ilişkili komplikasyon gelişme riski de 2-4 kat artmıştır (10,11).

2.3.2. Etnik köken

Hispanik ve asyalılar yüksek riskli, afrikan-amerikan ırkı düşük risklidir (4,12)

2.3.3. Cinsiyet ve yaş

Erkeklerde biraz daha sık ve daha genç yaşta artış gösterip 50-60 yaşlarında azaldığı, kadınlarda 50 yaşından sonra artış gösterip 60-69 yaş arasında pik yaptığı ve NAYKH'nın kadınlarda histolojik olarak daha şiddetli olduğu gösterilmiştir (13).

2.3.4. Diyet ve sigara

Diyette fazla yağ, karbonhidrat, şeker, rafine tahılların alımı metabolik sendrom ve NAYKH ile ilişkilidir (14). Sigara da NAYKH için bağımsız risk faktörüdür (15). Sigara, insülin direnci ve metabolik sendromla da ilişkilidir. Fiziksel aktivitesi az olan kişilerde de NAYKH şiddeti daha fazladır.

Diğer risk faktörleri ve ilişkili hastalıklar: (4, 16)

- Polikistik over sendromu,
- Obstruktif uyku apne sendromu,
- Jejunioileal by-pass cerrahisi,
- Aile hikayesi-genetik yatkınlık
- İlaç ve toksinler (amiodaron, tamoxifen, kortikosteroidler, sentetik östrojenler, metotrexat, HAART (antiretroviral tedavi),
- Hiperlipidemi,
- Hepatit C (özellikle genotip 3)
- Hızlı kilo kaybı,
- Total parenteral nutrisyon,
- Wilson hastalığı, abetalipoproteinemi, divertikülozis
- Hipotiroidizm, hipopituitarizm, hipogonadizm, psöriazis

2.4. GENETİK

NAYKH ile alakalı bulunan ve üzerinde en çok çalışılan gen PNPLA3 (patatin like phospholipase domain containing 3) dır. Tek nükleotid polimorfizmi (snp) sitozinden guanine dönüşüm, izolösinden metionine aminoasit değişimine yol açar, bu polimorfizm PNPLA3 rs738409 olarak tanımlanır (17). Ayrıca bu gen polimorfizminin fibroz şiddetiyle ve HCC gelişme riskiyle de ilişkili olduğu gösterilmiştir (18). 16 çalışmayı kapsayan bir metaanalizde rs738409 GG genotipi, CC genotipi ile karşılaştırıldığına karaciğer yağ içeriğinde %73 artış ve fibroz gelişme riskinde 3.2 kat artış saptanmıştır(19). PNPLA3 geninin başka polimorfizmlerinin de karaciğer yağlanması ve hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. TM6SF2 geninin de karaciğer yağ metabolizmasının düzenleyicisi olduğu bulunmuştur (20).

2.5. PATOGENEZ

Karmaşık ve multifaktöriyel olan NAYKH patogenezinde kabul gören bir hipotez Two-hit modelidir: 1. Etken: karaciğerde yağ birikimi, sedanter yaşam, yağdan zengin beslenme, obezite ve insülin direnci, 2. Etken de fibrogenezle ilgili inflamatuvar olayları aktive eder.(21)

NAYKH patogenezinin temelinde insülin direnci vardır. Ek olarak oksidatif stres, sitokinler de genetik yatkınlığı olan kişilerde steatoz ve ilerleyici karaciğer hasarına katkı sağlar.

Karaciğerde yağ birikimi çeşitli faktörlere bağlıdır: 1. Yağ hücrelerinden lipolizin artışı ya da diyetle fazla yağ alınması sonucu serbest yağ asitlerinin artması, 2. Karaciğerde lipogenezin artması, 3. Karaciğerden VLDL sekresyonunun azalması, 4. Yağ asidi oksidasyonunun azalması. Yağ asidi oksidasyonunun (beta oksidasyon) azalması insülin direncine bağlı mitokondrial disfonksiyon ile ilişkilidir (22). İnsülin artışı karaciğerde lipogenezini artırıp yağ dokuda lipolizi azaltır (23).

Bağırsak mikrobiotasının da NAYKH patogenezinde önemli bir rol aldığı anlaşıldı. Sadece besinlerin emilim ve atılımıyla değil karaciğer hücrelerinden proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olan toll-like reseptörler üzerinden de etki gösterir (24).

2.6. HİSTOPATOLOJİ

Yağlanma, hepatositlerde balonlaşma ve lobuler inflamasyon NASH in histolojik bulgularını oluşturur.

Histolojik bulgular hafif steatozdan (hepatositlerin en az %5 ini etkileyen) lobular ve /veya portal inflamasyon, hepatositlerde balonlaşma, fibrozis ve siroza kadar değişir. (25).

Yağlanma 0 dan 3 e kadar 4 dereceye ayrılır. Grade 0 (normal karaciğer) %5' in altında, grade1 %5-33 arası, gade 2 %33-66, grade 3 %66 nın üzerinde (26).

Lipotoksisite nedeniyle hepatosit ölümünü takiben myofibroblastların artışı NASH gelişiminde rol oynar.

2.7. TANI

Obezite, diyabet, uyku apne sendromu gibi ilişkili durumların olması, karaciğer hastalığını gösteren klinik ve laboratuvar bulguları varlığı gibi durumlarda NAYKH'dan şüphelenilir. Öncelikle viral hepatitler, alkol kullanımı, otoimmün hepatit, kalıtsal karaciğer hastalıkları ve ilaç ilişkili karaciğer hastalıklarını ekarte ettikten sonra NAYKH düşünülür. Şüphelenilen hastada ilk tetkik olarak ultrason iyi bir yöntemdir fakat toplum taraması olarak çok pahalı olacağı için önerilmez. Alkolik steatohepatit ile ayrımı sadece alkol kullanımının sorgulanması ile yapılabilir (kadında 20 gr/gün, erkekte 30 gr/gün üzerinde).

Araştırmaların hedefinde hangi hastaların siroz gelişimi için daha riskli olduğunun belirlenmesi vardır. Birçok çalışmada NAYKH da karaciğerdeki fibroz derecesinin mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (27). Fibrozu olmayan bir karaciğerle karşılaştırıldığında (F0) , evre 1 fibroziste 1.8 kat, evre 2-3 fibroziste 1.9 kat, evre 4 fibroziste 6.7 kat artmış ölüm veya karaciğer transplantasyon riski görülmüştür. Bu risk artışı yaş , cinsiyet , VKİ, sigara , diyabet, hipertansiyon gibi diğer faktörlerden bağımsızdır. Fibroz evresi gastroözofageal varis, asit, ensefalopati gibi karaciğerle ilişkili komplikasyonlar ile de ilişkilidir. Evre 0' a göre evre 2 fibroziste 7.5 kat, evre 3 fibroziste 13.8 kat, evre 4 fibroziste 47.5 kat artmış karaciğerle ilişkili komplikasyon görülmüş, evre 1 de anlamlı artış saptanmamıştır. Fibroz evresi NAYKH da en önemli prognostik göstergedir (28).

NAYKH fibroz olmasa bile HCC gelişimi için ortam sağlar. İnflamasyon, adipokinler, oksidatif stres ve lipotoksisite hepatosellüler karsinogeneziste etkilidir(29). NAYKH da 8 yıllık takipte siroz gelişimi %0.2, NASH' e bağlı siroz olan hastalarda %12 olarak saptanmıştır (30,31).

Noninvaziv fibroz göstergeleri

NAYKH tanısında fibrozisin saptanmasında altın standart yöntem karaciğer biopsisi olmakla birlikte invaziv bir yöntem olması uygulanmasını sınırlamaktadır. Ayrıca NAYK hastalarının sadece küçük bir kısmında ileri fibroz ve siroz gelişmesi biopsi yapılacak hastaları seçmeyi gerektirmektedir. Serum testleri ve görüntüleme yöntemleri ile fibrozis derecesini non invaziv olarak saptamak için yeni yöntemler geliştirilmektedir.

Bazı non invaziv fibroz parametreleri (32, 33, 34, 35)

AST/ALT oranı
AST /trombosit oranı indeksi
BAAT skoru (Vücut kitle indeksi (VKİ), yaş, ALT, serum trigliserit)
BARD (VKİ, AST/ALT oranı ,diyabet)
ELF testi (yaş , HA, TIMP-1(metalloproteinaz-1 doku inhibitörü), PIIINP(n terminal propeptidip3 prokollajen),
FibroMeter (trombosit sayısı, g2 makroglobulin, AST, yaş, protrombin indeksi, HA, kan üre azotu) ,
FibroTest (Alfa-2 makroglobulin, haptoglobin, GGT, total bilirubin, apolipoprotein)
Steatotest (ALT, α_2 -makroglobulin (A2M), apolipoprotein A-I (ApoA1), haptoglobin, total bilirubin, GGT, kolesterol, trigliserit, glukoz, yaş, cinsiyet ve VKİ)
NASH test (fibrotest + boy, kilo , AST, glukoz, trigliserit, kolesterol and ST,yaşa ve cinsiyete göre ayarlanmış)
FIB-4 (yaş, AST, trombosit,ALT)
Hepascore (yaş, cinsiyet, bilirubin, GGT, hyalüronik asit, α_2 -makroglobulin) ,
NAFLD fibrosis score (NFS) (yaş, hiperglisemi, vücut kitle indeksi, trombosit, albumin, AST/ALT oranı)
Plazma pentraxin 3
Adipositokinler (leptn, adiponeltin, IL-6, TNF- alfa)
Sitokeratin-18
Hyalüronik asit
Tip4 kollojen 7 s
FGF21 (Fibroblast growth factor)
ykl40 (chitinase 3-like-1, breast regression protein-39)

Hyalüronik asit birçok dokuda bulunan bir ekstrasellüler matriks elemanıdır. Çeşitli inflamatuvar durumlarda kollajen üretimi ile birlikte hyalüronik asit üretimi de artış gösterir. Serum hyalüronik asit seviyesi karaciğer fibrozu ile artış gösterir (36). Birçok çalışma kronik

karaciğer hastalığında fibroz göstergesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde kollajen tip4 de inflamasyon durumunda artan ve birçok çalışmada karaciğerdeki fibrozu gösterdiği kanıtlanmış bir ekstrasellüler matriks elemanıdır (37,38,39).

FGF21 karaciğerden ve daha az olarak adipoz dokudan sentezlenir. Karaciğer yağlanması ile birlikte karaciğerden sentezi artar. FGF21 in aynı zamanda karaciğerdeki hasarı azalttığı, FGF 21 yokluğunda karaciğerdeki lipotoksisitenin arttığı gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde eksojen FGF21 tedavisinin inflamasyon ve fibrozda düzelmeye sağladığı gösterilmiştir. (40)

Yang M ve arkadaşları 2015 de bir FGF21' in NASH hastalarında arttığını göstermiştir (41).

YKL-40 (chitinase 3-like-1, breast regression protein-39 ya da human cartilage glycoprotein-39) kondrositler ve sinovyal sıvıdan salgılanan bir protein, makrofajlardan da salgılanarak doku tamirinde endotel hücreleri için kemoatraktan görevi görerek anjiogenezi düzenler ve doku tamirinde görev alır. İnflamatuvar hastalıklarda ve malignitelere serum seviyesinin arttığı gösterilmiştir (42). NAYKH da fibrozu göstermede etkin olduğu gösterilmiştir (39).

