

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALKOLSÜZ YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞININ
SINIFLANDIRILMASINDA İNVAZİV (HİSTOLOJİK) VE
NONİNVAZİV (SİTOKERATİN 18 VE TIP III KOLLAJEN N-
TERMİNAL PROPEPTİD) YÖNTEMLER ARASINDAKİ
KORELASYON**

Sercan KAYA

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Murat BOYDAK

KONYA - 2021

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALKOLSÜZ YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞININ
SINIFLANDIRILMASINDA İNVAZİV (HİSTOLOJİK) VE
NONİNVAZİV (SİTOKERATİN 18 VE TIP III KOLLAJEN N-
TERMİNAL PROPEPTİD) YÖNTEMLER ARASINDAKİ
KORELASYON**

Sercan KAYA

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Murat BOYDAK

İkinci Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mesut AYDIN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20212006 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA - 2021

ÖNSÖZ

Tanıştığımız ilk günden bugüne bilgi, birikim ve tecrübeleriyle her alanda desteklerini esirgemeyen, multidisipliner bir bakış açısı ve araştırma düşüncesi aşılayan, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum, bilimsel kimliği ve insanlığını her daim örnek aldığım çok değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Murat BOYDAK ve sayın Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesi aşamalarında gerekli ortam ve olanakları sağlayan, çalışmam öncesinde alanla ilgili bilgi ve birikimleriyle beni yönlendiren, uygulama ve değerlendirme aşamalarında çok değerli klinik bilgi, deneyim ve katkılar sağlayan hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Mesut AYDIN'a; tez çalışmamın planlanması, sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanması aşamalarında klinik bilgi ve deneyimleri ile çok büyük katkıda bulunan, tez çalışmam boyunca değerli fikir, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın Dr. Öğr. Üyesi İbrahim ARAS'a teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca akademik bilgi ve deneyimlerine her zaman başvurduğum ve başvurabileceğimi bildiğim çok kıymetli fikir, düşünce ve tecrübeleriyle yol gösteren, yeni ve yenilikçi bakış açısı kazandıran hocalarım sayın Prof. Dr. Emrah SUR, sayın Prof. Dr. Yasemin ÖZNURLU ve sayın Doç. Dr. Tuğba ÖZAYDIN'a; laboratuvar teknikleri ile ilgili bana çok şey katan, her ihtiyacım olduğunda yardımına koşan ve ekip olmanın ne demek olduğunu anlamamı sağlayan sayın Öğr. Gör. Tuba YALÇIN ve sayın Arş. Gör. İlknur ÜNDAĞ TEKDEMİR'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca eğitimim süresince emeği geçmiş olan tüm değerli hocalarıma ve manevi destekleri için arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Son olarak, yaşamımın son 20 ayında bakışı, dokunuşu ve sesiyle manevi desteği için canım oğlum Ali Eymen KAYA'ya ve hayatımı bambaşka noktalara taşımama yardımcı olan, bana olan inancı, sevgisi ve desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Büşra KAYA'ya teşekkür ederim. Sonsuz sevgi ve güvenleriyle hayatımın her alanında beni destekleyen, hayallerimin sonuna kadar arkasında duran canım ailem annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını, 20212006 numaralı doktora tez projesi kapsamında destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	ix

1. GİRİŞ	1
1. 1. Genel Bilgiler	1
1. 2. Karaciğerin Embriyonik Gelişimi	1
1. 3. Karaciğer Anatomisi	5
1. 4. Karaciğer Histolojisi	6
1. 4. 1. Hepatositler	8
1. 4. 2. Sinüzoidler	9
1. 5. Alkolsüz Karaciğer Yağlanması	11
1. 5. 1. Risk Faktörleri	13
1. 5. 2. NAYKH Prevalansı ve İnsidansı	15
1. 5. 3. NAYKH Patogenezi	17
1. 5. 4. NAYKH 'ın Doğal Seyri ve İlerlemesi	20
1. 5. 5. NAYKH'ın Heterojenitesi	22
1. 5. 6. NAYKH Morbidite ve Mortalite	22
1. 5. 7. NAYKH'ın Tanı ve Teşhisinde Kullanılan Yöntemler	23
1. 5. 8. NAYKH'ın Sınıflandırılmasında Noninvaziv Belirteçlerin Yeri	27
1. 6. Sitokeratin 18 M30	30
1. 7. Tip III Kollajen N-terminal Propeptid	32
1. 8. Karaciğer Biyopsisi	36
1. 8. 1. Steatoz	38
1. 8. 2. Lobüler İnflamasyon	39
1. 8. 3. Balon Dejenerasyonu	40
1. 8. 4. Fibroz	40
2. MATERYAL VE METOD	44
2. 1. Etik Kurul	44
2. 2. Çalışma Popülasyonu	44
2. 2. 1. Dahil Etme Kriterleri	45

2. 2. 2. Hariç Tutma Kriterleri.....	45
2. 3. Klinik ve Biyokimyasal Özellikler	45
2. 4. Karaciğer Histolojisi.....	46
2. 5. Biyokimyasal Analiz	47
2. 5. 1. Serum Sitokeratin 18 M30 (K18-Asp396) Düzeyi	47
2. 5. 2. Serum N-Terminal Prokollagen III Propeptid Düzeyi	48
2. 6. Verilerin Analizi	48
3. BULGULAR.....	50
4. TARTIŞMA.....	69
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	78
6. KAYNAKLAR	79
7. EKLER.....	95
Ek-A. Power Raporu	95
Ek-B. Turnitin Raporu.....	97

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AUROC	: Alıcı Çalışma Karakteristik Eğrisinin Altındaki Alan
CK-18	: Sitokeratin-18
EASL	: Avrupa Karaciğer Çalışmaları Derneği
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
ELF	: Gelişmiş Karaciğer Fibroz Skoru
ELISA	: Enzim Bağlı İmmünosorbent Deneyi
FLIP	: Yağlı Karaciğer Progresyon İnhibisyonu
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
HCC	: Hepatosellüler Karsinom
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOMA-IR	: İnsülin Direnci Endeksi için Homeostatik Model Değerlendirmesi
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
NAFL	: Nonalkolik Yağlı Karaciğer
NAS	: NAYKH Aktivite Skoru
NASH CRN	: Nonalkolik Steatohepatit Klinik Araştırma Ağı
NASH	: Nonalkolik Steatohepatit
NAYKH	: Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NLO	: Nötrofil Lenfosit Oranı
PIIINP	: Tip III Kollajen N-terminal Propeptid
PLT	: Platelet
ROC	: Alıcı Çalışma Karakteristiği
SAF	: Steatoz Aktivite Fibroz
TK	: Total Kolesterol
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3. 1. Gruplar arası yaş ve VKİ değerlerinin karşılaştırılması	51
Tablo 3. 2. Hastaların karaciğer biyopsi özellikleri	58
Tablo 3. 3. Gruplarda CK18-M30 ve PIIINP seviyelerinin karşılaştırılması	58
Tablo 3. 4. Kontrol grubu CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	59
Tablo 3. 5. NAFL grubunda CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	59
Tablo 3. 6. NASH grubu CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	60
Tablo 3. 7. NAFL grubunda histolojik parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	60
Tablo 3. 8. NASH grubunda histolojik parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	61
Tablo 3. 9. Kontrol grubu VKİ ve biyokimyasal parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	62
Tablo 3. 10 NAFL grubu VKİ ve biyokimyasal parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	63
Tablo 3. 11. NASH grubu VKİ ve biyokimyasal parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Karaciğer asinusu.....	6
Şekil 1. 2. Karaciğer histolojisi	7
Şekil 1. 3. NAYKH klinik spektrumu	12
Şekil 1. 4. NAYKH prevalansı.....	16
Şekil 1. 5. NAYKH çift vuruş hipotezi.....	18
Şekil 1. 6. Alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının doğal seyri.	20
Şekil 1. 7. NAYKH metabolik sendrom döngüsü	22
Şekil 1. 8. Fibrojenizde serum PIIINP seviyesinin artışı	33
Şekil 3. 1. Genel hasta popülasyonunun SAF/FLİP NAYKH sınıflandırması	50
Şekil 3. 2. NAYKH alt grupları HOMA-IR oranları.....	52
Şekil 3. 3. NAYKH alt grupları diyabet oranları	53
Şekil 3. 4. NAYKH biyopsi genel görünümü ve steatoz derecelendirmesi.....	53
Şekil 3. 5. NAFL grubu steatoz histolojik özellikleri.....	53
Şekil 3. 6. NASH grubu balon dejenerasyonu	54
Şekil 3. 7. NASH grubu lobüler inflamasyon	54
Şekil 3. 8. NASH grubu interface hepatiti	55
Şekil 3. 9. NASH grubu genel histolojik özellikleri.....	55
Şekil 3. 10. NASH grubu perisinüzoidal fibrozis.....	56
Şekil 3. 11. NASH grubu tavuk telli görünümü	56
Şekil 3. 12. NAYKH alt grupları steatoz oranları	57
Şekil 3. 13. NAYKH alt grupları balon dejenerasyonu oranları	57
Şekil 3. 14. NAYKH alt grupları lobüler inflamasyon oranları	57
Şekil 3. 15. NAYKH alt grupları fibroz oranları.....	57
Şekil 3. 16. NAYKH popülasyonunun histolojik özellikleri	58
Şekil 3. 17. Kontrol ve NAYKH arasında CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri	65
Şekil 3. 18. NAFL ve NASH grupları arasında CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri	66
Şekil 3. 19. NASH'ı tanımlamada, CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri	67

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Alkolsüz Yağlı Karaciğer Hastalığının Sınıflandırılmasında İnvaziv (Histolojik) ve Noninvaziv (Sitokeratin 18 Ve Tip III Kollajen N-Terminal Propeptid) Yöntemler Arasındaki Korelasyon

Sercan KAYA

Histoloji ve Embriyoloji (Vet) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ /KONYA- 2021

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) dünyada en sık görülen kronik karaciğer hastalığıdır. Dünyada prevalansı %25 olarak tahmin edilmektedir. Karaciğer biyopsisi NAYKH sınıflandırması için altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak rutinde kullanımı invaziv olması nedeniyle sınırlıdır. Bu çalışmada biyopsi kanıtlı NAYKH sınıflandırılmasında invaziv; histolojik parametreler ile noninvaziv yöntemler, serum sitokeratin 18 (CK18) ve tip III kollajen N-terminal propeptid (PIIINP) arasındaki korelasyonun belirlenmesi amaçlandı.

Çalışma Şubat - Aralık 2020 tarihleri arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi, İç Hastalıkları Polikliniği ve Kliniği'ne başvuran sağlıklı ve biyopsi sonucuna göre NAYKH ön tanısı alan, çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllüler üzerinden yürütülmüştür. Bu çalışma prospektif olarak toplanmış verilerin retrospektif analizidir. Tüm katılımcıların rutinde bakılan hematolojik ve biyokimyasal parametreleri çalışıldı ve serum örnekleri çalışma sonuna kadar -80 C derecede dondurulup saklandı. Biyopsi örnekleri, Steatoz aktivite fibroz/ Yağlı karaciğer progresyon inhibisyonu (SAF/FLIP) algoritmasına göre değerlendirildi. Çalışma sonunda dondurulmuş serum örnekleri temin edilen CK18 (M30) ve PIIINP kitleri kullanılarak çalışıldı. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 22 paket programı kullanıldı.

Çalışmada yaş, beden kitle indeksi, diyabet varlığı, insülin direnci, karaciğer enzimleri ve lipid profili değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterdi. Karaciğer biyopsilerinin histolojik değerlendirmesinde nonalkolik steatohepatit (NASH) grubu sonuçlarının, nonalkolik yağlı karaciğer (NAFL) grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlendi. CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri tüm gruplarda anlamlı düzeyde farklılık gösterdi. Sağlıklı bireylerin CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken NAYKH gruplarında CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında pozitif yüksek düzeyde bir ilişki olduğu belirlendi. Ek olarak, PIIINP, sağlıklı bireyleri NAYKH gruplarından ayırt etmede CK18-M30'dan daha iyi performans gösterirken; CK18-M30, NAFL ve NASH gruplarını ayırt etmede PIIINP'den daha iyi performans göstermiştir.

Çalışmanın sonuçlarına göre biyopsi kanıtlı NAYKH'da elde edilen sonuçlar hem PIIINP hem de CK18-M30'un kısmen histolojik parametreler ile ilişkili olduğunu, özellikle NASH ve NAFL arasında ayırım yapmada etkili olabileceklerini göstermiştir. Ancak yapılan çalışmalarda sunulan PIIINP ve CK18-M30'un etkinlik düzeyi ve özellikle kesme değerleri farklılık göstermektedir. Ayrıca tek bir belirtecin bu ayırımı yapmada yetersiz olabileceği, testlerin tek başına kullanımı yerine kombine kullanımı, çeşitli panel veya algoritmaların geliştirilmesi ve araştırılması daha uygun olabilir. Bu nedenle özellikle daha büyük NAYKH popülasyonlarında yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Nonalkolik steatohepatit; Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı; Noninvaziv tanı testleri; Sitokeratin 18; Tip III kollajen N-terminal propeptid.

SUMMARY

REPUBLIC OF TURKEY

SELÇUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Correlation between Invasive (Histological) and Noninvasive (Cytokeratin 18 and Type III Collagen N-Terminal Propeptide) Methods in the Classification of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

Sercan KAYA

Department of Histology and Embryology (Vet)

PhD THESIS / KONYA-2021

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common chronic liver disease in the world. Its prevalence in the world is estimated at 25%. Liver biopsy is accepted as the gold standard for NAFLD classification. However, its routine use is limited due to its invasiveness. In this study, it was aimed to determine the correlation between invasive histological parameters and noninvasive methods serum cytokeratin 18 (CK18) and type III collagen N-terminal propeptide (PIIINP), in biopsy proven NAFLD classification.

The study was conducted on volunteers who applied to Van Yüzüncü Yıl University Dursun Odabaş Medical Center, Internal Diseases Polyclinic and Clinic between February and December 2020, who received a pre-diagnosis of NAYKH according to the biopsy result and healthy accepted to participate in the study. This study is a retrospective analysis of prospectively collected data. The routine hematological and biochemical parameters of all participants were studied, and serum samples were frozen and stored at -80 C until the end of the study. Biopsy samples were evaluated according to the Steatosis activity fibrosis / Fatty liver inhibition of progression (SAF / FLIP) algorithm. At the end of the study, frozen serum samples were studied using CK18 (M30) and PIIINP kits. SPSS 22 package program was used for statistical analysis of the data.

In the study, age, body mass index, presence of diabetes, insulin resistance, liver enzymes and lipid profile values showed a statistically significant difference between the groups. In the histological evaluation of liver biopsies, it was determined that the nonalcoholic steatohepatitis (NASH) group results were significantly higher than the nonalcoholic fatty liver (NAFL) group. CK18-M30 and PIIINP levels differed significantly in all groups. While there was no significant correlation between CK18-M30 and PIIINP levels of healthy individuals, a high positive correlation was found between CK18-M30 and PIIINP levels in NAYKH groups. In addition, while PIIINP performed better than CK18-M30 in distinguishing healthy individuals from NAYKH groups, CK18-M30 performed better than PIIINP in distinguishing between NAFL and NASH groups.

According to the results of the study, the results obtained in biopsy proven NAYKH showed that both PIIINP and CK18-M30 are partially related to histological parameters, and they can be effective in distinguishing between NASH and NAFL. However, the efficiency level and especially the cut-off values of PIIINP and CK18-M30 presented in the studies are different. In addition, a single marker may be insufficient to make this distinction, it may be more appropriate to use the tests in combination instead of using them alone, to develop and research various panels or algorithms. Therefore, prospective studies are needed, especially in larger NAFLD populations.

Key Words: Nonalcoholic steatohepatitis; Nonalcoholic fatty liver disease; Noninvasive diagnostic tests; Cytokeratin 18; Type III collagen N-terminal propeptide.

1. GİRİŞ

1. 1. Genel Bilgiler

Karaciğer insan vücudundaki en büyük salgı bezi ve deriden sonra en büyük organdır. Yaklaşık olarak 1500 gr ağırlığa sahip olan karaciğer, erişkin bir insanın toplam ağırlığının %2,5 ini oluşturur. Yağ dışında sindirim sisteminden emilen bütün besinler portal venöz sistem yoluyla karaciğere iletilir. Diğer metabolik aktivitelerine ek olarak karaciğer glikojen depolar ve safra salgılar (Moore ve ark 2010).

1. 2. Karaciğerin Embriyonik Gelişimi

Gastrulasyonu takiben, döllenmeden sonraki üçüncü hafta boyunca embriyo, embriyoyu çevreleyen disk şeklindeki çok sayıda boşluktan ibarettir. Embriyonik diskin hem dorsal hem de ventral tarafları, sırasıyla amniyotik kese ve yolk kesesi (vitellus kesesi) olarak bilinen iki karşıt boşluğun içine bakar. Embriyonik disk, yolk kesesi ve amniyotik keseyi kapsayan en büyük ve en dıştaki boşluk, koryonik boşluk veya ekstraembriyonik sölom olarak adlandırılır. Embriyo gelişiminin merkezi embriyonik diskte yer alırken, diğer yapılar esas olarak gebelik sırasında embriyo için destekleyici bir role sahiptir. Disk, germ katmanları olarak bilinen üç hücre hattından oluşan üç katmanlı bir yapıdır. Amniyotik keseye bakan katman ektoderm, yolk kesesine bakan katman endoderm, ikisi arasındaki katman ise mezodermdir. Bu üç farklı hücre hatları, farklı doku ve organları oluşturacaktır. Ektodermden esas olarak epidermis ve sinir dokusu, mezodermden seroza, kardiyovasküler, bağ ve kas dokuları, endodermden ise solunum ve gastrointestinal sistem mukozası gelişecektir. Karaciğer gelişimi, gastrointestinal sistemin gelişimine bağlıdır ve bu nedenle ana katkı sağlayacak tabaka endodermdir (Ugo ve Quaia 2021).

Yetişkin karın boşluğunun konformasyonunu daha iyi anlamak için embriyonel gelişimin 17. gününden itibaren (Schoenwolf 2015), mezodermal tabakanın yanıl kısımları, iki kısma ayrılmaya başlar, bu sebeple tarif edilen üç katlı embriyonik düzene küçük bir komplikasyon eklemek gerekir; biri endoderm (splanknik mezoderm) ve diğeri ektoderm (somatik mezoderm) ile ilişkilidir. Splanik ve somatik mezoderm arasındaki boşluk, ekstraembriyonik sölom ile doğrudan

devamlılık içindedir ve karın boşluğunun alanını tanımlayacaktır. İntraembriyonik sölomdan dört vücut boşluğu; iki plevral boşluk, göğüs kafesindeki perikardiyal boşluk ve karın bölgesindeki periton boşluğu gelişecektir (Ugo ve Quaia 2021). Bu arada, diyaframın embriyonik atası olan septum transversum, embriyonik gelişimin 22. gününden itibaren embriyonik diskin üst kısmındaki mezodermden başlayarak, sadece kranialde gelişen kalbe doğru gelişir. 22. günde (Schoenwolf 2015), duodenal kanalda olacak olan distal ventral ön bağırsağın endodermi çoğalmaya başlar ve kalınlaşarak hepatik plakayı oluşturur. Endoderm, yalancı çok katlı kübik epitel yapıya geçer ve plaka, septum transversum bağlamında gelişen bir divertikül (hepatik divertikül veya karaciğer tomurcuğu) şeklini alır (Wells ve Melton 1999, Zaret 2001, Bort ve ark 2006). Karaciğerin gelişmesi için endodermik karaciğer tomurcuk hücreleri ve mezodermal hücreler arasındaki karmaşık etkileşimler gereklidir. Mezenkimal sinyalizasyon, endodermal hücre farklılaşmasına rehberlik eder, sadece spesifik gen ekspresyonunun artmasını değil, aynı zamanda karaciğer dışındaki organlara, yani pankreas dokusuna doğru endodermal farklılaşmaya yol açacak alternatif yolların negatif aşağı regülasyonuna da yol açar (Rossi ve ark 2001, Fair ve ark 2003, Bort ve ark 2006). Karaciğer tomurcuğu hücreleri başlangıçta mezodermden, laminin bakımından zengin bir bazal membranın varlığıyla ayrılır ve daha sonra endodermal hücrelerin septum transversum mezenşimine göç etmesine izin vermek için parçalanır. Mezenkim istilası, endodermal hücreler ile mezenkimal anjiyoblastlar ve endotelyal hücreler arasında sıkı etkileşim gerektirir. Nitekim endodermin mezenkime girmeye başladığı bölgelerde erken vaskülatür hücreleri daha fazla sayıda bulunmaktadır (Matsumoto ve ark 2001, Margagliotti ve ark 2008).

Hepatoblast olarak adlandırılan, 32. embriyonik gün civarında yeni beliren hepatik endoderm hücreleri, septum transversum mezenşimine doğru organize olarak büyür ve gelişmekte olan bir vasküler farklılaşma ile mezodermal kökenli hücreler tarafından birleştirilir. Bu arada ekstrahepatik safra sistemi karaciğer parankimi ile yakın ilişki içinde oluşmaya başlar. Karaciğer tomurcuğu büyüdükçe, hepatoduodenal ligament ve koledok kanalını oluşturacak bir yapıda ön bağırsakla bağlantısı daralır. Karaciğer tomurcuğunu ön bağırsağa bağlayan yapının orta kuyruk kısmından, safra kesesi ve kistik kanala orjin veren ikincil bir ventral büyüme oluşur (Ugo ve Quaia 2021).

Karaciğer portal sistemi, embriyonik gelişimin 3. haftasında iki embriyonik venöz sistem olan vena vitellina ve vena umblikaleden gelişmeye başlamaktadır. Vitellin damarlar (omfalomesenterik damarlar), yolk kesesinden kanı boşaltır ve ana iki ekseni, yolk sapından anterolateral olarak ilkel bağırsağa doğru kalbe simetrik uzanır. Septum transversum bağlamında, sağ ve sol vitellin venler, orta hat etrafında anastomoz yapan iki venöz pleksus geliştirir. Karaciğer bu dönemde gelişmektedir. Anjiyoblastlar ve endotel hücreleri ile etkileşime giren endodermal hücreler, hepatik sinüzoid sistem haline gelecek olan ve venöz pleksusları saran alanlarda büyüyen hepatoblastlara farklılaşırlar. Daha kaudalde, sol ve sağ vitellin damarları arasında iki anastomoz daha yapılır ve bunlar vasküler bir halka oluşturur. Sağ vena vitellinanın kraniyal segmenti, vena kava inferiorun intrahepatik kısmını oluşturan büyük çaplı bir damara dönüşür. Sol vena vitellinanın kraniyal kısmı ise tıkanır ve kanı, karaciğer pleksusu bağlamında sağ vena vitellina ile anastomozlar aracılığıyla sistemik fetal dolaşıma boşaltılır. Subhepatik vitellin yolda, duodenum etrafındaki vasküler halkanın parçaları obliterasyona uğrar ve sonuç olarak, proksimal duodenuma posterior olarak uzanan ve daha sonra distal yolun önünden geçen kıvrımlı seyri olan bir damar halini alır. Bu damar, gelişmiş bireyde yetişkin karaciğer vaskülarizasyonuna en belirgin katkı sağlayan portal venaya karşılık gelir (Netter ve Casasco 1983, Ugo ve Quaia 2021).

Kraniyal dalların obliterasyonu ile kalbe doğru umbilikal kan akışı, karaciğer vitellin pleksusu üzerinden alternatif bir yol izler ve sol umbilikal ven ile portal sinüs olarak bilinen vasküler bir yapıya karşılık olacak şekilde anastomoz yapar (Mavrides ve ark 2001). Venöz girdinin artmasıyla, pleksusun küçük çaplı damarlarında etkin bir şekilde artan kan akışı için tercihli bir kanal oluşturulur, buna duktus venosus denir. Duktus venosus, portal sinüsü doğrudan, kalp girişinde vena kava inferiora bağlar (Kiserud 2005). Gebeliğin ortasında duktus venosus umbilikal damardan gelen oksijenli kanın yaklaşık %30'unu şant yapar ve bu da 30. embriyolojik haftada yaklaşık %20'ye kadar düşer. Karaciğer parankimini geçmesi gereken oksijenli kanın önemli yüzdesi (%70'den %80'e) fetal sistemik dolaşıma ulaşmadan önce bu organın gelişim sırasındaki önemli rolüne tanıklık eder. Fetal yaşam boyunca, karaciğer kan akışının %75'i umbilikal venden ve %25'i portal venden gelir (Kiserud 2005). Hem umbilikal ven hem de duktus venosus, doğumdan sonra sirkülasyonda meydana gelen değişikliklerle birlikte sırasıyla ligamentum teres hepatis, ligamentum venosum haline

geldiklerinden, intrauterin yaşama sıkı sıkıya bağlıdır. Karaciğer arter damarları, venöz sistemden daha geç ortaya çıkar. Embriyolojik gelişimin 10. haftasından 20. haftasına kadar, paralel intrahepatik safra kanalı gelişimi tarafından yönlendirildiği görülen bir süreçte (Clotman ve ark 2003) hilustan organın çevresine arterler oluşmaya başlar (Gouysse ve ark 2002).

Hepatositler, karaciğerdeki en göze çarpan hücre tipini temsil ederken (Si-Tayeb ve ark 2010); kolanjiyositler (safra kanalının epitel hücreleri), yıldız hücreleri, Kupffer hücreleri, çukur hücreleri ve endotelial hücreler de organın yapısı oluşturan diğer hücre tipleri olarak bilinmektedir. Hepatoblastlardan köken alan kolanjiyositler ve hepatositler embriyolojik olarak ilişkilidir. İntrahepatik safra kanallarının gelişimi beş farklı adımla tamamlanmaktadır (Lemaigre 2003). İlk olarak, karaciğer vasküler sistemi geliştikçe, portal damara bitişik olan hepatoblastlar biliyer spesifik sitokeratinleri oluşturmaya başlar. Daha sonra, duktal plaka adı verilen ve portal damarı çevreleyen kübik hücrelerden oluşan tek bir tabaka halinde organize olurlar. Sonraki adımda, bu katman kopyalanır ve daha sonra kendi bağlamında odak genişlemeleri belirir. Son adım, safra ağacına tekabül eden bağlantılı bir boru yapısı ağı bırakarak, kanal plakasının, seyreltilmemiş parçaların gerilemesi ile yeniden biçimlendirilmesini kapsamaktadır. Si-Tayeb ve ark (2010) göre, karaciğer hücrelerinin %1,4'ünü yıldız hücreleri (perisinüzoidal hücreler, Ito hücreleri) oluştururken; Yin ve ark (2013) ise karaciğer hücrelerinin %5-8'inin yıldız hücrelerinden şekillendiğini bildirmişlerdir. Bu hücreler disse aralığında ve perisinüzoidal boşlukta bulunur. Kökenleri hala belirsiz olmakla birlikte bazı araştırmacılara göre septum transversumdan oluştukları ifade edilmektedir (Loo ve Wu 2008). Kupffer hücreleri, karaciğerde bulunan makrofaj tipi hücrelerdir. Makrofaj öncüleri (fetal makrofajlar) yolk kesesinden köken almakta ve daha sonra karaciğere yerleşmektedir. Burada olgun Kupffer hücrelerine farklılaşırlar (Naito ve ark 1997). Pit hücreleri, karaciğere özgü doğal öldürücü (natural killer, NK) rolü olan lenfoid hücrelerdir. Karaciğerdeki çukur hücrelerinin, organın içinde sınırlanan kan NK hücrelerinden şekillendiği düşünülmektedir (Luo ve ark 2000). Embriyoda NK hücreleri gebeliğin altıncı haftasında karaciğerde görülür (Ivarsson ve ark 2013). Son olarak, endotel hücreleri mezodermal kökenlidir. Yapılan genetik araştırmalar, karaciğerin vasküler sisteminin en azından bir kısmının endokardiyal hücrelerden

kaynaklandığını ve bu nedenle de kökenini koroner arterlerle paylaştığını göstermektedir (Zhang ve ark 2016).

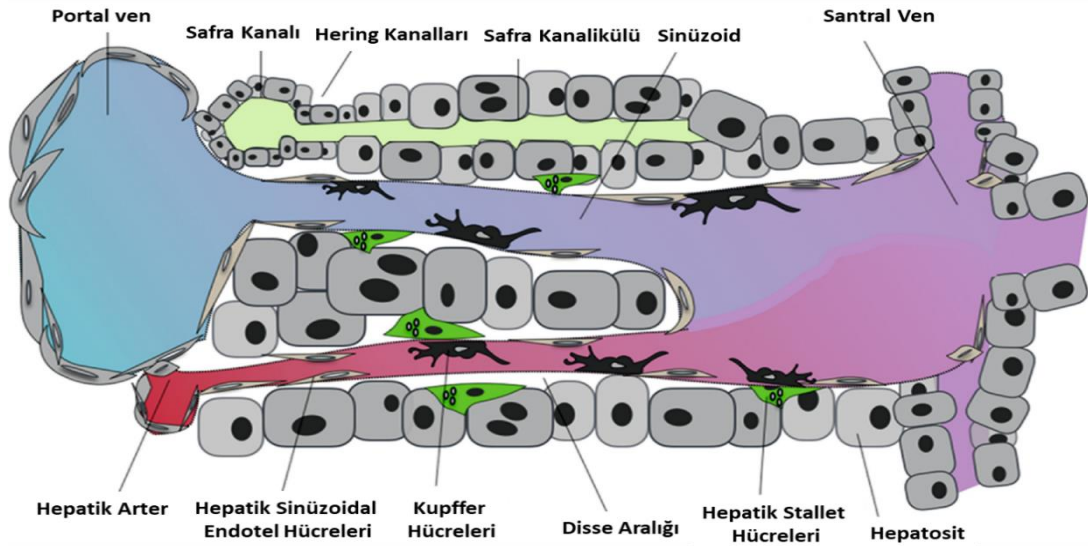
1. 3. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, ortalama ağırlığı 1,5-1,8 kg ile en büyük abdominal organdır (Molina ve DiMaio 2012). Üst karın bölgesinde kaudal olarak diyaframa yerleşmiştir. Karaciğer parankimi, Glisson kapsülü adı verilen yapışkan bir bağ doku tabakası ile çevrilidir. İçerisinde sinir lifleri, kan ve lenfatik damarlar bulunan, arasına elastik lifler serpiştirilmiş yoğun lifli bir kılıftır (Anastasi 2007).

Anatomistler geleneksel olarak karaciğeri makroskopik yüzey görünümüne göre tanımlamışlar ve böylece belirgin fissura, sulkus ve ligamentlere göre lobar bir alt bölüm oluşturmuşlardır. Bu morfolojik bakış açısında; iki ana lobu (sağ ve sol) ve iki aksesuar lobu (kaudat ve kuadrat) ayırt edilebilir (Bismuth 1982). Karaciğer ön yüzünde, abdominal orta hattın hafifçe sağa doğru vertikal düzlemde uzanan falsiform ligament bulunur. Sağ lob tipik olarak sol lobdan daha büyüktür ve sağ hipokondriumu kaplarken, sol lob genellikle ön epigastriyumun ön kısmına uzanır ve sol hipokondriuma çıkıntı yapar. Karaciğerin arka-alt görünümü, topluca bir "H" şeklini alan birkaç yapı ile dörde bölünmüştür. H'nin sol dikey kolu öne doğru ligamentum teres hepatis ve arkadan ligamentum venozumdan oluşur. Ligamentum teres hepatis, sol portal vene ulaştığı yer, hepatik hilumda sona erer. Ligamentum venosum, sol portal venden vena kava inferiora kadar uzanır. H'nin yatay kısmı, porta hepatis olarak bilinen enine fissür ile tanımlanan karaciğer hilusuna karşılık gelir. Son olarak, H'nin dikey sağ kolu posteriorda vena kava inferior ve anteriorda safra kesesi fossasından (karaciğer yatağı) oluşur (Honda ve ark 2008). H'nin iki dikey kolu arasında oluşan bölgede iki aksesuar lob fark edilir. Bunlar, arkada kaudat lob ve önde kuadrat loptur. Safra kesesi ve vena kava inferior yatağının birbirine yakın olmadığı bilinmektedir. Bu nedenle H'nin sağ dikey kolunun sürekli olmadığına ve ventral yüzeyde sağ ve kaudat loblar arasında bariz açık bir ayrım yapılamadığına dikkat etmek önemlidir. Sağa doğru kaudat lobun devamı kaudat çıkıntısı olarak bilinir. Alt kaudat lobun medial yönü, medial papiller çıkıntı veya papiller çıkıntı olarak bilinir; solda mideye doğru şişer ve görünümü bazen bir porta hepatis lenf düğümünü veya pankreas gövdesi lezyonunu taklit edebilir (Donoso ve ark 1989, Ugo ve ark 2021).