Görüntüleme yöntemleri:

Ultrasonografi: Steatoz tanısında tarama testi olarak kullanılır. Ucuz ve hızlı uygulanabilir olması avantajlarıdır. Karaciğer ekojenitesi artmış olarak görülür. Yağ birikimine göre 4 seviyeye ayrılır; Normal, Hafif (grade1), orta (grade 2), şiddetli (grade3) yağlanma (43-44). Orta ve ileri yağlanmada duyarlılığı %81.8 - %100, özgüllüğü %98, hafif yağlanmada duyarlılığı %53.3 - %66.6 ve özgüllüğü %77 -%93. (43-45) . Yapana bağımlı bir yöntem olması ve kalitatif değer vermesi ultrasonografinin dezavantajlarıdır. Komputarize kantitatif analiz metodları bunu ortadan kaldırılabilir (hepatorenal indeks) (46).

Bilgisayarlı tomografi: Hızlı ve yapana bağımlı olmaması avantajları, radyasyon maruziyeti ve pahalı bir yöntem olması da dezavantajlarıdır. Karaciğer dansitesinin dalağa göre azalması ile tanımlanır. Orta ve ileri yağlanmayı %82 sensitivite , %100 spesifite ile gösterebilir (47). Erken evre fibrozisi göstermede rolü yoktur. İleri evrede sirotik değişiklikleri gösterebilir (48).

Manyetik Rezonans görüntüleme: NAYKH da çeşitli amaçlarla kullanılabilir: 1) karaciğerin genel yapısını değerlendirmek, 2) MR spektroskopi ile yağ ölçümü, 3) MR elastografi ile fibrozisin ölçümü. Fiyat, çekim süresi ve obez hastalara uygulanmasındaki kısıtlılık da MR' in dezavantajlarıdır. Diyabetik hastalarda yapılan bir çalışmada MR ile

karaciğer yağlanması saptanmasında sensitivitesini %98 saptanmıştır (49) . MRE fibrozis değerlendirmesinde yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir (%85 ve %93) (50).

Fibroscan: Ultrason temelinde bir elastografi yöntemidir. Karaciğerin katılığını ölçen noninvaziv ve hızlı bir fibröz göstergesidir. Biyopsi ile karşılaştırıldığında daha geniş bir karaciğer alanında ölçüm yapıldığı için örnekleme hatası azalmış olur (51). Sonuç *LSM* (liver stiffness measurement) (birimi: kilopaskal (Kpa)) olarak verilir. Normali 5 Kpa ve sirozda genellikle 12-14 Kpa üzerindedir. Obez hastalarda bu değerler daha yüksek olabilir (52). Obez kişilerde kullanımı zordur. VKİ arttıkça doğruluğu azalır, fibroz derecesi ilerledikçe doğruluğu artar (51,53).

Tapper ve arkadaşları NAYKH tanılı (median VKİ 32.2 kg.m²) 164 hatada yaptığı çalışmada optimal sınırı ilerlemiş fibroz için 9.9 Kpa olarak bulmuş (%95 sensitivite, %77 spesivite) , %27 sinde Fibroscan'ın güvenilir sonuçlar verdiği gözlenmiştir (54).

2.8. TEDAVİ

Tedavinin hedefleri insülin direnci ve oksidatif stresi azaltmaktır. Kanıtlanmış tek tedavi yöntemi yaşam tarzı değişikliği olmakla beraber yeni tedavi araştırmaları hızla devam etmektedir.

Yavaş ve kademeli bir kilo kaybı önerilmektedir, hızlı kilo kaybı NASH gelişimini hızlandırabilir.

Yaşam tarzı değişiklikleri:

Kalori alımının azaltılması ve fiziksel aktivitesinin artırılması ile insülin direnci azaltılmaya çalışılır.

Vücut kitle indeksi >35 olan obez hastalarda bariatrik cerrahi de kilo kaybı için etkili olabilmektedir.

Medikal tedavi

İnsülin direncini azaltan ajanlar (Metformin, Pioglitazon, Saroglitazar, Elafibranor)

Lipid düşürücü tedavi: dislipidemi varlığında lipid düşürücü etkilerinin yanısıra antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri vardır. Fakat dislipidemisi olmayan NAYKH hastalarında kullanımı konusunda kesin kanıtlar yoktur (55). Kargiotis ve arkadaşları rosuvastatin 10 mg/gün 12 ay kullanımı sonrası ile histolojik bulgularda düzelmeye olduğunu gösterdi (56).

Obezite tedavisi: Orlistat

Diğerleri: Obetolik asit ,Ursodeoksikolik asit, Vitamin E, Vitamin C, Ezetimib, Liraglutid, Emricasan, Pentoksifilin, Fekal transplantasyon, Solitromisin, Galectin-3 , IMM-124e (57, 58, 59, 16)

3. MATERYAL VE METOD

3.1 . YÖNTEM

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji –Hepatoloji polikliniğine 2001-2017 yılları arasında başvuran ,hepatosteatoz tanısı alıp sekonder neden saptanmayan ve hepatosteatoz tanısı biyopsi ile doğrulanmış 36 hastanın dosyası retrospektif olarak incelendi.

3.1.2. Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

- Alkol öyküsü (>20 gr/gün)
- HBsAg veya anti HCV pozitifliği olan hastalar
- Otoimmün hepatit tanısı olan hastalar
- Wilson hastalığı, hemokromatozis veya diğer kronik karaciğer hastalığı olan hastalar

çalışmaya alınmamıştır.

3.1.3. Çalışmanın İşleyişi

Çalışmaya alınan hastaların dosyaları incelendi, yaş, cinsiyet, VKİ, bel çevresi, AST,ALT, GGT, LDL, HDL, trigliserit, açlık kan şekeri, insülin, insülin direnci, HbA1C, TSH, albumin, trombosit, ortalama trombosit hacmi, protrombin zamanı, ferritin, ultrason, Fibroscan ve biyopsi sonuçları değerlendirildi.

Hyalüronik asit, fibroblast growth faktör 21 , kollajen tip4 ve ykl40 parametrelerinin her biri ELİSA kitleri ile çalışıldı.

3.1.4. İstatistik

Veriler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 15 programında hazırlanan forma kaydedilerek değerlendirildi. Faktörlerin birbiri ile ilişkisini incelemek için ANOVA(analysis of variance), Pearson, Spearman analiz yöntemleri uygulandı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar student-t testi ile yapıldı. Verilerin tanı değerini, duyarlılığını ve özgüllüğünü saptamak için AUROC (area under the receiver operating curve) analizi uygulandı. Regresyon analizi ile verilerin bağımsız faktör olup olmadığı araştırıldı. p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 36 hasta dahil edildi, 20'si kadın ,16' sı erkek, tüm hastaların yaş ortalaması 56 idi.. Diyabet tanısı olan 16, olmayan 20 hasta, bel çevresi normal olan 4, yüksek olan 25 hasta, 20 obez, 16 normal veya fazla kilolu hasta vardı.

Tablo 1: Tüm hastaların özellikleri

Parametre	Ortalama ±standart sapma	Parametre	Ortalama ±standart sapma
Yaş	56,00 ±11,730	Trombosit sayısı	224,94±85,674
VKİ	30,14 ±4,407	Ortalama trombosit hacmi	9,32±1,582
BEL ÇEVRESİ	103,56 ±9,366	Protrombin zamanı	11,95±0,850
AST	34,03 ±17,184	Ferritin	88,21 ±70,266
ALT	46,92 ±43,127	Ultrasonografi(Y. grade)	1,79±0,833
GGT	79,17 ±73,802	Fibroscan yağlanma	1,48 ±0,802
LDL	114,28 ±38,325	Fibroscan kpa	9,64±7,230
HDL	53,31 ±15,853	Fibroscan fibroz	1,75±1,578
Trigliserid	148,00 ±75,439	Biyopsi yağlanma	1,89 ±0,832
Açlık glukoz	116,89 ±41,272	Biyopsi iltihap	1,23 ±0,490
İnsülin	19,79±14,17	Biyopsi fibroz	0,86 ±1,004
İnsülin direnci (homa)	5,73±4,65	Hyalüronik asit	403,06±184,416
HbA1c	6,41±1,161	Fibroblast growth faktör 21	1466,76±438,637
Albümin	4,43±0,396	Kollojen tip4	36,86±9,528
		ykl40	269,48±104,494

Hastalar NAYK ve NASH olarak gruplandırıldığında, NAYK grubundaki 14 hastanın 3'ünde Fibroscan'de fibroz saptanmadı, 7 hastada F0, 3 hastada F2, 1 hastada F4 fibrozis saptandı. NASH grubundaki 14 hastanın 5'inde F0 fibroz, 1'inde F1 fibroz, 2 hastada F3 fibroz, 5'inde F4 fibroz saptandı.

NAYK grubunda 2 hastada USG de grade 1 yağlanma, 8'inde grade 2 yağlanma, 2 hastada grade 3 yağlanma mevcuttu. NASH grubunda 3 hastada yağlanma görülmedi (sirotik karaciğer). Aynı grupta olan 9 hastada grade 2, 1 hastada grade 3 yağlanma saptandı.

NAYK grubunda Fibroscan'de 2 hastada 0-%33 arası yağlanma, 3 hastada %33-66 yağlanma, 8 hastada >%66'nın üzerinde yağlanma, NASH grubunda 3 hastada 0-33, 2 hastada %33-66, 9 hastada >%66 yağlanma mevcuttu.

NAYK grubunda 8 hasta normal kilolu, 8 hasta obez, NASH grubunda 7 hasta normal kilolu, 12 hasta obezdi.

Bel çevresi NAYK grubunda 1 hastada normal, 12 hastada yüksek, NASH grubunda 3 hastada normal, 12 hastada yüksek bulundu.

16 NAYK hastasının 7'si diyabetik idi. NASH grubunda 19 hastanın 9'u diyabetikti.

ALT, NAYK grubunda 10 hastada normal, 5 hastada yüksek, NASH grubunda 9 hastada normal, 9 hastada yüksek bulundu.

AST, NAYK grubunda 14 hastada normal, 2 hastada yüksek, NASH grubunda 9 hastada normal, 10 hastada yüksek idi.

GGT, NAYK grubunda 10 hastada normal, 6 hastada yüksek, NASH grubunda 7 hastada normal, 12 hastada yüksek bulundu.

HOMA-IR indeksi, NAYK grubunda 2 hastada normal, 14 hastada yüksek, NASH grubunda 2 hastada normal, 17 hastada yüksekti.

HDL, NAYK grubunda 10 hastada normal, 6 hastada düşük, NASH grubunda 12 hastada normal, 7 hastada düşüktü.

Trigliserid, NAYK grubunda 8 hastada normal, 7 hastada yüksek, NASH grubunda 12 hastada normal, 7 hastada yüksekti.

Hastalar kadın erkek olarak gruplandırıldığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Ferritin için anlamlıya yakın farklılık gözlemlendi (p=0,052). **(tablo 2)**

Tablo 2: Kadın-erkek gruplar arasındaki farklılık

N:36	Kadın(n:20)	Erkek(n:16)	p değeri
Yaş	55,65±12,145 (n:20)	56,44±11,570 (n:16)	0,845
VKİ	30,37±4,924 (n:20)	29,88±3,845 (n:16)	0,747
Bel çevresi	101,23±11,241 (n:20)	105,71±6,955 (n:16)	0,220
AST	32,90±19,213 (n:20)	35,44±14,751 (n:16)	0,666
ALT	40,50±34,155 (n:20)	54,94±52,332 (n:16)	0,325
GGT	83,65±77,950 (n:20)	73,56±70,372 (n:16)	0,690
LDL	115,50±39,427 (n:20)	112,75±38,127 (n:16)	0,834
HDL	57,00±17,097 (n:20)	48,69±13,235 (n:16)	0,119
Trigliserid	138,95±58,052 (n:20)	160,07±94,734 (n:16)	0,421
A.Glukoz	113,05±35,740 (n:20)	121,69±48,088 (n:16)	0,540
İnsülin	18,70±11,337 (n:20)	21,46±18,091 (n:13)	0,593
İnsülin direnci (HOMA)	5,30±3,466 (n:20)	6,38±6,158 (n:13)	0,521
HbA1c	6,33±1,088 (n:15)	6,51±1,277 (n:13)	0,689
Ferritin	68,75±49,155 (n:20)	116,00±87,106 (n:14)	0,052
Fibroscan yağlanma	1,50±0,730 (n:16)	1,45±0,934 (n:11)	0,888
Fibrascan kpa	9,82±5,222 (n:13)	9,45±9,177(n:12)	0,903
Fibroscan fibrozis	2,00±1,633(N16)	1,42±1,505 (n:12)	0,343
Biyopsiyağ	1,74±0,872 (n:19)	2,06±0,772 (n:16)	0,255
Biyopsi iltihap	1,11±0,315 (n:19)	1,38±0,619 (n:19)	0,129
Biyopsifibroz	0,74±0,872 (n:19)	1,00±1,155 (n:16)	0,448

Biyopsiye göre hafif fibroz olan grupta 8 hastada Fibroscan'de F0, 6 hastada F1, 4 hastada F2, 1 hastada F3, 3 hastada F4 fibroz görülürken , ileri fibroz grubunda 1 hastada F1, 1 hastada F3, 3 hastada F4 fibroz görüldü. (**Tablo 3**)

Tablo 3: Biyopsi ve Fibroscan'e göre fibroz karşılaştırması 1

	Fibroscan fibroz					Total
	0	1	2	3	4	
Biyopsi hafif fibroz	8	6	4	1	3	22
	%36,4	%27,3	%18,2	%4,5	%13,6	%100,0
Biyopsi ileri fibroz	0	1	0	1	3	5
	0,0%	20,0%	0,0%	20,0%	60,0%	100,0%

Başlangıçta biyopside fibroz saptanmayan 14 hastanın,%50'si Fibroscan'de F1 fibroz,%21,4'ü F2 fibroz %7,14'ü Fibroscan da F4 fibroza ilerledi. Toplamda hastaların %78,6' sında progresyon görüldü. Başlangıçta evre 1 fibroz saptanan 9 hastanın % 22,2' sinde Fibroscan'de F4 fibroz, biyopside evre 2 fibroz saptanan 4 hastanın %50'sinin Fibroscan'de F4 fibroza ilerlediği görüldü. Biyopside evre 3 fibroz saptanan 1 hastada Fibroscan'de de evre 4 fibroz görüldü (**tablo 4**)

Tablo 4: Biyopsi ve Fibroscan'e göre fibroz karşılaştırması 2

		Fibroscan fibroz					Total
		0	1	2	3	4	
biyopsifibroz	0	3	7	3	0	1	14
		%21,4	%50	%21,4	%0,0	%7,14	%100
	1	5	0	1	1	2	9
		%55,55	%0,0	%11,11	%11,11	%22,22	%100
	2	0	1	0	1	2	4
		%0,0	%25	%0,0	%25	%50	%100
	3	0	0	0	0	1	1
		%0,0	%0,0	%0,0	%0,0	%100	%100

Biyopsiye göre kadınların 9' unda fibroz yok, 7' sinde evre 1, 2' sinde evre 2, 1'inde evre 3 fibroz, erkeklerin 7' sinde fibroz yok, 4' ünde evre 1, 4' ünde evre 2, 1 hastada evre 4 fibroz saptandı.

Kadınların 7' sinde Fibroscan'a göre hafiif fibroz, 9' unda ileri fibroz, erkeklerin 8' inde hafif fibroz, 4' ünde ileri fibroz görüldü.

Vücut kitle indeksine göre hastalar incelendiğinde obez ($VKİ \geq 30$) ve obez olmayan hastalar arasında bel çevresi ve Fibroscan yağlanma değerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,003$). Obez olan her hastada bel çevresi yüksek saptandı. **(tablo 5)**

Tablo 5: Obez ve obez olmayan hastalar için sruplar arası kıyaslama

N:36	Obez olmayan(16)	Obez (n:20)	p değeri
Yaş	54,88±12,858	56,63±11,236	0,669
VKİ	26,63±2,754	33,11±3,178	0,000
Bel çevresi	97,10±9,666	107,35±6,973	0,004
AST	34,06±20,201	34,79±14,864	0,903
ALT	43,38±38,173	51,05±48,438	0,611
GGT	74,94±65,390	86,05±82,098	0,665
LDL kolesterol	116,50±46,987	111,37±31,325	0,702
HDL kolesterol	60,06±19,427	47,68±10,006	0,031
Trigliserid	127,69±69,721	166,94±79,433	0,138
Açlık glukoz	108,06±39,051	124,42±43,727	0,256
İnsülin	18,70±11,337	21,46±18,091	0,310
İnsülin direnci (HOMA)	5,30±3,466	6,38±6,158	0,209
HbA1c	6,33±1,088	6,51±1,277	0,081
Ferritin	75,21±46,504	98,21±85,141	0,368
Fibroscan yağlanma	1,00±,913	1,93±,267	0,003
Fibrascan kpa	9,82±5,222	9,45±9,177	0,869
Fibroscan fibrozis	2,00±1,633	1,42±1,505	0,072
Biyopsi yağlanma	1,67±0,724	2,11±0,875	0,128
Biyopsi iltihap	1,13±0,352	1,30±0,571	0,296
Biyopsi fibroz	0,60±0,737	1,11±1,150	0,149
Hyalüronik asit	441,88±193,456	374,45±177,187	0,307
Fibroblast growth faktör 21	1594,83±377,308	1372,40±465,916	0,153
Kollajen tip4	38,27±9,689	35,82±9,534	0,475
ykl40	291,05±101,340	253,59±106,612	0,316

Bel çevresi kadın için 90cm, erkek için 100cm kabul edildiğinde bel çevresi ölçümü yapılmış olan 29 hastanın sadece 4'ünde bel çevresi normaldi. Hyalüronik asit, FGF21, Kollajen tip4, ykl40 bel çevresi normal grupta anlamlı yüksek bulundu. 4 hastada da ölçülebilir sınırın üstünde saptandı. Diğer parametrelerde istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Bunun nedeninin gruplar arasındaki sayısal dengesizlik olduğu düşünüldü. (tablo 6)

Tablo 6: Bel çevresi normal ve yüksek olan hastaların karşılaştırılması

N:29	Bel çevresi normal (n:4)	Bel çevresi yüksek(n:25)	p değeri
Yaş	51,25±22,824	56,08±9,665	0,703
VKİ	24,25±4,272	31,92±3,717	0,001
Bel çevresi	88,00±8,042	106,26±6,573	0,000
AST	40,00±38,009	32,96±13,421	0,737
ALT	56,00±71,605	46,92±43,329	0,724
GGT	64,50±45,118	73,76±75,077	0,814
LDL kolesterol	122,75±70,755	106,28±29,909	0,676
HDL kolesterol	60,00±23,152	49,72±13,097	0,201
Trigliserid	112,50±48,590	155,13±83,033	0,332
Açlık glukoz	98,00±12,754	123,36±45,788	0,287
İnsülin	16,00±3,464	21,83±16,230	0,548
İnsülin direnci (HOMA)	3,67±,577	6,52±5,290	0,368
HbA1c	5,25±0,212	6,53±1,250	0,170
Ferritin	82,00±55,570	92,71±78,253	0,821
Fibroscan yağlanma	0,67±1,155	1,82±0,529	0,222
Fibrascan kpa	7,93±5,960	9,47±5,167	0,649
Fibroscan fibrozis	1,00±1,732	2,00±1,645	0,345
Biyopsi yağlanma	1,75±0,500	1,96±0,859	0,644
Biyopsi iltihap	1,25±0,500	1,25±0,532	1,000
Biyopsi fibroz	1,00±0,816	0,92±1,139	0,890
Hyalüronik asit	650,00±0,000	355,96±165,935	0,000
Fibroblast growth faktör 21	1920,00±0,00	1375,96±448,324	0,000
Kollajen tip4	48,00±0,00	34,45±9,208	0,000
ykl40	400,00±0,00	246,58±99,098	0,000

AST değeri normal ve yüksek hastalar karşılaştırıldığında iki grup arasında ALT ($p=0,016$), GGT ($p=0,026$) ve Fibroscan fibrozis ($p=0,000$) değerlerinde anlamlı istatistiksel farklılık saptandı. **(tablo 7)**

Tablo 7 : AST normal ve yüksek grupların karşılaştırılması

	AST normal (n:23)	AST yüksek (n:13)	p değeri
Yaş	57,09±11,650	54,08±12,093	0,468
VKİ	29,59±4,125	31,08±4,873	0,343
Bel çevresi	104,76±10,503	101,50±7,059	0,392
AST	24,35±5,365	51,15±17,639	0,000
ALT	30,04±12,783	76,77±60,117	0,016
GGT	58,91±62,991	115,00±80,216	0,026
LDL kolesterol	120,48±34,949	103,31±42,902	0,201
HDL kolesterol	52,52±17,239	54,69±13,598	0,699
Trigliserid	163,57±80,491	118,17±56,173	0,091
Açlık glukoz	119,30±49,871	112,62±19,432	0,572
İnsülin	17,00±6,751	24,08±20,754	0,255
İnsülin direnci (HOMA)	5,30±4,054	6,38±5,561	0,521
HbA1c	6,62±1,308	6,04±0,757	0,214
Ferritin	75,38±72,828	108,92±63,126	0,180
Fibroscan yağlanma	1,44±0,856	1,56±0,726	0,742
Fibrascan kpa	6,54±3,215	16,24±9,079	0,001
Fibroscan fibrozis	1,05±1,129	3,22±1,394	0,000
Biyopsi yağlanma	1,91±0,793	1,83±0,937	0,792
Biyopsi iltihap	1,17±0,491	1,33±0,492	0,368
Biyopsi fibroz	0,70±1,063	1,17±0,835	0,192
Hyalüronik asit	364,81±169,154	479,55±197,705	0,092
Fibroblast growth faktör 21	1418,40±435,373	1563,50±449,663	0,379
Kollajen tip4	35,78±9,079	39,01±10,474	0,367
ykl40	247,08±99,592	314,29±103,918	0,081

ALT değeri normal ve yüksek hastalar karşılaştırıldığında iki grup arasında AST (p=0,010), ve Fibroscan yağlanma (p=0,050) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. (tablo 8)