1. 4. Karaciğer Histolojisi

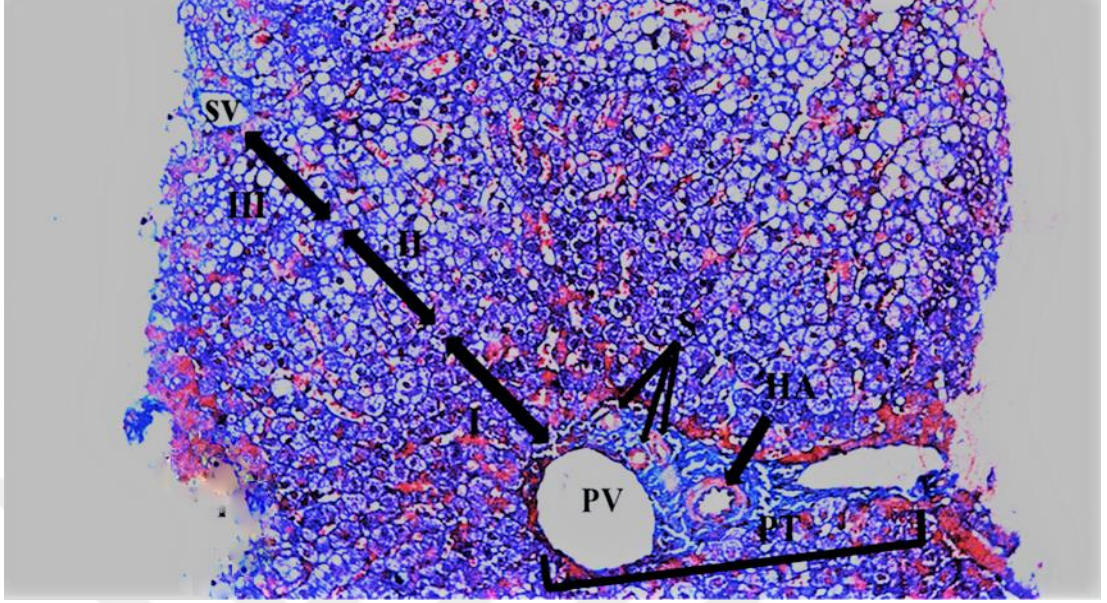
Karaciğer dokusunun yaklaşık %80'i parankim, %20'si ise Glisson kapsülünü de içine alan destekleyici bağ dokusudur. Glisson kapsülü, porta hepatisten itibaren karaciğerin içine girer ve karaciğeri küçük lobüllere ayırır. A. hepatikalar, v. porta ve duktus hepatikuslar karaciğere porta hepatisten girer ve Glisson kapsülünü oluşturan bağ dokuda bu yapılara eşlik eder (Ovalle ve Nahirney 2009). Lobüllerin birbiri ile temas ettiği yerlerde geniş üçgen şeklinde görülen bağ dokusu sahaları vardır. Bu sahalar Glisson üçgeni, Kiernan aralığı veya Portal triad olarak adlandırılır (Kayalı ve ark 1992). Burada arter, ven ve safra kanalları beraber seyreder ve bu üç yapının dalları portal triadı oluşturur (Şekil 1.1). Bunlar a. interlobularis, v. portanın ince dalı olan v. interlobularis ve duktus interlobularis (duktus biliferus)'tir (Junqueira ve ark 2005, Sadler 2006).



Şekil 1.1. Karaciğer asinusu (Hu ve ark 2018).

Karaciğerin fonksiyonel birimi, tüm karaciğer fonksiyonlarını bağımsız olarak yerine getirebilen en küçük, yapısal olarak farklı ve kendi kendine yeterli birim olarak tanımlanır. Ancak tanımı hala tartışma konusudur (Saxena ve ark 1999). Yıllar içinde birkaç model önerilmiştir. Kiernan (1833) tarafından tanımlanan klasik lobül, klinik uygulamada hepatik mikro yapıya atıfta bulunmanın standart yolunu temsil etmektedir. Lobül kabaca altıgen bir yapıdır ve merkezi bir efferent venaya doğru yayılan sinüzoidal boşluklarla kaplı hepatosit plakalarından oluşur. Hepatik vena

lobülün merkezindedir, dolayısıyla adı merkez damardır. Altı altıgen köşenin her biri bir portal triad (PT) ile sınırlandırılmıştır (Guido ve ark 2019).



Şekil 1.2. Karaciğer histolojisi. SV: Santral Ven, PV: Portal Ven, HA: Hepatik (Portal) Arter, S: Safra Duktusu, PT: Portal Triad, III: Sentrolobuler alan (Zon 3), II: Ara zon (Zon 2), I: Periportal alan (Zon 1) (Masson Trikrom, 20X).

Rappaport ve ark (1954) tarafından açıklanan, karaciğer parankim organizasyonunun bir başka modeli de karaciğer asinusudur. Bu üç boyutlu işlevsel yapıda kan PT'den sinüzoidlere akar ve daha sonra asinusun çevresinde terminal hepatik (santral) venaya akar (Şekil 1.1). Asinus, her biri farklı oksijenasyon seviyelerine ve metabolik fonksiyona sahip üç farklı fonksiyonel bölgeye ayrılmıştır (Şekil 1.2). Karaciğer asinus kavramı, iskemi ve hepatositlerde meydana gelen diğer patolojik süreçlerin etkilerini anlamak için çok faydalıdır. Zon I'de, hepatositler en yüksek oksijene sahipken, Zon III'tekiler daha az oksijenlenir (Rappaport ve ark 1954, Malarkey ve ark 2005). Oksijenasyonda ki farklılığa bağlı olarak, Zon III'teki hepatositler iskemi ve diğer saldırılar tarafından daha erken ve şiddetli hasar görür (Soto-Gutierrez ve ark 2017). Orta alan, Zon II olarak adlandırılır (Guido ve ark 2019). Bu bölgeler, kalitatif ve kantitatif yönlerden farklı metabolizma aktiviteleri sergilerler. Her üç bölgedeki karaciğer epitel hücrelerinin (hepatositlerin) organel durumu, enzim içerikleri ve bunlara bağlı olarakta aktiviteleri değişmektedir. Lopçuğun dış bölgesindeki (Zon I) hücrelerde mitokondriyonlar, iç bölgedekilerden (Zon III) daha büyüktürler ve sayıca da fazladırlar. Lopçuğa ya da asinusa giren kan, önce Zon I'deki hücrelerle karşı karşıya gelir. Oksijen, besin maddeleri ya da kanda erimiş ve

süspansiyon halindeki substanslardan, öncelikle bu hücreler yararlanırlar. Ancak oksijen yetmezliği durumunda metabolizma bozukluğu sonucu, öncelikle Zon III'teki hücreler, bir toksikasyonda ise önce Zon I'deki hücreler zarar görürler.

1. 4. 1. Hepatositler

Hepatositler, karaciğer ana parankimal hacminin yaklaşık %80'ini oluşturan hücre tipidir (Blouin ve ark 1977). Bu hücreler sünger benzeri işınsal kordonlar halinde düzenlenmişlerdir (Saxena ve ark 1999, Burt ve ark 2018). Periportal hepatositler birbirine yakın konumdadır ve diğerlerinden daha küçüktür; daha güçlü bir nükleer boyama ve daha bazofilik bir sitoplazma özelliği gösterirler. Merkezi yerleşimli olan hepatosit çekirdeği yuvarlak şekilli olup bir veya daha fazla sayıda olabilmektedir. Doğumda, birkaç hepatosit dışında hepsi mononükleerdir. Hepatositlerin plazma membranı iyi tanımlanmıştır ve üç özel alan sunmaktadır. Her alanın farklı moleküler, kimyasal ve antijenik bileşimleri ve işlevleri vardır. Sinüzoidal alan, toplam yüzey alanının %70'ini temsil eder ve sinüzoidlerle yüzleşir. Endotelial sinüzoidal hücrelerden Disse aralığı ayrılır. Safra kanalı alanı (%15), yüzeyi mikrovillus varlığı ile karakterize edilen, toplayıcı bir hücreler arası boşluk olan safra kanaliküllerine yol açar. Safra oluşumu ve akışından sorumlu olan farklı safra proteinleri hepatosit kanaliküler membranında toplanır. Yanal alan (%15), hücreler arası boşluğun geri kalanına bakar (Wanless 1999, Burt ve ark 2018). Hepatosit fonksiyonları (örneğin, gen ekspresyon profilleri ve biyokimyasal aktiviteler), hepatik lobüldeki fiziksel konumlarına bağlı olarak çeşitlidir (Soto-Gutierrez ve ark 2017).

Karaciğer epitel hücreleri polihedral, altı ya da daha fazla yüzeyli ve 20-30 µm çapındadır (Mescher 2019). Hepatositlerde bulunan granüllü endoplazmik retikulum plazma proteinlerinin sentezinde rol oynarken, granülsüz endoplazma retikulumu (agER) glukojen, lipid sentezi ve detoksifikasyon metabolizmaları ile ilişkilidir. Hepatositlerin ilaç, toksinler veya metabolik uyarıcılar ile karşılaşması durumunda, agER'in hücredeki hacmi artabilmektedir. Ayrıca agER membranlarında; kolesterol ve safra tuzlarının sentezi, serbest yağ asitlerinin trigliseritlere esterleştirilmesi ve glukojenin glukosa yıkımı gibi işlevlere sahip enzimler de bulunmaktadır. Bol miktarda mitokondriyon ve agER içeriklerinden dolayı hepatositler hematoksil-eozin boyamada eozinofiliktirler. Hepatositlerde özellikle plazma proteinlerinin (albümin), glikoproteinlerin (transferrin) ve lipoproteinlerin (VLDL) salgılanmasında

görev alan safra kanaliküne yakın yerleşim gösteren golgi cisimcikleri, lizozom ve peroksizomlar da bulunmaktadır. Hepatositlerde bulunan lizozomlar, plazma glikoproteinlerini, bazolateral bölgede hepatik lektin membran reseptörü ile yıkıma uğratmaktadır. Her bir hepatositte çapları 0,2- 1,0 µm olan en az 200-300 peroksizom bulunur. Peroksizomlar, mitokondriyonlar gibi oksijen kullanımının temel alanlarındandır. Ayrıca peroksizomlar, toksik etkiye sahip hidrojen peroksiti, katalaz enzimi sayesinde hidrojen ve oksijene ayırma özelliğine sahiptirler (Çelik-Samancı 2015).

1. 4. 2. Sinüzoidler

Sinüzoidler, hepatosit kordonlarını ayıran benzersiz kanallardır. Bu terim, 1900'lerin başında sinüzoidleri kılcal damarlardan sadece bir ışık mikroskobu yardımıyla ayıran Charles Sedgwick Minot (1852–1914) tarafından ortaya atılmıştır (Minot 1900). Karaciğer sinüzoidleri, kanı (bir portal ve arteriyel kan karışımı) hepatik parankimden porta hepatilerden vena kava inferiora taşımak için karmaşık bir kanal sistemidir. Sinüzoidler, kan dolaşımı ve parankimal hücreler arasındaki değiş tokuşta yer alan başlıca damarlardır. Sağlıklı karaciğerde sinüzoidler oldukça tekdüze bir çapa sahiptir ve zar zor görünürler. Az kan hücresi içerebilen yarı benzeri boşluklar olarak görünürler. Periportal sinüzoidler, perivenüler sinüzoidlerden daha kıvrımlı olabilir. Karaciğer sinüzoidleri, fenestralı endotelial hücreler ve retikulin lifleri tarafından desteklenen Kupffer hücreleri ile kaplıdır. Kan kılcal damarlarının aksine, hepatik sinüzoidlerin bir taban zarı yoktur ve endotel hücreleri birleşme yerleri oluşturmazlar, ancak birkaç boşlukla ayrılırlar, bu da kan ve hepatositler arasında serbest alışverişe izin veren elek benzeri bir yapıya neden olur (Wake ve Sato 2015, Burt ve ark 2018). Mikroskop altında, endotel hücreleri ince, belirsiz bir sitoplazmaya ve nükleolus içermeyen küçük, uzun, koyu lekeli bir çekirdeğe sahiptir. Normal karaciğer örneklerinde pek göze çarpmazlar (Poisson ve ark 2017). Ancak olgun endotel hücrelerinde yüksek seviyelerde eksprese edilebilen bir glikoproteini tanımlayan CD31 immün boyama metodu ile incelenebilirler (Guido ve ark 2019).

1. 4. 2. 1. Kupffer Hücreleri

Kupffer hücreleri (KH'lar), karaciğerdeki tüm parankimal olmayan hücrelerin %20-35'ini ve insan vücudundaki doku makrofajlarının ise %80-90'ını oluşturan en

büyük yerleşik makrofaj popülasyonudur (Blouin ve ark 1977). Sinüzoidal endotelin lümen yüzeyine sabitlenirler ve böylece kan dolaşımına maruz kalırlar. KH'lar, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemlerinin önemli üyeleridir. Bakterilere, mikrobiyal enkazlara, gastrointestinal sistemden ve sistemik dolaşımdan türetilen endotoksinlere karşı ilk savunma hattında rol oynarlar (Abdullah ve Knolle 2017). Dahası, KH'lar antijen sunan hücreler olarak hareket ederler. Doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemleri arasında bir köprü sağlarlar (Li ve ark 2017). KH'lar düzensiz yıldız şeklinde olup HE boyama ile kolayca ayırt edilemezler. Histolojik incelemede, dolgun bir sitoplazma ve fasulye şeklinde bir çekirdek yapısı gösterirler. Periportal alanda fazlaca görülmeleri, portal ven ve hepatik arter yoluyla karaciğere gelen kanın temizlenmesinde önemli bir rol oynayabileceklerini düşündürmektedir. KH'lar, kan akışının hem aynı hem de zıt yönünde sinüzoidler boyunca hareket edebilirler (Guido ve ark 2019). KH'lar, yüksek heterojenlik ve plastisite ile homeostazı ve savunma fonksiyonlarını sürdürmede mükemmeldir. Vücutta lipidler, lipid metabolitleri ve LPS gibi faktörler KH'ları aktive eder. Bu hücreler aktive edildikten sonra enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırır, karaciğer hücreleri arasındaki nekrotik inflamasyonun derecesini şiddetlendirir, fibroz ve oksidatif hasar ile ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirerek NAYKH'ın gelişmesine yol açar (Chen ve ark 2020).

1. 4. 2. 2. Disse Aralığı

Disse aralığı, hepatositlerin bazolateral yüzeyi ile sinüzoidal endotel hücre katmanının anti-lüminal tarafı arasında uzanan sanal subendotelyal boşluktur. İlk olarak 1890'da Alman Joseph HV Disse tarafından (Haubrich 2004) tanımlanan bu boşluk plazma ve ince geçirgen bir bağ dokusu tabakası içerir ve gastrointestinal sistemden kaynaklanan portal kan akışı ile hepatositler arasında biyomoleküllerin değişimine izin verir (Saxena ve ark 1999, Burt ve ark 2018).

1. 4. 2. 3. Hepatik Yıldız Hücreleri

Disse aralığında bulunan hepatik yıldız hücreleri (HYH'lar) veya Ito hücreleri, A vitamini depolayan hücreler veya yağ depolayan hücreler olarakta adlandırılır. Normal insan karaciğerindeki parankimal olmayan hücrelerin yaklaşık üçte birini ve toplam yerleşik hücrelerin %15'ini oluştururlar. Normal stromal matriks içine gömülü

olan yerleşik fibroblastların ve kılcal damarların endotelyal hücrelerine bağlanan perisitlerin özelliklerini korurlar (Senoo ve ark 2017).

Sağlıklı karaciğerde, HYH'lar hareketsizdir ve insan vücudundaki en büyük A vitamini rezervuarını temsil eden A vitamini lipid damlacıklarını içerirler (Senoo ve ark 2017). Endotelyal hücre etkileşimleri yoluyla vazoregülasyon, hücre dışı matriks homeostazı, ilaç detoksifikasyonu ve immünotolerans dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik süreçlere katılırlar (Yin ve ark 2013). Hareketsiz HYH'lar, hipervitaminoz A'da çok sayıda olmasına karşın, normal karaciğer dokusunun ışık mikroskopik incelenmesinde kolayca gözlenemezler (Senoo ve ark 2017). Bir karaciğer hasarı sırasında, HYH'lar kendilerini miyofibroblastlara dönüştürür, lipid damlacıklarını kaybeder ve aşırı hücre dışı matriks üretmeye başlar. Aktive edilmiş HYH'lar α -düz kas aktinini eksprese eder ve immünohistokimyasal yöntemlerin kullanımıyla kolayca tanımlanır (Yin ve ark 2013). Ek olarak HYH'ların karaciğer fibrogenezindeki anahtar rolü çocuklarda da gösterilmiştir (Lotowska ve ark 2018, Guido ve ark 2019).

1. 5. Alkolsüz Karaciğer Yağlanması

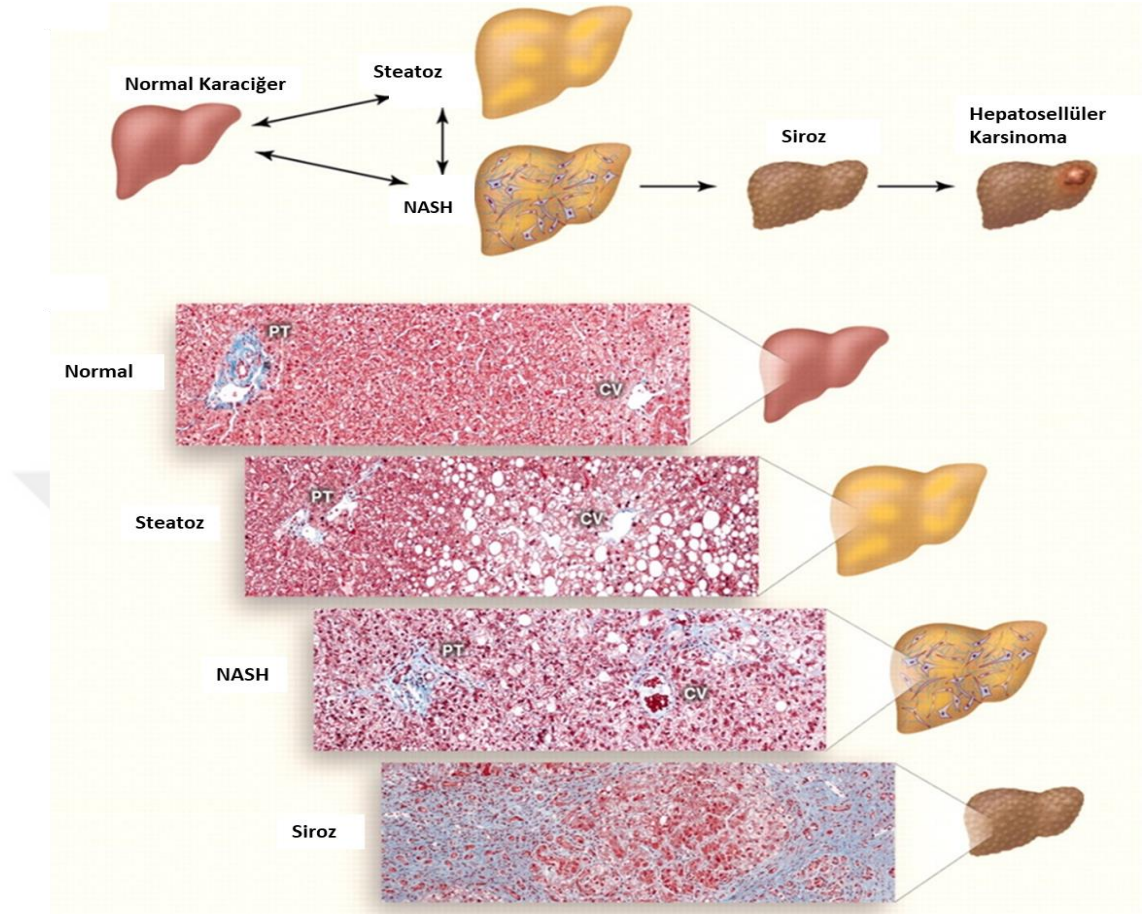
NAYKH, ilk olarak 1980 yılında alkolün yol açtığı karaciğer yağlanmasıyla benzer patolojik özellikler göstermesine karşın, alkol kullanmayan hastalarda gelişen bir karaciğer sorunu olarak bildirilmiştir (Ludwig ve ark 1980). Sonraki zamanlarda, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmalarının büyük kısmının hepatit bulgularını içermemesinden dolayı isimlendirmede karışıklıkların önüne geçebilmek için yeni bir tanımlama olan "Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı" kavramı öne çıkarılmıştır (Sonsuz 2007).

Alkol dışı nedenlere bağlı olarak meydana gelen nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının basit steatozdan, steatohepatit ve karaciğer sirozuna kadar değişen geniş bir spektrumu vardır. NAYKH tanımı, kendi içerisinde bazı alt grupları barındırır.

1. Steatoz (Nonalkolik yağlı karaciğer, NAFL): Bu hastaların karaciğerinde yağlanma görülmekte, fakat iltihabi infiltrasyon bulunmamaktadır.

2. Nonalkolik steatohepatit (NASH): Karaciğerde yağlanma ile birlikte alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi hepatositlerde balonlaşma, iltihabi infiltrasyon ve

bazı olgularda Mallory cisimcikleri, megamitokondria, fibrozis gibi bulguların da mevcut olduğu bir hastalıktır (Vuppalanchi ve Chalasani 2009).



Şekil 1.3. NAYKH klinik spektrumu (Cohen ve ark 2011).

NAYKH, 1980'de "isimsiz hastalık" olarak tanımlanmasından bu yana dünyada kronik karaciğer hastalığının yaygın bir nedeni haline gelmiştir (Siegel ve ark 2012). Son zamanlarda, karaciğer transplantasyonu için ortak bir endikasyonu olması sebebiyle bu konuyla ilgili sayısız araştırmalar yapılmakta ve derinlemesine çalışılmaktadır (Perumpail ve ark 2017). NAYKH; NAFL, NASH, fibroz, NASH sirozu ve NASH ile ilişkili hepatoselüler karsinoma (HCC) gibi geniş bir histolojik çeşitliliği kapsamaktadır. NAYKH, ikincil nedenlerin yokluğunda $>5\%$ hepatik yağ birikimi ile karakterizedir ve bu bir dışlama kriteridir. Bu nedenle, benzer hepatik histolojiye yol açan diğer etiyolojilerin, aşırı alkol tüketimi de dahil olmak üzere viral hepatit, Wilson hastalığı, hemokromatoz, otoimmün hepatit, kolestatik karaciğer hastalığı ve diğer kronik karaciğer hastalıkları, lipodistrofi, Çölyak hastalığı, Cushing hastalığı ve ilaçlar (kortikosteroidler, metotreksat, diltiazem, oksaliplatin, amiodaron, izoniazid, oldukça aktif anti-retroviral tedavi, vb.) ekarte edilmesi gerekir. Mevcut

kılavuzlar, NAYKH tanısının bir bileşeni olarak günde erkekler için 30 g ve kadınlar için 20 g'dan az alkol maruziyeti olması gerektiğini önermektedir (Chalasanı ve ark 2012a, Perumpail ve ark 2017).

1. 5. 1. Risk Faktörleri

NAYKH; obezite, insülin direnci, tip 2 diabetes mellitus (T2DM), hipertansiyon, hiperlipidemi ve metabolik sendrom ile ilişkili bir karaciğer hastalığıdır. NASH olarak kategorize edilen NAYKH'nin alt tipi karaciğer fibrozu, siroz, HCC ve karaciğer transplantasyonuna yol açan potansiyel olarak ilerleyici bir seyir izlemektedir (Younossi ve ark 2019).

1. 5. 1. 1. Obezite

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) vücut kitle indeksi (VKİ) oranının ≥ 25 üzerinde olmasını fazla kilo olarak tanımlamaktadır. Obezite ise 30'a eşit veya daha büyük bir VKİ oranı olarak kabul edilmektedir (DSÖ 2016a). VKİ, popülasyon düzeyinde aşırı kilo ve obeziteyi tanımlamada sıklıkla başvuru yöntemlerinden biridir (Mongraw-Chaffin ve ark 2015). DSÖ tarafından 2016 yılında dünya çapında yapılan bir araştırma, fazla kilo ve obezite oranlarını VKİ değerlerini kullanarak belirlemiş olup 1975'ten bu yana bu oranın neredeyse üç katına çıktığını bildirmiştir. Ayrıca 18 yaş ve üstü 1,9 milyardan fazla yetişkinin aşırı kilolu ve 650 milyonun ise obez olduğu aynı çalışmada belirtilmiştir. Dünya yetişkin nüfusunun %13'ünün obez, %39'unun ise fazla kilolu olduğu tahmin edilmektedir. Daha da rahatsız edici olan, 5 yaş altı 41 milyon çocuğun ve 5–19 yaş arası 340 milyondan fazla çocuk ve ergenin aşırı kilolu veya obez olmasıdır (DSÖ 2017). Obezite oranlarındaki bu artışların oldukça yüksek oranlara ulaşması sonucunda DSÖ, obeziteyi ele alınması gereken 9 küresel bulaşıcı olmayan hastalıktan biri olarak tanımlamıştır (Younossi 2019). Ek olarak Türkiye'nin %32 oranla Avrupa'daki en yüksek obezite oranına sahip ülke olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve ark 2019).

Obezite, NAYKH riskini artırmaktadır (Younossi ve ark 2018b). Aslında, NAYKH prevalansı VKİ'deki artış ile orantılıdır. Bu bağlamda, genel popülasyonda NAYKH prevalansı yaklaşık %25'tir. Ancak kilo verme prosedürleri ve ameliyatları

geçiren çok obez bireylerde bu oranın %90'ın üzerine çıktığı bildirilmiştir (Younossi ve ark 2018a).

1. 5. 1. 2. Tip 2 Diyabet

Yüksek obezite prevalansına paralel olarak, T2DM de dünya çapında artmaktadır. NAYKH ve NASH için bir başka önemli risk faktörü T2DM'dir Uluslararası Diyabet Federasyonu, 2015 yılı itibari ile 400 milyondan fazla insanın diyabet hastası olduğunu bildirmektedir. Dünya genelinde diyabetli kişilerin % 90'ının T2DM'ye sahip olduğu tahmin edilmektedir. 2012 yılında diyabet tahmini olarak 1,5 milyon insanın ölümüne neden olmuştur (%80'inden fazlası düşük ve orta gelirli ülkelerde). Gelişmekte olan ülkelerde ise diyabet vakalarının yarısından fazlası teşhis edilememektedir. Dünya genelinde diyabete bağlı ölümlerin 2030 yılına kadar iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (DSÖ 2017). Yaşa göre değerlendirildiğinde 19 yaş ve altı çocukların %0,26'sı, tüm yetişkinlerin (20 yaş veya üstü) %12,3'ü ve 65 yaş üstü yetişkinlerin ise % 25,9'u diyabet hastasıdır. Ayrıca, dünya genelinde en yüksek diyabet insidansının 40 ila 59 yaş aralığındaki yetişkin grubu olduğu bildirilmektedir. Bu durumun 2030 yılına kadar 60 ila 79 yaş arasındaki yetişkinlere geçmesi beklenmektedir (Younossi 2019).

1. 5. 1. 3. Yaş, Cinsiyet ve Etnik Köken

Yaş artışıyla birlikte NAYKH ve NAYKH ile ilişkili fibroz prevalansında arttığı bildirilmiştir (Mongraw-Chaffin 2015). Bu durum, genç (<50 yaş) orta yaşlı (>50 ila <60 yaş) ve yaşlı (>60 yaş) olan 351 NAYKH'ye sahip hastadan oluşan, biyopsi ile kanıtlanmış retrospektif bir çalışma ile doğrulanmıştır. Daha yüksek NAYKH prevalansına ek olarak, yaşlı bireylerde daha yüksek fibroz evresi de gözlenmiştir (Younossi 2019). Ek çalışmalar şiddetli hepatik fibroz , HCC ve T2DM riskinin artması ile yaşlı ilişkilendiren bu sonuçları doğrulamıştır (Coppell ve ark 2015).

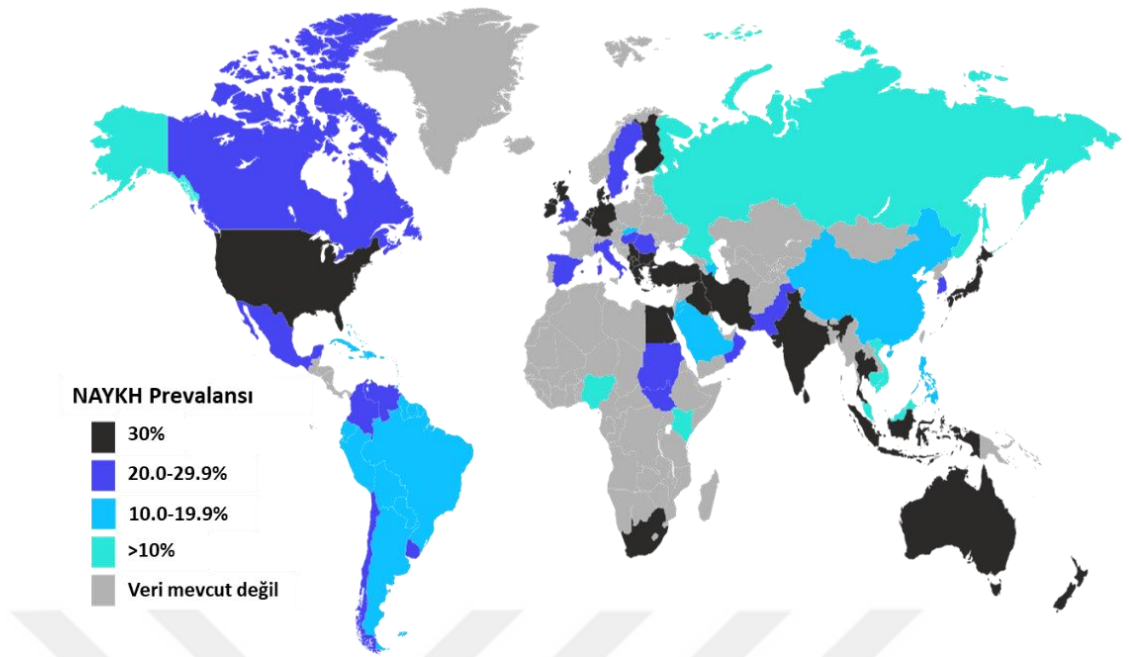
Yapılan NAYKH çalışmaları, kadın cinsiyetinin NAYKH riskinin artışı ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (McPherson ve ark 2015, Mongraw-Chaffin ve ark 2015, Summart ve ark 2017). Tayland'da 34 709 kişi (27 073 kadın ve 7 636 erkek) üzerinde yapılan bir araştırmada NAYKH yaygınlığının kadınlarda %22,9 erkeklerde

ise %18,3 olduğu bildirilmektedir. Araştırmacılar, diğer hastalıklarla birlikte yaş ve T2DM'nin varlığına göre NAYKH prevalansının kadınlarda %4,2 daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Ascha ve ark 2010). Buna karşın ABD, Güneybatı Çin ve İspanya'da yapılan bir dizi çalışma ise, erkeklerde NAYKH yaygınlığının daha yüksek olduğunu göstermektedir (Frith ve ark 2009, Caballería ve ark 2010, Camhi ve ark 2011, Eguchi ve ark 2012).

Ek olarak adipositlerde triaçilgliserol hidrolizine aracılık eden bir triaçilgliserol lipazı kodlayan genetik belirteçlerden biri, 3 gen içeren patatin benzeri fosfolipaz (PNPLA3) alanındaki rs738409 G (I148M) alelidir (Dongiovanni ve ark 2013). Bu allelel, karaciğer yağlanması ve serum aspartat aminotransferaz konsantrasyon artışı ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanında Rs738409 G allelinin yetişkinlerde şiddetli steatoz, NASH ve karaciğer fibrozuyla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Kalia ve Gaglio 2016).

1. 5. 2. NAYKH Prevalansı ve İnsidansı

NAYKH, dünyadaki tüm etnik kökenlerde ve her iki cinsiyette de mevcut olan çeşitli etkinliklere sahip olmakla birlikte (Younossi ve ark 2016b) küresel prevalansının bir milyar kadar yüksek olduğu tahmin edilmektedir (Loomba ve Sanyal 2013). Türkiye'de NAYKH prevalansının %30'un üzerinde olduğu tahmin edilmektedir; ve son çalışmalar bu tahmini doğrulamaktadır. Bu çalışmalara göre Türkiye'de NAYKH prevalansı %48,3 ile %60,1 arasındadır (Kaya ve Yılmaz 2019). Japonya'da 414 gün süresince 3 147 hastayı takip ederek yapılan bir çalışmada yıllık %10'luk bir insidans oranı bulunmuştur (Hamaguchi ve ark 2005). Japonya'da yapılan bir başka çalışmada, NAYKH'lı hastaları sınıflandırmak için beş yıl boyunca yüksek aminotransferaz seviyeleri, kilo alımı ve insülin direnci gelişimi değerlendirilmiş ve insidansı 1 000 kişi başına 31 olarak bildirilmiştir (Suzuki ve ark 2005). Daha sonra İngiltere'de yapılan retrospektif bir çalışmada, insidansın yılda her 100 000 kişide 29'dan daha düşük oranda olduğu belirtilmiştir (Whalley ve ark 2007). Son zamanlarda yapılan kapsamlı bir meta-analiz, Asya ve İsrail'de NAYKH'ın bölgesel insidansının sırasıyla 1 000 kişi başına 52 (%95 güven aralığı (CI): 28-97) ve 28 (%95 CI: 19-41) olduğunu belirtmiştir (Younossi ve ark 2016b).



Şekil 1.4. NAYKH prevalansı (Younossi 2018).