Tablo 8 : ALT normal ve yüksek grupların karşılaştırılması

	ALT normal (n:20)	ALT yüksek (n:14)	p değeri
Yaş	56,60±12,335	55,57±12,024	0,811
VKİ	29,63±4,798	30,79±4,246	0,479
Bel çevresi	102,88±10,158	104,67±8,958	0,664
AST	26,65±9,103	44,50±21,468	0,010
ALT	25,20±6,849	79,64±55,084	0,000
GGT	53,65±48,039	87,21±64,055	0,090
LDL kolesterol	116,85±37,699	107,14±41,393	0,483
HDL kolesterol	52,85±16,743	53,43±16,242	0,921
Trigliserid	158,58±78,504	142,64±73,339	0,558
Açlık glukoz	113,05±44,484	125,14±39,068	0,419
İnsülin	18,94±11,238	22,08±18,446	0,562
İnsülin direnci (HOMA)	5,33±3,742	6,69±5,936	0,440
HbA1c	6,39±1,154	6,50±1,335	0,831
Ferritin	70,22±73,692	110,00±65,470	0,123
Fibroscan yağlanma	1,21±0,975	1,82±0,405	0,050
Fibrascan kpa	9,50±9,139	9,31±4,782	0,953
Fibroscan fibrozis	1,29±1,637	2,08±1,443	0,204
Biyopsi yağlanma	1,95±0,780	1,93±0,917	0,950
Biyopsi iltihap	1,21±0,419	1,36±0,497	0,366
Biyopsi fibroz	0,74±1,046	0,93±0,829	0,575
Hyalüronik asit	407,41±186,335	402,20±194,798	0,939
Fibroblast growth faktör 21	1564,68±345,267	1349,36±537,131	0,179
kollajen tip4	38,11±8,855	36,12±10,333	0,564
ykl40	266,68±111,490	277,67±101,098	0,775

GGT değeri normal ve yüksek hastalar karşılaştırıldığında iki grup arasında AST ($p=0,014$), ve Fibroscan fibrozis ($p=0,006$) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı.(**tablo 9**)

Tablo 9 : GGT normal ve yüksek grupların karşılaştırılması

	GGT normal (n:17)	GGT yüksek (19)	p değeri
Yaş	56,29±12,210	55,74±11,613	0,889
VKİ	28,75±3,975	31,32±4,510	0,086
Bel çevresi	103,69±9,970	103,43±9,146	0,943
AST	26,88±9,486	40,42±20,070	0,014
ALT	33,18±16,391	59,21±55,135	0,063
GGT	29,65±13,214	123,47±77,766	0,000
LDL kolesterol	118,06±32,721	110,89±43,343	0,583
HDL kolesterol	54,41±17,447	52,32±14,693	0,698
Trigliserid	159,94±93,037	137,95±57,473	0,398
Açlık glukoz	118,06±48,219	115,84±35,257	0,875
İnsülin	17,07±6,649	22,06±18,161	0,322
İnsülin direnci (HOMA)	5,20±4,161	6,17±5,102	0,561
HbA1c	6,19±1,116	6,66±1,204	0,296
Ferritin	79,93±80,956	94,74±62,065	0,550
Fibroscan yağlanma	1,50±0,798	1,47±0,834	0,917
Fibrascan kpa	6,05±2,006	12,95±8,722	0,015
Fibroscan fibrozis	0,92±0,954	2,47±1,685	0,006
biyopsiyağ	1,94±0,827	1,83±0,857	0,708
Biyopsi iltihap	1,29±0,470	1,17±0,514	0,450
biyopsifibroz	0,65±0,862	1,06±1,110	0,234
Hyalüronik asit	381,84±171,442	423,02±198,971	0,530
Fibroblast growth faktör 21	1449,92±464,496	1482,62±426,594	0,834
kollajen tip4	36,18±8,873	37,50±10,336	0,696
ykl40	255,45±105,289	282,68±105,181	0,463

Tüm hastalar biyopside fibroz derecesine göre hafif ve ileri fibroz olarak iki gruba ayrılarak karşılaştırıldı. Fibroscan fibrozis, biyopsi iltihap parametrelerinde iki grup arasında anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla, p= 0,011 ve 0,000).. Hyalüronik asit, fibroblast growth faktör 21, kollojen tip4 ve ykl40 düzeyleri hafif fibroz grubunda anlamlı olarak yüksek saptandı. (sırasıyla, p= 0,000 ; 0,001 ; 0,002 ve0,003) (tablo 10)

Tablo 10: Biyopside hafif fibroz(f0-1), ileri fibroz (f2-4) karşılaştırılması

	f 0-1 (n:27)	f 2-4(n:8)	p değeri
Yaş	56,67±11,529	53,63±13,638	0,533
VKI	29,89±4,458	31,25±4,334	0,451
Bel çevresi	103,80±8,231	102,86±12,838	0,824
AST	32,37±17,059	38,63±18,754	0,379
ALT	44,52±42,345	57,38±49,408	0,472
GGT	78,63±81,984	82,63±74,242	0,897
LDL kolesterol	119,04±40,139	103,38±29,885	0,316
HDL kolesterol	53,93±15,18	49,38±18,700	0,485
Trigliserid	146,92±72,788	159,13±89,684	0,697
Açlık glukoz	108,41±32,546	147,50±56,553	0,097
İnsülin	18,12±13,574	20,67±7,554	0,662
İnsülin direnci (HOMA)	5,00±4,118	7,50±5,788	0,223
HbA1c	6,09±0,707	7,27±1,633	0,084
Ferritin	87,52±73,003	90,88±70,647	0,425
Ultrason	1,75±,910	2,00±0,000	0,234
Fibroscan yağlanma	1,38±0,865	1,80±0,447	0,153
Fibrascan LSM	8,21±7,386	13,54±4,972	0,145
Fibroscan fibrozis	1,32±1,393(n:22)	3,20±1,304(n:5)	0,011
Biyopsiyağ	1,81±0,786	2,13±0,991	0,362
Biyopsi iltihap	1,07±0,385	1,75±0,463	0,000
Biyopsi fibroz	0,407±0,500	2,37±0,744	
Hyalüronik asit	433,87±190,072	264,40±39,963	0,000
Fibroblast growth faktör 21	1579,30±375,358	960,38±350,196	0,001
Kollajen tip4	38,37±9,806	30,06±3,628	0,002
ykl40	287,43±105,570	188,70±48,533	0,003

Hastalar fibroscan'deki fibroz derecesine göre hafif ve ileri fibroz gruplarına ayrılarak karşılaştırıldı. İki grup arasında vücut kitle indeksi, açlık insülin, insülin direnci ve ultrason yağlanma parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı.(sırasıyla, p= 0,027, 0,041, 0,025 ve 0,005) (Tablo11).

Tablo 11: Fibroscan'deki fibroz derecesine göre hafif ve ileri fibroz karşılaştırması

	Fibroz 0-1(Fibroscan) (n:15)	Fibroz 2-4 (n:13)	p değeri
Yaş	56,73±10,491	59,23±7,224	0,477
VKI	28,13±3,543	31,46±3,992	0,027
Bel çevresi	103,50±6,754	103,40±8,695	0,977
AST	27,60±7,953	41,85±23,759	0,058
ALT	36,00±20,135	56,54±50,737	0,160
GGT	67,53±64,073	102,69±89,616	0,239
LDL kolesterol	126,00±38,969	109,85±38,972	0,284
HDL kolesterol	56,47±17,984	50,69±11,353	0,314
Trigliserit	150,07±76,023	155,77±88,435	0,856
Açlık glukoz	106,13±43,736	131,38±46,611	0,151
İnsülin	13,69±6,047	22,31±13,009	0,041
İnsülin direnci (HOMA)	3,54±2,696	7,15±4,723	0,025
HbA1c	5,99±0,669	6,91±1,501	0,094
Ferritin	88,31±87,991	97,85±62,686	0,753
Ultrason yağlanma grade	1,27±0,905	2,30±0,483	0,005
Fibroscan yağlanma	1,29±0,914	1,69±0,630	0,189
Fibroscan LSM	4,92±0,787	14,76±7,643	0,001
Fibroscan fibroz	0,46±0,516	3,23±0,926	
Biyopsi yağlanma	1,87±0,743	2,08±0,996	0,538
Biyopsi iltihap	1,13±0,352	1,25±0,622	0,570
Biyopsi fibroz	0,47±0,640	1,08±0,996	0,062
Hyalüronik asit	402,91±190,799	413,13±195,267	0,895
Fibroblast growth faktör 21	1476,62±522,125	1522,46±358,326	0,804
Kollajen tip4	37,18±10,003	36,84±9,371	0,932
ykl40	279,14±103,207	273,98±105,780	0,902

Fibroscan' deki LSM değerine göre normal ve yüksek (5 Kpa' in üstü) olarak gruplandırıldığında ultrason yağlanma ve biyopsi fibroz parametrelerinde istatistiksel anlamlı fark saptandı (sırasıyla, p= 0,016 ve 0,038). **(tablo 12)**

Tablo 12: Fibroscan fibroz LSM değerine göre fibroz olan ve olmayan gruplar

	Fibroscan kpa≤5 (n:12)	Fibroscan kpa>5 (n:13)	p değeri
yaş	55,83±11,456	59,38±7,355	0,362
VKİ	28,25±3,769	31,46±3,992	0,50
Bel çevresi	103,89±7,044	103,56±9,207	0,932
AST	27,92±8,597	41,46±23,866	0,074
ALT	33,42±20,664	57,85±50,662	0,129
GGT	67,00±62,852	101,23±90,748	0,288
LDL kolesterol	132,75±39,982	110,54±38,396	0,170
HDL kolesterol	54,25±17,736	51,46±10,349	0,632
Trigliserit	159,83±82,212	144,62±83,616	0,651
Açlık glukoz	98,58±43,521	134,31±47,363	0,062
İnsülin	14,73±6,002	21,75±13,424	0,126
İnsülin direnci (HOMA)	3,64±2,908	7,00±4,899	0,061
HbA1c	5,81±0,584	6,84±1,445	0,097
Ferritin	107,20±92,615	98,38±61,959	0,787
Ultrason yağlanma grade	1,30±0,949	2,22±0,441	0,016
Fibroscan yağlanma	1,27±0,905	1,69±0,630	0,196
Fibroscan LSM	4,5±0,707	13,06±7,676	
Fibroscan fibroz	0,42±0,515	3,00±1,080	0,006
Biyopsi yağlanma	1,92±0,669	2,08±0,996	0,636
Biyopsi iltihap	1,08±0,289	1,33±0,651	0,243
Biyopsi fibroz	0,42±0,515	1,17±1,030	0,038
Hyalüronik asit	402,92±194,910	418,60±190,351	0,847
Fibroblast growth faktör 21	1501,95±426,206	1400,97±513,855	0,612
Kollajen tip4	37,40±10,244	37,30±9,108	0,979
ykl40	287,99±98,969	265,60±111,225	0,616

Hafif ve ileri fibrozun değerlendirilmesinde Fibroscan LSM değeri sınırı 9 Kpa kabul edildiğinde AST ve biyopsideki fibroz derecesi ileri fibroz grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek yüksek bulundu. (Tablo 13)