Genel olarak, NAYKH prevalansı son 20 yılda artmıştır. Karaciğer biyopsisinin altın standart tanı testine ek olarak, NAYKH 'yı teşhis etmek için invaziv olmayan bazı yöntemler de vardır. Hepatik ultrasonografi (US), bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) hepatic yağ infiltrasyonunu saptamak için kabul edilen yöntemlerdendir. Teşhis yöntemlerinin duyarlılığındaki fark, NAYKH için prevalans verilerindeki tutarsızlığı açıklayabilir. Son zamanlarda yapılan bir meta-analizde, karaciğer US'si orta ila şiddetli karaciğer yağlanması güvenilir ve doğru bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlamıştır ve şimdi en çok tercih edilen tarama yöntemi olarak kabul edilmektedir (Hernaez ve ark 2011). NAYKH'nın US kullanılarak tanı prevalansı Hindistan'da %17 ile ABD'de %46 arasında değişmektedir (Amarapurkar ve ark 2007, Vernon ve ark 2011, Williams ve ark 2011). Manyetik rezonans spektroskopisi (MRS), Dallas Kalp Çalışması'nda bildirilen %33'lük NAYKH prevalansı ile mümkün olan en hassas ve hassas invaziv olmayan testlerden biri olmaya devam etmektedir (Browning ve ark 2004, Szczepaniak ve ark 2005). Orta Doğu ve Güney Amerika en yüksek NAYKH prevalansına sırasıyla %31 ve %32, Afrika'daki en düşük prevalans %13,5'tir (Younossi ve ark 2016b). Son zamanlarda, Asya en yüksek obezite salgınıyla karşı karşıya kalmıştır ve bu nedenle şaşırtıcı bir şekilde NAYKH prevalansında hızlı bir artış yaşamamıştır. Batılaşmış bir diyet uygulayan Çinli ergenler, NAYKH prevalansının %25'inden daha fazladır. Kore, Çin, Japonya ve Tayvan'dan yapılan araştırmaların tümü %11-45 arasında değişen bir sıklık

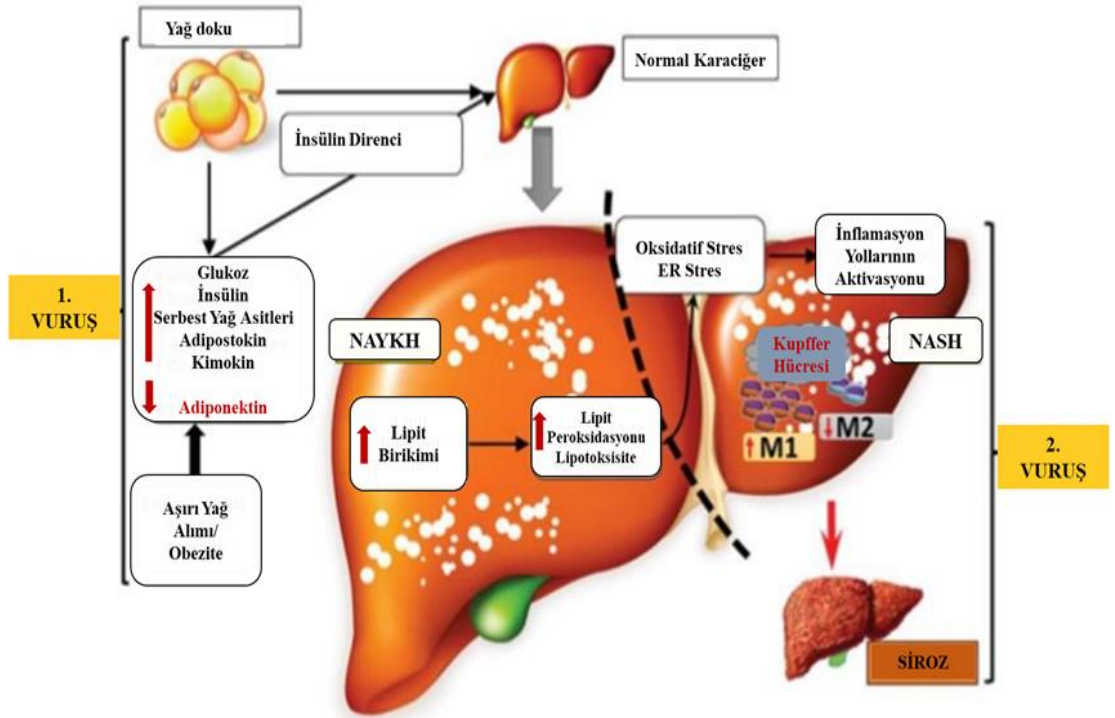
bildirmiştir (Farrell ve ark 2013). Küresel olarak yapılan çalışmaların meta-regresyonu, NAYKH'nın 2005'te %15'ten 2010'da %25'e kadar arttığını göstermiştir (Younossi ve ark 2016a). NAYKH prevalansındaki çalışmalar arasındaki tutarsızlık büyük olasılıkla örneklem seçimi, tanı yöntemleri, diyet ve yaşam tarzı alışkanlıklarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Perumpail ve ark 2017). ABD'de NAYKH tıbbi ve sosyal maliyetlerinin 292 milyar ABD doları olduğu tahmin edilmektedir (Younossi ve ark 2016b). Hastalara yönelik bakım maliyetlerinin 2000'den 2035'e kadar %18 oranında artması beklenmekte ve NAYKH hastalarının sağlıkla ilgili yaşam kalitesinin azaldığı da belirtilmektedir (Martini ve ark 2007, Younossi ve ark 2015).

NAYKH prevalansı yaklaşık olarak obezite ile aynı oranda artmaktadır (Fan ve ark 2017). Aslında, genel popülasyonda NAYKH'nın küresel prevalansının %25 olduğu, küresel NASH prevalansının ise %3 ila %5 arasında değiştiği tahmin edilmektedir. NAYKH prevalansının dünya genelinde değiştiğine dikkat etmek önemlidir (Younossi ve ark 2018b). NAYKH prevalansı hakkında nispeten sağlam verilere rağmen, NAYKH ve NASH insidansı hakkındaki veriler oldukça azdır, ancak yılda 1 000 kişide 28,01 ile 52,34 arasında değişmektedir (Chalasani ve ark 2018).

1. 5. 3. NAYKH Patogenezi

NASH, 1990'larda yalnızca T2DM'li obez kadınlarda görülen nispeten nadir bir hastalık olarak kabul edilmiştir. 1996 yılında akut ve kronik viral hepatit enfeksiyonundan sonra hastalarda en sık görülen ikinci karaciğer hastalığı olan NASH'ı tanımlayan bir çalışmanın ardından işler hızla değişti (Byron ve Minuk 1996). NASH alanı için daha da önemli olan 1998'de fibroz ve sirozun tüm vakaların %15-50'sinden fazlasında NASH ile ilişkili komplikasyonlar olduğunu vurgulayan bir gözden geçirmedir (James ve Day 1998). Aynı makalede Day ve James adlı araştırmacılar, NASH patogenezinin, ağırlıklı olarak hepatositlerde lipidlerin birikmesinin bu hücrelerin apoptozu ve aşırı oksidatif strese yol açan bir ilk vuruşla başlatıldığı iki vuruşlu hipotezi öne sürdüler (Buzzetti ve ark 2016). Bu hipoteze göre; NAYKH'nın başlangıcı trigliserid sentezi ve yıkımı veya karaciğerden uzaklaştırılması arasındaki dengenin bozulması sonucu hepatositlerde trigliserid birikimi şeklinde olmaktadır. Bununla birlikte çok farklı nedenlerle oluşabilen karaciğer yağlanması tek ve basit bir patogenetik süreç içerisinde açıklanması

mümkün değildir. İnsülin direnci (İD), sitokin regülasyonundaki anormallikler, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon gibi faktörlerin hastalığın gelişiminden sorumlu olabildiği düşünülmektedir. Hastalığın patogenezi uzun yıllardır çift vuruş (two hits) hipotezi olarak adlandırılan bir model içerisinde açıklanmaya çalışılmıştır. Bu kuramın bazı boşlukları yapılan tüm araştırmalara rağmen kapatılabilmiş değildir. İki vuruş hipotezinde karaciğer hastalığını oluşturan birinci darbe İD olup, bunun hepatositlerde trigliserid birikiminden sorumlu olan faktör olduğu kabul edilmektedir. Hastalığın diğer unsurları olan inflamasyon ve fibrozis, yağlanmış karaciğere etki eden ikinci bir darbe ile gelişmektedir. NAYKH ile İD arasında belirgin bir ilişki bulunduğu bilinmekle birlikte, İD bulunmaksızın yağlanma ve steatohepatit gelişen hastaların mevcudiyeti de bir gerçektir (Marchesini ve ark 1999). İD'nin yağ birikimi dışındaki diğer bir sonucu trigliserid ve kolesterol esterlerinin hepatositlerden periferik taşınmasında rol oynayan Apolipoprotein B-100 sentezini baskılaması ve hepatositlerde de novo lipogenezisi (DNL) (yağ asitlerinin biyosentezi) arttırmasıdır (Kim ve ark 2003).



Şekil 1.5. NAYKH çift vuruş hipotezi (Xu ve ark 2015).

Günümüzde bu hipotezin, NAYKH'nin çoklu ve karmaşık hastalık etmenlerini açıklamada yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Son zamanlarda, çok isabetli hipotez, hastalık gelişimi ve ilerlemesini içeren değişken koşulları daha iyi

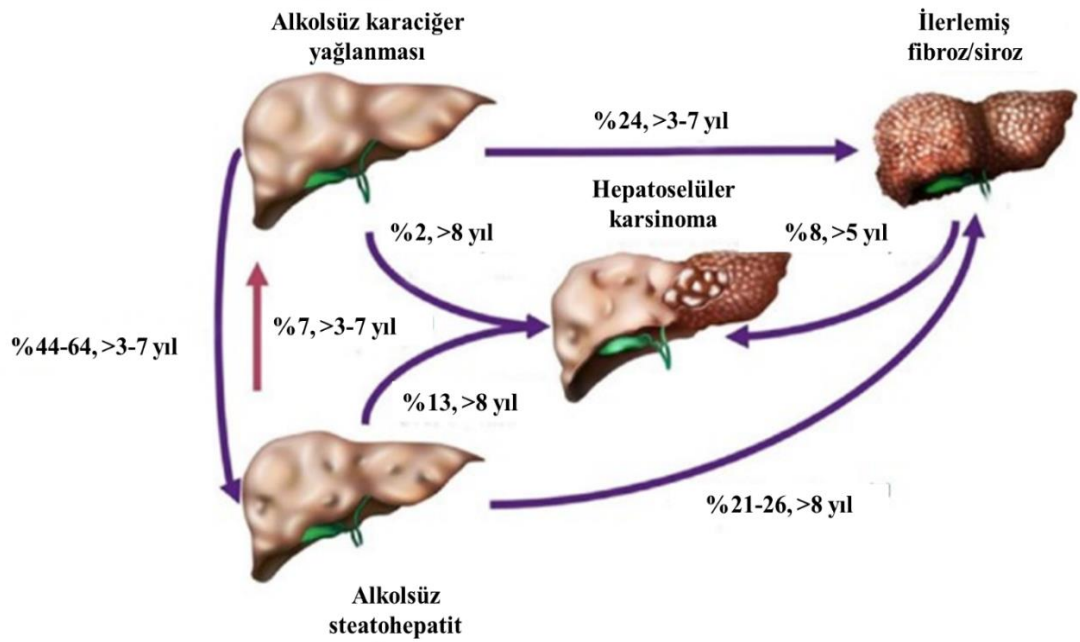
çerçeveselendirmektedir (Buzzetti ve ark 2016). Bununla birlikte, yapılan çalışmalar hastalığın ilerlemesinin her zaman doğrusal olmadığını ve kimin daha ileri aşamalara ilerleme olasılığının tam olarak açık olmadığını göstermektedir (Wong ve ark 2019). Metabolik sendromun hepatik belirtisi olarak kabul edilen NAYKH, çoğu durumda T2DM ve dislipidemi ile ilişkilidir. İD ve obezite ile doğrudan ilişki olan NAYKH, etkisi artan küresel bir sağlık yüküdür (Conway ve ark 2018, Hirode ve ark 2019). Küresel popülasyonun yaklaşık %25'inin NAYKH'den ve/veya komplikasyonlarından etkilendiği bilinmektedir, bu da onu özellikle gelişmiş ülkelerde en yaygın kronik ve ilerleyici karaciğer hastalığı yapmaktadır (Younossi ve ark 2016a, Drescher ve ark 2019).

Obezite ve NAYKH ile ilişkili kardiyometabolik riskler arasındaki güçlü ilişkinin farkına varıldığında, 2020'de uluslararası bir uzman paneli, NAYKH'nın 'metabolik ilişkili yağlı karaciğer hastalığı' (MAFLD) olarak yeniden isimlendirilmesini önerdi (Eslam ve ark 2020). Hastalığı "alkolik" kelimesinden ayırarak, uzmanlar yeni ismin daha doğru olacağı fikrindeydiler. Çünkü hastaların bir nedenin yokluğu ile tanımlanan "olmayan" bir tanıdan ziyade bir nedeni ifade eden "spesifik" bir teşhisi tercih edebileceğini düşünmüşlerdir. Önerilen isim aynı zamanda bugüne kadarki biyopsi örnekleriyle de daha uyumludur. Ancak, hepsi isim değişikliğine uymamaktadır (Younossi ve ark 2021). "MAFLD" adı daha doğru ve "olumlu" olarak ilgili risk faktörlerini yansıtsa da, eleştirmenler değişikliğin çok az pratik fayda sağlayacağını ve hatta zarar verebileceğini öne sürmektedirler. Örneğin; alkol metabolizması, alkolik karaciğer hastalığında önemlidir. Alkolik karaciğer hastalığı artık MAFLD'nin kapsamına mı giriyor gibi sorular ya da NAYKH farkındalığını artırmaya yönelik tüm çabalardan sonra isim değişikliğinin şimdi yapılmasının kafa karışıklığına neden olabileceğinden endişe duymalarına kadar pek çok görüşler ileri sürmüşlerdir. Özellikle MAFLD aşamaları için önerilen sınıflandırma devam eden klinik deneyleri bozabilmekte, NAYKH sınıflandırma ve evreleme sistemi ile net bir şekilde eşleşmemektedir. İsim değişikliğine karşı çıkan araştırmacılar, NAYKH heterojenliğinin moleküler temelini daha iyi anlaşılmasının ardından böyle bir değişikliğin daha uygun olabileceğini vurgulamaktadır. Bunun yerine, moleküler içgörülere dayalı yeni isimlendirme klinik araştırmayı, teşhisi, risk sınıflandırmasını ve yönetimi geliştirebilir (Herman 2021).

1. 5. 4. NAYKH 'ın Doğal Seyri ve İlerlemesi

Hepatositlerde %5'ten fazla yağlanma olduğunda hepatik steatoz meydana gelse de, bu yağlı hepatositler strese maruz kalırsa ilerleme meydana gelebilir ve bu da hücre ölümü, apoptoz, inflamasyon ve fibroza neden olarak NASH'ye yol açabilir (Fazel ve ark 2016). NASH ilerledikçe hepatik fibroz gelişir, karaciğer sertleşir ve fonksiyonel olarak bozulur. Bu da siroz, HCC, dekompanse siroz, ölüm ve/veya karaciğer transplantasyonuna yol açabilir (Chan ve ark 2018).

NAYKH 'ın ilerlemesi açısından, hasta kohortu NASH ve NAFL olmak üzere iki geniş kategoride yer almaktadır (Şekil 1.6). Öncelikle ilerleme olasılığı ile ayrılırlar; NASH son dönem karaciğer hastalığına daha hızlı ilerlerken, spesifik olmayan enflamatuvar değişikliklerle basit steatoz ve steatozu temsil eden NAFL, daha hafif bir progresyon seyri izler (Perumpail ve ark 2017).



Şekil 1.6. Alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı doğal seyri (Perumpail ve ark 2017).

Yaşam tarzı değişiklikleri zamanında yapılırsa NAFL daha kolay geri dönüşlüdür. NAFL'nin benign progresyonu ve NASH'ın hızlı progresyonu, Birleşik Krallık (Teli ve ark 1995) ve Danimarka'dan (Dam-Larsen ve ark 2004) daha önceki kohort çalışmalarıyla da desteklenmiştir. En erken histoloji temelli çalışmalardan birinde, biyopsi ile kanıtlanmış NAYKH, NASH'in günümüzdeki tanımını temsil eden tip 3 (yağlı karaciğer ve balon dejenerasyonu) ve tip 4 (yağlı karaciğer, balon

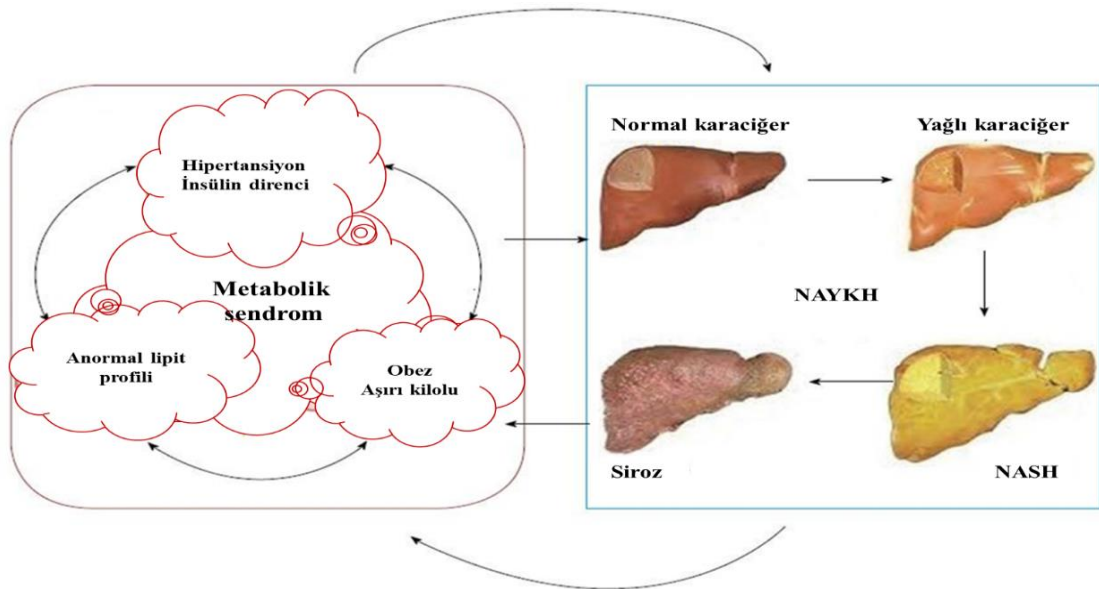
dejenerasyonu veya Mallory cisimcikleri veya fibrozu) ile dört tipe ayrılmıştır. Sekiz yıllık takip süresi boyunca, histolojik tip 3 ve tip 4 olan hastaların %21 ila %26'sı, tip 1 (sadece yağlı karaciğer) ve tip 2 (yağlı karaciğer ve lobüler enflamasyon) olan hastaların sadece %3'ünde siroz geliştirmiştir (Matteoni ve ark 1999, Perumpail ve ark 2017). Ancak son dönemdeki çalışmalar, basit steatozun (NASH olmayan) iyi huylu olduğu inancına meydan okumaktadır. 52 hastanın histolojik tanı ve izlem biyopsilerine dayanarak, NAFL olguların %23'ü üç yılda NASH'a ilerlemiştir (Wong ve ark 2010). NASH'da evrim %44-%64'e kadar yüksek olabilir ve NAFL'li hastaların %24'ünde basit steatozun ileri fibrozise ilerlemesi bildirilmiştir (McPherson ve ark 2015). NASH olasılığının artmasına neden olan risk faktörleri obezite, ileri yaş, cinsiyet (kadın), Afrika kökenli Amerikalı olmayan ırk/etnik köken, diabetes mellitus ve hipertansiyondur (Friedman 2015). Fibrozisin evrelemesi ve bir evreden diğerine ilerlemesi önemli bir mortalite belirteci olduğu için, son araştırmalar hastaların %9 ila %25'inde NASH geliştiğini bildirmişlerdir (Goh ve McCullough 2016).

HCC insidansı, NAYKH ve alt gruplarındaki artışa paralel olarak artmaktadır. HCC insidansı 1973'ten 2011'e kadar dört kat artmıştır (Njei ve ark 2015). NAYKH ile ilişkili HCC'nin yıllık insidansı (1 000 kişi başına 0,44) olmakla birlikte kronik hepatit B'de HCC'nin görülme oranından 15-35 kat daha düşüktür. Buna karşılık, NASH ile ilişkili HCC'nin yıllık insidans oranı, 1 000 kişi başına 5,29'dur (Younossi ve ark 2016b). Bu önleyici önlemlerin artan ihtiyacının kabul edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. NAYKH prevalansı arttıkça özellikle NASH sonucu gelişen HCC görülme sıklığı artacaktır. Yapılan bir çalışmada, 2004'ten 2009'a kadar altı yıllık bir sürede NAYKH ile ilgili yıllık HCC vakalarının %9'luk bir artışı tanımlanmıştır (Younossi ve ark 2015). Son çalışmalar, siroz olmadan %35 ila %50 HCC'yi tanımlamaktadır (Rinella 2015, Mittal ve ark 2016). NASH, siroz ve HCC'de dahil olmak üzere komplikasyonları ile ilerleyebilen, karaciğer transplantasyonuna ihtiyaç duyulabilen, progresif hepatoselüler hasarın histolojik kanıtı ile karakterizedir (Chalasani ve ark 2012b, White ve ark 2012). Sekiz yıllık bir takip süresinde, NASH ve NASH ile ilişkili sirozda karaciğere bağlı ölüm, NAFL'ye kıyasla artmıştır (%11'e karşılık %2) (Matteoni ve ark 1999). Aynı kohortun takip verilerini kullanan daha yakın tarihli bir çalışma, NASH hastalarında 18,5 yıl boyunca NASH olmayan hastalarda %3'e kıyasla karaciğer kaynaklı mortalitenin %18 olduğunu bildirmiştir (Rafiq ve ark 2009).

1. 5. 5. NAYKH'ın Heterojenitesi

NAYKH'ın gelişmesinin birincil nedenlerinin obezite, T2DM, dislipidemi, İD ve bazı genetik bozukluklar olduğu konusunda fikir birliği vardır (Drescher ve ark 2019). NAYKH, hepatik steatozdan kaynaklanan çok sayıda histolojik bulgu için kullanılan bir terimdir ve artan prevalansla birlikte dünya çapında en yaygın karaciğer hastalığı olmaya da devam etmektedir. Hastalık sunumundaki büyük değişkenlikler tanıyı karmaşıktırarak gerçek hastalık oluşumunun hafife alınmasına yol açmaktadır. NAYKH; metabolik sendrom, obezite, T2DM ve dislipidemi gibi birçok metabolik komorbidite ile ilişkilidir (Şekil 1.7).

NASH; ileri fibrozis, siroz ve HCC gibi daha ağır karaciğer koşullarında gelişme potansiyeli, karaciğer transplantasyonunun mevcut tek tedavi seçeneği olduğu bir duruma yol açabilir. İlerleyici karaciğer hastalığı gelişme riski taşıyan popülasyon, sağlık sistemi için bu gelişen karaciğer salgını için tarama açısından bir zorluk yaratır. NAYKH patofizyolojisi ve tedavisini anlamak ve ayrıca bu hastalığın kesin insidansını, mevcut hastalık yükünü ve sosyoekonomik etkilerini tanımlamak için ileri araştırmalar yapılmalıdır (Perumpail ve ark 2017).



Şekil 1. 7. NAYKH metabolik sendrom döngüsü (Lonardo ve ark 2017).

1. 5. 6. NAYKH Morbidite ve Mortalite

NAYKH, dünya genelindeki genel popülasyonun yaklaşık dörtte birini etkilemektedir. Histolojik lobüler inflamasyon ve hepatosit balonlaşması ile

karakterize olan NAYKH'nın aktif formu olan NASH, daha hızlı fibrozisin ilerlemesi ile ilişkilidir ve genel nüfusun %1,5–6,5'i civarındadır. NAYKH sıklıkla; obezite (%51; %95 güven aralığı [CI], %41 -%61), T2DM (%22; %95 CI, %18-%28), hiperlipidemi (% 69; % 95 CI, % 50 -% 83), hipertansiyon (%39; % 95 CI, %33-%46) ve metabolik sendrom (%42; %95 CI, %30-%56) gibi metabolik komorbiditelerle ilişkilidir (Younossi ve ark 2016a). NAYKH hastalarında en sık ölüm nedeni kardiyovasküler hastalıklar olmasına rağmen, diğer metabolik komorbiditelerden bağımsız olarak karaciğer hastalıklarına bağlı (örneğin; siroz, son dönem karaciğer hastalığı, HCC ve karaciğer nakli vb.) morbiditenin ve yanısıra mortalitenin de ana bir nedeni haline gelmektedir (Chalasani ve ark 2018). NAYKH'nın önümüzdeki on yılda ABD'nde karaciğer nakli için önde gelen endikasyon olması beklenmektedir (Goldberg ve ark 2017). NAYKH'lı hastalar arasında karaciğere özgü mortalite ve genel mortalite oranının 1 000 kişi başına 0,77 ve 11,77 olduğu, buna karşın NASH'li hastalarda 1 000 kişi başına 15,44 ve 25,56 olduğu tahmin edilmektedir (Younossi ve ark 2016a). Bununla birlikte, NAYKH hastalarının büyük çoğunluğu ilerlemeyecek, yalnızca NASH ve ilerlemiş hepatik fibrozis hastaları olan azınlıklar, en az kronik karaciğer hastalığı komplikasyonları geliştirme riski altındadır (Singh ve ark 2015). Aslında, ilerlemiş fibrozun uzun vadeli sonuç ve mortalite için ana itici güç olduğu kanıtlanmıştır (Dulai ve ark 2017, Hagstrom ve ark 2017). Bu nedenle, NAYKH'lı hastalarda esas amaç NASH'in basit steatozdan ayırt edilmesi ve ileri hepatik fibrozisin tanımlanmasıdır. Çok sayıda risk altındaki hasta göz önüne alındığında, NAYKH hastalarının bu iki kritik son nokta için risk sınıflandırmasında etkin ve uygun maliyetli araçlara yönelik karşılanmamış bir ihtiyaç bulunmaktadır. Şimdiye kadar bu iki son noktayı tanımlamanın altın standardı olan karaciğer biyopsisi gerçekçi ve uygun görünmemektedir. Ek olarak, invaziv bir uygulama olmasının yanında kabul edilebilirliği zayıf, örnekleme değişkenliği ve maliyet gibi iyi bilinen sınırlamaları vardır. Sonuç olarak bu durum, son on yılda yoğun bir araştırma alanı olan alternatif invaziv olmayan stratejilerin geliştirilmesine yol açmıştır (EASL 2015).

1. 5. 7. NAYKH'ın Tanı ve Teşhisinde Kullanılan Yöntemler

Klinik ve laboratuvar veriler ile karaciğer hastalığının diğer nedenleri dışlandığında, NAYKH'ın teşhisi için hepatik steatozu açığa çıkaran abdominal görüntüleme yeterli olabilmekte ve karaciğer biyopsisi gerekmebilmektedir.

Bununla birlikte, karaciğer biyopsisinin rolü NASH'in basit steatozdan ayırt edilmesinde önemlidir. Basit steatozla karşılaştırıldığında NASH'in daha yüksek bir hastalık ilerleme riski olmasından dolayı yönetimde de etkileri olabilir (Kleiner ve ark 2005). Histolojik olarak steatoz, inflamasyon, hücresel balonlaşma ve fibrozis varlığı NASH tanısını ortaya koymaktadır (Juluri ve ark 2011).

Görüntüleme ve karaciğer biyopsisinin yanı sıra, bazı invaziv olmayan testler NAYKH hastalarında ileri fibrozisin varlığı ile ilgili klinik karar vermede yardımcı olabilir. NAYKH fibrozis skoru (NFS), altı değişken; yaş, VKİ, hiperglisemi, trombosit sayısı, albümin ve aspartat aminotransferaz (AST)/alanin aminotransferaz (ALT) oranını kullanarak karaciğer fibrozisinin ciddiyetini değerlendirmede en yaygın olarak kullanılan invaziv olmayan testlerden biridir. 3 064 hastanın meta-analizi, NFS'nin nodülerlik veya sirozlu köprü fibrozunu öngörmek için alıcı çalışma eğrisinin (AUROC) 0,85 olan bir alana sahip olduğu bildirilmiştir. <-1,45'lik bir skor, ilerlemiş fibrozu dışlamak için %90 duyarlılığa sahipken, >0,67 olan bir skor, ilerlemiş fibrozis varlığını tanımlamak için %97 özgüllüğe sahiptir (Kaswala ve ark 2016). FIB-4 endeksi ileri derecede fibrozisi öngörmeye yapılan ve çalışmalarda kullanılan bir başka algoritmik puandır. Yaş, trombosit sayısı, AST ve ALT'a dayanır. Bu algoritmi kullanarak, skoru >3,25 olan hastalar ileri derecede fibrozis gösterirken, skoru <1,45 olanların ileri derecede fibrozis olması muhtemel değildir. Yapılan bir çalışma, karaciğer histolojisine karşı çeşitli risk skorlarını ve elastografiyi karşılaştırmış, NFS ve Fibrozis-4 (FIB-4)'ün AST/trombosit rasyon indeksi ve AST/ALT oranı gibi diğer invaziv olmayan skor indekslerinden daha iyi olduğunu göstermiştir (Imajove ark 2016). SteatoTest (Poynard ve ark 2005), Yağlı Karaciğer İndeksi (Bedogni ve ark 2006), Hepatik Steatoz İndeksi (Lee ve ark 2010), lipid biriktirme ürünü (Bedogni ve ark 2010), NASH İndeksi (Otgonsuren ve ark 2014), ve NAYKH Karaciğer Yağı Skorunu (Kotronen ve ark 2009) içeren çeşitli steatoz skorları önerilmiştir. Ancak daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmakla birlikte bu puanların NAYKH şüphesi olan hastalarda rutin olarak yapılan klinik, laboratuvar ve görüntüleme çalışmalarının sağladıkları bilgiye çok fazla katkı sağlamadıkları için fazla popülerlik kazanmadıkları kabul edilmelidir (Castera ve ark 2019).

NAYKH tanısı için çeşitli görüntüleme araçları kullanılabilir. Abdominal US, histolojide %30'dan daha az steatozlu hastalarda düşük hassasiyetle sınırlıdır. Ancak,

invaziv değildir, yaygın olarak bulunur ve kontrast gerektirmez. Öte yandan, bilgisayarlı tomografi (BT) radyasyon tehlikesi ve kontrast bağlantılı nefropati ile ilişkilendirilebilir. Aynı zamanda düşük hassasiyetli hepatik haritalama ile sınırlıdır ve pahalıdır (Bohte ve ark 2011). MRG ve manyetik rezonans spektroskopisi (MRS), steatoz ve karaciğer yağ haritalamasının ölçülmesinde en yüksek hassasiyeti (duyarlılık ve özgüllük) sağlayabilir (Schwenzer ve ark 2009) ve NAYKH'nin teşhisinde tercih edilen bir test haline gelebilir görüşü araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (Le ve ark 2012, Nouredin ve ark 2013a). Önemli derecedeki karaciğer fibrozisi ve sirozun noninvaziv tanısı için manyetik rezonans elastografi (MRE) ile karaciğer sertliği ölçümü MRG'den daha üstündür (Venkatesh ve ark 2015). Ancak yüksek elastografi VKİ'si yüksek olan vakalarda geçici elastografinin rolü sınırlı olabilir (Loomba ve ark 2015a). Ayrıca MRE, belirgin bir fibrozis başlamadan önce, steatohepatitli bireyleri tanımlama avantajına sahiptir. İnflamasyonlu ancak fibrozsuz NAYKH, basit steatozdan daha fazla karaciğer sertliği ve fibrozlu NAYKH'dan daha düşük ortalama sertlik göstermektedir (Chen ve ark 2011). Buna rağmen, abdominal görüntüleme çalışmaları hala NASH'ı tam olarak doğru bir şekilde teşhis edememektedir. Ayrıca, NFS ve FIB-4, biyopsi ile kanıtlanmış NAYKH'lı hastalarda ileri fibrozu öngörmede MRE kadar iyi olduğu da belirtilmiştir (Perumpail ve ark 2017).

Konvansiyonel US, hepatik steatozis tanısı için en yaygın kullanılan görüntüleme yöntemidir. Çünkü yaygın olarak bulunur, iyi yerleşmiş, iyi tolere edilir ve ucuzdur. Tipik US özellikleri sağ böbrek parankimi, distal zayıflama ve odaklanma alanların varlığı ile karşılaştırıldığında hiperekojenitedir (Hernaez ve ark 2011). Steatoz derecesi subjektif US skorları kullanılarak subjektif olarak hafif, orta ve şiddetli olarak veya bazı çalışmalarda bildirildiği gibi skorlanabilir (Ballestri ve ark 2012). Büyük bir meta-analizde (n=34 çalışma, şüpheli veya bilinen karaciğer hastalığı olan 2 815 hasta), referans olarak karaciğer biyopsisini alarak, orta ila şiddetli yağlı karaciğeri steatozunu ayırmak için US'nin duyarlılık ve spesifikliğini sırasıyla %85 (%80-%89) ve %93 (%87-%97) olduğu belirtilmiştir (Hernaez ve ark 2011). Bununla birlikte, klinik uygulamada, temel olarak steatozun varlığı veya yokluğu kaydedilmiştir ve US, sadece >%2,5 ila %20 karaciğer yağı içeriğine sahip steatozu tespit edebilme sınırlamasına sahiptir (Bril ve ark 2015). Bu nedenle %5 karaciğer yağı içeriğinde başlayan steatoz hastalarının sayısı ile ilgili hatalara sebep olabilir (Paige

ve ark 2017). Ek olarak, obezite ve eşlik eden böbrek hastalığı olan hastalarda karaciğer steatozu tanısı için US'nin doğruluğu azalmaktadır (Mottin ve ark 2004). Son yıllarda yapılan kantitatif ultrason kullanılarak daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (Paige ve ark 2017). Bununla birlikte, NAYKH yönetimi için Avrupa kılavuzları NAYKH için risk altında olan yetişkinlerde ilk tercih görüntüleme olarak US kullanılmasını önermektedir (EASL 2016). MRS birçok büyük epidemiyolojik çalışmada kullanılmıştır ve şimdi MRI-PDFF'nin gelişmesiyle birlikte, karaciğer yağının miktarını ölçmek ve hepatik steatoz varlığını sınıflandırmak için epidemiyolojik çalışmalarda daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Loomba ve ark 2015b, Caussy ve ark 2017). Ancak MRG-PDFF, karaciğer inflamasyonu, balon dejenerasyonu veya NASH'ın çözünürlüğünü veya fibrozisteki iyileşmeyi değerlendirememektedir (Caussy ve ark 2018). Elastografinin izole steatoz ve NASH arasında ayırım yapabilme yeteneği üzerine yapılan çalışmalar tomoelastografi (TE) ve MRE ile sınırlıdır. Geniş bir AUROC (0,35-0,93) aralığı ve optimal kesme rapor edilmiş ve muhtemelen çalışma popülasyonunda ilerlemiş fibrozis prevalansına bağlıdır (Ajmera ve Loomba 2018). Baş başa karşılaştırması yapılan iki çalışmada (Imajo ve ark 2016, Park ve ark 2017), TE ile MRE arasında bir fark bulunamamıştır. Şu anda hiçbir modalite, NASH'yi diğer manyetik rezonansa dayalı yöntemler, NASH'ı basit steatozdan güvenilir şekilde ayırt edememektedir (Castera ve ark 2019).

NASH'ın doğrulanmasında bir anahtar olan karaciğer biyopsisinin histolojik özellikleri önemlidir. Bununla birlikte invaziv doğası gereği uzmanlar, NASH'a ilerleme olasılığı daha yüksek olan NAYKH hastalarında seçici kullanım önermektedir. Tanısal bir karaciğer biyopsisinin riskleri ve yararları tartışılarak kişiselleştirilmiş bir değerlendirmeye ihtiyaç vardır. NASH'ın erken teşhisinde önemli yönetim etkileri vardır ve bu hastalar karaciğer hastalığının ilerlemesini geciktirmek amacıyla yeni onaylanmış ilaçlardan, klinik bir çalışma düzeninde ümit verici ajanlarla tedaviden yararlanabilirler (Sanyal ve ark 2010, Lavine ve ark 2011, Zhang ve ark 2014, Neuschwander-Tetri ve ark 2015). İlerlemiş fibroz veya sirozda steatoz olmayabilir (Kleiner ve ark 2005, Sanyal ve ark 2010). Deneyimli patologlar arasındaki gözlemciler arası değişkenlik, karaciğer biyopsisi örneği üzerinde hepatik balon dejenerasyonunun histolojik değerlendirmesi sırasında ortaya çıkabilir (Gawrieh ve ark 2011, Juluri ve ark 2011, Pais ve ark 2013). Örneklem hatası veya hepatik balon dejenerasyonunun tanımlanması ile ilgili patologlar arasında zayıf gözlemciler

arası anlaşma klinik çalışmalarda giriş kriterlerini karşılayan daha az sayıda hasta ile sonuçlanmış olabilir (Sanyal ve ark 2010). Bu nedenle, karaciğer biyopsisinin NASH tanısı için altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, bazı sınırlamaları olabilir. Karaciğer biyopsisinde herhangi bir dereceye kadar nekroflamasyonu olan izole karaciğer steatozu olan hastalar, ilerleyici histolojik hasar riski altındadır. Ek olarak, karaciğer biyopsisinde izole hepatik steatozla birlikte metabolik sendromu olan veya tek tek metabolik sendrom bileşenleri olan hastalarda histolojik hasar daha hızlı kötüleşme riski altında olabilir (Pais ve ark 2013). Karaciğer biyopsisi, sürekli yüksek ALT ve/veya AST seviyeleri, abdominal görüntüleme yöntemleriyle tutarlı, 65 yaş ve üzeri yağlı karaciğere sahip, farklı bir karaciğer hastalığından şüphe edilmesi, başka bir karaciğer hastalığının NAYKH ve metabolik sendrom ya da bileşenleri olan hastalara yanlış tanı konduğu şüphesi olan hastalarda endikedir (Bhala ve ark 2011, Chalasani ve ark 2012a, Nouredin ve ark 2013b).

1. 5. 8. NAYKH'in Sınıflandırılmasında Noninvaziv Belirteçlerin Yeri

NAYKH'in yüksek prevalansı, karaciğer biyopsisinin sınırlamaları ve NASH'ın klinik belirleyicileri nedeniyle, NASH'ın erken teşhisi için yeni nesil invaziv olmayan biyobelirteçlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur (Sanyal ve ark 2015). Bu invaziv olmayan belirteçler, hafif fibrozis veya fibrozis, ileri köprüleme fibrozisi veya sirozdan ayırt edebilirler. Bununla birlikte, hepatik fibrozisin orta derecesini ve aşamasını tutarlı bir şekilde saptama kabiliyetleri sınırlıdır (Sanyal ve ark 2011, Sanal ve ark 2015). Ayrıca abdominal US, NAYKH'ı %30'dan az steatozla teşhis etmek için düşük duyarlılığa sahiptir (Nascimbeni ve ark 2013). İnvaziv olmayan yöntemler, US veya MRE tekniklerini kullanarak karaciğer sertliğinin ölçülmesine dayanan “fiziksel” bir yaklaşım ve serum numunelerindeki biyobelirteçlerin miktarını temel alan “biyolojik” bir yaklaşım olmak üzere iki farklı yaklaşıma dayanır. Bu yaklaşımlar tamamlayıcı olsa da, farklı gerekçelere dayanmaktadır. Karaciğer sertliği, karaciğer parankiminin orijinal ve kendine özgü fiziksel özelliklerine karşılık gelirken serum biyobelirteçleri, karaciğer biyopsisi ile değerlendirildiği üzere, NASH veya fibrozis evresi ile ilişkili olan, kesin olarak karaciğere özgü olmayan, klinik ve serum parametrelerini gösterir (Castera ve ark 2019). Keratin 8/18 immün dirençli ve diğer gelecek nesil invaziv olmayan biyobelirteçler yakın gelecekte mevcut olabilir (Lackner ve ark 2006). Ön verilere dayanarak sitokeratin 18 seviyeleri, NASH varlığı

ile ilişkilidir ancak duyarlılık ve karaciğer biyopsisi tarafından sağlanan histolojik detaylardan yoksundur (Cusi ve ark 2014). Mevcut serum biyobelirteçleri arasında, steatoz (Yağlı Karaciğer İndeksi, FLI) veya fibroz evresini teşhis etmek veya derecelendirmek için öngörücü modeller (NAYKH Fibroz Skoru), NASH'li hastaları basit steatoz hastalarından ayırt etmek için doğrudan hepatoselüler hasar ölçümleri (dolaşımdaki keratin 18 fragmanları) ve ileri fibrozlu hastaları ayırt etmek için doğrudan fibrozis ölçümleri (PIIINP veya PRO-C3) bulunmaktadır. Bazıları NAYKH'a özgüdür (NAYKH Fibroz Skoru), bazıları ise başlangıçta hepatit C'de (AST/ALT oranı, AST-Trombosit Oranı İndeksi [APRI], FIB-4) tasarlanmıştır. Serum biyobelirteçlerini analiz etmenin pratik avantajları arasında yüksek uygulanabilirlikleri (>%95), tekrarlanabilirlikleri ve potansiyel yaygın kullanılabilirliği bulunur. Bununla birlikte, hiçbir karaciğere özgü değildir. Sonuçları, eşlik eden koşullardan etkilenebilir ve sonuçların kritik bir şekilde yorumlanmasını gerektirir (Castera ve ark 2019). NASH sirozda ilerledikçe, inflamasyon ve steatoz da dahil olmak üzere karakteristik histolojik özelliklerini kaybeder. Bu nedenle, giderek belirsiz bir etiyolojinin sirozu anlamına gelen “kriptojenik siroz” olarak tanınmaktadır. Kriptojenik siroz, tıbbi literatürdeki uzmanlar tarafından “yanmış” NASH olarak adlandırılır (Vernon ve ark 2011).

Serum biyobelirteçlerinin tanısal performansları birçok incelemede özetlenmiştir (Castera 2015, Vilar-Gomez ve Chalasani 2018, Younossi ve ark 2018a). Kısaca, ileri fibrozis teşhisi için BARD (VKİ, AST/ALT oranı ve diyabet varlığını içeren skor), APRI, FIB-4 ve NAYKH fibroz skorunu (NFS) karşılaştıran son bir meta-analiz (64 çalışma ile 13 046 NAYKH tanımlı hastayı temel almaktadır) sırasıyla AUROC 0.76, 0.77, 0.84 ve 0.84 olduğunu rapor etmiştir (Xiao ve ark 2017). APRI eşiği 1,0 ve 1,5 olduğunda, ilerlemiş fibrozis için duyarlılık ve özgüllükler sırasıyla %50; %84; %18,3 ve %96,1 olarak belirtilmiştir. FIB-4 eşiği 2,67 ve 3,25 olduğunda, ilerlemiş fibrozis için duyarlılık ve özgüllükler sırasıyla %26,6; %96,5; %31,8 ve %96,0 olarak belirtilmiştir. İleri fibrozis için BARD skorunun (2 eşik değeri) ve NFS'nin (-1.455 eşiği) toplam duyarlılıkları ve özgüllükleri sırasıyla 0,76; 0,61; 0,72 ve 0,70 olarak belirtilmiştir. Bu dört biyobelirteç arasında FIB-4 ve NFS, ileri fibrozisi dışlamak için yüksek negatif prediktif değerlerle (>%90) en doğru olanıdır. Bu nedenle, birinci basamak sağlık hizmetlerinde, ileri görüşe ihtiyaç duymayan ileri fibrozisi olmayan hastaları belirlemek için birinci basamak araçlar olarak

kullanılabilirler. Bu bağlamda, FIB-4, yaygın olarak bulunan ve basit parametrelere (yaş, transaminazlar ve trombositler) dayandığı ve hesaplanmasının NFS'den daha kolay olması nedeniyle, genel pratisyenler için daha çekici olabilir. Bununla birlikte, kabul edilmesi gereken birkaç sınırlama vardır; birincisi FIB-4 ve NFS'nin ileri fibroziste hükmedeceği performansları oldukça yetersizdir. Yani olumlu sonuçlar için başka bir testle daha fazla değerlendirme yapılması gerekmektedir. İkincisi ise ileri derecede fibrozis prevalansının birinci basamak sağlık hizmeti ortamlarından çok daha yüksek olduğu karaciğer kliniklerinde çoğunlukla onaylanmış olduklarını akılda tutmak önemlidir. Üçüncüsü FIB-4 veya NFS kullanıldığında, hastaların önemli bir kısmı (yaklaşık %30) orta risk kategorisindedir (Alexander ve ark 2018) ve doğru şekilde sınıflandırılmamaktadır. Bu daha fazla değerlendirme için bu hastaların gereksiz yere karaciğer kliniklerine yönlendirilmesine yol açabilir. Son olarak gelişmiş fibrozis için NFS ve FIB-4'ün tanısal performansını iyileştirmek için yakın zamanda yaşa göre düzeltilmiş yeni kesitler önerilmiştir (McPherson ve ark 2017). Çalışılan farklı serum biyobelirteçleri arasında, NFS ve FIB-4, farklı NAYKH popülasyonlarında ve tutarlı sonuçlarla en kapsamlı şekilde çalışılmış ve onaylanmıştır. Bu testler, ileri düzeyde fibrozu dışlamada en iyi performansı gösterebilir (negatif prediktif değerleri $>90\%$) ve bu nedenle daha gelişmiş testlerin bulunmadığı yerlerde, gelişmiş fibrozis riski düşük olan hastaları tanımlamada birinci basamak triyaj olarak kullanılabilir (EASL 2015). NASH ile ilgili olarak, NASH'ı basit steatozdan ayırt etmede çok hassas ve spesifik kan testleri yoktur. NASH'a dayalı görüntüleme yöntemleri umut vaat etmesine rağmen, NASH'ı basit steatozdan güvenilir şekilde ayırt edememektedir. İleri fibrozisin tanımlanmasında ise MRE, TE ve FIB-4 ve NFS en doğru ve doğrulanmış yöntemlerdir. FIB-4 ve NFS, birinci basamak sağlık hizmetlerinde gelişmiş fibrozisi güvenle dışlamak için birinci basamak araçlar olarak en uygun olanı iken TE ve MRE, karaciğer biyopsisi gerektiren hastaları seçmek için sevk merkezlerinde daha uygundur. Son olarak, serum belirteçleri ve görüntüleme yöntemlerinin, karaciğer ile ilgili komplikasyonların ve ölüm/karaciğer transplantasyonunun sonucuna ulaşmak için NAYKH hastalarının alt grubunu doğru bir şekilde tanımladığına dair artan kanıtlar vardır (Castera ve ark 2019). Ayrıca son zamanlarda tip III kollajen sentezini tespit eden ticari olarak temin edilebilen bir belirteç olan PRO-C3 (veya PIIINP) gibi yeni belirteçlerin, NAYKH'lı hastalarının tanımlanmasında ve ileri fibrozis ile yaş, trombosit ve diyabet kombine edildiğinde

APRI, FIB-4 ve NFS'den daha üstün olduğu öne sürülmüştür. Bu umut verici sonuçlar daha fazla doğrulama gerektirmektedir (Castera ve ark 2019).

1. 6. Sitokeratin 18 M30

Hepatoblastlar, sitokeratin (CK) 8, CK-18 ve CK-19'u eksprese eden bipotansiyel hücrelerdir. Çok sayıda ve karmaşık moleküler mekanizmanın kontrolü altında, hepatositik veya kolanjiyositik kökene bağlıdır (Ober ve Lemaigre 2018). Hepatosit olmaya kararlı olan hepatoblastlar yavaş yavaş CK-19'u kaybeder ve gebeliğin 14. haftasından itibaren gelecekteki hepatik parankimal hücreler sadece CK 8 ve 18 için immünoreaktif hale gelir, CK çifti normal karaciğer parankimal hücrelerinde eksprese edilir (Roskams ve Desmet 2008). Hepatositler, karaciğerdeki başlıca parankimal hücre tipidir. Diğer hücre tipleri (kolanjiyositler, endotelyal hücreler, sinüzoidal endotel hücreleri, vb.) ile etkileşime girerler ve endotelyal sinüzoidler ile safra kanalları arasındaki arayüzde polarize bir şekilde düzenlenirler. Spesifik bir hücre soyuna bağlandıktan sonra, morfolojilerini ve fonksiyonel fenotiplerini doğum sonrasına kadar aşamalı olarak değiştirirler (Guido ve ark 2019).

Yapılan çalışmalar, hepatoselüler apoptozun NAYKH ilerlemesinde merkezi bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır (Feldstein ve Gores 2005). İlginç bir şekilde, hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen veriler apoptozun NASH'da belirgin olduğunu, ancak basit steatozda olmadığını ortaya koymuştur (Feldstein ve ark 2003). Hepatositlerin apoptotik hücre ölümü, kaspazla bölünmüş CK-18 fragmanlarının kan dolaşımına salınması ile ilişkilidir ve birkaç çalışma bu moleküllerin NAYKH bağlamında yükseldiğini göstermiştir. Wieckowska ve ark (2006) yaptığı bir pilot çalışma, NAYKH hastalarında kaspazla oluşturulan CK-18 fragmanlarının seviyelerini ölçen ilk çalışma olmuştur. Sonuçlar, kaspazla bölünmüş CK-18 fragmanlarının NAYKH hastalarında kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu ve bu moleküllerin seviyelerinin karaciğer fibrozunun varlığı ile korele olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara paralel olarak, CK-18 fragmanlarının NAYKH tanısı için kullanırlılığı daha sonra obez hastalarda (Younossi ve ark 2008) ve pediyatrik popülasyonlarda (Vos ve ark 2008) doğrulanmıştır. İlginçtir ki, NAYKH'da salgılanan kaspaz tarafından oluşturulan CK-18 fragmanlarının ayrıca hepatik inflamasyonun bir göstergesi olarak işlev gördüğü belirtilmiştir. Hepatik inflamatuvar yanıtın bir sonucu olarak artan apoptik oran, NASH'yi basit steatozdan

ayırabilen serum CK-18 fragmanlarının yükselmesiyle yansıtılır (Yılmaz ve ark 2007). Bu sonuçlar aminotransferaz düzeyi normal olan NAYKH hastalarında da doğrulanmıştır (Yılmaz ve ark 2009).

CK-18, hepatositler ve diğer epitel hücrelerinde bulunan ana hücre iskeleti proteindir (Eren ve ark 2010). Apoptotik hücrelerde, filamentler kaspazlar ile küçük polipeptitlere ayrılır. Böylece serumda spesifik antikörlerle saptanabilen bir apoptotik CK-18 neoepitopu (M30) üretilir. Kronik viral hepatitli hastalarda apoptotik neoepitoplar, hastalık şiddeti değerlendirilmesinde kullanılabilir ve NAYKH'sı olan kişilerde, serum hücre ölümü parametreleri, fibroz ve steatoz tahmini için değerlendirilebilir (Waidmann ve ark 2016). Yapılan çalışmalar hepatosit apoptozunun kronik karaciğer hastalıklarında hayati bir rol oynadığını göstermektedir (Eren ve ark 2010, Rosso ve ark 2016). Yapılan bir başka çalışma da, CK-18 seviyelerinin, sekiz vaka kontrol çalışmasının meta-analizini yaparak NASH, kronik hepatit C ve kronik hepatit B için bir risk faktörü olabileceğini belirtmiştir (Yang ve ark 2015). Bazı raporlar ayrıca CK-18 M30'un plazma seviyelerinin NAYKH'da NASH ilerlemesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Feldstein ve ark 2013, Liang ve ark 2017, Li ve ark 2018).

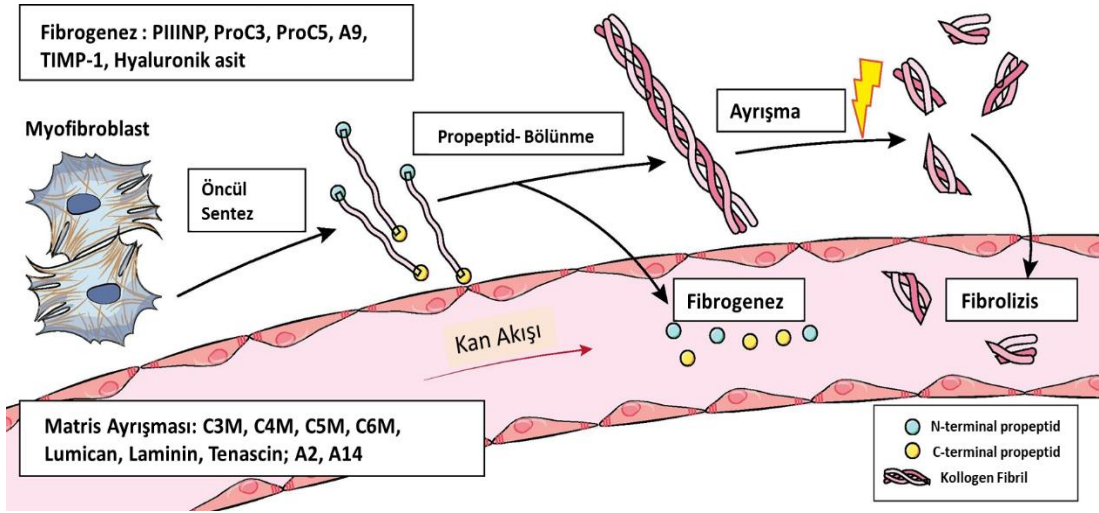
Kronik karaciğer hastalığı olan hastaların tedavisi için fibroz ve steatozun öngörülmesi esastır. Bu nedenle, noninvaziv yöntemlerin klinik olarak anlamlı steatoz, fibroz veya sirozu tespit edip edemediğine veya NAYKH hastalarında basit steatoz ile NASH arasında ayırım yapıp yapmadığına odaklanılmıştır (Angulo ve ark 2007, Guha ve ark 2009). Karaciğer hastalığının evresini belirlemek, basit noninvaziv testler geliştirmek ve doğru bir biçimde basit steatozdan NASH'ı ayırt etmek acil bir ihtiyaçtır (Joka ve ark 2012).

NASH 'in tanısı için birçok serum biyobelirteci araştırılmış (Vilar-Gomez ve Chalasani 2018) ancak CK-18 bugüne kadar en çok umut vaad edeni olmuştur. CK-18 fragmanları, enzim kaspaz 3 tarafından gerçekleştirilen hepatositlerin apoptozundan gelir ve immünoassay ile serumda ölçülebilir. M30 enzime bağlı immünosorbent deneyi, kaspazla bölünmüş CK-18 fragmanlarını ölçer ve steatohepatitin bir özelliği olan apoptozu algımlarken; M65 enzime bağlı immünosorbent deneyi, toplam hücre ölümünü saptar. Feldstein ve ark (2009) ilk çalışmalarından bu yana NAYKH'lı hastalarda AUROC 0,83 ve 0,75 duyarlılığını ve 0,81 özgüllüğü olan dolaşımdaki

serum CK-18 seviyesinin yaklaşık 250 U/L olduğunu bildirmiştir. Birçok çalışma bu sonuçları küçük popülasyonlarda da olsa doğrulamıştır (Papatheodoridis ve ark 2010, Grigorescu ve ark 2012, Joka ve ark 2012, Shen ve ark 2012). Bununla birlikte, CK-18 ile ilgili birkaç sorun vardır; bunlar ticari olarak temin edilebilen bir klinik testin eksikliği, bireysel seviyede sınırlı hassasiyet (Younossi ve ark 2018b), önerilen sınırlardaki önemli değişkenlik ve bunların hangi eşiğin kullanılacağını seçen çalışmalar arasındaki tanısal doğruluktur (Vilar-Gomez ve Chalasani 2018). Bu sınırlamalar, bugüne kadar pratikte sınırlı klinik fayda sağlamıştır. CK-18 duyarlılığını arttırmak için bazı yazarlar yüzey antijeni FAS'ın (sFas) düzeyleri (Tamimi ve ark 2011), ürik asit (Huang ve ark 2017), adiponektin ve resistin (NASH diagnostiği) (Younossi ve ark 2011) veya ALT gibi diğer biyolojik parametreler ve metabolik sendromun varlığını (Nice Model) birleştirmiştir (Anty ve ark 2010). Şu anda mevcut olan serum markırlarından hiçbirisi NASH'ı yüksek hassasiyet ve özgüllük ile basit steatozdan ayırt edememiştir. Ancak teşhis doğrulukları farklı yaklaşımlar birleştirilerek iyileştirilebileceği belirtilmiştir (Castera ve ark 2019). NASH için noninvaziv bir biyobelirteç olarak CK-18'in güvenilirliğini artırmak için yapılan bir çalışma, apoptoza aracılık eden sFAS serum seviyeleri ile kombinasyonun doğruluğu daha da arttırdığını göstermektedir (Tamimi ve ark 2011). Bununla birlikte, optimal cut-off serum konsantrasyonları farklı çalışmalar arasında hala farklılık gösterir ve daha fazla araştırma gerektirir (Drescher ve ark 2019).

1. 7. Tip III Kollajen N-terminal Propeptid

Karaciğerde fibroz sürecinin, HYH'ların aşırı hücre dışı matris (ECM) üretiminden kaynaklandığı varsayılmaktadır (Liu ve ark 1997). Disse aralığında ECM birikmiş fragmanların artışı (yaklaşık altı kat daha fazla) karaciğer hasarına yol açar (Sarah ve ark 2013). ECM'nin en büyük bileşeni kollajendir (Nojgaard ve ark 2003). Karaciğerde tip III kollajen esas olarak oluşur (Baranova ve ark 2011). Tip III kollajenin sentezi sırasında, prokollajen tip III'ün N-terminal propeptid (PIIINP), prokollajen tip III'den ayrılır. Fibrojeniz, ECM fragmanlarının kana salınmasıyla sonuçlanır (Şekil 1.8). Bu nedenle prokollajen tip III propeptid miktarı, kollajen sentezinin ve hücre dışı boşlukta birikiminin doğrudan bir göstergesi olabilir (Cross ve ark 2010, Gudowska ve ark 2017).



Şekil 1.8. Fibrojenizde serum PIINP seviyesinin artışı (Schuppan ve ark 2018).

Kaspaz 3, NASH hastalarından karaciğerde yükselmiş, ancak basit steatoz ve normal karaciğer dokusunda nadiren saptanmıştır. Hepatosit apoptozu NASH'li hastalarda basit steatozdan daha fazla artar ve hastalık şiddeti ile korelasyon göstermektedir. Ayrıca, hepatositlerin kronik yüksek apoptozu doğrudan fibrojenizi uyarabilir (Chakraborty ve ark 2012). Karaciğer fibrozunda fibril kollajenler tip I ve III oldukça yüksek oranda düzenlenir. Fibrozisin erken evrelerinde Tip III kollajen baskın iken, tip I kollajenin yukarı regülasyonu fibrozisin sonraki aşamalarıyla ilişkilidir (Nielsen ve ark 2013).

NAYKH, uluslararası düzeyde yükseleceği tahmin edilen %25'lik bir küresel yaygınlığa sahiptir (Younossi ve ark 2016b, Estes ve ark 2018a, 2018b) İlişkili ölüm oranı $\geq F3$ 'teki hastalar en yüksek risk altındayken, fibrozis aşaması ile doğrudan orantılıdır (Dulai ve ark 2017). Mevcut noninvaziv testler hala standart olarak kabul edilmemektedir. Bu nedenle, gelişmiş fibrozu saptamak için daha iyi tanısal biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Bu testler potansiyel olarak tanı ve risk sınıflandırmasına yardımcı olabilir, ayrıca tarama başarısızlık oranlarını azaltmak için klinik deneme ön taramasını kolaylaştırır; bunların tümü, iyi teşhis kullanım bağlamına girer (FDA 2016).

NAYKH'in ciddiyetini değerlendirmek için referans standart yarı kantitatif NASH CRN (Klinik Araştırma Ağı) sistemi kullanılarak histolojiktir (Kleiner ve ark 2005). Bununla birlikte, genel olarak, gözlemciler arası değişkenliğin ve karaciğer içindeki fibrozis kapsamındaki değişkenlikten kaynaklanan örnekleme hatasının, bu

histolojik değerlendirmelerin doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini bozabileceği kabul edilmektedir (Kleiner ve ark 2005, Bedossa ve ark 2012, Bedossa 2014). Bu biyobelirteçlere olan ihtiyacı daha da zorlaştıran bir paradoks anlamına gelir. Bir biyobelirteç değerlendirildiği histolojik referans standardı, doğası gereği kusurludur ve varlığı ya da yokluğuna göre tamamen hatasız bir sınıflandırma üretmemektedir. Yarı kantitatif histolojik derecelendirme, fibrozisin anatomik dağılımını büyük ölçüde sınırlar ve kollajen birikimi gibi sürekli değişkenler üzerine ayırık kategorik evreleme kutularını empoze eder. Bu kaçınılmaz olarak, özellikle marjlarda gözlemciler arası ve gözlemci yargısı nedeniyle farklılıklara yol açmaktadır. Ayrıca yarı kantitatif değerlendirmeler, önceden tanımlanmış olsada rastgele kategorik sınırlar arasında geçiş yapamayan, ciddiyeiteki ılımlı farklılıkları tanımadığı için hassasiyeti de azaltmaktadır. Bu, NASH CRN sınıflandırmasında F3 fibroz evresini kapsayan hastalığın genişliği ile iyi açıklanmıştır (Kleiner ve ark 2005). Sınıflandırmada histolojik olarak portal-portal, merkezi-merkezi ve/veya portal-merkezi kprleşmenin belirleyici özellik olduğu, ancak kollojen birikim yoğunluğuna veya "köprüleşme" septa sayısına ağırlık verilmemesi bu sorunu ortaya çıkarmaktadır. Kusurlu bir referans standardının mükemmel bir standart yerine kullanıldığı durum, kusurlu altın standart sapması ile ortaya çıkar. Bu, yeni testin performansının düşük veya aşırı tahmin edilebileceği ve gerçekte daha iyi bir hastalık ls olsa bile, asla bir AUROC >0.90 retme potansiyeline sahip olmadığı anlamına gelir (Zhou ve ark 2005). Karaciğer histopatolojisine özgü olmasa da, bu gibi durumları metodolojik olarak ele almak zordur (Rutjes ve ark 2007).

PIIINP ve PRO- C3, farklı hedeflerle de olsa N- terminal propeptidi hedefleyerek tip III kollajen oluşumunu ler. PIIINP, N-terminal propeptid içinde bir dahili bilinmeyen epitopu hedeflerken PRO-C3, ADAMTS2 (A disintegrin ve trombospondin motifli metaloproteinaz 2)'nin propeptidi klevaj ettiği bölgeyi spesifik olarak hedefleyerek oluşumu ler (Karsdal ve ark 2020). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada bahsedilen bu zorlukların yanında büyük bir uluslararası kohorttaki PRO-C3 (veya PIIINP) seviyelerinin ölçümünü rapor etmiş ve bu ölçüm ileri düzeyde fibrozisi tespit eden daha önce tanımlanmış kan bazlı testleri (Williams ve Hoofnagle 1988, Ratzıu ve ark 2006, Angulo ve ark 2007, Guha ve ark 2008, McPherson ve ark 2010, 2013, 2014) geride bırakan yeni tanılama modellerine dahil olmuştur (Boyle ve ark 2019).

İzole parametreler nadiren yeterli bir tanısal doğruluk düzeyi gösterebilir ve karaciğer biyopsisi tarafından sağlanan karmaşık tanısal bilgiler için bir taşıyıcı olma olasılığı düşük olsa da PRO-C3'ün bu kullanım bağlamında nasıl performans gösterdiğini belirtmişlerdir. PRO-C3, FIB4 gibi basit panellerle karşılaştırılabilir şekilde gelişmiş fibrozisin bir biyobelirteç maddesi olarak orta derecede performans göstermiştir. Benzer şekilde, klinik deneme alımı için hasta taraması yapıldığında PRO-C3, mevcut faz III deneme alımı için histolojik olarak uygun olan vakaların % 65'ini doğru bir şekilde tanımlamıştır (NASH'de anlamlı fibrozis). Tanısal bir biyobelirteç olarak bu ılımlı performans kısmen PRO-C3'ün statik kollojen birikiminden ziyade aktif fibrojeneze karşı en duyarlı olduğu anlamına gelen, kollojen biriktirme sırasında PRO-C3 üreten biyolojik işlem ile açıklanabilir (Luo ve ark 2018).

Genel olarak, bir FIBC3 eşik değeri $>-0,4$ toplam kohorttaki hastaların %77'sinde fibroz durumunu doğru şekilde tanımlamıştır. Bununla birlikte, klinik uygulamada (yatak başında) kullanım için daha iyi uyarlanmış basitleştirilmiş bir panel olan ABC3D'nin tanısal doğruluğu, bu modeli %75'lik bir doğrulukla takip ettiği bildirilmiştir. Bu nedenle, daha karmaşık formüller gerektiren FIB4, NFS veya PRO-C3 tabanlı ADAPT puanının aksine bu basit model, hasta risk sınıflandırmasına yardımcı olmak için web tabanlı bir hesap makinesine veya uygulamaya erişme ihtiyacını ortadan kaldırarak klinik maddeleri değerlendirmek için kolayca hesaplanabilir. Ayrıca FIB4 veya NFS'nin aksine FIBC3 ve ABC3D'nin her ikisi de hastalığın şiddetini netleştirmek için daha fazla test veya karaciğer biyopsisi gerektiren “belirsiz” sonuçlara sahip olmayan tek, optimize edilmiş bir risk eşik değerine sahiptir (Dyson ve ark 2013).

Doğrulama kohortunda FIBC3, hastaların %75'ini doğru tanımlayarak en iyi performans göstermiş; ABC3D ise hastaların %72'sini doğru şekilde tanımlamış ve ABC3D ile FIBC3'ün az ya da çok eşdeğer olduğu bildirilmiştir. 449 hastanın kohortunda FIBC3 modeli, 217'sinin doğru şekilde sınıflandırıldığı, ileri fibrozu olmayan ($-0,4$ 'ten küçük bir eşikte) 254 hastayı tanımladığı belirtilmiştir. Bu nedenle, bu “düşük riskli kohortta”, FIBC3 modeli hastaların %85'inde karaciğer biyopsisinden doğru şekilde kaçınabileceği belirtilmiştir. Aynı analizi ABC3D'ye uygulayarak 267 hastanın 'düşük riskli' olduğunu belirlemiştir. Bu kohortta 219 hasta doğru evrelenmiş bu nedenle potansiyel olarak doğru şekilde vakaların %82'sinde biyopsiden

kaçınılmıştır. Sonuç olarak, hem FIBC3 hem de ABC3D erişilebilir rutin laboratuvar testleri ve tek bir kollojen belirteci dahil edilen basit endekslerdir. Her ikisinin de, hafif ve orta dereceli fibrozu, NAYKH'lı hastalarda köprüleşen fibroz ve sirozdan kesin olarak ayırt edebileceğini gösterilmiştir. ABC3D modelinin hesaplanması daha kolay olduğu ve yatak başında yapılabildiği göz önüne alındığında, ABC3D tanı endeksi, özel karaciğer araştırmaları yapması gereken önemli/aktif fibrozan steatohepatitli hastaların tanımlanması için yaygın olarak kullanılması potansiyeline sahiptir. FIBC3 ve ABC3D ayrıca potansiyel olarak histolojik şiddete bağlı tarama başarısızlık oranlarını en aza indirmeye yardımcı olan terapötik denemeler için ön tarama araçları olarak da kullanılabilir. Bununla birlikte, bu ileriye dönük onaylama gerektireceği belirtilmiştir (Boyle ve ark 2019).

1. 8. Karaciğer Biyopsisi

Karaciğer biyopsi örneklerinin histolojik değerlendirmesi, NAYKH'deki tüm araştırmaların merkezinde yer alır. NAYKH'nin klinik belirtileri olan bir hastada bir karaciğer biyopsisi almanın önemli bir avantajı, NASH tanısını doğrulamak veya hariç tutmaktır. Karaciğer biyopsisi, noninvaziv değerlendirmelere kıyasla benzersiz bir rol oynar; parankimal değişikliklerin şiddeti, sonucu, ilerlemeyen veya yavaş ilerlediği düşünülen (yalnızca steatoz, NAFL) süreçler ve ilerlemeyle ilişkili karaciğer hasarı (steatohepatit, NASH) özellikleri arasında bir ayrımı yol açacak şekilde karakterize edilebilir (Chalasani ve ark 2012b). Bu hastalığın, sadece klinik ve biyokimyasal bulgularla teşhis edilemeyeceği, kesin teşhisin ancak karaciğer biyopsi materyallerinin histolojik incelemesi ile yapılabileceği bildirilmiştir.