Tablo 13: Fibroscan fibroz LSM değerine göre hafif ve ileri fibroz gruplarının karşılaştırılması

	Fibroscan kpa ≤9 (n:18)	Fibroscan kpa >9 (n:8)	p değeri
yaş	58,50±10,263	56,38±7,308	0,603
VKİ	28,94±3,262	32,25±4,950	0,115
BEL ÇEVRESİ	104,17±6,394	102,43±10,212	0,652
AST	27,56±10,804	49,63±24,945	0,045
ALT	34,17±19,636	70,38±60,750	0,140
GGT	68,83±77,917	112,13±76,112	0,200
LDL kolesterol	129,94±38,781	103,13±35,779	0,109
HDL kolesterol	53,44±15,313	51,25±10,566	0,717
Trigliserit	155,94±76,479	140,38±92,039	0,656
Açlık glukoz	106,78±39,489	140,25±57,330	0,096
İnsülin	16,38±5,898	22,63±16,466	0,183
İnsülin direnci (HOMA)	4,31±2,726	7,50±5,952	0,185
HbA1c	6,01±0,557	7,13±1,759	0,147
Ferritin	92,00±78,651	119,88±62,385	0,393
Ultrason yağlanma grade	1,60±0,910	2,20±0,447	0,179
Fibroscan yağlanma	1,41±0,795	1,63±0,744	0,530
Fibroscan fibroz	0,83±0,786	3,75±0,463	0,000
Biyopsi yağlanma	1,94±0,802	2,00±1,000	0,886
Biyopsi iltihap	1,11±0,471	1,43±0,535	0,158
Biyopsi fibroz	0,44±0,616	1,57±0,976	0,002
Hyalüronik asit	391,9222±176,39253	440,5333±229,91108	0,593
Fibroblast growth faktör 21	1410,4778±471,09263	1530,1333±437,51158	0,590
Kollajen tip4	36,2944±9,45587	39,0667±10,04623	0,546
ykl40	264,3278±101,83003	289,0167±127,07101	0,663

Lineer regresyon analizinde HOMA-IR indeksinin vücut kitle indeksinden etkilendiği, trigliserit ve HDL kolesterolden ise etkilenmediği saptandı. (tablo 14)

Tablo14: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün HOMA -IR indeksi üzerindeki etkisi

	β	p
(Constant)	-0,548	0,327
Vücut kitle indeksi	0,036	0,008
Trigliserit	0,001	0,493
HDL kolesterol	0,005	0,248

Lineer regresyon analizinde trigliserit ve HDL kolesterolün Fibroscan' de fibroz derecesi, LSM değeri ve yağlanma üzerine etkisi görülmedi. Vücut kitle indeksi Fibroscan LSM değerine göre değerlendirildiğinde etkisiz görünürken fibroz derecesi ve yağlanma üzerine etkili bulundu. (tablo 15, tablo 16, tablo 17)

Tablo 15: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün Fibroscan LSM değeri üzerindeki etkisi

	β	p
(Constant)	5,463	0,734
Vücut kitle indeksi	0,355	0,361
Trigliserit	0,022	0,269
HDL kolesterol	0,132	0,708

Tablo 16: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün Fibroscan fibroz üzerindeki etkisi

	β	p
(Constant)	-3,175	0,305
Vücut kitle indeksi	0,194	0,014
Trigliserit	0,004	0,634
HDL kolesterol	0,023	0,684

Tablo 17: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün Fibroscan yağlanma üzerindeki etkisi

	β	p
(Constant)	-3,017	0,045
Vücut kitle indeksi	0,122	0,002
Trigliserit	0,002	0,397
HDL kolesterol	0,011	0,312

Vücut kitle indeksi ultrasonda yağlanma derecesi üzerine etkili görünürken, trigliserit ve HDL kolesterol etkisiz görüldü. (tablo18)

Tablo 18: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün USG yağlanma üzerindeki etkisi

	β	p
(Constant)	-1,379	0,342
Vücut kitle indeksi	0,118	0,001
Trigliserit	0,000	0,946
HDL kolesterol	0,012	0,455

Biyopsideki yağlanma üzerine vücut kitle indeksi ve HDL kolesterolün etkisi görülmezken, trigliserit etkili bulundu. (tablo 19)

Tablo 19: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün biyopsi yağlanma üzerindeki etkisi

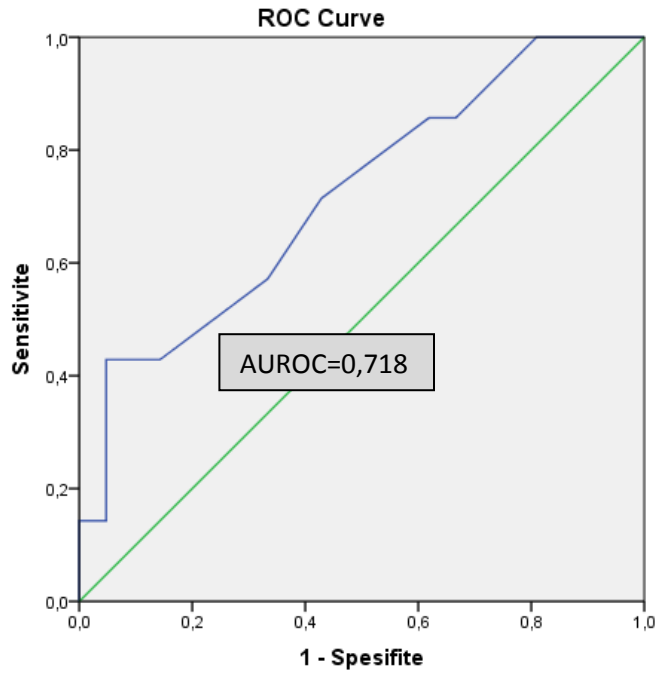
	β	p
(Constant)	-0,448	0,741
Vücut kitle indeksi	0,042	0,191
Trigliserit	0,006	0,008
HDL kolesterol	0,005	0,624

Biyopsideki fibroz üzerine vücut kitle indeksi, trigliserit ve HDL kolesterolün etkisi görülmedi (tablo 20).

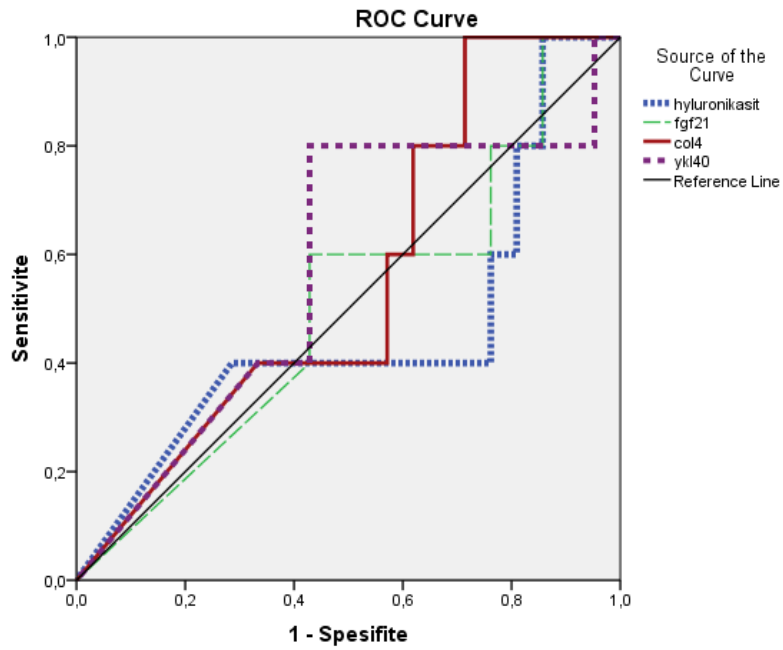
Tablo 20: VKİ, trigliserit ve HDL kolesterolün biyopsi fibroz üzerindeki etkisi

	β	p
(Constant)	1,727	0,374
Vücut kitle indeksi	0,045	0,961
Trigliserit	0,003	0,746
HDL kolesterol	0,014	0,398

ROC CURVE analizinde VKİ Fibroscan'de saptanan fibrozun belirlenmesinde anlamlı bulundu (AUROC=0,718)



ROC CURVE analizinde hyalüronik asit, fibroblast büyüme faktörü (FGF) 21, kollajen tip4, ykl40 Fibroscan'de ileri fibrozun saptanmasında anlamlı bulunmadı (sırasıyla AUROC=0,457, 0,505, 0,552 ve 0,571)



Multivariet regresyon analizine göre Fibroscan'de fibroz artışı için hyalüronik asit ve fibroblast growth faktör 21'in risk faktörü olduğu görülmektedir(sırasıyla OR=1.004, %95 CI:0,99-1,01ve OR=1.001, %95 CI:0,99-1003). Modelin doğru sınıflandırma oranı (overall accuracy)%57,5'dir. Kollajen tip4 ve ykl40 ise fibroz artışı için risk faktörü değildir(sırasıyla OR=0,97, %95 CI:0,79-1,19 ve OR=0,99, %95 CI:0,97-1,01).(Tablo 21)

Tablo 21: Fibroscan'deki fibroz artışı için hylüronik asit, fibroblast growth faktör 21,kollajen tip4 ve ykl40 ile binary logistic regresyon analizi

	B	p.	OR	95% C.I.	
Hyalüronik asit	0,004	0,517	1,004	0,992	1,017
Fibroblast growth faktör 21	0,001	0,645	1,001	0,998	1,003
Kollajen tip4	-0,030	0,774	0,971	0,792	1,190
ykl40	-0,007	0,535	0,993	0,971	1,016

5. TARTIŞMA

Nonalkolik yağlı karaciğerin selim seyirli bir hastalık olduğu bilinmekle beraber NASH fibroz gelişimi ve buna bağlı karaciğer dekompanzasyonu (siroz) ve HCC gelişimi için bir risk faktörüdür.

Younussi ve arkadaşlarının 2016'da yayınlanan 85 çalışma ve 8,5 milyon hastanın incelendiği meta analizine göre NAYKH hastalarına klinik endikasyon varlığında yapılan biyopsilerde %59 NASH, spesifik bir klinik endikasyon olmadan yapılan biyopsilerde %6.6 oranında NASH saptanmıştır (5). Aynı çalışmaya göre NASH hastalarında progresyon hızı 0,09, toplamda progrese olan hasta oranı %40,76 bulunmuştur. Bizim hastalarımızın da %55,5'inde biyopsiye göre NASH vardı.

Fibroscan ile takip verileri değerlendirildiğinde, başlangıçta biyopside fibroz saptanmayan 14 NAYK hastasının %50'sinde Fibroscan'de F1 fibroz, %21,4'ünde F2 fibroz, %7,14'ünde Fibroscan'de F4 fibroz (siroz) gözlemlendi, Başlangıçta evre 1 fibroz saptanan 9 hastanın %22,2 sinde Fibroscan'de F4 fibroz, biyopside evre 2 fibroz saptanan 4 hastanın %50'sinin Fibroscan'de F4 fibroza ilerlediği görüldü. Biyopside evre 3 fibroz saptanan 1 hastada Fibroscan'de de evre 4 fibroz görüldü.