Bununla birlikte karaciğer biyopsisi, düşük ancak gerçek bir morbidite ve mortalite riski olan invaziv bir prosedürdür. Bu nedenle ve potansiyel NAYKH'ı olan çok sayıda hasta olduğu düşünüldüğünde, karaciğer biyopsisi bir tarama prosedürü olarak düşünülemez ancak özellikle klinik araştırmalar için seçilmiş hastalarla sınırlandırılmalıdır (Kleiner ve Bedossa 2015). Ayrıca prosedürün doğasında var olan sınırlar nedeniyle karaciğer biyopsisi başarısız olabilir. Gerçekte ve diğer birçok kronik karaciğer hastalığında gösterildiği gibi, karaciğerin eşit şekilde etkilenmesi gerekmez ve bir iğne biyopsi örneğinin boyutu tüm organın küçük bir bölümünü temsil ettiğinden, örnekleme varyasyonu önemli bir konudur. Gerçekte, biyopsi çok küçükse, önemli ölçüde yanlış teşhis ve evreleme yanlışlığına yol açabilir. Bir karaciğer biyopsi

örneğin yeterliliği, çekirdeğin uzunluğu ve çapı ile değerlendirilir (Vuppalanchi ve ark 2009b). Bir lezyonun ayrıntılı bir kantitatif değerlendirmesini sağlamak için 25 mm uzunluğunda bir örnek optimal olarak kabul edilirken, 15 mm uzunluğundaki bir biyopsi çok sağlam bilgiler sağlar. Uzunluğun yanı sıra, çekirdeğin çapı da dikkate alınmalıdır. Aslında, dar delikli iğneler lobülü keserek çeşitli bileşenlerin analiz edilmesini imkansız hale getirir ve yapısal bozulma değerlendirmeyi zorlaştırır. 16 numara bir iğne (veya daha büyük) yeterli kabul edilir (Bedossa 2017).

Biyopsinin kalitesi büyük ölçüde onu kimin ve nasıl yaptığına bağlıdır. Karaciğer dokusu numuneleri, mümkün olduğunda 16-gauge (veya daha büyük) bir kesici iğne (örneğin; Bard, Microvasive, Tru-Cut) kullanılarak alınmalıdır. Sıklıkla fibrotik numunelerin parçalanmasına neden oldukları ve fibrozisin etkili değerlendirilmesini önledikleri için emme iğnelerinin (örn. Menghini, Jamshedi, Klatskin) kullanımından kaçınılmalıdır. O halde, başarılı bir biyopsi prosedürü için yeterli deneyime ve motivasyona sahip iyi eğitilmiş bir hepatolog (veya radyolog) ve diğer teknik prosedürlerde olduğu gibi deneyim gereklidir (Bedossa 2018).

Büyük araştırmalar, tek başına steatozlu hastaların genel popülasyona kıyasla karaciğer hastalığından ölüm riskinde artış olmadığını, NASH veya ileri fibrozlu hastaların ise daha yüksek risk altında olduğunu göstermiştir (Angulo ve ark 2015). Diğer bir klinik senaryo birden fazla karaciğer hastalığının varlığıdır. Büyük biyopsi serileri kronik hepatit C, otoimmün karaciğer hastalığı veya primer biliyer siroz gibi başka bir karaciğer hastalığı teşhisi konmuş hastaların %5'ine kadar histolojik kanıta sahip olduğunu belgelemiştir (Brunt ve ark 2003). Benzer şekilde, bariatrik cerrahi tedavisi gören morbid obez hastalarda steatohepatit ve siroz %25 ve %1-3'e varan oranlarda belgelenmiştir ve genellikle tesadüfen bulunur, bu da bu vakalarda biyopsiyi bir endikasyon haline getirir (Dolce ve ark 2009, Teixeira ve ark 2009). Karaciğer biyopsisinin nihai amacı, hasarın yarı-kantitatif bir değerlendirme ile ciddiyetinin belirlenmesini sağlamaktır. Bu puanlama sistemleri şu anda yaygın uygulamada sınırlı değere sahip olsalar da, klinik çalışmalarda son derece faydalıdır (Neuschwander-Tetri ve ark 2015, Ratziu ve ark 2016).

NAYKH, tek başına steatoz veya NASH olarak sınıflandırılacak kadar şiddetli olmayan hafif ilişkili lezyonlarla steatoz ile karakterize daha büyük bir hasta grubunu,

NAFL'yi içerir. Epidemiyolojik çalışmalar, tek başına steatoz hastalarının kardiyovasküler veya hepatik olmayan kanserle ilişkili hastalıkların sonuçlarına maruz kalma olasılığının daha yüksek olduğunu, ancak yüksek risk altında olmadığını göstermektedir (Bedossa 2017). Steatozlu, ancak birkaç inflamatuvar hücre veya normal boyutlu berrak/balonlaşmış hepatositler gibi hafif ilişkili lezyonları olan bir hasta alt grubu vardır. Bu lezyon genellikle NAFL olarak kabul edilmekle birlikte, prognozun saf steatoz kadar iyi huylu olup olmadığı bilinmemektedir. Retrospektif çalışmalar, bazı vakaların daha şiddetli hastalığa dönüşebileceğini, ancak NASH'li olanlara göre daha düşük bir oranda evrilebileceğini gösterirken, bazı ileriye dönük çalışmalar bu lezyonların stabilize olabileceğini hatta gerileyebileceğini ileri sürmüştür (McPherson ve ark 2015).

NAYKH ve NASH'ın doğal seyri hala tam olarak anlaşılmamış olsa da, histolojik bir steatohepatit paternine ve ilerlemiş fibroze sahip hastaların son dönem karaciğer hastalığı veya karaciğere bağlı mortalite geliştirme riskinin çok daha yüksek olduğu açıktır (Singh ve ark 2015). Steatoz ve steatohepatit arasındaki ilişki net değildir. Saf steatozdan steatohepatite ilerleme meydana gelebilmesine rağmen, epidemiyolojik veriler, birinden diğerine ve her iki yönde olası bir kayma ile iki farklı oluşum olduğunu göstermektedir. Yukarıda belirtildiği gibi steatohepatit, karaciğer dokusunun incelenmesini gerektiren bir karaciğer hasarı modelidir. Klinik ve biyolojik verilerin bir kombinasyonuna dayanan birkaç algoritma önerilmiş olmasına rağmen, steatohepatitli hastaları açıkça tanımlamak veya steatohepatiti saf steatozdan ayırmak için invaziv olmayan testler bulunmamaktadır (Campos ve ark 2008). Bu nedenle, NASH'ın varlığını doğrulamak için bir karaciğer biyopsisi yapılmalıdır. Ludwig ve arkadaşlarının NASH histolojik tanımı zamanla değişmiştir (Ludwig ve ark 1980). Steatoza ek olarak iki ana özellik, lobüler inflamasyon ve karaciğer hücre balonlaşması gerektiği artık kabul edilmektedir (Sanyal ve ark 2011). Diğer bazı histolojik özellikler mevcut olabilir ancak NASH tanısına katkıda bulunmaz (Bedossa 2017).

1. 8. 1. Steatoz

Steatozu histopatolojik bir özellik olarak değerlendirebilmek için hepatositlerin en az %5'inde lipid damlacıkları bulunmalıdır. Steatoz genellikle makrovezikülerdir, ancak ya tamamen büyük damlacıklar ya da küçük ve büyük damlacıkların bir karışımında (medioveziküler steatoz) olabilir. Makroveziküler

steatozda, lipid vakuol neredeyse tüm hepatositi doldurarak çekirdeği yana doğru iter. En uçta, bu hücreler adipositler gibi görünebilir (Tiniakos ve ark 2010). Mediovesiküler steatoz, sitoplazmada bir veya daha fazla küçük vakuol olduğunda meydana gelir. Bu vakuollerin genellikle birbirinden ayırt edilmesi kolaydır ve sayılacak kadar az sayıdadır. Bu mediovesiküler steatoz formu, hepatosit sitoplazmasının hücreye köpüklü bir görünüm kazandıran çok sayıda küçük vakuol ile değiştirildiği nadir mikroveziküler steatozdan ayırt edilmelidir. Bu steatoz, belirgin bir şekilde bölge 3'e (peri-merkez) merkezli bir modele veya asinus boyunca eşit olarak dağıtılabilir. Nadiren bölge 1'de (pediatrik NAYKH) bulunur ve hastalık siroza doğru ilerlediğinden steatoz daha düzensiz dağılabilir veya kaybolabilir (Schwimmer ve ark 2005). Son dönem sirozda steatoz kısmen veya tamamen kaybolabilir. Steatoz için basit bir dört ölçekli derecelendirme (0'dan 3'e) kullanılır. Yalnızca makro ve/veya medioveziküler steatozu hesaba katar ve steatotik vakuollerle hepatosit yüzdesini değerlendirir. Normal karaciğer (derece 0); hepatositlerin %5'inden daha azında yağ içerirken, derece 1 steatoz; steatotik hepatositlerin %33'ünden azını ifade eder. 2. ve 3. derece steatozda, yağlanma sırasıyla hepatositlerin en az %33 veya %66'sında bulunur (Bedossa 2017).

1. 8. 2. Lobüler İnflamasyon

Lobüler inflamasyon, hepatosit yıkımı veya apoptotik cisimlerle ilişkilendirilen, başlıca lenfositler ve makrofajlar olmak üzere küçük inflamatuvar hücre odaklarını içerir. Nötrofil kümeleri nadirdir ve yalnızca birçok Mallory-Denk cismi mevcutsa belirgin hale gelir. Lobüler inflamasyon derecesi genellikle hafiftir ve bol olduğunda alkol veya ilaç toksisitesi gibi başka veya ilişkili nedenleri gösterir. NASH CRN tarafından (derece 0'dan 3'e) belirli bir alandaki inflamasyon odaklarının sayısına göre dört kademeli bir derecelendirme sistemi tanımlanırken, üç kademeli bir derecelendirme sistemi (0'dan 2'ye) SAF (Steatoz, Aktivite, Fibroz) skorumda önerilmiştir (Bedossa ve ark 2012). Bir dereceye kadar portal inflamasyon da tanımlanabilir. Genellikle hafiftir ve arayüz hepatit odakları sınırlı veya yoktur. Bazen, portal inflamasyon belirgin hale gelir (Bruno ve ark 2009). Çapraz kesitli çalışmalarda daha şiddetli histolojik hasar ve fibroz ile ilişkilendirilmiştir ve bu da portal inflamasyonun daha kötü bir prognoz belirtisi olabileceğini düşündürmektedir (Bedossa 2017).

1. 8. 3. Balon Dejenerasyonu

Balonlaşma ile oluşan hepatoselüler hasar, steatohepatitin diğer önemli tanı özelliğidir. Balon şeklindeki hepatositler, karaciğer hücresindeki keskin açılardan kaybı ile tanımlandığı gibi balon şeklinde olan berrak, flokülen, vakuolar olmayan bir sitoplazma sergiler. Hepatositler, normal hepatositlerden daha büyük olabilir veya olmayabilir. NASH CRN derecelendirme sisteminde, balonlaşan hücrelerin derecelendirilmesi esas olarak sayıya (yok, az, çok) dayanırken, SAF puanlamasında ise esas olarak balonlanmış hücrelerin boyutuna dayanmaktadır (Bedossa ve ark 2012).

Yetişkin NASH'da, balonlaşmış hepatositler genellikle perisinüzoidal kollajen lifleri ile karıştırıldıkları üçüncü bölgede görülür. Son çalışmalar, balonlaşmış hepatositlerin doğasını elektron mikroskobu veya immün boyama kullanarak değerlendirmiştir. Balonlanmış hepatositler, sitokeratin 8/18'e karşı antikorlarla boyamayı normal hepatositlere göre önemli ölçüde azaltmıştır (Lackner ve ark 2008). Hepatosit balonlaşması ve lobüler inflamasyon, steatotik bir karaciğer varlığında NASH tanısı için hem gerekli hem de yeterli özelliklerdir. Hepatoselüler hasarla ilgili diğer özellikler, Mallory-Denk cisimleri veya apoptotik cisimler, gözlenebilir ancak bunlar genellikle nadirdir ve sürekli olarak görülmezler (Bedossa 2017).

1. 8. 4. Fibroz

Fibroz önemli bir özelliktir çünkü çoğu çalışma, fibroz evresinin diğer histolojik özelliklerin varlığına veya ciddiyetine bakılmaksızın genel ve karaciğerle ilişkili mortaliteyi bağımsız olarak etkilediğini göstermiştir (Younossi ve ark 2011, Angulo ve ark 2015, Ekstedt ve ark 2015). NASH'da genellikle bir dereceye kadar herhangi bir safhasında fibroz görülürken NAFL'de ise herhangi bir NASH özelliği olmaksızın mevcut olabilir. Bu durumda fibrozun, remisyonadaki bir NASH formunu temsil ettiğine inanılmaktadır. Fibroz, NAYKH'de kendine özgü bir modele sahiptir. Doğru bir şekilde değerlendirilmesi için yüksek kaliteli bağ dokusu lekeleri (Masson trikrom veya Sirius kırmızısı) gerektiren bölge 3'te hassas bir perisinüzoidal birikim olarak başlar. Genellikle perivenelüler fibroz ve/veya periportal fibroz gelişmesine rağmen, herhangi bir periportal fibroz gelişmeden ilerleyebilir. İleri fibrozun aşamaları arasında köprü oluşturan fibroz ve son dönem siroz bulunur. Bu aşamalarda bile, tanıya yardımcı olmak için perisinüzoidal fibroz alanları hala tanımlanabilir. Bu nedenle,

fibrozun ilerlemesi şu şekilde tarif edilmiştir. Evre 1; perivenüler veya perisinüzoidal (birikimin miktarına bağlı olarak 1a ve 1b'ye bölünerek ve aşama 1c izole edilmiş periportal fibroz), evre 2; köprüleşme fibrozu olmadan portal ve perivenüler fibrozu içerir, evre 3; köprüleşme fibrozu ve evre 4; sirozdur (Kleiner ve ark 2005). Bu evreleme sistemi, NAYKH ile ilişkili fibroz için en uygun olduğu için evrensel olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, özellikle perivenüler alanın dışındaki lobüler perisinüzoidal fibroz, NAYKH ile ilişkili fibrozun ayırt edici özelliği olmasına rağmen skorlama sistemine dahil edilmediğinden, hala sorular ve sınırlamalar vardır. Ek olarak, izole portal fibrozun (aşama 1c) dahil edilmesi veya perivenüler fibroz ile birlikte (aşama 2) portal fibrozun, köprüleşen fibrozun gelişimi için gerekli bir özellik olan erken bir lezyon olduğunu da düşündürmektedir. Karaciğer biyopsisi ile fibrozun değerlendirilmesi yalnızca kesitsel bir görünüm olduğundan ve tekrarlanan biyopsiler nadir olduğundan, bu uzunlamasına ölçeğin önemi açık bir soru olarak kalır (Bedossa 2017).

Aynı araştırmacılar tarafından yapılan histolojik tanımlara dayanan ve klinik olayların uzun süreli takibini içeren büyük kohort çalışmaları, fibroz evresinin (köprüleşen fibroz veya siroz) karaciğerle ilişkili ölümlerin ana prediktörü olduğunu göstermiştir (Angulo ve ark 2015, Ekstedt ve ark 2015). Steatohepatit büyük olasılıkla fibrojenezi yönlendirdiğinden, steatohepatitin fibrozunkinden bağımsız etkisini istatistiksel olarak belirlemek, iki değişken arasındaki eş doğrusallık nedeniyle zor olabilir. Fibroz evrelemesi, NASH CRN fibroz evresine dayanmaktadır (Kleiner ve ark 2005). Ne yazık ki bu skorlama sistemi, özellikle diyabetli hastalarda yaygın bir model olan lobül içindeki perisinüzoidal (perivenüler) fibrozu olduğundan az hesaplamaktadır. Ayrıca, nadir veya kısa septalı biyopsilerle çok sayıda septalı biyopsiler arasında bir ayrım sağlamaz (kronik hepatit için METAVIR skoru ile F2 ve F3 arasındaki farkın aksine). Bu, biyopsi sonuçlarını sınırlandırır çünkü önemli fibrozu, ileri fibrozisli olanlardan ayırmak için kesin bir sınır yoktur (Bedossa 2018).

Karaciğer biyopsisinin, yaralanmaların ciddiyetinin doğru bir yarı kantitatif değerlendirmesini sağlamanın bir başka önemli avantajı vardır. Gerçekte, ikiye ayrılmış tanı yaklaşımı (NAFL ve NASH) klinik olarak yararlı olsa da, hastalığın histolojik karmaşıklığını yansıtmayan aşırı basitleştirmedir. Diğer tüm kronik karaciğer hastalıkları gibi, NAYKH sürekli bir histolojik lezyon spektrumu

gösterebilir ve hastalığı iki kategoriye ayırmak yararlıdır ancak yapaydır. Bu nedenle, yarı niceliksel bir skorlama sistemi, hastalığın karmaşık histolojik paterninin daha iyi bir görüntüsünü sağlar. Bu puanlama sistemleri genel uygulamada sınırlı değere sahip olsa da şu an için klinik araştırmalar için son derece faydalıdır. Hem ABD'den NASH CRN hem de Avrupa, Yağlı Karaciğer Progresyon İnhibisyon (FLIP) konsorsiyumu NAYKH'ların daha doğru bir histolojik değerlendirmesinin geliştirilmesine yardımcı olmuştur. NASH CRN tarafından geliştirilen NAS (NAYKH Aktivite Skoru) steatoz (0-3), inflamasyon (0-3) ve balonlaşmanın (0-2) ağırlıksız toplamıdır (Kleiner ve ark 2005). Steatohepatit tanısı üzerine tasarlanmamıştır, ancak genel bir patolojik değerlendirme ile NASH tanısı konulduktan sonra hastalığın ciddiyetinin kaba bir değerlendirmesi olarak tasarlanmıştır. NAS, aminotransferaz ve Homeostasis Model Assesment (HOMA) değerleri ile ilişkili olmasına rağmen, bu skorun prognostik değeri gösterilmemiştir. NAS <3 ve >4 olan çoğu hasta sırasıyla NAFL ve NASH olarak doğrulanabilirken, her iki NAFL ve NASH vakasını içeren bir gri bölge (NAS = 3 veya 4) vardır. Bu nedenle, terapötik çalışmalarda histolojik bir sonuç olarak kullanımının klinik önemi sorgulanabilir (Bedossa 2018). Bununla birlikte, ara modellerin var olabileceği giderek daha açık hale gelmektedir. Karaciğer biyopsi örneklerinin histopatolojik değerlendirmesi yeterince doğru noninvaziv testlerin yokluğunda NAYKH ve NASH tanısında merkezidir çünkü her grubun kesin tanımı anahtar bir konudur. Kapsamlı çalışmalar için NAYKH'deki histopatolojik lezyonları, steatoz derecesini (S, S0'dan S3'e), aktivite derecesini (A0'dan A4'e, hem balonlaşma hem de lobüler inflamasyon dereceleri 0'dan 2'ye kadar ekleyerek ayrı ayrı değerlendiren) ve fibroz evresini (F, F 0'dan F4'e) ayrı ayrı değerlendiren SAF skorunu kullanarak tanımlamayı önermiştir (Bedossa 2017).

FLIP Patoloji konsorsiyumu tarafından ileriye dönük olarak tasarlanan SAF skoru, FLIP algoritmasıyla birlikte kullanıldığında gözlemciler arasında genel tanı için anlaşmayı artırır. Bu skor, NAYKH'nin üç ana histolojik özelliğini (steatoz, aktivite ve fibroz) detaylı ve anlaşılması kolay bir biçimde kesin olarak tanımlar. Aktivite, hepatosellüler balonlaşma ve lobüler inflamasyonun birleşik bir skorudur. Bununla birlikte fibroz gelişimini sürdürmesi beklenen bu iki lezyon her biri 0'dan 2'ye kadar derecelendirilmiştir (Bedossa ve ark 2012). Ayrıca bu, FLIP algoritması ile NASH tanısının bel kemiğidir (Bedossa 2018).

Karaciğer biyopsisi, NASH'ın teşhisi ve evrelemesi için altın standart olarak kabul edilmekle birlikte (Chalasani ve ark 2018), invaziv doğası, maliyeti, örnekleme ve yorumlama değişkenliği bilinen sınırlamalarıdır. Bu sınırlamalar, klinik olarak anlamlı veya ilerlemiş fibrozu taramak, hastalığın ilerlemesini izlemek veya NAYKH'li hastalarda tedaviye yanıtı değerlendirmek için klinik uygulamada geniş ölçekli karaciğer biyopsisinin kullanılmasını engellemektedir. Bu klinik ihtiyaçları karşılamak için, NAYKH şiddetini değerlendirmek, ilerlemesini izlemek ve tedaviye yanıtı değerlendirmek için invaziv olmayan, tekrarlanabilir ve daha az maliyetli biyobelirteçler için araştırmalar yapılmıştır (Ajmera ve ark 2017, Tapper ve Loomba 2018, Vilar- Gomez ve Chalasani 2018, Younossi ve ark 2018, Chalasani ve ark 2019, Loomba ve ark 2019). Ancak mevcut noninvaziv testler hala standart olarak kabul edilmemektedir.

H₀: CK18-M30 ve PIIINP serum düzeyleri ile NAYKH alt gruplarının histolojik özellikleri birbiri ile ilişkili değildir.

H₁: CK18-M30 ve PIIINP serum düzeyleri ile NAYKH alt gruplarının histolojik özellikleri birbiri ile ilişkilidir.

Yapılan literatür taraması sonucunda, NASH'te hepatositlerde apoptozun NAFL'ye göre daha fazla görüldüğü ve bunun CK18-M30 serum seviyelerinin NASH'de artışına sebep olabileceği belirlenmiştir. Yine NASH'te karaciğerde fibroz gelişiminin NAFL'ye göre daha fazla görüldüğü, fibrozun erken evrelerinde Tip III kollajen sentezinin baskın olduğu ve bu durumun PIIINP serum seviyelerinin NASH'de artışına sebep olabileceği belirlenmiştir. Ayrıca özellikle NAFL ve NASH ayırıcı tanısında standart olarak kullanılabilecek bir biyokimyasal belirtecin olmadığı, CK18-M30 üzerinde yapılan çalışmalarda sunulan etkinlik düzeyi ve kesme değeri farklılıklarından kaynaklı bir standardizasyon eksikliğinin olduğu, PIIINP'ün bu alanda kullanılabilirliği ile ilgili az sayıda çalışma olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışma, NAYKH sınıflandırılmasında PIIINP ve CK18-M30 serum seviyelerinin; tanısal rolünün olup olmadığını, özellikle NAFL'yi NASH'dan ayırmak için etkinlik düzeylerini, NAYKH alt gruplarının kan ve biyokimyasal parametreleri ile histolojik kriterleri arasındaki ilişkiyi açıklamayı amaçlamaktadır.

2. MATERİYAL VE METOD

2. 1. Etik Kurul

Çalışma protokolü Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No: 2019/18-05, Tarih: 27.12.2019) ve çalışmaya katılan tüm bireylerden yazılı aydınlatılmış onam alındı. Çalışma, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (20212006) tarafından desteklenmiştir.

2. 2. Çalışma Popülasyonu

Çalışma, toplam 28 NAYKH'lı (16 erkek ve 12 kadın, ortalama yaş, $48 \pm 10,58$ yıl) ve 14 adet sağlıklı bireylerden (7 erkek ve 7 kadın, ortalama yaş, $32 \pm 6,77$ yıl) oluşmaktadır. Çalışmaya alınan NAYKH'lı bireyler, Şubat 2020 - Aralık 2020 tarihleri arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Gastroenteroloji ve İç Hastalıkları Polikliniğinden biyopsi ile NAYKH ön tanısı alan hastalar arasından seçildi. Kontrol grubu ise aynı tarihlerde Gastroenteroloji ve İç Hastalıkları Polikliniğine başvuran tahlil ve tetkikleri yapıp herhangi bir hastalık saptanmayan bireylerden oluşturuldu.

Kontrol: Genel kontrol, kan bağıışı veya sağlık raporu almak için gelen 18-65 yaş, normal aminotransferazlar ve karaciğer hastalığı öyküsü olmayan gerekli tetkik ve tahliller yapıldıktan sonra herhangi bir hastalık tanısı almayan, çalışmaya katılmayı kabul eden ve sadece kan örneği alınan sağlıklı 14 bireyden oluşmaktadır.

NAFL: Alkol veya hepatotoksik ilaç alımı olmayan, yapılan tahlil ve tetkikler sonucuna göre karaciğer biyopsisi yapılmasına karar verilen ve biyopsi sonucuna göre NAYKH ön tanısı koyulan (SAF/FLİP Algoritmine göre; NAFL tanısı alan) ve çalışmaya katılmayı kabul eden 14 hastadan oluşmaktadır.

NASH: Alkol veya hepatotoksik ilaç alımı olmayan, yapılan tahlil ve tetkikler sonucuna göre karaciğer biyopsisi yapılmasına karar verilen ve biyopsi sonucuna göre NAYKH ön tanısı koyulan (SAF/FLİP Algoritmine göre; NASH tanısı alan) ve çalışmaya katılmayı kabul eden 14 hastadan oluşmaktadır.

2. 2. 1. Dahil Etme Kriterleri

Kontrol grubu, sağlıklı gönüllü bireylerden oluşmaktadır. NAFL ve NASH grubunu oluşturan bireyler ise karaciğer biyopsi sonucuna göre NAYKH ön tanısı alan hastalardan oluşturuldu. Ek olarak diyabet, dislipidemi ve obez olan hastalar da çalışmaya dahil edildi.

2. 2. 2. Hariç Tutma Kriterleri

NAYKH'na benzer hepatik histolojiye yol açan diğer etiyolojiler; viral hepatit, Wilson hastalığı, hemokromatoz, otoimmün hepatit, kolestatik karaciğer hastalığı ve diğer kronik karaciğer hastalıkları, lipodistrofi, Çölyak hastalığı, Cushing hastalığı vb. hastalık öyküsü olan ya da çalışma esnasında yapılan tahlil ve tetkiklerde tanı alanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca kortikosteroid, metotreksat, diltiazem, oksaliplatin, amiodaron, izoniazid, oldukça aktif anti-retroviral tedavi, vb. ilaçlar kullanan birey/hastalar da çalışmaya dahil edilmemiştir. Ek olarak aşırı alkol tüketimi (günde erkekler için 30 g ve kadınlar için 20 g'dan fazla) olan bireylerde çalışmaya dahil edilmemiştir.

Bu çalışma, insanlarda yapılan araştırmalar için Dünya Tıp Derneği Etik Kuralları (Helsinki Bildirgesi) uyarınca gerçekleştirilmiştir.

2. 3. Klinik ve Biyokimyasal Özellikler

Tüm vakaların antropometrik ve biyokimyasal ölçümleri yapıldı. VKİ'si, boy ve kilo ölçümlerine göre hesaplandı. Rutin kan tetkikleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaşı Tıp Merkezi laboratuvarlarında çalışıldı. Açlık kan şekeri 100 mg/dl altında olanlar normal, 100-125 mg/dl arasında olanlar bozulmuş açlık glisemisi (IGF) ve 126 mg/dl veya üstünde olanlar diyabet olarak kabul edilmiştir. Birey/hastalardan, 12 saatlik açlık sonrasında alınmış kan örneklerinden çalışılan açlık kan glukoz düzeyi ve açlık insülini belirlenerek HOMA yöntemi kullanılarak İD hesaplanmıştır (TEMĐ 2009). İD hesaplanırken HOMA-IR: açlık kan glukoz düzeyi (mg/dl) x açlık insülini (μ u/ml) / 405 şeklinde formülize edilen hesaplama yöntemi kullanılmış ve HOMA indeksi >2,7 olarak kabul edilmiştir (Özkalaycı ve ark 2020).

2. 4. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer biyopsileri (NAYKH alt gruplarında), deneyimli bir gastroenterolog tarafından ultrason rehberliği ve lokal anestezi altında 16 gauge Tru-Cut iğnesi kullanılarak yapılmıştır. Bütün biyopsi örnekleri, %10'luk formaldehit ile fiksasyon işleminin ardından parafin bloklara gömülmüştür. Bloklardan alınan seri kesitler (4-5 µm) eş zamanlı olarak rutin histolojik incelemeler için Hematoksilen-Eozin, fibroz düzeyini saptamak amacıyla Masson trikrom boyama prosedürlerine tabi tutulmuş ve Leica DM 2500 ışık mikroskobu (Heerbrugg, İsviçre) ile incelenmiştir. Klinik bilgilerden habersiz bir şekilde, NAYKH ön tanısı olan hastaların biyopsi materyalleri, SAF/FLİP algoritmine göre NAYKH histolojik olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmaya sadece biyopsi materyali yeterli olan (en az 1.5 cm uzunluğu veya yedi portal yolu olan) hastalar dahil edilmiştir.

Steatoz, 0-3 ölçeğinde büyük ve orta büyüklükte intrasitoplazmik lipid damlacıkları içeren hepatositlerin yüzdesi ile S1: %5–33; S2: %34–66; S3: >%67 şeklinde değerlendirildi. Hepatosit balon dejenerasyonu 0'dan 2'ye; 0: normal hepatositler; 1: yuvarlak şekilli ve soluk sitoplazmalı, ancak normal boyutlu hepatosit kümelerinin varlığı; 2: 1. derece için olduğu gibi, ancak en az bir büyümüş, balonlaşmış hepatosit varlığı şeklinde derecelendirildi. Lobüler inflamasyon, lobül içindeki 2 veya daha fazla inflamatuvar hücre odağı olarak tanımlandı. Lobüler inflamasyon odakları, 0: inflamatuvar hücre odağı yok; 1: lobül başına ≤ 2 inflamatuvar hücre odağı; 2: lobül başına > 2 inflamatuvar hücre odağı 20x büyütmede sayıldı. Her biyopsi için, ana histolojik lezyonları özetleyen bir SAF skoru tanımlandı. Bu puanlama sistemi, steatoz derecesini (steatoz miktarı eşiklerine göre S, S0'dan S3'e), aktivite derecesini (A, A0'dan A4'e), her biri derecelendirilmiş 0'dan 2'ye kadar balonlaşma ve lobüler inflamasyon derecelerinin eklenmesiyle ayrı ayrı değerlendirildi. Fibroz evresi (F, F0'dan F4'e), NASH CRN evreleme sistemine göre, 3 alt bölümü (1 a, 1b ve 1c) tek bir F1 skoru şeklinde değerlendirildi. Son olarak histolojik olarak şiddetli hastalık, aktivite; $A \geq 3$ ve/veya fibroz; $F \geq 3$ varlığı olarak tanımlandı (Nascimbeni ve ark 2020).

2. 5. Biyokimyasal Analiz

Çalışmaya katılan bütün bireylerden (biyopsi yapılan hastalarda, biyopsi ile eş zamanlı) 12 saat açlıktan sonra sabah saat 8:00–10:00 arasında anterokübital venden, rutin tetkikler için kan numuneleri alındı. Alınan rutin kan örneklerinden 2500 g’de 10 dakika +4°C’de soğutmalı santrifüj sonrası elde edilen serumlar -80°C’de inceleme öncesine kadar dondurularak saklandı ve inceleme için sadece bir defa çözüldü.

Serum CK18-M30 (K18-Asp396) seviyelerinin ölçümü için ticari olarak elde edilebilen enzime bağlı immunosorbent assay (ELISA) kiti (Cusabio Diagnostics, Wuhan, Çin) kullanılarak üreticinin protokolüne uygun olarak ölçüldü. Testin ölçüm aralığı 15,6–1000 mIU/ml (U/L) olup intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları sırasıyla <%8 ve <%10 idi. Serum N-Terminal Prokollagen III Propeptid (PIIINP) düzeylerinin ölçümü ticari olarak elde ELISA kiti (Elabscience, Houston, Texas, ABD) kullanılarak üreticinin protokolüne uygun olarak ölçüldü. Testin ölçüm aralığı 23,44–1500 pg/mL olup hem intra-assay hem de inter-assay varyasyon katsayısı <%10 idi. Çalışılan kitler, klinik bilgilerden habersiz şekilde mikroparka okuyucu kullanılarak analiz edildi. Tüm ölçümler iki kez yapıldı ve ortalama bir sonuca göre değerlendirildi.

2. 5. 1. Serum Sitokeratin 18 M30 (K18-Asp396) Düzeyi

Teste başlanmadan önce tüm reaktif ve örnekler oda sıcaklığına getirildi. Çözüldükten sonra numuneler tekrar santrifüjlendi. Kuyucuk başına 100µl standart ve numune eklenerek verilen yapışkan şerit ile kapatıldıktan sonra 37 °C’de 2 saat inkübe edildi. Yıkama yapılmadan her kuyucuktaki sıvı çıkarıldı. Her kuyuya 100µl Biotin-antikor (1x) eklendi ve yeni bir yapışkan şerit ile kapatılarak 37 °C’de 1 saat inkübe edildi. Her kuyucuğu aspire ettikten sonra toplam üç yıkama olacak şekilde işlem iki kez tekrarlanarak yıkandı. Her kuyucuk yıkama tamponu (200µl) ile doldurarak ve 2 dakika bekletilerek yıkandı. Her adımda sıvı kuyucuklardan tamamen çıkarılmıştır. Son yıkamada, yıkama tamponu aspire edilerek çıkarıldıktan sonra plaka, temiz kağıt havlu üzerine ters çevirilip kurulanmıştır. Her kuyucuğa 100µl HRP-avidin (1x) eklendikten sonra plaka, yeni bir yapışkan şeritle kapatılarak 37 °C’de 1 saat inkübe edildi. Bir önceki adımda yapıldığı gibi yıkama işlemi beş kez tekrarlandı. Işıktan koruyarak her kuyuya 90µl TMB substrat eklenerek 37 °C’de 15-30 dakika inkübe

edildi. Her kuyucuğa 50µl durdurma solüsyonu eklendikten sonra, iyice karıştırdıktan emin olmak için plakaya hafifçe vuruldu. 450 nm'ye ayarlanmış Labtron A-10 (Basingstoke, Hampshire, İngiltere) mikroparka okuyucu kullanılarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OY) belirlendi. Numunelerin OY'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki CK-18 konsantrasyonu hesaplandı.

2. 5. 2. Serum N-Terminal Prokollagen III Propeptid Düzeyi

Bu test için kullanılan ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini dayanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, PIIINP'ye özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Mikro ELISA plaka kuyucuklarına 100 µL standart veya numune eklendi. 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Sıvı çıkarıldıktan sonra 100 µL Biotinylated Detection Ab eklenerek 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Aspire edilip 3 kez yıkandı. Daha sonra, 100 µL Avidin-Yaban Turpu Peroksidaz (HRP) Konjugat eklenerek 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Aspire edilip 5 kez yıkandı. 90 µL substrat reaktifi eklenerek 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Yalnızca PIIINP, biyotinlenmiş saptama antikor ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görüldü. Enzim-substrat reaksiyonu, 50 µL durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona erdirildi ve renk sarıya döndü. Optik yoğunluk, 450 nm $\pm$ 2 nm dalga boyunda, Labtron A-10 (Basingstoke, Hampshire, İngiltere) mikroparka okuyucu ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. OY değeri, PIIINP konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OY'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki PIIINP konsantrasyonu hesaplandı.

2. 6. Verilerin Analizi

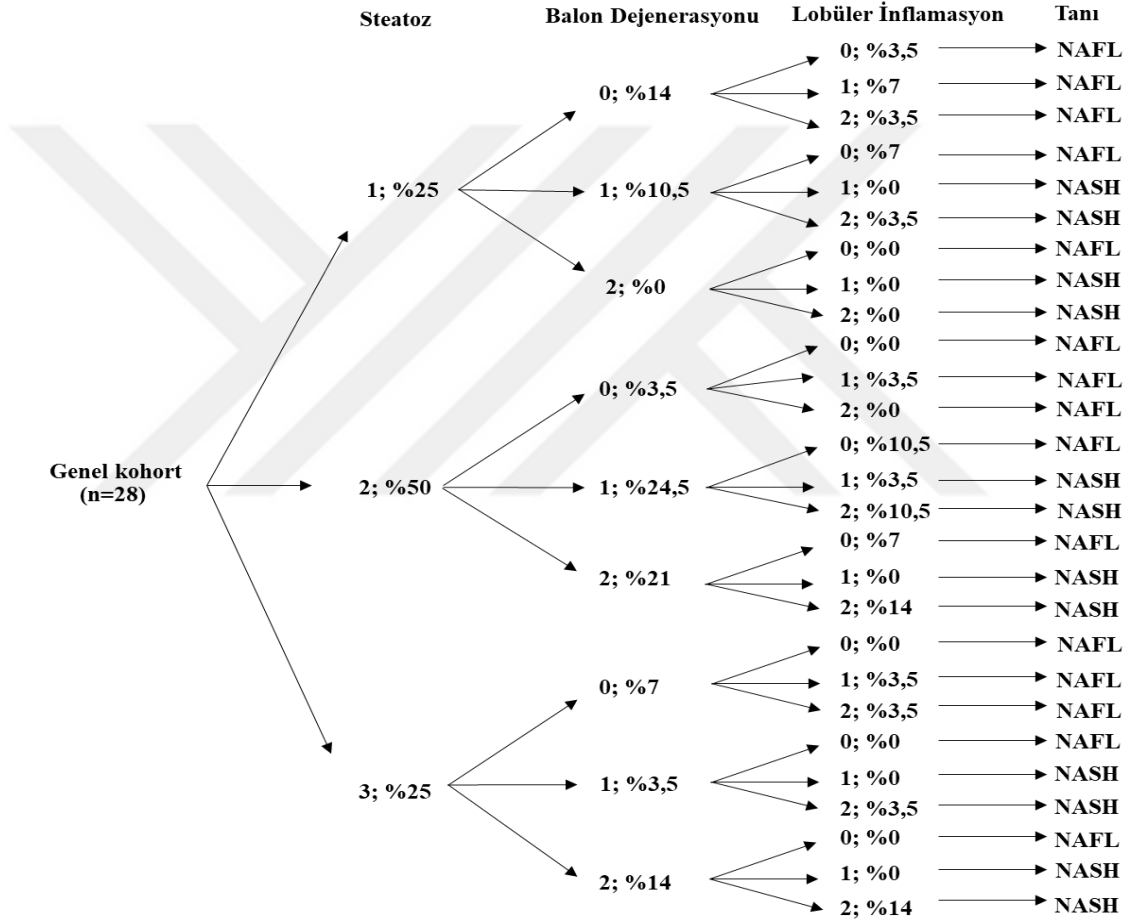
Veriler özetlenirken sürekli değişkenler ile ilgili tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sunuldu. Sürekli değişkenlerin analizinde normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk's testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma uygun olan verilerin 3 grup arasında karşılaştırılmasında One Way ANOVA analizi, 2 grup arasında karşılaştırılmasında Independent Samples T testi kullanıldı. ANOVA analizinde post hoc test olarak Tukey testi kullanıldı. Normal dağılıma uygun olmayan verilerin 3 grup arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis H analizi, 2 grup arasında karşılaştırılmasında Mann Whitney U analizi kullanıldı. Kruskal Wallis H analizinde post hoc test olarak Dunn's testi kullanıldı. CK18-M30 ve PIIINP serum seviyeleri Shapiro-Wilks testine göre normal dağılım göstermemiştir. Gruplar arasında CK18-

M30 ve PIIINP serum seviyeleri Kruskal Wallis H testi ile karşılaştırıldı. CK18-M30, PIIINP serum seviyeleri, histolojik ve biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki Spearman Korelasyon analizi kullanılarak belirlendi. Değerlendirmeler $p<0.05$ veya $p<0.01$ şeklinde sunulmuş olup $p<0.05$ olan durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin analizinde IBM SPSS 22 paket programı kullanıldı (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22 0 Armonk, NY: IBM Corp).



3. BULGULAR

SAF/FLIP algoritması giriş kriteri olarak, hepatosellüler balonlaşma ve lobüler inflamasyon ile ağırlıklandırılan steatoz derecesi kullanıldı. Steatozu %5'in altında olan tüm vakalar NAYKH olmayan, 3 özelliğin her birinin (steatoz, balonlaşma ve lobüler inflamasyon) en az 1. derece ve uyumlu bir genel karaciğer hasarı paterni ile gelen tüm vakalar NASH olarak sınıflandırılmıştır. Kalan vakalar NAFL (NASH'sız NAYKH) olarak tanımlanmıştır (Nascimbeni ve ark 2020).



Şekil 3.1. Genel hasta popülasyonunun SAF/FLİP Algoritmine göre NAYKH sınıflandırılması.

Çalışmada grupların yaş ortalamaları incelendiğinde, en yüksek yaş ortalamasının NASH grubu, en düşük yaş ortalamasının ise kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde VKİ ortalamasının en yüksek olduğu grup NASH iken en düşük ortalama kontrol grubunda saptanmıştır. Hem yaş hem de VKİ ortalamaları, NAFL ile NASH gruplarında kontrol grubuna oranla anlamlı seviyede yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.1).

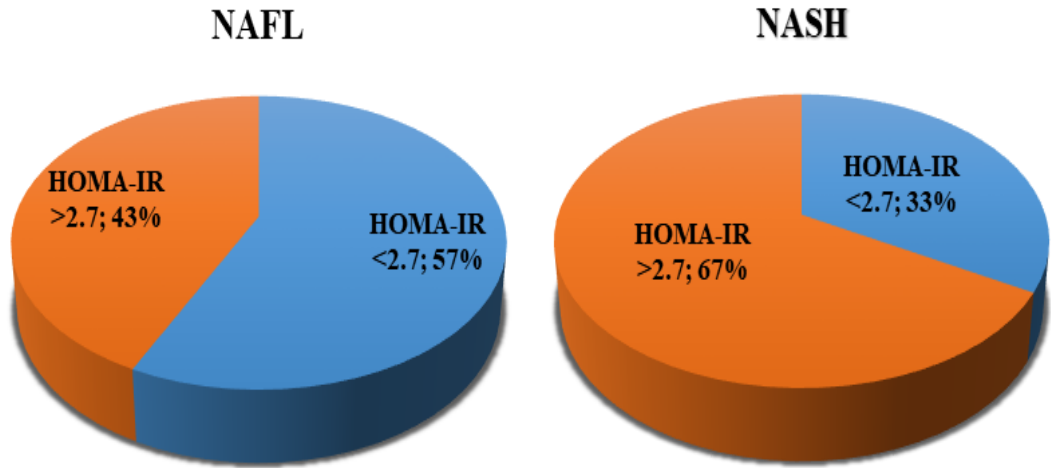
Tablo 3.1. Gruplar arası yaş ve VKİ değerlerinin karşılaştırılması.

Değişken	NAFL (n=14)	NASH (n=14)	Kontrol (n=14)	P	Çoklu karşılaştırma
Yaş	45,57±10,42	50,5±10,9	32,43±6,77	,000	1>3 (p=,002) 2>3 (p=,000)
VKİ	28,87±2,54	30,38±2,94	23,85±2,36	,000	1>3 (p=,000) 2>3 (p=,000)
Diyabet	0,21±0,43	0,57±0,51	0,0±0,0	,003	2>3 (p=,001)
Glukoz (mg/dL)	97,36±22,26	111,29±33,49	86,57±13,79	,098	-
İnsülin	12,79±8,69	17,08±8,70	8,54±2,72	,007	2>3 (p=,001)
HOMA-IR	3,24±2,76	4,81±2,75	1,82±0,72	,006	2>3 (p=,001)
LDL (mg/dL)	131,71±33,28	138,43±31,7	67,36±13,53	,000	1>3 (p=,000) 2>3 (p=,000)
TG (mg/dL)	168,29±44,62	180,79±48,23	96,71±23,71	,000	1>3 (p=,000) 2>3 (p=,000)
TK (mg/dL)	208,64±46,05	213,79±40,86	125,93±28,71	,000	1>3 (p=,000) 2>3 (p=,000)
HDL (mg/dL)	45,29±7,31	44,14±6,48	49,86±8,79	,122	-
ALT (U/L)	81,21±33,81	83,07±30,49	22,14±9,88	,000	1>3 (p=,000) 2>3 (p=,000)
AST (U/L)	59,57±18,92	61,29±22,59	22,57±7,84	,000	1>3 (p=,000) 2>3 (p=,000)
AST/ALT (U/L)	0,8±0,36	0,79±0,35	1,1±0,29	,034	1<3 (p=,000) 2<3 (p=,000)
ALP (U/L)	78,93±37,1	83,21±40,99	69,43±22,94	,619	-
GGT (U/L)	54,93±40,06	56,86±31,33	32,29±13,72	,027	2>3 (p=,008)
Albumin (g/L)	4,31±0,56	4,3±0,5	4,45±0,82	,788	-
T.Bilirubin (mg/dL)	0,79±0,25	0,78±0,28	0,8±0,27	,989	-
Ürik asit (mg/dL)	4,41±1,18	4,63±1,18	4,14±1,09	,534	-
PLT (10 ³ /uL)	228,93±37,84	233,79±61,71	216,71±40,92	,499	-
Nötrofil (10 ³ /uL)	4,3±0,89	4,33±0,59	4,16±1,08	,860	-
Lenfosit (10 ³ /uL)	2,22±0,36	2,25±0,34	2,2±0,33	,916	-
NLO (10 ³ /uL)	1,93±0,24	1,93±0,09	1,89±0,38	,883	-

Çalışma popülasyonunun genel özellikleri Tablo 3. 1.'de özetlenmiştir. Çalışma gruplarında; HDL, ALP, Albümin, T. Bilüribin, Ürikasit, PLT, Nötrofil, Lenfosit, NLO değerlerinde grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı belirlendi.

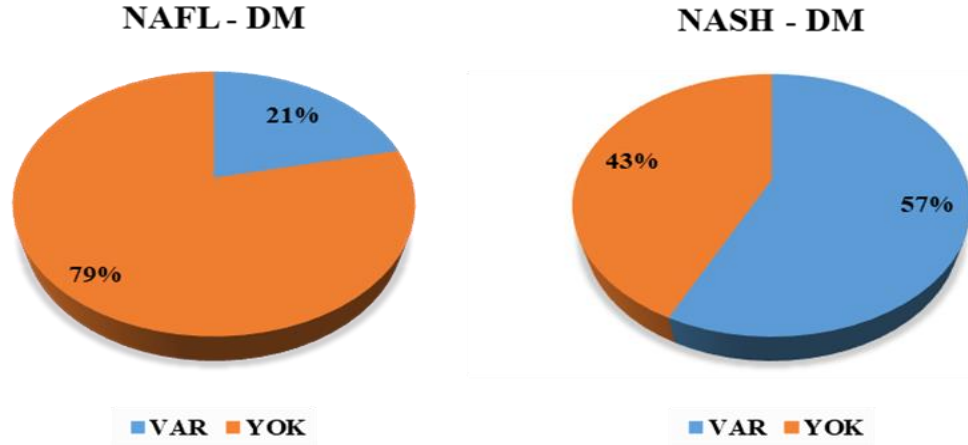
Çalışmada; Diyabet varlığı, Açlık insülini, HOMA-IR, LDL, TG, TK, ALT, AST, AST/ALT, GGT değerlerinde grupların ortalamaları arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu ($p<0,05$) belirlendi. Diyabet durumu, insülin, HOMA-IR ve GGT değerlerinde NASH grubunun ortalamasının kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edildi. LDL, TG, TK, ALT ve AST değerlerinde hem NAFL hem de NASH grubunun ortalamasının kontrol grubunun ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu ($p<0,05$) belirlendi. AST/ALT oranlarında ise kontrol grubunun ortalaması hem NAFL hem de NASH grubunun ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu ($p<0,05$) belirlendi.

Çalışmaya katılan gönüllü kontrol grubunda 1 kişinin laboratuvar sonucu HOMA-IR $>2,7$ (4,03) şeklindeydi. NAYKH gruplarında ise 16 hastanın HOMA-IR değerinin $>2,7$ olduğu tespit edildi. Gruplardaki dağılım şekil 3. 2.'de gösterilmiştir.

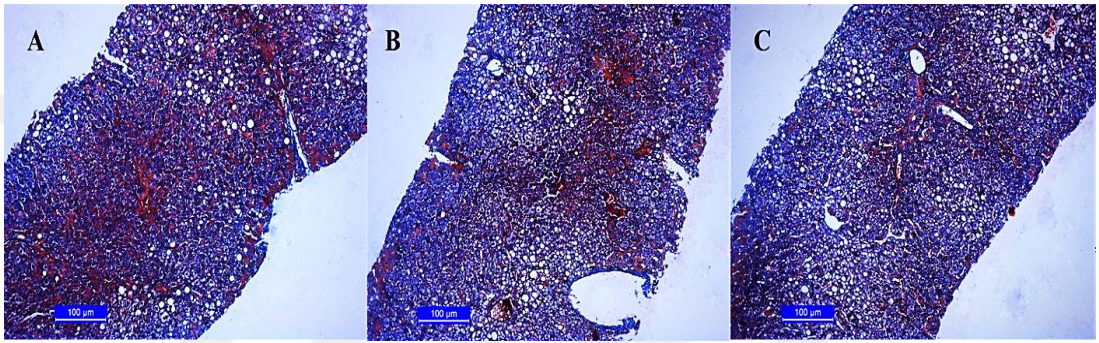


Şekil 3.2. NAYKH alt grupları HOMA-IR oranları.

Çalışmaya katılan gönüllü kontrol grubunda diyabetli hasta yer almazken NAYKH gruplarında 11 hastada diyabet varlığı belirlendi. Gruplardaki dağılım şekil 3. 3.'de gösterilmiştir.

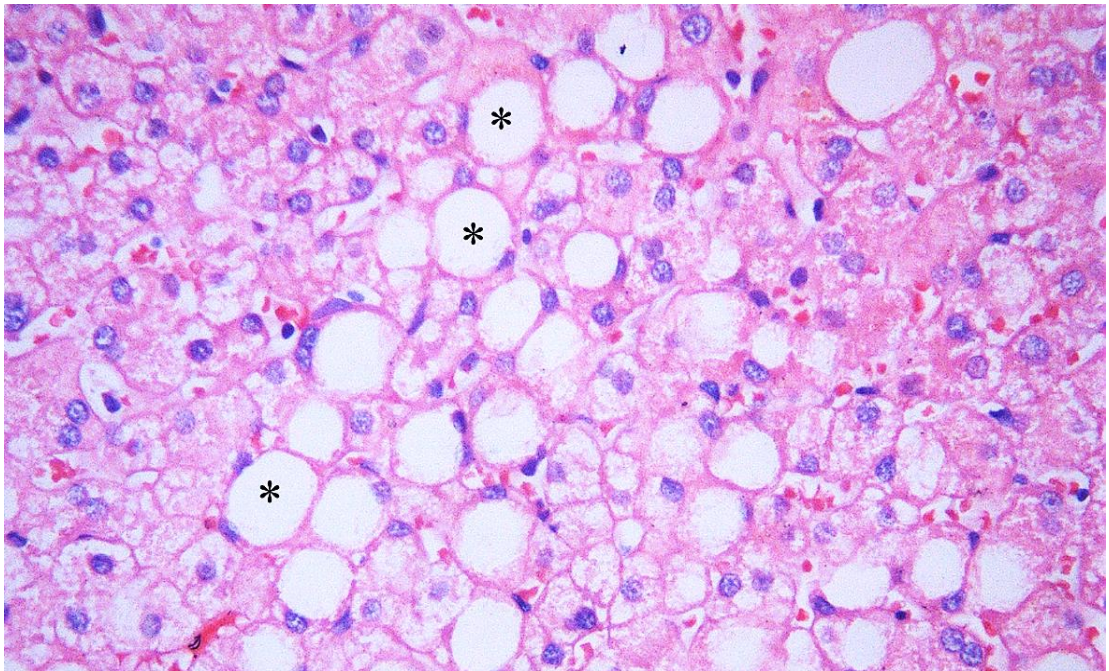


Şekil 3.3. NAYKH alt grupları diyabet oranları.



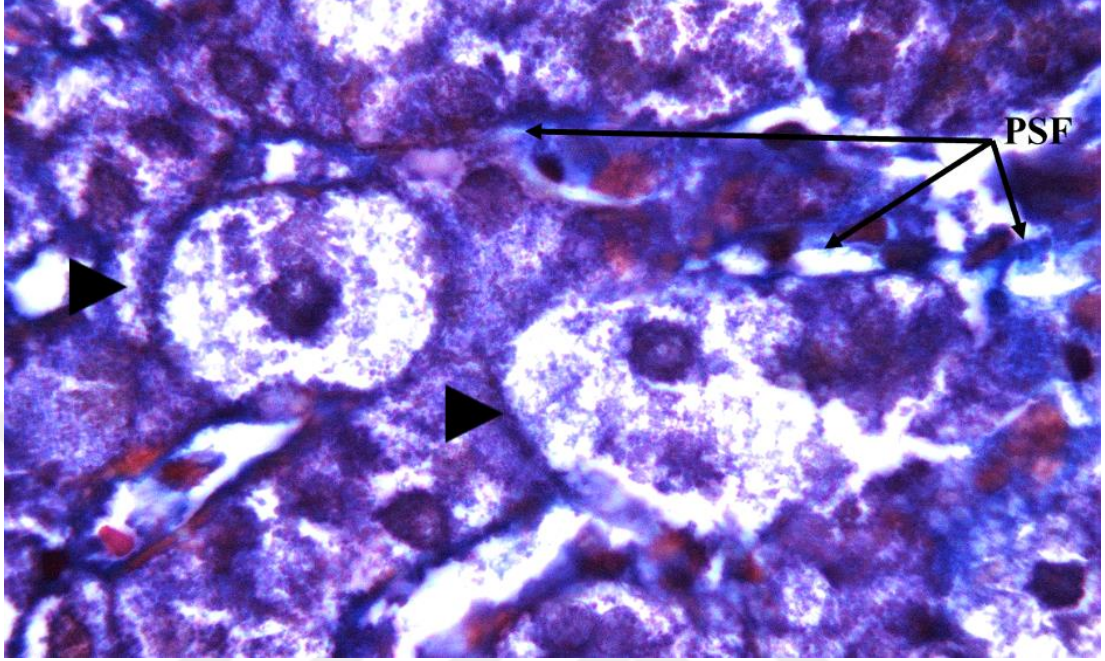
Şekil 3.4. NAYKH biyopsi genel görünümü ve steatoz derecelendirmesi, A; S1 (%5-%33), B; S2 (%34-%66), C; S3 (>%66) (Masson Trikrom, 10X).

Çalışmada 28 biyopsi kanıtlı NAYKH tanısı alan; 7 hasta S1 (%5 - %33), 14 hasta S2 (%34 - %66) ve 7 hasta ise S3 (>66) steatoz derecesine sahipti.



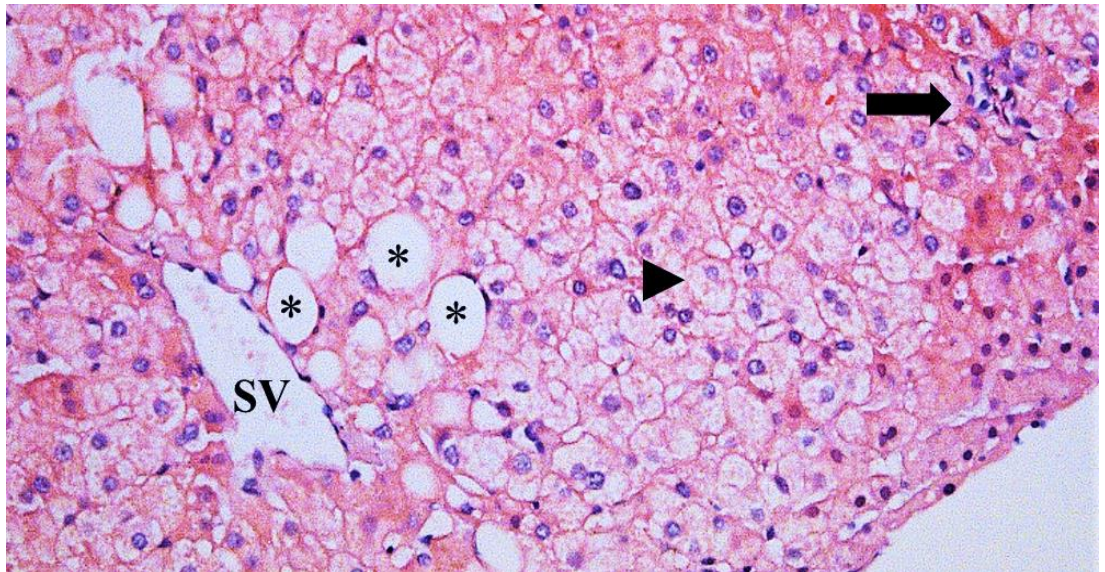
Şekil 3.5. NAFL grubu steatoz histolojik özellikleri, * : Makroveziküler yağlanma (Çekirdeği bir kenara itilmiş hepatosit, tek taş yüzük görüntüsü), (HE, 40X).

Hepatosit balon dejenerasyonu, SAF/FLİP Algoritmine göre NAFL tanısı alan 7 hasta biyopsisinde tespit edilmedi. Bunun haricinde ki NAYKH tanılı 11 hastada 1. derece, 10 hastada ise 2. derece balon dejenerasyonu tespit edildi.



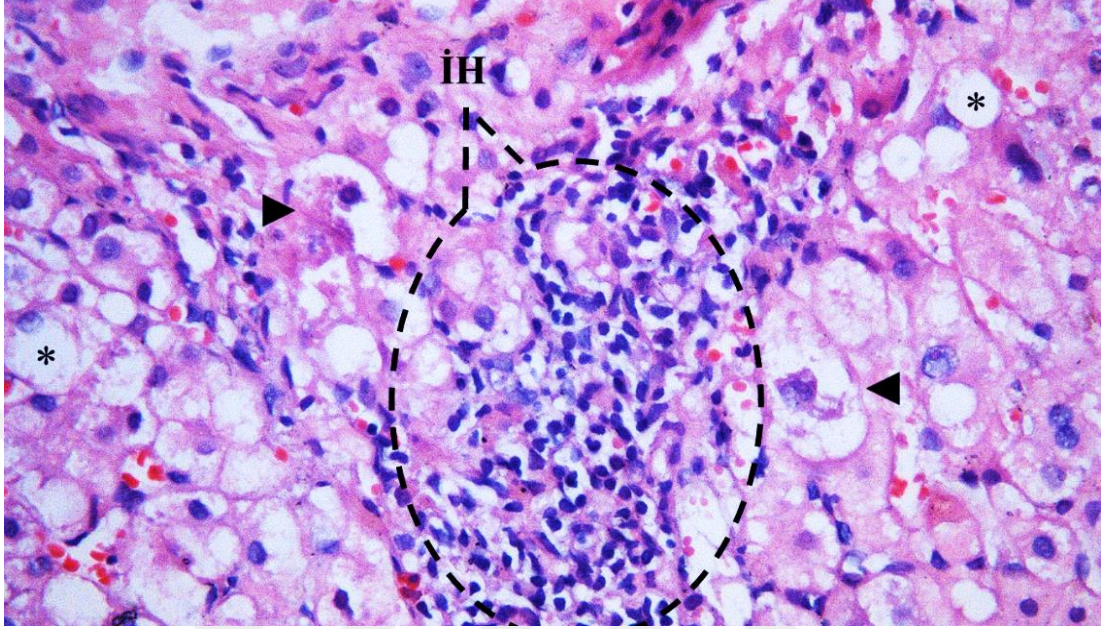
Şekil 3.6. NASH grubu balon dejenerasyonu, PSF: Perisinüzoidal Fibrozis, ► : Balon dejenerasyonu (Masson Trikrom, 100X).

Lobüler inflamasyon, SAF/FLİP Algoritmine göre NAFL tanısı alan 8 hasta biyopsisinde tespit edilmedi. Bunun haricinde ki NAYKH tanılı 5 hastada 1. derece, 15 hastada ise 2. derece inflamasyon tespit edildi.

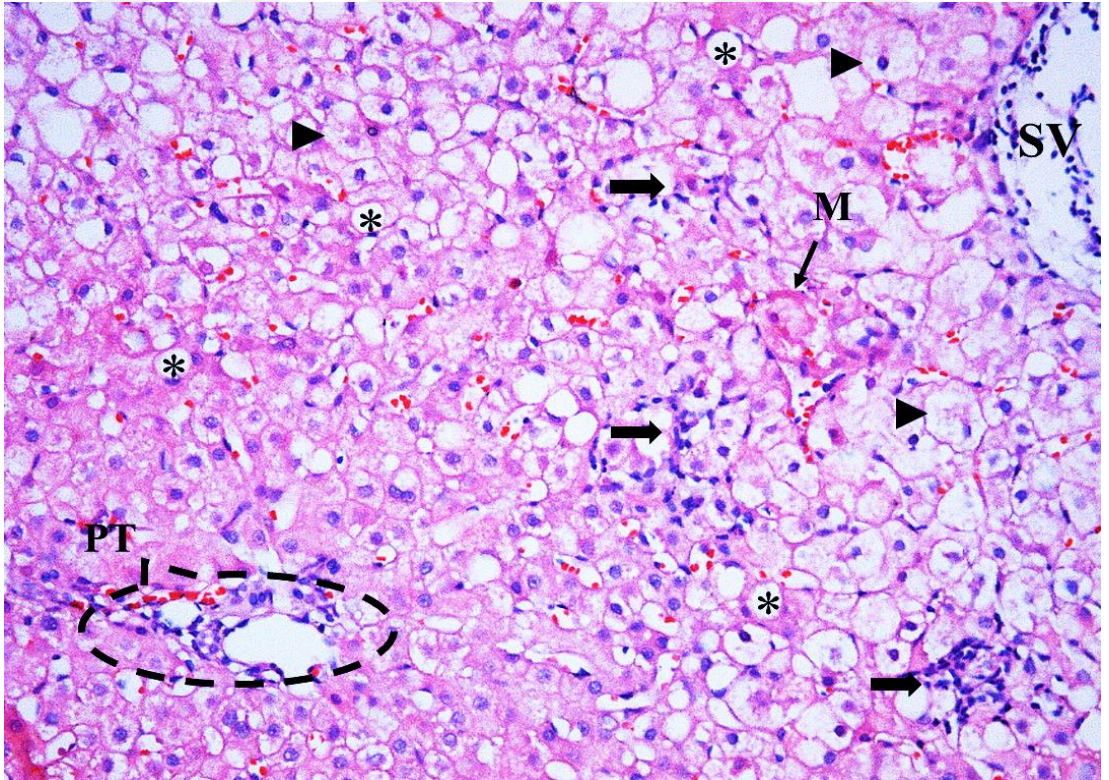


Şekil 3.7. NASH grubu lobüler inflamasyon, SV: Santral Ven, * : Makroveziküler Yağlanma (Sentrolobuler veya Zon 3, S1; % 5-33), ► : Lobüler İnflamasyon Odağı, ► : Balon dejenerasyonu (HE, 20X).

SAF/FLİP Algoritmine göre NASH tanısı alan 1 hasta biyopsisinde arayüz (interface) hepatiti (Şekil 3. 8), 2 hasta biyopsisinde ise Mallory-Denk cisimciği (Şekil 3. 9) tespit edildi.

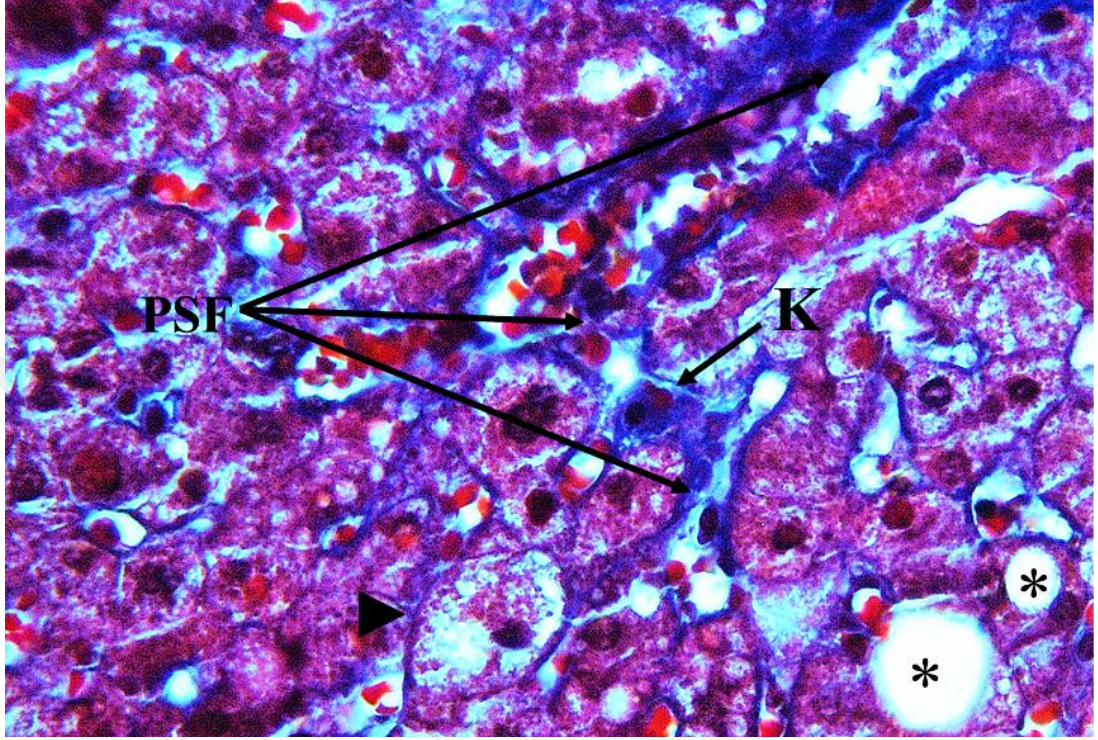


Şekil 3.8. NASH grubu interface (Arayüz) hepatiti, İH: İnterface Hepatiti, *:Makroveziküler Yağlanma, ►: Balon dejenerasyonu (HE, 40X).

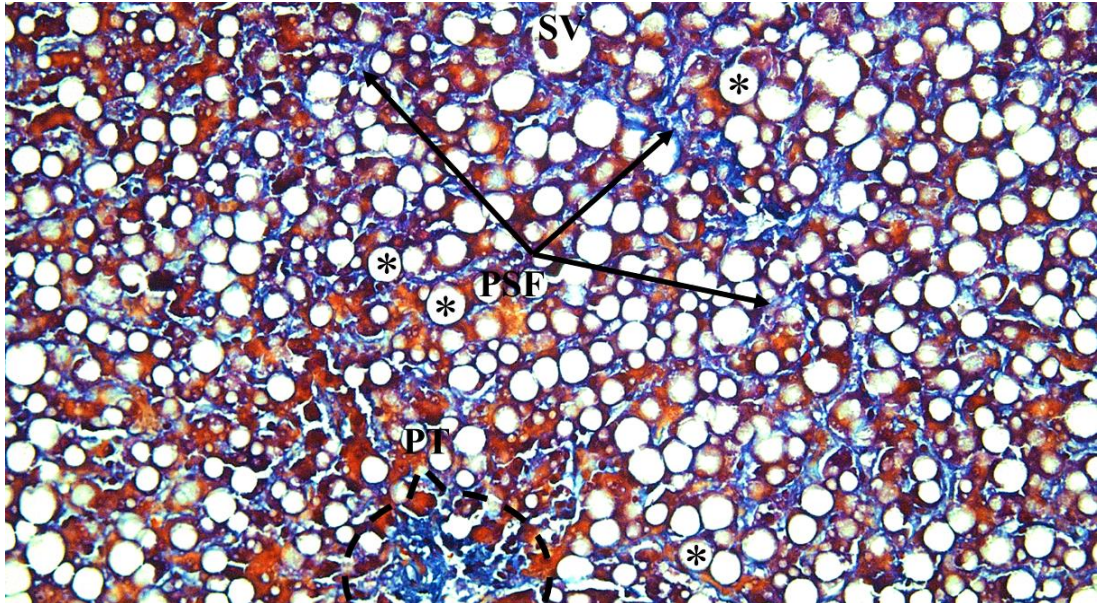


Şekil 3.9. NASH grubu genel histolojik özellikleri, SV: Santral Ven, PT: Portal Triad, * : Makroveziküler Yağlanma (S2; %33-66), ►► :Lobuler İnflamasyon Odağı, ► : Balon dejenerasyonu, M: Mallory-Denk cisimciği (HE, 20X).