NAYK'ın NASH'e ilerlemesinde en önemli risk faktörü insülin direncidir. İnsülin direncine bağlı periferde artan lipoliz neticesinde karaciğere serbest yağ asidi hücumu oluşur. Bunun neticesinde karaciğer yağ asidi oksidasyon kapasitesi aşıldığında tetiklenen oksidatif stres enflamasyon ve apoptoz kaskatını tetiklemektedir. Bu nedenle insülin direnci bulunan NAYKH hastalarında NASH gelişim riski yüksektir. NAYKH hastalarında yapılan bir çalışmada insülin direncinin biyopsi bulguları ile korele olduğu gösterilmiştir (60). Bizim çalışmamızda HOMA-IR indeksi ile hatalarımızda insülin direnci araştırılmış olup tip 2 diyabet tanısı olmayan 20 hastanın 16'sında insülin direnci (% 80) saptanmıştır.

Yine Younussi ve arkadaşlarının 2016' da yayınlanan meta analizinde NAYK grubunda %23 tip 2 diyabet saptanırken, NASH grubunda %47 oranında saptanmıştır. Ooi ve arkadaşlarının çalışmasında obez NAYK hastalarında ileri fibroz grubunda tip 2 diyabet oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (61). Aynı çalışmada açlık kan şekeri de ileri fibroz grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise NAYK grubunda %43, NASH grubunda %47 diyabet saptandı. Anlamlı farklılık saptanmadı. Açlık glukoz değerlerinde hafif ve ileri fibroz grupları arasında anlamlı fark yoktu. Fakat fibroz olmayan ve olan hastalar karşılaştırıldığında anlamlıya yakın fark gözlemlendi (sırasıyla, $98,58 \pm 43,521$ ve $134,31 \pm 47,363$, $p=0,062$). Biyopsiye göre değerlendirildiğinde ileri fibroz saptanan hasta grubunda HOMA-IR indeksi yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak Fibroscan değerlendirilmesinde ileri

fibroz grubundaki hastalarda HOMA-IR indeksi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı (sırasıyla, $7,15 \pm 4,72$ ve $3,54 \pm 2,69$, $p=0,025$).

Dvorak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hafif ve ileri fibroz bulunan NAYKH hastaları karşılaştırıldığında ileri fibroz grubunda açlık insülin seviyesi ileri derecede anlamlı yüksek bulunmuştur (62). Bizim çalışmamızda da Fibroscan'e göre yapılan değerlendirmede ileri fibroz grubu hastalarda düşük fibrozlu hasta grubundakilere göre açlık insülin seviyesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,041$).

NAYKH oluşumunda obeziteye bağlı olan yağ asidi artışı NAYKH patogenezindeki en önemli faktörlerden biridir. Obez hasta gruplarında yapılan çalışmalarda sıklıkla NAYKH tanısı mevcuttur. Younussi ve arkadaşlarının yaptıkları meta analizde obezite NAYK grubunda %51, NASH grubunda %81 oranında saptanmış olup, bizim çalışmamızda da obezite oranı NAYK grubunda %50, NASH grubunda %58 bulundu. Diyabetik ve nonalkolik steatohepatit tanılı hastalarda yapılan bir çalışmada ise hafif fibroz bulunan grup verileri ileri fibroz grubu ile karşılaştırılmıştır. İleri fibroz olan hastalarda VKİ ve bel çevresi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek bulunmuştur ($p=0,09$ ve $0,07$) (63). Çalışmamızda lineer regresyon analizi ile VKİ'nin HOMA-IR indeksi, Fibroscan'deki fibroz derecesi, Fibroscan'deki yağlanma ve USG'de saptanan yağlanma değerlerine etkili olduğu görüldü. Fibroscan verilerimize göre ileri fibroz hasta grubunda VKİ istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($0,02$). ROC curve analizinde VKİ Fibroscan'de saptanan fibrozun belirlenmesinde anlamlı bulundu (AUROC= $0,7'2$). Bel çevresi her iki grupta benzer değerlerde idi. Ancak bizim çalışmamızda bel çevresi normal olan hasta sayısı sadece 4 idi. Bu nedenle bel çevresinin istatistiksel değerlendirmesinin güvenilir olmadığı düşünüldü.

FGF21 karaciğer dahil birçok organ tarafından sentezlenen bir metabolik düzenleyicidir. NASH hastalarında fibrozu arttırdığı gösterilmiş olsa da esas etkisinin yağlanma oluşumu aşamasında olduğu düşünülmektedir (40). Guangyu Wu ve arkadaşlarının 2017' de yayınlanan çalışmasında FGF21 düzeyi karaciğer yağlanması olan hastalarda olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Ancak fibroz derecesini göstermede anlamlı bulunmamıştır (64). Yang M ve arkadaşları 2015'de 179 NAFLD hastasında yapılan çalışmada FGF21'in NASH hastalarında arttığını ve NASH progresyonu ile de ilişkili olduğunu göstermiştir (41). Çalışmamızda da Fibroscan'de LSM (liver stiffness measurement) değeri >9 olan hastalar ileri fibroz bulunan ve düşük fibroz saptanan gruplar olarak değerlendirildiğinde FGF21 düzeyinin ileri fibroz grubundaki hastalarda daha yüksek olduğu ancak istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü ($1530,1333 \pm 437,51158$ ve $1410,4778 \pm 471,09263$, $p=0,59$). ROC CURVE analizinde ise FGF 21 Fibroscan'de ileri fibrozun saptanmasında anlamlı bulunmadı (AUROC= $0,505$). Multivaryans regresyon

analizinde ise Fibroscan'de fibroz artışı için FGF 21'in risk faktörü olduğu saptandı (OR=1.001, %95 CI:0,99-1003).

yk140, karaciğer dahil birçok dokuda üretilen hücre proliferasyonu, inflamasyon ve ekstrasellüler matriksin yeniden yapılandırılmasında rol alan bir proteindir (39). Hepatik stellat hücrelerden, fibroblastlardan ve aktive makrofajlardan salgılandığı ile görüşler mevcuttur (65,66). yk140 düzeyinin karaciğerde fibroz gelişimini arttırdığı ve NASH hastalarında serum düzeyinin fibroz düzeyi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (67).

Kumagai ve arkadaşlarının 2016 yılında yayınladıkları çalışmada yk140'ın NAYKH' da fibrozu belirlemede anlamlı olduğu gösterilmiştir(39). Ancak Lebensztejn ve arkadaşlarının 2011 yılında NAYKH tanısı olan çocuklarda yaptığı çalışmada yk140 düzeyinin fibroz artışı için bir gösterge olmadığı belirlenmiştir (1). Bizim çalışmamızda benzer veriler saptanmış olup, Fibroscan verilerine göre yapılan karşılaştırmada yk140 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ileri fibroz grubunda daha yüksek bulundu ($289,0167 \pm 127,07101$ ve $264,3278 \pm 101,83003$, $p=0,66$). ROC CURVE analizinde ise yk140 Fibroscan'de ileri fibrozun saptanmasında anlamlı bulunmadı (AUROC= 0,571). Multivaryans regresyon analizinde de yk140'ın fibroz artışı için risk faktörü olmadığı görüldü (OR=0,99, %95 CI:0,97-1,01).

Hyalüronik asit mezenkimal hücrelerden salgılanan bir ekstrasellüler matriks elemanıdır. Karaciğerde hastalıklarındaki artışı kollajen sentezi ile bağlantılıdır ve hepatik sinüzoidlerdeki endotelial fonksiyonda azalmaya neden olur. Steatohepatitte sağlıklı kontrollere göre arttığı ve sirozlu hastalarda da NASH grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. (36,37,68). Kaneda ve arkadaşlarının çalışmasında biyopsi ile tanı konmuş 148 NAYKH hastası hafif ve ileri fibroz gruplarına ayrılarak değerlendirilmiş, hyalüronik asit NASH hastalarında ileri fibrozu göstermede anlamlı saptanmıştır (37). Çalışmamızda Fibroscan'de LSM (liver stiffness measurement) değeri >9 olan ileri fibroz bulunan hastalar düşük fibroz grubu ile karşılaştırıldığında hyalüronik asit değeri yüksek bulundu. Benzer şekilde LSM ≤ 5 olan fibroz bulunmayan hastalar fibroz saptanan hasta grubu ile karşılaştırıldığında hyalüronik asit değerinin daha yüksek olduğu görüldü. Ancak her iki karşılaştırmada da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. ROC CURVE analizinde de hyalüronik asit, Fibroscan'de ileri fibrozun saptanmasında anlamlı bulunmadı (AUROC=0,457). Multivaryans regresyon analizinde ise Fibroscan'de fibroz artışı için hyalüronik asidin bir risk faktörü olduğu saptandı (OR=1.004, %95 CI:0,99-1,01).

Tip4 kollajen bazal membranın temel bileşenlerinden biri olup kronik karaciğer hastalığında artmaktadır. Bazal membranda yeniden yapılandırma ile ilişkili olduğu için diğer

fibroz göstergelerinden daha değerli olduğu düşünülmektedir (69). Çünkü fibrozisin artmış bazal membranın yeniden yapılandırması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (38).

Aida ve ark. 148 NAYKH hastasını biyopsideki fibroz derecesine göre gruplandırılarak incelemiş, kollajen tip4' ün ağır fibrozda anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir. Kollajen tip4' ün değerli bir fibroz göstergesi olduğu yorumunu yapmışlardır (38). Diğer çalışmalarda da kollajen tip4 artışının NASH hastalarında ileri fibrozü göstermede anlamlı olduğu bildirilmiştir (37, 39). Fibroscan verilerine göre yaptığımız karşılaştırmada kollajen tip4 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ileri fibroz grubunda daha yüksek bulundu (39,0667±10,04623 ve 36,2944±9,45587, p=0,54). ROC CURVE analizinde kollajen tip4 Fibroscan'de ileri fibrozun saptanmasında anlamlı bulunmadı (AUROC= 0,552). Multivaryans regresyon analizinde de kollajen tip4 'ün fibroz artışı için risk faktörü olmadığı saptandı (OR=0,97, %95 CI:0,79-1,19).

NASH hastalık ve fibroz progresyonuna yol açtığı için serum ALT yüksekliğinin enflamasyon göstergesi olarak anlamlı olduğu görüşü bildirilmiştir. Ancak ALT yüksekliği olan ve olmayan hastaların değerlendirildiği çalışmalarda farklı görüşler savunulmaktadır. Biyopsi yapılmış olan 24 normal ALT düzeyi olan hasta grubunun, ALT yüksekliği olan 26 NAYKH hasta grubu ile karşılaştırmasının yapıldığı bir çalışmada histopatolojik bulgularda ALT yüksekliğinin enflamasyon ve fibroz derecesi için bir risk faktörü olmadığı bildirilmiştir (70). Fracanzani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada biyopsi verileri olan 458 NAYKH hastasının değerlendirildiği çalışmada ise normal ALT grubunda %59 NASH saptanırken, yüksek ALT grubunda %74 NASH saptanmış ve ALT nin NASH için öngörücü bir marker olduğu kararına varılmıştır (71). Bizim çalışmamızda ise ALT yüksek olan hasta grubu, normal ALT düzeyi olan hastalar ile karşılaştırıldığında her iki hasta grubu arasında histopatolojik enflamasyon ve fibroz derecesinde anlamlı farklılık saptanmadı. Fibroscan değerlendirmesinde de fibroz derecesi açısından yüksek ALT grubundaki değer yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak Fibroscan'deki yağlanma derecesi ALT yüksek olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Buna göre NASH progresyonu açısından değerlendirmede ALT yüksekliği prognostik gösterge olarak anlamlı olmadığı görüşüne varıldı.

GGT yüksekliğinin NAYKH progresyonu açısından prognostik bir gösterge olduğu görüşü bildirilmiştir. Ancak bu konuda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Apoptotik aktivite ve histopatolojik bulguların değerlendirildiği bir çalışmada biyopsi yapılmış 50 NAYKH hastası değerlendirilmiştir. Bu çalışmada GGT yüksekliği olan 25 hastanın verileri, normal GGT düzeyi olan 25 hastanın verileri ile karşılaştırılmıştır. Histopatolojik steatoz ve

enflamasyon derecesinde anlamlı bir farklılık saptanmamış, ancak fibroz derecesi ve apoptoz parametreleri GGT yüksek olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (72). GGT yüksek olan hasta grubunun Fibroscan verileri GGT normal olan hasta grubundaki veriler ile karşılaştırdığımızda LSM değeri ve fibroz derecesi GGT yüksek olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla, $p= 0,015$ ve $0,006$). İstatistiksel olarak anlamlı olamamakla birlikte histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde fibroz derecesinin GGT yüksek olan grupta daha yüksek olduğu görüldü. Buna göre GGT yüksekliğinin fibroz progresyonu için prognostik bir gösterge olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda hasta sayısının az olması kısıtlayıcı faktördür. Ancak hafif ve ileri fibrozu olan grupların demografik, biyokimyasal ve radyolojik parametrelerin istatistiksel açıdan farklı olmaması gruplararası istatistik değerlendirmenin optimum düzeyde yapılmasını sağladı.

Çalışmamızda;

- 1) Başlangıçta fibroz saptanan NASH hastalarının takiplerinde fibroz derecesinin belirgin şekilde arttığı,
- 2) Biyopsi ve fibroscan'de saptanan fibroz derecesinin HOMA-IR indeksi ile anlamlı korelasyon gösterdiği ve açlık insülin seviyesinin ileri fibroz saptanan hastalarda belirgin yüksek olduğu,
- 3) Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı oluşumunu tetikleyen obezitenin NASH grubunda daha yüksek oranda bulunduğu ve VKİ'nin HOMA-IR indeksi, Fibroscan'deki fibroz ve yağlanma derecelerine etkisi olduğu,
- 4) Noninvaziv fibroz parametreleri kullanıldığında karaciğer ve adipöz dokudan salgılanan ve fibrozisi artırıcı etkisi bulunan FGF21'in serumda yüksek saptanmasının fibroz artışı için bir risk faktörü olduğu,
- 5) Ekstrasellüler matriksin yeniden yapılandırılmasında rol alan bir protein olan $\alpha 1(\text{I})$ ve bazal membranın temel bileşenlerinden biri olan kollajen tip4'ün noninvaziv fibroz göstergesi olarak anlamlı değerinin bulunmadığı,

- 6) Mezenkimal hücrelerden salgılanan bir ekstrasellüler matriks elemanı olan hyalüronik asitin serum değerlerinin yüksek olmasının fibroz progresyonu için bir risk faktörü olduğu ve noninvaziv fibroz göstergesi olarak kullanılabilceği,
- 7) Serum ALT yüksekliğinin NAYKH'da prognostik gösterge olarak anlamlı olmadığı,
- 8) GGT yüksekliğinin ise fibroz progresyonu olabilecek hastaların saptanmasında yardımcı parametre olarak kullanılabilceği belirlendi.

Sonuç olarak;

- Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı selim seyirli bir hastalık olduğu bilinmesine rağmen bu çalışmada obezitesi, insülin direnci ve yüksek GGT değerleri olan NAYKH hastalarının NASH ve ileri fibroz gelişimi için yüksek risk taşıdıkları gösterilmiştir.
- NAYKH prevalansı toplumumuzda giderek artmaktadır, bu nedenle NASH ve fibroz progresyonunu saptamak amacıyla kullanılan noninvaziv fibroz göstergelerinin klinikte kullanımı önem kazanmıştır. İdeal bir noninvaziv test hepatik fibrozu değerlendirmek için oldukça sensitif ve spesifik olmalı, tüm kronik karaciğer hastalıkları üzerinde kullanılan ve hastaya ek mali yük getirmeyen bir yöntem özelliği taşımalıdır. Ne yazık ki günümüzde bu kriterleri karşılayacak noninvaziv test yoktur ve arayışlar devam etmektedir. Çalışmamızda FGF21' ve hyaluronik asitin serum değerlerinin yüksek olmasının fibroz progresyonu için bir risk faktörü olduğu ve noninvaziv fibroz göstergesi olarak kullanılabilceği görüşüne varıldı.

6. ÖZET

Giriş ve amaç

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) sıklığı tüm dünyada giderek artmaktadır. NAYKH basit yağlanmadan siroza kadar geniş bir spektrum gösterir. NAYK prognozu oldukça iyiyken NASH ise siroza ve hepatosellüler karsinoma ilerleyebilen daha kötü seyirli bir hastalıktır. Prognozun en iyi göstergesi fibrozdur ve fibrozu değerlendirmede altın standart yöntem karaciğer biyopsisidir. İnvaziv olması kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle biyopsiye alternatif olarak noninvaziv testler geliştirilmektedir. Çalışmamızda rutin biyokimyasal parametreler, hyalüronik asit, fibroblast büyüme faktörü 21, kollajen tip4, ykl40 değerlerinin, ultrason ve Fibroscan verilerinin fibrozu göstermedeki değerini araştırdık.

Materyal ve metod

Çalışmaya İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji –Hepatoloji polikliniğinde izlenen NAYKH tanısı biyopsi ile doğrulanmış 36 hasta dahil edildi. Hastalar biyopsi sonuçlarına göre ve Fibroscan sonuçlarına göre hafif ve ileri fibroz gruplarına ayrılarak değerlendirildi.

Bulgular

Başlangıçta biyopsi ile fibroz saptanan NASH hastalarının Fibroscan ile takiplerinde fibroz derecesinin belirgin şekilde arttığı gözlemlendi. Fibroscan değerlendirilmesinde ileri fibroz grubundaki hastalarda HOMA-IR indeksi, açlık insülin seviyesi ve vücut kitle indeksi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla, $p=0,025$, $0,041$ ve $0,02$). Fibroscan'de LSM (liver stiffness measurement) değeri >9 olan hastalar ileri fibroz bulunan ve düşük fibroz saptanan gruplar olarak değerlendirildiğinde FGF21, ykl40, hyalüronik asit ve kollajen tip4 düzeylerinin ileri fibroz grubundaki hastalarda daha yüksek olduğu ancak istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü. Multivaryans regresyon analizinde Fibroscan'de fibroz artışı için FGF21 ve hyalüronik asitin bir risk faktörü olduğu saptandı (OR=1.001, %95 CI:0,99-1,003 ve OR=1.004, %95 CI:0,99-1,01). Multivaryans regresyon analizinde ykl40 ve kollajen tip4'ün fibroz artışı için risk faktörü olmadığı görüldü (sırasıyla, OR=0,99, %95 CI:0,97-1,01 ve OR=0,97, %95 CI:0,79-1,19). ALT yüksek olan hasta grubu, normal ALT düzeyi olan hastalar ile karşılaştırıldığında her iki hasta grubu arasında histopatolojik enflamasyon ve fibroz derecesinde anlamlı farklılık saptanmadı. GGT yüksek olan hasta grubunun Fibroscan verileri GGT normal olan hasta grubundaki veriler ile karşılaştırdığımızda LSM değeri ve fibroz derecesi GGT yüksek olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0,015$ ve $0,006$).

Sonuç

Bu çalışmada obezitesi, insülin direnci ve yüksek GGT değerleri olan NAYKH hastalarının NASH ve ileri fibroz gelişimi için yüksek risk taşıdıkları gösterilmiştir. Çalışmamızda FGF21' ve hyalüronik asitin serum değerlerinin yüksek olmasının fibroz progresyonu için bir risk faktörü olduğu ve noninvaziv fibroz göstergesi olarak kullanılabileceği görüşüne varıldı.



7. ABSTRACT

Background & Aims

The incidence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is increasing worldwide. NAFLD represents a spectrum of liver disease from simple steatosis to cirrhosis. While steatosis have a good prognosis, NASH may progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Gold standart method for assessing the histopathological changes is liver biopsy. But the use of liver biopsy is limited because it is an invasive procedure and can cause several complications. For this reason alternative non invasive methods have been developed. In our study we evaluated routine biochemical parameters, hyaluronic acid, fibroblast growth factor 21, collagen type4, ykl40, ultrasonography and Fibroscan as non-invasive markers of liver fibrosis in NAFLD.

Material and methods

Our study includes 36 patients with biopsy proven NAFLD diagnosis from our Hepatology Outpatient Clinic in Cerrahpasa Medical Faculty of Istanbul University. results of Patients with mild fibrosis were compared with the results of patient having severe fibrosis according to histopathological examination and/or Fibroscan.

Results

In follow-up period ,it was observed that the degree of fibrosis which was found initially in liver biopsy was increased statistically significant in Fibroscan. In patient's group with severe fibrosis in Fibroscan, there was statistically significant increase in HOMA-IR index, fasting insulin and body mass index ($p=0,025$, $0,041$ and $0,02$, respectively). At a LSM value $>9kpa$ in Fibroscan, FGF21, ykl40, hyaluronic acid and collagen tip4 were higher in severe fibrosis group but without statistical significance. Multi variance regression analysis showed that FGF21 and hyaluronic acid were risk factors for severe fibrosis in NAFLD (OR=1.001, %95 CI:0,99-1003 and OR=1.004, %95 CI:0,99-1,01,respectively). But ykl40 and collagen type4 were not risk factors for severe fibrosis (OR=0,99, %95 CI:0,97-1,01 and OR=0,97, %95 CI:0,79-1,19, respectively). If patients with normal ALT were compared with those having high ALT, there was no statistically significant difference in histopathologic inflammation and fibrosis degrees between these two groups. Fibroscan LSM value and fibrosis degree in patient's with elevated GGT were found significantly higher than those with normal GGT ($p= 0,015$ and $0,006$, respectively).

Conclusion

Patients with obesity, insulin resistance and elevated GGT have higher risk for fibrosis. It has been concluded that high serum levels of FGF21 and hyaluronic acid are risk factors for progression of fibrosis and may be used as noninvasive fibrosis markers in NAFLD.