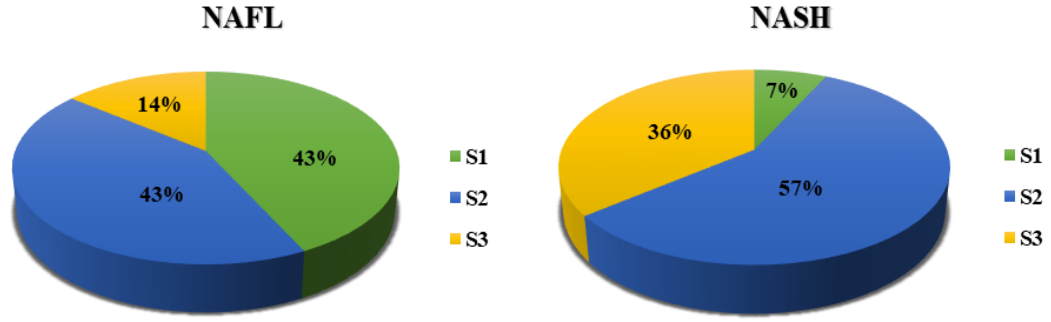
Çalışmada NAYKH tanısı alan; 5 hasta F0; 6 hasta F1; 8 hasta F2 ve 9 hastada ise F3 düzeyinde fibroz tespit edildi. 17 hasta biyopsisinde özellikle Zon III'te (perivenüler alan) perisinüzoidal fibrozis (Şekil 3. 10, 3. 11) belirlenirken hiçbir biyopsi materyalinde F4 (siroz) evre fibrozise rastlanmadı.



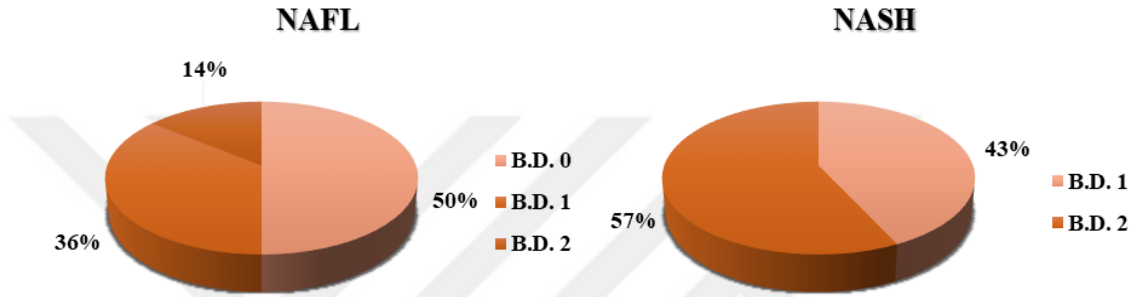
Şekil 3.10. NASH grubu perisinüzoidal fibrozis, PSF: Perisinüzoidal Fibrozis, * : Makroveziküler Yağlanma, ►: Balon dejenerasyonu, K: Kupffer Hücresi (Masson Trikrom, 40X).



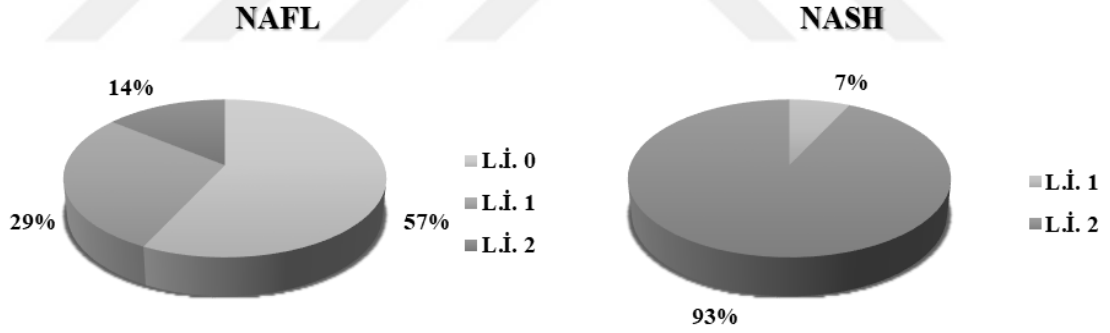
Şekil 3.11. NASH grubu tavuk telli görünümü (perisinüzoidal fibrozis), SV: Santral Ven, PT: Portal Triad, * : Makroveziküler Yağlanma (S3), PSF: Perisinüzoidal Fibrozis (Masson Trikrom, 20X).



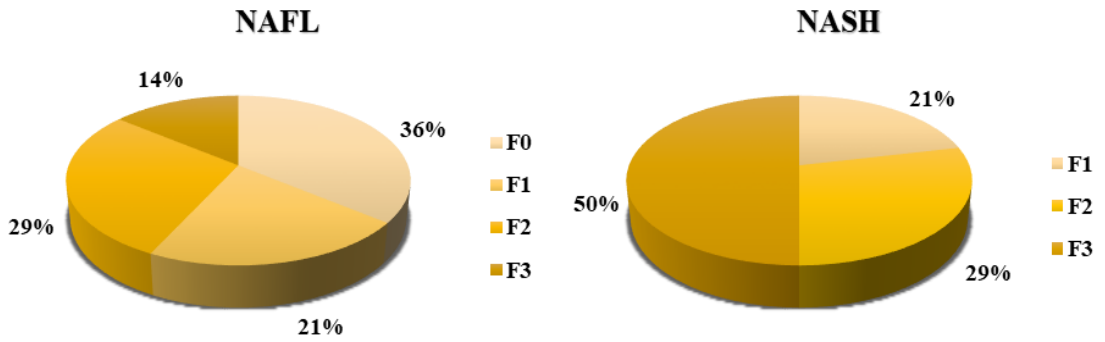
Şekil 3. 12. NAYKH alt grupları steatoz oranları.



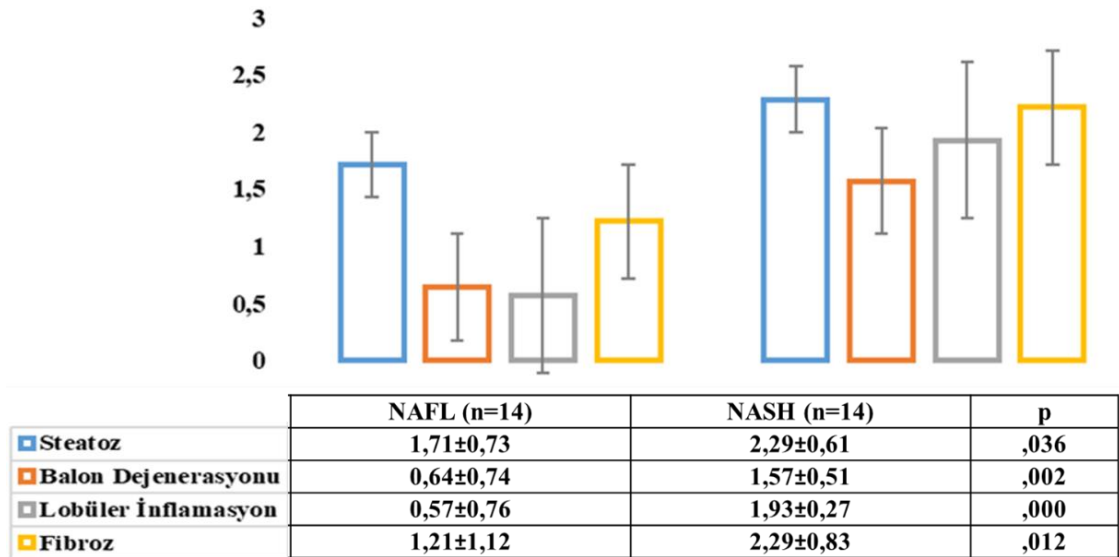
Şekil 3. 13. NAYKH alt grupları balon dejenerasyonu oranları.



Şekil 3. 14. NAYKH alt grupları lobüler inflamasyon oranları.



Şekil 3. 15. NAYKH alt grupları fibroz oranları.



Şekil 3.16. NAYKH popülasyonunun histolojik özellikleri.

Çalışmada histolojik değerlendirme sonuçları ise steatoz, lobüler inflamasyon balon dejenerasyonu ve fibrozun NASH grubunda NAFL grubuna oranla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğunu gösterdi ($p<0,05$) (Şekil 3. 16).

Tablo 3.2. Hastaların karaciğer biyopsi özellikleri (n=28).

SAF sınıflandırmasına göre NASH/NAFL, n	14 (50%) / 14 (50%)
SAF skoruna göre steatoz derecesi (S); S1/S2/S3, n	7 (25%) / 14 (50%) / 7 (25%)
SAF skoru aktivite derecesi (A); A0/A1/A2/A3/A4, n	1 (3,5%) / 9 (32,1%) / 5 (17,8%) / 5 (17,8%) / 8 (28,8%)
SAF skoru fibroz evresi (F); F0 / F1 / F2 / F3 / F4, n	5 (17,8%) / 6 (21,3%) / 8 (28,8%) / 9 (32,1%) / 0 (0%)

Çalışmada 28 biyopsi kanıtlı NAYKH tanısı alan hasta popülasyonu SAF/FLİP Algoritmine göre; 13 hasta $\geq A3$ (%46,5) ve 9 hasta $\geq F3$ (%32,2) olduğu tespit edilirken şiddetli hastalık ise 15 hastada (%53,5) belirlendi.

Tablo 3.3. Gruplarda CK18-M30 ve PIIINP seviyelerinin karşılaştırılması.

Değişken	NAFL (n=14)	NASH (n=14)	Kontrol (n=14)	p	Çoklu karşılaştırma
CK18-M30	110,38±76,864	295,36±218,77	70,95±41,53	,000	1<2 (p=,002) 2>3 (p=,000)
PIIINP	1215,43±161,48	1295,88±249,06	983,08±139,25	,000	1>3 (p=,001) 2>3 (p=,001)

Tablo 3. 3. incelendiğinde, CK18-M30 ölçümünde grupların ölçüm sonuçları arasında anlamlı düzeyde fark olduğu, NASH grubunun ortalamasının NAFL ve Kontrol grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu ($p<0,01$), PIIINP seviyelerinde gruplar arasında anlamlı düzeyde fark olduğu, NAFL ve NASH gruplarının ortalamasının kontrol grubuna oranla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu ($p<0,01$) görülmektedir.

Tablo 3.4. Kontrol Grubu CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	CK18-M30	PIIINP
CK18-M30	r	,453
	p	,104
	n	14
PIIINP	r	,453
	p	,104
	n	14

Tablo 3. 4. incelendiğinde, kontrol grubunda CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olmadığı görülmektedir ($p>0,05$).

Tablo 3.5. NAFL Grubunda CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	CK18-M30	PIIINP
CK18-M30	r	,761**
	p	,002
	n	14
PIIINP	r	,761**
	p	,002
	n	14

** $p<0,01$

Tablo 3. 5. ve 3. 6. incelendiğinde, NAFL ve NASH gruplarında CK18-M30 ile PIIINP seviyeleri arasında pozitif ve yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu görülmektedir (NAFL; $r=,761$; NASH; $r=,697$; $p<0,01$).

Tablo 3.6. NASH grubu CK18-M30 ile PIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	CK18-M30	PIINP
CK18-M30	r	,697**
	p	,006
	n	14
PIINP	r	,697**
	p	,006
	n	14

**p<0,01

Tablo 3.7. NAFL grubunda histolojik parametreler ile CK18-M30 ve PIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	Steatoz	Lobuler İnflam.	Balon Dejener.	Fibroz	CK18-M30	PIINP
Steatoz	r	,097	,136	,329	-,268	-,134
	p	,742	,642	,251	,354	,648
	n	14	14	14	14	14
Lobuler İnflamasyon	r	,097	-,797**	,077	,252	,044
	p	,742	,001	,793	,384	,880
	n	14	14	14	14	14
Balon Dejenerasyonu	r	,136	-,797**	,133	-,211	-,012
	p	,642	,001	,650	,469	,967
	n	14	14	14	14	14
Fibroz	r	,329	,077	,133	-,171	-,101
	p	,251	,793	,650	,560	,732
	n	14	14	14	14	14
CK18-M30	r	-,268	,252	-,211	-,171	,761**
	p	,354	,384	,469	,560	,002
	n	14	14	14	14	14
PIINP	r	-,134	,044	-,012	-,101	,761**
	p	,648	,880	,967	,732	,002
	n	14	14	14	14	14

**p<0,01

Tablo 3. 7. incelendiğinde, NAFL grubunda steatoz, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında negatif ve düşük düzeyde bir ilişki olduğu, lobuler inflamasyon ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında ise pozitif ve düşük bir ilişki olduğu ancak steatoz, lobuler inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olmadığı görülmektedir ($p>0,05$).

Tablo 3.8. NASH grubunda histolojik parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	Steatoz	Lobuler İnflam.	Balon Dejener.	Fibroz	CK18-M30	PIIINP
Steatoz	r	,157	,408	,559*	,365	,540*
	p	,593	,148	,038	,199	,046
	n	14	14	14	14	14
Lobuler İnflamasyon	r	,157	,320	,150	,378	,447
	p	,593	,264	,610	,182	,109
	n	14	14	14	14	14
Balon Dejenerasyonu	r	,408	,320	,311	,036	,215
	p	,148	,264	,278	,903	,461
	n	14	14	14	14	14
Fibroz	r	,559*	,150	,311	,072	,151
	p	,038	,610	,278	,808	,608
	n	14	14	14	14	14
CK18-M30	r	,365	,378	,036	,072	,697**
	p	,199	,182	,903	,808	,006
	n	14	14	14	14	14
PIIINP	r	,540*	,447	,215	,151	,697**
	p	,046	,109	,461	,608	,006
	n	14	14	14	14	14

** $p<0,01$; * $p<0,05$

Tablo 3. 8. incelendiğinde, NASH grubunda steatoz ve lobuler inflamasyon sonuçları ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve orta düzeyde ilişki olduğu, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve düşük

düzeyde ilişki olduğu ancak steatoz, lobuler inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile CK18-M30 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olmadığı ($p>0,05$), steatoz ve lobuler inflamasyon sonuçları ile PIIINP seviyeleri arasında pozitif ve orta düzeyde ilişki olduğu, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile PIIINP seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak lobuler inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile PIIINP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olmadığı ($p>0,05$), steatoz ile PIIINP seviyeleri arasındaki orta düzey ilişkinin ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu ($p<0,05$) görülmektedir.

Tablo 3.9. Kontrol grubu VKİ ve biyokimyasal parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	VKİ	HOMA_IR	TG	ALT	AST	AST / ALT	CK18-M30	PIIINP
VKİ	r	,200	,460	,695**	,290	-,716**	,282	,242
	p	,493	,098	,006	,314	,004	,329	,404
	n	14	14	14	14	14	14	14
HOMA_IR	r	,200	,319	-,183	-,517	-,401	,031	,143
	p	,493	,266	,531	,059	,155	,917	,626
	n	14	14	14	14	14	14	14
TG	r	,460	,319	,428	,175	-,453	,452	,066
	p	,098	,266	,127	,549	,104	,105	,822
	n	14	14	14	14	14	14	14
ALT	r	,695**	-,183	,428	,763**	-,522	,571*	,185
	p	,006	,531	,127	,001	,056	,033	,526
	n	14	14	14	14	14	14	14
AST	r	,290	-,517	,175	,763**	,113	,546*	,200
	p	,314	,059	,549	,001	,700	,043	,493
	n	14	14	14	14	14	14	14
AST/ALT	r	-,716**	-,401	-,453	-,522	,113	-,293	-,154
	p	,004	,155	,104	,056	,700	,309	,598
	n	14	14	14	14	14	14	14
CK18-M30	r	,282	,031	,452	,571*	-,293		,453
	p	,329	,917	,105	,033	,309		,104
	n	14	14	14	14	14		14
PIIINP	r	,242	,143	,066	,185	-,200	,453	
	p	,404	,626	,822	,526	,493	,598	,104
	n	14	14	14	14	14	14	

** $p<0,01$; * $p<0,05$

Tablo 3. 9. incelendiğinde, kontrol grubunda VKİ ve HOMA_IR sonuçları ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde, TG ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve orta düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), AST /ALT oranı ile CK18-M30 seviyeleri arasında negatif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlendi. Ayrıca ALT ve AST ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve orta düzeyde ilişki olduğu ve bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) belirlendi. VKİ, HOMA_IR, TG, ALT ve AST ile PIIINP seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), AST/ALT oranı ile PIIINP seviyeleri arasında negatif ve düşük düzey ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlendi.

Tablo 3.10. NAFL grubu VKİ ve biyokimyasal parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	VKİ	HOMA_IR	TG	ALT	AST	AST / ALT	CK18-M30	PIIINP
VKİ	r	,815**	,771**	-,695**	-,161	,255	,130	-,152
	p	,000	,001	,006	,583	,379	,658	,605
	n	14	14	14	14	14	14	14
HOMA_IR	r	,815**	,758**	-,605*	,132	,376	,202	-,143
	p	,000	,002	,022	,653	,185	,488	,626
	n	14	14	14	14	14	14	14
TG	r	,771**	,758**	-,405	,189	,414	,205	-,213
	p	,001	,002	,151	,517	,142	,483	,464
	n	14	14	14	14	14	14	14
ALT	r	-,695**	-,605*	-,405	,121	-,584*	,042	,145
	p	,006	,022	,151	,680	,028	,887	,620
	n	14	14	14	14	14	14	14
AST	r	-,161	,132	,189	,121	,562*	-,031	,029
	p	,583	,653	,517	,680	,037	,917	,923
	n	14	14	14	14	14	14	14
AST/ALT	r	,255	,376	,414	-,584*	,562*	,065	-,048
	p	,379	,185	,142	,028	,037	,825	,869
	n	14	14	14	14	14	14	14
CK18-M30	r	,130	,202	,205	,042	-,031	,065	,761**
	p	,658	,488	,483	,887	,917	,825	,002
	n	14	14	14	14	14	14	14
PIIINP	r	-,152	-,143	-,213	,145	,029	-,048	,761**
	p	,605	,626	,464	,620	,923	,869	,002
	n	14	14	14	14	14	14	14

** $p<0,01$; * $p<0,05$

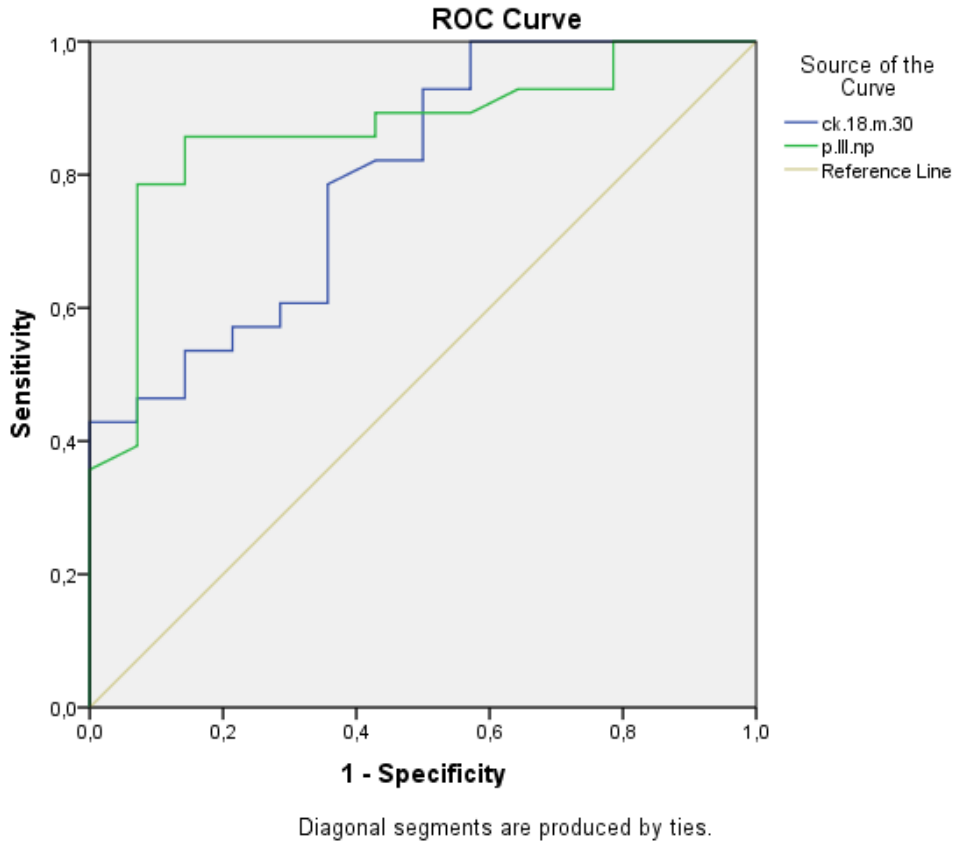
Tablo 3. 10. incelendiğinde, NAFL grubunda VKİ, HOMA_IR, TG, ALT ve AST / ALT oranı ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), AST ölçüm sonuçları ile CK18-M30 ölçümleri arasında negatif ve düşük düzeyde olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlendi. ALT ve AST sonuçları ile PIIINP seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlendi. VKİ, HOMA_IR, TG, AST / ALT oranı ile PIIINP seviyeleri arasında negatif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir.

Tablo 3.11. NASH grubu VKİ ve biyokimyasal parametreler ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasındaki ilişki (Spearman Korelasyon Analizi).

	VKİ	HOMA_IR	TG	ALT	AST	AST / ALT	CK18-M30	PIIINP
VKİ	r	-,002	,728**	,218	-,159	-,309	,064	,046
	p	,994	,003	,454	,588	,282	,829	,876
	n	14	14	14	14	14	14	14
HOMA_IR	r	-,002	-,229	-,537*	,366	,537*	-,020	-,055
	p	,994	,431	,048	,199	,048	,946	,852
	n	14	14	14	14	14	14	14
TG	r	,728**	-,229	,167	,056	-,139	-,376	-,198
	p	,003	,431	,567	,849	,635	,185	,497
	n	14	14	14	14	14	14	14
ALT	r	,218	-,537*	,167	-,178	-,709**	,075	,161
	p	,454	,048	,567	,544	,005	,799	,583
	n	14	14	14	14	14	14	14
AST	r	-,159	,366	,056	-,178	,763**	,099	,148
	p	,588	,199	,849	,544	,002	,736	,615
	n	14	14	14	14	14	14	14
AST/ALT	r	-,309	,537*	-,139	-,709**	,763**	,091	,057
	p	,282	,048	,635	,005	,002	,758	,845
	n	14	14	14	14	14	14	14
CK18-M30	r	,064	-,020	-,376	,075	,099	,091	,697**
	p	,829	,946	,185	,799	,736	,758	,006
	n	14	14	14	14	14	14	14
PIIINP	r	,046	-,055	-,198	,161	,148	,057	,697**
	p	,876	,852	,497	,583	,615	,845	,006
	n	14	14	14	14	14	14	14

**p<0,01; *p<0,05

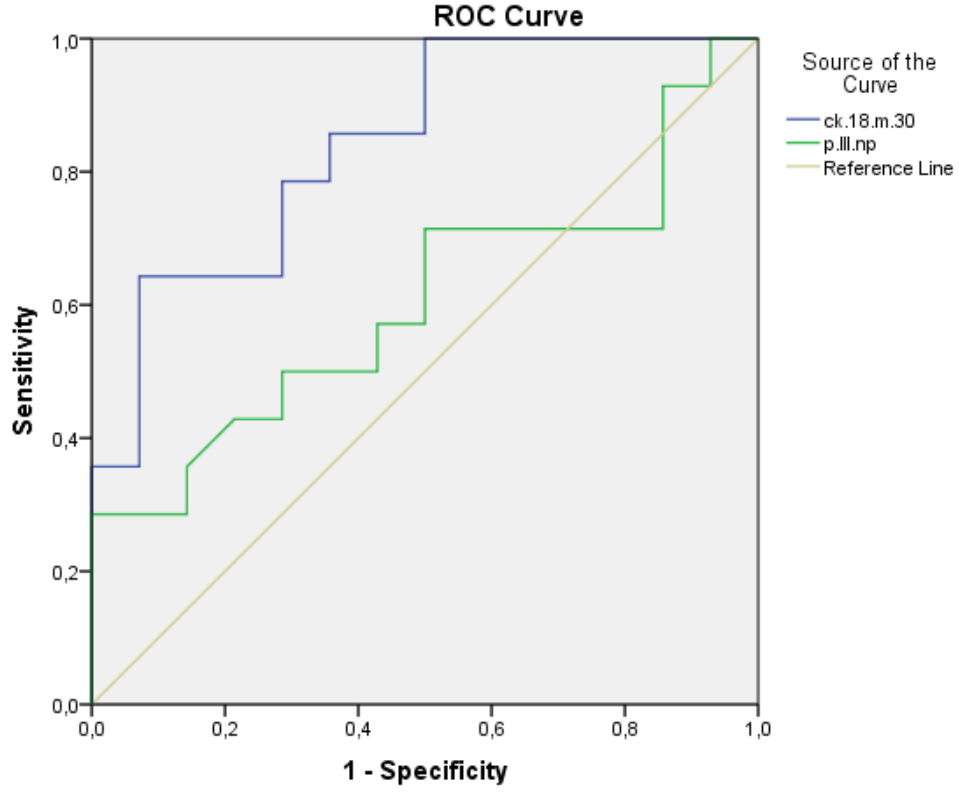
Tablo 3. 11. incelendiğinde, NASH grubunda VKİ, ALT, AST, AST/ALT oranı ile CK18-M30 seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), HOMA_IR sonuçları ile CK18-M30 seviyeleri arasında negatif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), TG sonuçları ile CK18-M30 ölçümleri arasında negatif ve orta düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlendi. VKİ, ALT, AST, AST/ALT oranları ile PIIINP seviyeleri arasında pozitif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$), HOMA_IR, TG sonuçları ile PIIINP seviyeleri arasında negatif ve düşük düzeyde ilişki olduğu ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir.



Şekil 3.17. Kontrol ve hasta grupları (NAFL + NASH) arasında CK18-M30 ve PIIINP seviyelerine ilişkin ROC eğrisi.

Şekil 3. 17. incelendiğinde, PIIINP seviyelerine ilişkin ROC eğrisinin duyarlılığının, CK18-M30 seviyelerine göre daha iyi bir düzeyde olduğu görülmektedir. ROC analizi sonucunda hesaplanan AUC değerleri; CK18-M30 için 0,797 iken PIIINP için 0,867 olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre PIIINP sağlıklı

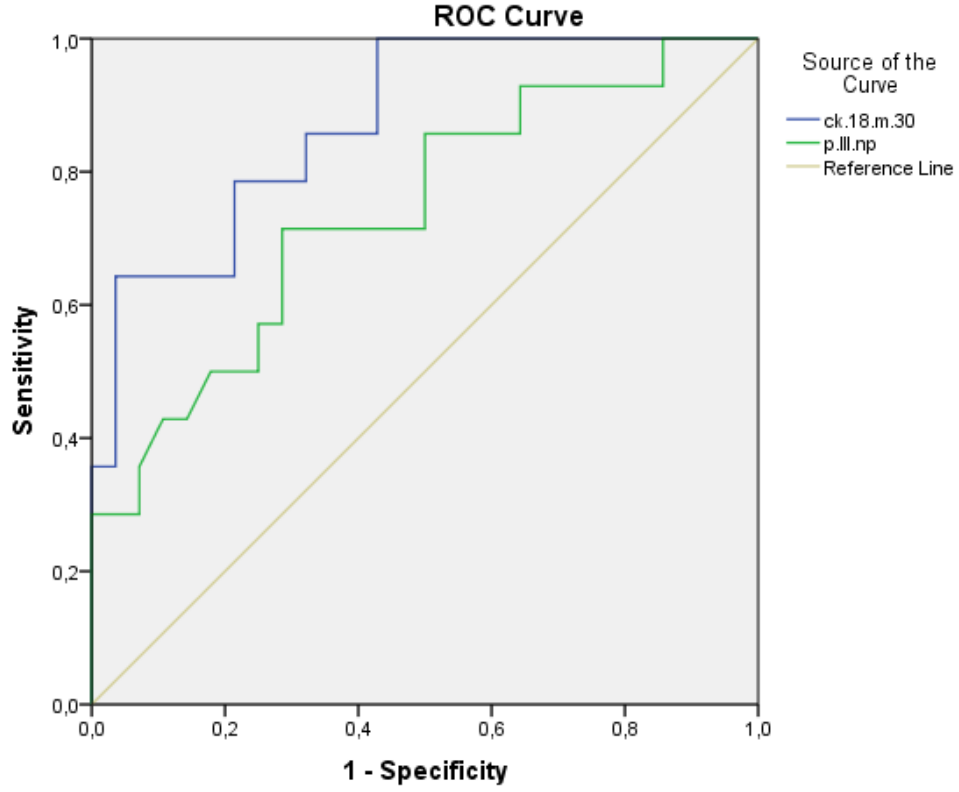
bireyler ile NAYKH (NAFL+NASH) arasında ayırım yapabilmek için CK18-M30'den daha etkili bir sonuç göstermiştir. CK18-M30 sağlıklı bireyleri, NAYKH'dan cut-off 141,50 U/L değerinde; %46,4 duyarlılık ve %92,9 özgüllük ile ayırabilmektedir. Buna karşın PIIINP sağlıklı bireyleri, NAYKH'dan cut-off 1 101,44 pg/ml (1,1 ng/ml) değerinde %78,6 duyarlılık ve %92,9 özgüllük ile performans göstermiştir.



Diagonal segments are produced by ties.

Şekil 3.18. NAFL ve NASH grupları arasında CK18-M30 ve PIIINP seviyelerine ilişkin ROC eğrisi.

Şekil 3. 18. incelendiğinde, CK18-M30 seviyelerine ilişkin ROC eğrisinin duyarlılığının, PIIINP seviyelerine göre daha iyi bir düzeyde olduğu görülmektedir. ROC analizi sonucunda hesaplanan AUC değerleri; CK18-M30 için 0,842 iken PIIINP için 0,605 olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre CK18-M30, NAFL ve NASH arasında ayırım yapabilmek için PIIINP'ye göre daha etkili bir sonuç göstermiştir. CK18-M30, NAFL ve NASH arasında cut-off 194,80 U/L değerinde; %64,3 duyarlılık ve %92,9 özgüllük ile ayırabilmektedir. Buna karşın PIIINP, NAFL ve NASH arasında cut-off 1 396,83 pg/ml (1,39 ng/ml) değerinde; %28,6 duyarlılık ve %92,9 özgüllük ile performans göstermiştir.



Şekil 3.19. NASH'ı tanımlamada, Kontrol+NAFL ve NASH grubu arasında CK18-M30 ve PIIINP seviyelerine ilişkin ROC eğrisi.

Şekil 3. 19. incelendiğinde, CK18-M30 seviyelerine ilişkin ROC eğrisinin duyarlılığının, PIIINP seviyelerine göre daha iyi bir düzeyde olduğu görülmektedir. ROC analizi sonucunda hesaplanan AUC değerleri; CK18-M30 için 0,875 iken PIIINP için 0,740 olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre CK18-M30, NASH'i diğer gruplardan (Kontrol+NAFL) ayırmakta PIIINP'e göre daha etkili bir sonuç göstermiştir. CK18-M30, NASH'i diğer gruplardan ayırmakta cut-off 194,80 U/L değerinde; %64,3 duyarlılık ve %96,4 özgüllük gösterirken PIIINP ise cut-off 1 396,83 pg/ml (1,39 ng/ml) değerinde; %28,6 duyarlılık ve %96,4 özgüllük ile performans göstermiştir.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Covid-19 pandemi süreci ve genel olarak biyopsi kanıtlı NAYKH'nın histolojik sınıflandırmasında NAFL tanısı az sayıda konulmasından dolayı, çalışmanın planlama aşamasında gerek literatür gerek Power analizi (Ek-A) neticesinde hasta gruplarını oluşturmak için gerekli istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilebilecek

minimum hasta sayısı belirlenmiş ve etik kurula bu şekilde başvuru yapılmıştır. Alınan etik kurul kararı doğrultusunda hareket edilmiş olup belirtilen tarih aralığında özellikle NASH tanılı bazı hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Bu sebeplerle örneklemimizin göreceli de olsa az sayıda olması bulgularımızın genelleştirilmesini sınırlar. Ayrıca çalışmanın tek merkezli ve popülasyonun sadece belirli bir bölgeden ibaret olması nedeniyle, elde ettiğimiz bulguların genelleştirilememesi çalışmamızın kısıtlılıklarıdır.