8. KAYNAKLAR

1. Kanwar P, Kowdley KV. The Metabolic Syndrome and Its Influence on Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis.* 2016;20:225–243.
2. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA.* 2015;313:2263–73. doi: 10.1001/jama.2015.5370.
3. Brunt EM, Wong VW, Nobili V, Day CP, Sookoian S, Maher JJ, Bugianesi E, Sirlin CB, Neuschwander-Tetri BA, Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2015;1:15080.
4. Goh GB, McCullough AJ. Natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci.* 2016;61:1226–33.
5. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes, *Hepatology*, 2016, Volume 64, Issue 1, July 2016 ,Pages 73–84 .
6. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, NAFLD and NASH guideline 2012 .
7. Calzadilla Bertot L, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2016;17:pii: E774.
8. Elina Isokuortti, You Zhou. Use of HOMA-IR to diagnose non-alcoholic fatty liver disease: a population-based and inter-laboratory study. *Diabetologia* (2017) 60:1873–1882
9. TEMD Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu, Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu, 2017 , <http://www.turkendokrin.org>.
10. Lonardo A, Bellentani S, Argo CK, Ballestri S, Byrne CD, Caldwell SH, Cortez-Pinto H, Grieco A, Machado MV, Miele L, et al. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Dig Liver Dis.* 2015;47:997–1006.
11. Sung KC, Wild SH, Byrne CD. Development of new fatty liver, or resolution of existing fatty liver, over five years of follow-up, and risk of incident hypertension. *J Hepatol.* 2014;60:1040–1045.
12. Mohanty SR, Troy TN, Huo D, O'Brien BL, Jensen DM, Hart J. Influence of ethnicity on histological differences in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2009;50:797–804.
13. Lonardo A, Bellentani S, Argo CK, Ballestri S, Byrne CD, Caldwell SH, Cortez-Pinto H, Grieco A, Machado MV, Miele L, et al. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Dig Liver Dis.* 2015;47:997–1006.
14. Satapathy SK, Sanyal AJ. Epidemiology and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis.* 2015;35:221–235.
15. Hamabe A, Uto H, Imamura Y, Kusano K, Mawatari S, Kumagai K, Kure T, Tamai T, Moriuchi A, Sakiyama T, et al. Impact of cigarette smoking on onset of nonalcoholic fatty liver disease over a 10-year period. *J Gastroenterol.* 2011;46:769–778.
16. Naga Chalasani, Zobair Younossi , Joel E. Lavine, Michael Charlton, Kenneth Cusi, Mary Rinella, Stephen A. Harrison, Elizabeth M. Brunt, and Arun J. Sanyal . The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases . *Hepatology*,2017.

17. Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, et al. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PLoS One*. 2012;7:e38322.
18. Singal AG, Manjunath H, Yopp AC, Beg MS, Marrero JA, Gopal P, Waljee AK. The effect of PNPLA3 on fibrosis progression and development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2014;109:325–334.
19. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2011;53:1883–1894.
20. Mahdessian H, Taxiarchis A, Popov S, Silveira A, Franco-Cereceda A, Hamsten A, Eriksson P, van't Hooft F. TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:8913–8918. (PMC free article) (PubMed)
21. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) *Metabolism*. 2016;65:1038–1048. (PubMed)
22. Seung-Hoi Koo, Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis, *Clin Mol Hepatol*. 2013 Sep; 19(3): 210–215.
23. Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des*. 2010;16:1941–1951.
24. Federico A, Dallio M, Godos J, Loguercio C, Salomone F. Targeting gut-liver axis for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: translational and clinical evidence. *Transl Res*. 2016;167:116–124.
25. Sanyal AJ, Brunt EM, Kleiner DE, Kowdley KV, Chalasani N, Lavine JE, Ratzliff V, McCullough A. Endpoints and clinical trial design for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2011;54:344–353.
26. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313–1321
27. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. Long-term prognosis relevance of liver histology in nonalcoholic fatty liver disease: The PREHIN study. *Gastroenterology* 2015; ; In press
28. Angulo P, Machado M V, Diehl A M, Fibrosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Mechanisms and Clinical Implications, *Semin Liver Dis*. 2015 May;35(2):132-45. doi: 10.1055/s-0035-1550065. Epub 2015 May 14. Review.
29. Zámbo V, Simon-Szabó L, Szelényi P, Kereszturi E, Bánhegyi G, Csala M. Lipotoxicity in the liver. *World J Hepatol*. 2013;5:550–557.
30. Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Seko Y, Imai N, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, et al. Large-scale long-term follow-up study of Japanese patients with non-alcoholic Fatty liver disease for the onset of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2012;107:253–261. (PubMed)
31. Yatsuji S, Hashimoto E, Tobari M, Taniai M, Tokushige K, Shiratori K. Clinical features and outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis compared with cirrhosis caused by chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24:248–254. (PubMed)

32. Kaswala, D.H., Lai, M. & Afdhal, Fibrosis Assessment in Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in 2016, *N.H. Dig Dis Sci* (2016) 61: 1356.
33. Fatemeh Hadizadeh, Elham Faghihimani, and Peyman Adibi, *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2017 May 15; 8(2): 11–26. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers)
34. Poynard T, Ratzu V, Naveau S, et al. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol* 2005; 4: 10.)
35. Ratzu V, Giral P, Munteanu M, Messous D, Mercadier A, Bernard M, Morra R, Imbert-Bismut F, Bruckert E, Poynard T. Screening for liver disease using non-invasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest and NashTest) in patients with hyperlipidaemia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25:207–218.
36. Suzuki A, Angulo P. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease . *Liver Int.* 2005 Aug;25(4):779-86.
37. Hiroyuki Kaneda, Etsuko Hashimoto . Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2006.
38. Yuta Aida, Hiroshi Abe . Serum Immunoreactive Collagen IV detected by Monoclonal Antibodies as a Marker of Severe Fibrosis in Patients with NonAlcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*,2015.
39. Erina Kumagai, Yohei Mano . Serum YKL-40 as a marker of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease, *nature, scientific reports*,2016 .
40. Eleftheria Maratos-Flier , Fatty liver and FGF21 physiology. *Experimental Cell Research*.360 (2017) 2-5.
41. Yang M, Xu D . Combined Serum Biomarkers in Non-Invasive Diagnosis of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *PLoS One.* 2015 Jun 29;10(6):e0131664
42. Lee, C. G. et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annu Rev Physiol* 73, 479–501, doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142250 (2011).
43. Lee SS, Park SH, Kim HJ, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatol.* 2010;52:579–585.
44. van Werven JR, Marsman HA, Nederveen AJ, et al. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy. *Radiology.* 2010;256:159–168.
45. de Moura Almeida A, Cotrim HP, Barbosa DB, de Athayde LG, Santos AS, Bitencourt AG, de Freitas LA, Rios A, Alves E. Fatty liver disease in severe obese patients: diagnostic value of abdominal ultrasound. *World J Gastroenterol.* 2008;14:1415–1418.
46. Borges VF, Diniz AL, Cotrim HP, Rocha HL, Andrade NB , Sonographic hepatorenal ratio: a noninvasive method to diagnose nonalcoholic steatosis. *J Clin Ultrasound.* 2013 Jan; 41(1):18-25.
47. Kodama Y, Ng CS, et al. Comparison of CT methods for determining the fat content of the liver. *AJR Am J Roentgenol.* 2007 May; 188(5):1307-12.

48. Rofsky NM, Fleishaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR*. 1995;16:16–33.
49. Borra RJH, Salo S, Dean K, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: rapid evaluation of liver fat content with in-phase and out-of-phase MR imaging. *Radiology*. 2009;250:130–136.
50. Kim D, Kim WR, Talwalkar JA, Kim HJ, Ehman RL. Advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: noninvasive assessment with MR elastography. *Radiology*. 2013;268:411–419.
51. Wong VWS, Vergniol J, Wong GLH, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51:454–462.
52. Bonder A, Afdhal N. Utilization of FibroScan in clinical practice. *Curr Gastroenterol Rep*. 2014;16:1–7.
53. Hashemi SA, Alavian SM. Assessment of transient elastography (FibroScan) for diagnosis of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Caspian J Intern Med*. 2016 Fall;7(4):242-252.
54. Tapper EB, Castera L, Afdhal NH. FibroScan (vibration-controlled transient elastography): where does it stand in the United States practice. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014. doi:10.1016/j.cgh.2014.04.039.
55. . Pastori D, Polimeni L, Baratta F, et al. The efficacy and safety of statins for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2015;47:4–11.
56. Kargiotis K, Athyros VG, Giouleme O, et al. Resolution of non-alcoholic steatohepatitis by rosuvastatin monotherapy in patients with metabolic syndrome. *World J Gastroenterol* 2015;21:7860–8.
57. Rotman Y, Sanyal AJ. Current and upcoming pharmacotherapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2017;66:180–190. (PubMed)
58. Ratziu V, Harrison S, Francque S, et al. Elafibranor, an agonist of the peroxisome proliferator-activated receptor- α and - δ , induces resolution of nonalcoholic steatohepatitis without fibrosis worsening. *Gastroenterology* 2016;150:1147–59. e5.
59. Sanyal AJ, Friedman SL, McCullough AJ, et al. Challenges and opportunities in drug and biomarker development for nonalcoholic steatohepatitis: findings and recommendations from an American Association for the Study of Liver Diseases-U. S. Food and Drug Administration Joint Workshop. *Hepatology* 2015;61:1392–405
60. Koroğlu E, Canbakan B . Role of oxidative stress and insulin resistance in disease severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Turk J Gastroenterol*. 2016 Jul;27(4):361-6.
61. Ooi GJ, Burton PR. Modified thresholds for fibrosis risk scores in nonalcoholic fatty liver disease are necessary in the obese. *Obes Surg*. 2017 Jan;27(1):115-125.
62. Dvorak K, Stritesky J . Use of non-invasive parameters of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in daily practice--an exploratory case-control study. *PLoS One*. 2014 Oct 28;9(10):e111551
63. Sobhonslidsuk A1, Pulsombat A . Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and significant hepatic fibrosis defined by non-invasive assessment in patients with type 2 diabetes. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(5):1789-94.

64. Guangyu Wu, Huating Li. Complementary Role of Fibroblast Growth Factor 21 and Cytokeratin 18 in Monitoring the Different Stages of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Scientific Reports* | 7: 5095
65. Johansen, J. S. et al. Serum YKL-40 is increased in patients with hepatic fibrosis. *J Hepatol* 32, 911–920 (2000)
66. Xiao, X. Q. et al. YKL-40 expression in human hepatocellular carcinoma: a potential biomarker? *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 10, 605–610 (2011).
67. Rehli, M. et al. Transcriptional regulation of CHI3L1, a marker gene for late stages of macrophage differentiation. *The Journal of biological chemistry* 278, 44058–44067, 2003
68. Lebensztejn DM, Wierzbicka A . Cytokeratin-18 and hyaluronic acid levels predict liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Biochim Pol.* 2011;58(4):563-6.
69. Leeming DJ, Nielsen MJ, Dai Y, et al. Enzyme-linked immunosorbent serum assay specific for the 7S domain of Collagen Type IV (P4NP 7S): A marker related to the extracellular matrix remodeling during liver fibrogenesis. *Hepatol Res* 2012; 42: 482-4
70. Canbakan B, Senturk H . Is alanine aminotransferase level a surrogate biomarker of hepatic apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease? . *Biomarkers in medicine*, 2010, vol.4,no.2)
71. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E et al.: Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology* 48(3), 792–798 (2008).
72. Tahan V, Canbakan B. Serum gamma-glutamyltranspeptidase distinguishes non-alcoholic fatty liver disease at high risk. *Hepatogastroenterology*. 2008 Jul-Aug;55(85):1433-8.