4. TARTIŞMA

Klinik uygulamada NAYKH sınıflandırılmasında özellikle NASH'ın histolojik tanısı için üç standart; Brunt sistemi, NASH CRN ve SAF/FLIP algoritması kullanılmaktadır. Brunt sistemi, NAYKH için histolojik tanı kriterlerinin prototipidir. Bu sistem; steatoz, hepatosit balon dejenerasyonu, lobüler ve portal inflamasyonu hafif, orta ve şiddetli olarak derecelendirir. Ek olarak karaciğer fibrozunu dört aşamada sınıflandırır (Brunt ve ark 1999). Hepatosit balonlaşması, karaciğerde yağ birikimi ve özellikle üçüncü bölgedeki hasar üzerine inflamatuvar hücre infiltrasyonunu vurgulamaktadır. Ancak bu sistem diğer araştırmacılar tarafından kapsamlı bir şekilde desteklenmemiştir. NAS, NASH CRN tarafından önerilmektedir ve klinik yararlılığı bir dizi araştırmacı tarafından onaylanmıştır (Kleiner ve ark 2005). NAS, NASH'ı teşhis etmek için tasarlanmamış olup yağlı karaciğer hastalıkları üzerine bir klinik çalışmada tedavi etkinliğini değerlendirmek için tasarlanmıştır. NAS sistemi fibrozun belirleyen bileşenler içermesine rağmen NAS skoru fibrozun belirlenmesini içermez. Bu nedenle, ileri hepatik fibrozlu ve düşük NAS skorlu veya tam tersi vakalar vardır. Belirgin NASH hastalarının %28'i çalışmada beşten daha az puan alırken, bariz NASH olmayan hastaların %7'si beşten fazla puan almıştır (Brunt ve ark 2011). Bildirilen bu sonuçlar NAS skorunun bazı vakaları doğru bir şekilde tanılamada yetersiz kaldığını göstermektedir. Avrupa FLIP grubu ise SAF skorunu önermiştir (Bedossa ve ark 2012, Bedossa 2014). SAF, NAS skorundan farklı olarak NASH'ı teşhis etmek için hepatik fibrozun dahil edip hepatosit balonlaşmasını daha doğru bir şekilde değerlendirmektedir. SAF ayrıca, birden çok gözlemci tarafından yapılan yorumlamada daha az farklılık avantajına sahiptir (Oh ve ark 2016). Bu sebeple yapılan bu çalışmada NAYKH histolojik sınıflandırılmasında SAF/FLIP algoritmi kullanılmıştır.

Genellikle NAYKH ve T2DM, bir arada bulunur ve sinerjik olarak hareket ederek klinik uygulamada olumsuz sonuçlara yol açmaktadır. NAYKH varlığı, T2DM insidansını artırır ve komplikasyonlarının gelişimini hızlandırır (Shibata ve ark 2007, Targher ve ark 2007, Targher ve ark 2008, Adams ve ark 2009, Park ve ark 2013). Bunun yanında obezitede, NAYKH riskini artırır (Younossi ve ark 2018b). NAYKH prevalansı VKİ'deki artışla orantılıdır (Younossi ve ark 2018a). Yüksek obezite prevalansına paralel olarak, T2DM dünya genelinde artmaktadır. Yaşa göre 40

ila 59 yaşları arasındaki yetişkinler, en yüksek diyabet insidansına sahip grubu oluşturmaktadır. Yaş arttıkça NAYKH ve NAYKH ile ilişkili fibrozun prevalansı artmaktadır. Bu durum, 351 NAYKH hastasından oluşan, biyopsi ile kanıtlanmış retrospektif bir çalışmada doğrulanmıştır. Daha yüksek NAYKH prevalansına ek olarak, yaşlı bireylerde daha yüksek fibroz evresi gözlenmiştir (Younossi 2019).

Bu çalışmadaki grupların yaş ortalamaları incelendiğinde sırasıyla; kontrol ($32,43 \pm 6,77$), NAFL ($45,57 \pm 10,42$) ve NASH ($50,5 \pm 10,9$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. Bu durum dikkate alındığında literatür ile benzer şekilde bu çalışmada da daha yaşlı bireylerde daha yüksek fibroz evresi gözlemlendi. VKİ ortalamasının en yüksek olduğu grup NASH ($30,38 \pm 2,94$) iken bunu NAFL ($28,87 \pm 2,54$) ve kontrol grubu ($23,85 \pm 2,36$) takip etmiştir. Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar VKİ artışı ve obezitenin NAYKH için önemli bir risk faktörü olduğunu desteklemektedir.

Bazı çalışmalarda (McPherson ve ark 2015, Mongraw-Chaffin ve ark 2015, Summart ve ark 2017), kadınlarda erkeklere oranla daha yüksek NAYKH görüldüğü ileri sürmüştür. Tayland'da 34 709 kişi (27 073 kadın ve 7 636 erkek) üzerinde yapılan bir araştırmada (Ascha ve ark 2010), NAYKH yaygınlığını kadınlarda %22,9 ve erkeklerde %18,3 olduğu belirtilmiştir. Aynı araştırmacılar, diğer hastalıklarla birlikte yaş ve T2DM'nin varlığına göre NAYKH prevalansının kadınlarda %4,2 daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bunun aksine, yapılan bu çalışmanın popülasyonu %57,14'ü erkek ve %42,86'sı kadın hastalardan oluşmuştur. Bu çalışma ile benzer şekilde ABD, Güneybatı Çin ve İspanya'da yapılan bir dizi çalışma, erkeklerde NAYKH yaygınlığının daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Frith ve ark 2009, Caballería ve ark 2010, Camhi ve ark 2011, Eguchi ve ark 2012).

Metabolik sendromun hepatik belirtisi olarak kabul edilen NAYKH, çoğu durumda T2DM ve dislipidemi ile ilişkilidir. İD ve obezite ile doğrudan ilişki olan NAYKH, etkisi artan küresel bir sağlık yüküdür (Conway ve ark 2018, Hirode ve ark 2019). Küresel popülasyonun yaklaşık %25'inin NAYKH'den ve/veya komplikasyonlarından etkilendiği bilinmektedir, bu da onu özellikle gelişmiş ülkelerde en yaygın kronik ve ilerleyici karaciğer hastalığı yapmaktadır (Younossi ve ark 2016a, Drescher ve ark 2019). Karaciğer steatozu ve İD arasındaki etkileşim, hem NAYKH hem de T2DM gelişimini teşvik etmek için kısır bir döngü oluşturur. Son

zamanlarda yapılan çalışmalarda, karaciğer steatozunun, fetuin A (Pal ve ark 2012), fetuin B (Meex ve ark 2015), RBP4 (Norseen ve ark 2012), selenoprotein P (Misu ve ark 2010), DPP4 (Baumeier ve ark 2017) ve HFREP1 (Wu ve ark 2016) gibi diyabetojenik özelliklere sahip bir dizi hepatokinin salgılanmasını değiştirdiğini de göstermektedir. Bu hepatokinler, İD'yi indüklemek için karaciğer, kas, yağ dokusu ve pankreastaki metabolizmayı değiştirebilir (Xia ve ark 2019). Ayrıca NAYKH gelişmesinin birincil nedenlerinin obezite, T2DM, dislipidemi, İD ve bazı genetik bozukluklar olduğu konusunda fikir birliği vardır (Drescher ve ark 2019). NAYKH sıklıkla; obezite (%51; %95 güven aralığı [CI], %41 -%61), T2DM (% 22; %95 CI, %18 -%28), hiperlipidemi (%69; %95 CI, %50 -%83), hipertansiyon (%39; %95 CI, %33-%46) ve metabolik sendrom (%42; %95 CI, %30 -%56) gibi metabolik komorbiditelerle ilişkilidir (Younossi ve ark 2016). Ayrıca yapılan çalışmalarda, kişilerde obezite ve İD yokluğunda NAYKH geliştiği bildirilmiştir (Younes ve Bugianesi 2019).

Bu çalışmada biyopsi kanıtlı NAYKH'nda obezite (>30 VKİ) oranının %42,85 olduğu ve hastaların %57,14'ünde insülin direnci (>2,7 HOMA-IR) geliştiği belirlenmiştir.

NAYKH ve NASH hastaları arasında diyabet prevalansının sırasıyla %22,51 ve %43,63 olduğu tahmin edilmektedir ki bu genel popülasyondaki diyabet prevalansından (%8,5) çok daha yüksektir (DSÖ 2016b, Younossi ve ark 2016b). Yapılan bu çalışmada, NAYKH ve NASH hastaları arasında diyabet prevalansının sırasıyla %39,28 ve %57,14 gibi oldukça yüksek oranlarda olduğu gözlenmiştir. Ayrıca literatürde diyabetik hastalarda eş zamanlı NAYKH varlığının, iyi kan glukoz kontrolünü sağlamayı zorlaştırdığı belirtilmiştir (Afolabi ve ark 2018).

Bu çalışmada, açlık kan glukoz seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da göreceli olarak sırasıyla kontrol, NAFL ve NASH grubuna doğru bir yükselme eğiliminde olduğu gözlenmiştir.

Karaciğer steatozunun aterojenik dislipidemiye; artmış LDL partikülleri ve trigliserid, düşük HDL kolesterolü teşvik ettiği belirtilmiştir (Amor ve ark 2017). Literatürde birkaç çalışmaya rağmen (Shanaki ve ark 2017, Waluga ve ark 2019) yapılan pek çok çalışmada hepatosteatoz varlığında serum TK (Sayin ve ark

2014), LDL, TG (Zhang ve ark 2013, Polyzos ve ark 2015, Kutlu ve ark 2019) düzeylerinin arttığı, HDL seviyelerinin ise azaldığı bildirilmiştir (Polyzos ve ark 2014, Choi ve ark 2014).

Yapılan bu çalışmada; TK, LDL ve TG düzeyleri hem NAFL hem de NASH gruplarında istatistiksel olarak anlamlı biçimde kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. HDL düzeyleri ise NAYKH gruplarında göreceli olarak kontrol grubuna kıyasla daha düşük düzeylerde seyretse de bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

NAYKH ilerleyici ve kronik karaciğer hasarının önde gelen nedenidir. NLO, birçok hastalıkta ucuz ve basit inflamasyon belirteci olarak düşünülmektedir. Toplam 873 biyopsi ile kanıtlanmış NAYKH hastası ve 150 sağlıklı kontrolün dahil edildiği bir araştırmada NAYKH'li bireyler NASH olmayan (n=753) ve NASH (n=120) olarak ayrılmış ve kan parametreleri kaydedilip NLO hesaplanmıştır. Araştırma sonucunda NASH hastalarında NASH olmayan hastalara göre daha yüksek NLO saptanmıştır (Abdel-Razik ve ark 2016). Farklı bir araştırmada benzer sonuçlar ortaya koymuş ve NLO'nun hepatik fibroz ve NASH ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Yılmaz ve ark 2015). Bir diğer araştırmada NASH'li ve son dönem karaciğer fibrozlu olgularda, NLO'nun kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (Alkhouri ve ark 2012). Yapılan bu araştırmada ise gruplar arasında NLO değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu verileri destekler şekilde, yağlı karaciğer hastalığı olan geniş bir hasta grubunu içeren bir araştırmada, bu ilişki tartışılmış ve NLO'nun NASH'li hastalarda histolojik inflamatuvar ve fibrotik derecenin bir prediktörü olmadığı ve NAYKH'li hastalarda hepatosit inflamasyonu ve fibroz için bir belirteç olarak benimsenemeyeceği bildirilmiştir (Kara ve ark 2015).

ALT, hepatositlerin sitosolünde zengin bir şekilde bulunan bir enzimdir. Genellikle, sağlıklı popülasyonda ALT serum düzeyi daha az saptanabilir, apoptoz ve hepatosit hasarı meydana geldiğinde, serumdaki ALT değeri önemli ölçüde artmaktadır (Kim ve ark 2008). Karaciğer fonksiyonunun standart bir göstergesi olarak serum ALT değeri, çeşitli kronik karaciğer hastalıklarında hepatik inflamasyonu ve karaciğer hasarını yansıtmak için genellikle kullanılmaktadır. Çoğu zaman, yalnızca ALT değerleri yüksek olan kişiler klinik araştırmalara dahil edilmiştir. Önceki çalışmaların çoğunda, daha yüksek ALT değerleri, özellikle NASH ile daha yüksek NAYKH riski ile sıkı bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Amarapurka ve ark 2006,

Angulo ve ark 2007), ancak farklı çalışmalar histoloji, MRI ve US ile ölçülen NAYKH veya NASH hastalarının normal ALT değerine sahip olduğunu göstermiştir (Umehara 2018, Sheng ve ark 2018, Sun ve ark 2020). Normal ALT değerlerine sahip NAYKH hastaları genellikle ihmal edilmiştir. Çünkü çoğu uzman, ALT değerindeki değişikliğe dayalı olarak hepatik NAYKH riskini değerlendirmektedir. Yapılan bir çalışmada (Ma ve ark 2020) NAYKH hastalarının %25'inin ve NASH hastalarının %19'unun genel NAYKH ve NASH hastalarında normal ALT değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca önemli bir metabolik gösterge olarak ALT değerinin, NAYKH ve NASH'ı teşhis etmek için yeterli doğruluğa sahip olmadığı, NAYKH ve NASH'ı doğru bir şekilde teşhis etmek için karaciğer biyopsisinin gerekli olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada, ALT ve AST değerlerinin NAYKH gruplarında anlamlı olarak kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebinin NAYKH'da normal ALT değerlerine sahip hastaların oranının az oluşu ve çalışmanın biyopsi kanıtlı NAYKH'lı popülasyondan oluşmasından kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Klinik uygulamada sıklıkla inflamasyon için bir belirteç olarak kullanılan serum aminotransferazlar, NASH için zayıf tahmin değerine sahiptir (Chalasani ve ark 2018). Normalin üst sınırının (>70 U/L) iki katından fazla olan serum ALT düzeyi, NASH için yalnızca %50 duyarlılığa ve %61 özgüllüğe sahiptir (Verma ve ark 2013). Ayrıca NAYKH olan hastalarda, özellikle hastalık ilerledikçe normal ALT seviyelerine sahip olabilir. Bu nedenle, yüksek aminotransferazlar NASH için şüphe uyandırır da, NASH'ı dışlamak için normal seviyeler kullanılmamalıdır (Chalasani ve ark 2018). Ayrıca NAYKH hastalarında yükselmiş serum ALT ve AST seviyeleri mevcut olabilir, ancak normal düzeyler NAYKH ve NASH varlığını ortadan kaldırmaz (Taseer ve ark 2009). Bu değerler yükseldiğinde hastalar, özellikle bu oranların daha yüksek olduğu alkolik karaciğer hastalığından farklı olarak, çoğunlukla 1'den düşük serum AST/ALT oranlarına sahiptir (Araujo ve ark 2018).

Bu çalışmada NAYKH gruplarında (NAFL; $0,8\pm0,36$ NASH; $0,79\pm0,35$) AST/ALT oranları, kontrol grubunun aksine, 1 değerinin altında olduğu gözlenmiştir.

CK-18 ağırlıklı olarak sindirim, solunum ve ürogenital sistemlerin glandüler epitelinde bulunur. Karaciğerin başlıca ara filament proteinidir. Hepatositlerin

apoptozu sırasında kaspazlar, CK-18'i böler ve immünolojik testler kullanılarak saptanabilen fragmanlar oluşturur (Bantel ve ark 2001). CK-18 fragmanları, M30 veya M65 kiti kullanılarak ölçülebilir. M30 kiti, apoptozu sırasında üretilen kaspazla bölünmüş CK-18'i ölçerken, M65 kiti hem kaspazla bölünmüş hem de sağlam CK-18 seviyelerini ölçer (Kramer ve ark 2004). Çok merkezli bir çalışmada, M30 ELISA kiti ile ölçülen CK-18 fragmanları, 0,83'lük AUROC ile NASH'ı, NASH olmayanlardan ayırt etmede orta düzeyde bir performansla, %92 özgüllük ve %65 duyarlılığa sahip olduğu bulunmuştur (Feldstein ve ark 2009). Bu bulgular, M30 ELISA kiti ile ölçülen CK-18 fragmanlarının %60-%88 duyarlılık, %66-%97 özgüllük ve AUROC 0,70-0,87 ile NASH'ı öngördüğü bir meta analizde daha da doğrulanmıştır (Kwok ve ark 2014). Ayrıca NASH'ın tespiti için CK-18'in M65 testi ile benzer tanısal doğruluk bildirilmiştir (He ve ark 2017).

Şili'de yapılan bir çalışmada (Arab ve ark 2017) plazma CK-18 seviyelerinin ölçümü, AUC 0,732 (%95 CI 0,572-0,897) ile güvenilir bir NAYKH belirteci olduğu tespit edilmiş, testin duyarlılığının %92,9 ve özgüllüğünün %63 olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada CK18-M30, 141,5 U/L kesme değerinde; %46,4 duyarlılık ve %92,6 özgüllük ile sağlıklı bireyler ve NAYKH arasında ayırım yapabildiği gözlemlenmiştir. Farklı çalışmalar; 0,71-0,93 AUROC ile NASH'ın bir prediktörü olarak CK-18 kullanımını bildirmişlerdir (Yılmaz ve ark 2007, Diab ve ark 2008, Musso ve ark 2010, Younossi ve ark 2011). CK-18'in plazma ölçümünün kullanımı, çok merkezli çalışmalar ve birleşik AUC 0,82 (%95 CI; 0,76-0,88) gösteren bir meta-analiz ile tutarlı bir şekilde doğrulanmıştır (Feldstein ve ark 2009, Musso ve ark 2011). Feldstein ve ark (2009), CK-18'in arttığı her 50 IU/L için NASH olma olasılığının %30 arttığını bildirmiştir (olasılık oranı: 1,74,%95 CI: 1,31–2,31). 389'unda histolojik NASH bulunan toplam 822 hasta ile yapılan bir meta-analiz, NASH'ı teşhis etmek için ayrı bir yüksek duyarlılık ve yüksek özgüllük kesme değeri ve/veya tek bir en iyi genel kesme değerine göre gruplandırılmıştır. Ayrı kesme değeri kullanılan altı çalışmada, yüksek duyarlılık için seçilen CK-18 eşik değeri 111,6-380,0 U/L (%77-90 duyarlılık ve %34-94 özgüllük) aralığında, yüksek özgüllük için seçilen kesme değerlerinin ise 261,4-670 U/L (%24-86 duyarlılık ve %91-100 özgüllük) aralığında olduğu bildirilmiştir. Bu altı çalışma için AUROC 0,71–0,93 aralığında olduğu belirtilmiştir. Tek bir en iyi genel kesme değeri bildiren çalışmalar için, seçilen kesme değeri aralığı 121,6–338,0 U/L (%60–88 duyarlılık,%66–97 özgüllük) ve AUROC 0,70 – 0,87'dir

(Kwok ve ark 2014). Bu çalışmada, NASH'i NAFL'den ayırmak için, CK18-M30; 194,8 U/L kesme değerinde %64,3 duyarlılık ve %92,9 özgüllük göstermiştir. Yapılan farklı bir çalışmada, plazma CK-18, NAYKH ve fibroz için yüksek bir özgüllüğe sahip olduğunu ancak sınırlı duyarlılığının NASH evrelemesi için bir tarama testi olarak onu yetersiz kılacağını bildirmiştir. Ek olarak diğer biyobelirteçlerle veya klinik/laboratuvar testleriyle bir tanı paneli olarak birleştirilip birleştirilememesi için daha fazla çalışmanın gerektiğini belirtmiştir (Cusi ve ark 2014).

Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz, CK-18 (M30) ve NASH (22 çalışma) için, önceki meta-analizlere kıyasla daha düşük tanısal doğruluk bulmuştur (Lee ve ark 2020). Daha önceki yıllarda yapılan meta-analizler: 14 çalışma; AUC 0,82 (He ve ark 2017), yedi çalışma; 0,86 özgüllük, 0,66 bir özet duyarlılık (Kwok ve ark 2014), dokuz çalışma; AUC 0.84 (Chen ve ark 2014) ve dokuz çalışma; AUC 0.82 (Musso ve ark 2011) olarak bildirmiştir. Ortalama yaş, VKİ ve hastalık prevalansı gibi parametreler, bu ve daha önce yayınlanmış meta analizler arasındaki büyük heterojenliğin kaynağı olmadığı bildirilmiştir (Musso ve ark 2011). Bununla birlikte, son zamanlarda yapılan meta analiz, daha düşük performansla daha yeni yayınları içeren daha fazla sayıda çalışma içeriyordu. 2017'den sonra yayınlanan altı çalışma arasında AUC, NASH'ı tespit etmede M30 için 0,59 ile 0,77 arasında değişiyordu; bu, 2008-2010 arasındaki öncü çalışmalara kıyasla gözle görülür bir düşüş (AUC: 0,71 ila 0,88) olduğunun göstergesi olarak yorumlanmıştır (Lee ve ark 2020). Bu durumun aksine, önceki çalışmalar ile paralel olarak bu çalışmada, NASH'ı tespit etmede CK18-M30; 194,8 U/L kesme değeri ile AUC 0,875; %64,3 duyarlılık ve %96,4 özgüllük göstermiştir. Yapılan bir çalışmada (Boursier ve ark 2018) (N = 846) en düşük AUC (0,59) değeri bildirilmiştir. Ancak ilginç bir şekilde, bu çalışma aynı zamanda M30'un fibrotik NASH hastalarını tespit etmede en doğru sonucu verdiği ve 0.72'lik bir AUC'a ulaştığını bildirmiştir. NAYKH biyobelirteci olarak CK-18'in, kademeli olarak daha az etkileyici sonuçlarla paralel olarak, sonraki çalışmalarda yumuşatıldığı bildirilmiştir (Lee ve ark 2020).

Fibroz evresinin, NAFL ve NASH'da klinik sonuçlar ve genel mortalite riski ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu göz önüne alındığında, fibrozu doğru bir şekilde evrelemek için noninvaziv yöntemlerin belirlenmesi önemlidir (Tincopa 2020). Son on yılda, bu amaçla yeni dolaşımdaki biyobelirteçler önerilmiş ve değerlendirilmiştir.

Bu biyobelirteçlerin çoğu; hepatik fibrojeniz, ECM yeniden modelleme proteinleri veya PIIINP gibi fragmanların farklı aşamalarında yer alan biyolojik bileşenlerdir (Guha ve ark 2008). PIIINP, prokollajen tip III'den orantılı olarak ayrılır ve kollajen bölünmesi sırasında kana ve idrara salınır. Bu nedenle, PIIINP'deki bir artış, kolajenin artan sentezinin ve/veya bozunmasının bir sonucu olabilir. Böylece, dolaşımdaki PIIINP seviyeleri, hepatik fibrojenezin invaziv olmayan önemli bir biyobelirteci olarak ortaya çıkmıştır (Ghoul ve ark 2010, Sugimoto ve ark 2016).

ECM'nin bileşenleri de NASH'daki fibroz evresini değerlendirmek için biyobelirteçler olarak ayrı ayrı değerlendirilmiştir. 6,6 ng/mL ve 11 ng/mL'lik kesme değerleri kullanarak PIIINP'yi değerlendiren bir çalışma, ileri fibrozu saptamak için AUROC 0,85-0,87 ile %95'lik bir negatif prediktif değer ve %100 pozitif prediktif değer vermiştir (Tanwar ve ark 2013).

Yapılan bu çalışmada PIIINP, NAFL ve NASH arasında, 1,39 ng/ml kesme değerinde AUC 0,605; %28,6 duyarlılık ve %92,9 özgüllük göstermiştir. Bunun sebebinin çalışma popülasyonunda histolojik olarak ileri derece fibroz düzeyine sahip hasta oranının az oluşundan (F3; n=9 (32,1%), F4; n=0 (0%)) kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Kollajen sentezinin bir başka belirteci olan PRO- C3, ilerlemiş fibrozu saptamak için NAYKH'da izole olarak araştırılmış ve %97'lik bir negatif prediktif değer ve %56 pozitif prediktif değer ile yüksek bir AUROC (0,91) göstermiştir (Boyle ve ark 2019).

Plazma PIIINP seviyeleri, NAFL'li hastalar ile NASH veya ileri fibrozlu hastalar arasında ayrım yapabilen en etkili biyobelirteçlerden biri olarak biyopsi ile kanıtlanmış NAYKH'ye sahip yaklaşık 170 İngiliz orta yaşlı hastayı içeren bir çalışmada doğrulanmıştır (Tanwar ve ark 2013). Biyopsi ile kanıtlanmış NAYKH tanısı alan 204 çocuk /ergenden oluşan bir çalışmada (Mosca ve ark 2019), NASH'lı çocukların plazma PIIINP seviyeleri, APRI ve FIB - 4 skorları NASH olmayanlara göre anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte PIIINP seviyelerinin, karaciğer fibroz evresini tahmin etmek için APRI ve FIB-4 puanlarından çok daha iyi tanısal performans ve doğruluğa sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Ayrıca PIIINP seviyelerinin, toplam NAYKH aktivite skoru ve onu oluşturan bileşenler ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Mosca ve ark 2019).

Bu çalışmalara benzer şekilde yapılan bu araştırmada PIIINP'nin; steatoz, lobuler inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibroz ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği ancak lobuler inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibroz sonuçları ile PIIINP arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olmadığı ($p>0,05$), sadece steatoz ile PIIINP arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişki olduğu ($p<0,05$) gözlemlenmiştir.

Gelişmiş karaciğer fibrozu skoru (ELF); doku inhibitörü metaloproteinazlar-1 (TIMP-1), PIIINP ve hiyaluronik asit (HA) ölçümlerini içeren bir algorithmada birleştirir (Rosenberg ve ark 2004). ELF, NAYKH'li hastalarda, referans standardı olarak karaciğer biyopsisini kullanarak ileri fibrozisi tespit etmek ve tedaviye yanıt olarak veya zamanla fibrozdaki değişiklikleri izlemek için iyi tanısal doğruluk göstermiştir (Gawrieh ve ark 2021). ELF'nin bileşenlerinden biri olan PIIINP'in, histoloji ile evrelenen veya ELF ile ölçülen karaciğer fibrozundan bağımsız olarak, NAYKH'deki inflamasyonun şiddeti ile ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir (Tanwar ve ark 2013). Yapılan bir çalışmada ELF'nin, NASH hastalarında klinik olarak anlamlı ve ilerlemiş fibroz ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu ancak uzunlamasına değişiklikleri fibrozda ki iyileşme ile ilişkili olmadığını bildirmiştir. Ancak bileşenlerinden biri olan PIIINP'nin, NASH hastalarında uzunlamasına histolojik değişiklikleri tanımlamak için ümit verici görüldüğünü ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir (Gawrieh ve ark 2021).

Çok sayıda model, CK-18'i diğer kan temelli parametreleri ve klinik özelliklerle birleştirmiş ve NAYKH'li bireyler arasında NASH tahmininde iyileşme olduğunu göstermiştir (Cao ve ark 2013). CK-18 fragmanları, PRO-C3, acetyl- high mobility group box 1 ve PNPLA3 rs738409'un C-terminal bölünme bölgesi ile birleştiren bir model en yüksek AUROC 0,87 (duyarlılık %71 ve özgüllük %87) ile NASH'ı teşhis etmek için doğruluk bildirmiş ancak bu sonuçlar harici olarak doğrulanmamıştır (Chernbumroong ve ark 2017).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada yaş, VKİ, Diyabet varlığı, İD, karaciğer enzimleri ve lipit profili değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu belirlendi. Karaciğer biyopsilerinin histolojik değerlendirmesinde NASH grubu sonuçlarının, NAFL grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlemlendi. Serum CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri tüm çalışma grupları arasında anlamlı düzeyde farklılık gösterdi. Çalışmaya katılan sağlıklı bireylerin CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmaz iken; NAFL ve NASH gruplarında CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında pozitif yüksek düzeyde bir ilişki olduğu belirlendi. NAFL grubunda lobuler inflamasyon ile CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri arasında pozitif düşük düzey, NASH grubunda ise CK18-M30 ve PIIINP seviyeleri; balon dejenerasyonu ve fibroz ile pozitif düşük düzey, steatoz ve lobuler inflamasyon ile pozitif orta düzey istatistiksel olarak anlamlı olmayan ilişki gösterdi. Çalışma popülasyonundaki sağlıklı bireyleri NAYKH gruplarından (NAFL+NASH) ayırmada CK18-M30'a göre, PIIINP daha iyi bir performans göstermiştir. Ancak NAFL ve NASH grupları arasında ayırım yapmada ise PIIINP'ye göre, CK18-M30'un daha iyi bir performans gösterdiği gözlemlenmiştir.

Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre; biyopsi kanıtlı NAYKH'da elde edilen verilerin, hem PIIINP hem de CK18-M30'un kısmen histolojik parametreler ile ilişkili olduğu belirlendi. Ayrıca PIIINP ve CK18-M30 arasında NAYKH alt gruplarında pozitif yönde ilişki olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar, özellikle NASH ve NAFL arasında ayırım yapmada her iki belirtecin etkili olabileceklerini göstermiştir. Ancak bu çalışma ve yapılan diğer çalışmalarda sunulan PIIINP ve CK18-M30'un etkinlik düzeyi ve özellikle kesme değerleri farklılık göstermektedir. Ayrıca tek bir belirtecin bu ayırımı yapmada yetersiz olabileceği, testlerin tek başına kullanımı yerine kombine kullanımının, çeşitli panel veya algoritmaların geliştirilmesi ve araştırılması açısından daha uygun olacağı düşüncesindeyiz. Bu nedenle özellikle daha büyük NAYKH popülasyonlarında yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Abdel-Razik A, Mousa N, Shabana W, Refaey M, ElMahdy Y, Elhelaly R, et al. 2016. A novel model using mean platelet volume and neutrophil to lymphocyte ratio as a marker of nonalcoholic steatohepatitis in NAFLD patients: multicentric study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 28(1), e1-e9.
- Abdullah Z, Knolle PA, 2017. Liver macrophages in healthy and diseased liver. *Pflugers Arch*, 469, 553–60.
- Adams LA, Waters OR, Knuiman MW, Elliott RR, Olynyk JK, 2009. NAFLD as a risk factor for the development of diabetes and the metabolic syndrome: an eleven-year follow-up study. *Am J Gastroenterol*, 104, 861–867.
- Afolabi BI, Ibitoye BO, Ikem RT, Omisore AD, Idowu BM, Soyoye DO, 2018. The Relationship Between Glycaemic Control and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Nigerian Type 2 Diabetic Patients. *J Natl Med Assoc*, 110 (3), 256–264.
- Ajmera V and Loomba R, 2018. Can elastography differentiate isolated fatty liver from nonalcoholic steatohepatitis? *Semin Liver Dis*, 38, 14–20.
- Ajmera V, Perito ER, Bass NM, Terrault NA, Yates KP, Gill R, et al. 2017. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 65, 65- 77.
- Alexander M, Loomis AK, Fairburn-Beech J, et al. 2018. Real-world data reveal a diagnostic gap in non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med*, 16, 130.
- Alkhouri N, Morris-Stiff G, Campbell C, et al. 2012. Neutrophil to lymphocyte ratio: a new marker for predicting steatohepatitis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver International: Official Journal of The International Association for The Study of The Liver*, 32(2), 297-302.
- Amarapurka DN, Amarapurkar AD, Patel ND, et al. 2006. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) with diabetes: predictors of liver fibrosis. *Ann Hepatol*, 5, 30–3.
- Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, Baijal R, Lala S, Chaudhary D, Deshpande A, 2007. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Ann Hepatol*, 6, 161–163.
- Amor AJ, Pinyol M, Solà E, Catalan M, Cofan M, Herreras Z, et al. 2017. Relationship between noninvasive scores of nonalcoholic fatty liver disease and nuclear magnetic resonance lipoprotein abnormalities: a focus on atherogenic dyslipidemia. *J Clin Lipidol*, 11, (2), 551–561.
- Anastasi G, 2007. *Trattato di anatomia umana*. (Edi. Ermes)
- Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. 2007. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 45, 846-854.
- Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. 2015. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 149, 389- 397.
- Anty R, Iannelli A, Patouraux S, et al. 2010. A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Aliment Pharmacol Ther*, 32, 1315–1322.
- Arab JP, Hernández-Rocha C, Morales C, Vargas JI, Solís N, et al. 2017. Serum cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive marker of nonalcoholic steatohepatitis in the Chilean population. *Gastroenterologíay Hepatología (EE)*, 40, 6, 388-394.
- Araujo AR, Rosso N, Bedogni G, Tiribelli C, Bellentani S, 2018. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. *Liver Int*, 38, 47–51.

- Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamimi TA, Feldstein AF, Zein NN, 2010. The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 51, 1972–1978.
- Ballestri S, Lonardo A, Romagnoli D, et al. 2012. Ultrasonographic fatty liver indicator, a novel score which rules out NASH and is correlated with metabolic parameters in NAFLD. *Liver Int*, 32, 1242–1252.
- Bantel H, Ruck P, Gregor M, Schulze- Osthoff K, 2001. Detection of elevated caspase activation and early apoptosis in liver diseases. *Eur J Cell Biol*, 80, 230–9.
- Baranova A, Lal P, Biredine A, et al. 2011. Non-Invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol*, 11, 91–6.
- Baumeier C, Schluter L, Saussenthaler S, Laeger T, Rödiger M, Alaze SA, et al. 2017. Elevated hepatic DPP4 activity promotes insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Metab*, 6(10), 1254–1263.
- Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, et al. 2006. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*, 6, 33.
- Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, et al. 2010. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol*, 10, 98.
- Bedossa P, 2014. FLIP Pathology Consortium Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 60, 565–575.
- Bedossa P, 2017. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International*, 37, 85–89.
- Bedossa P, 2018. Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: Why liver biopsy is essential. *Liver Int*, 38, 64–66.
- Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, Bouillot JL, Basdevant A, Paradis V, et al. 2012. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*, 56, 1751–1759.
- Bhala N, Angulo P, van der Poorten D, Lee E, Hui JM, Saracco G, Adams LA, Charatcharoenwitthaya P, Topping JH, Bugianesi E, et al. 2011. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis: an international collaborative study. *Hepatology*, 54, 1208–1216.
- Bismuth H, 1982. Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver. *World J Surg*, 6, 3–9.
- Blouin A, Bolender RP, Weibel ER, 1977. Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in the rat liver parenchyma. A stereological study. *J Cell Biol*, 72, 441–55.
- Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J, 2011. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol*, 21, 87–97.
- Bort R, Signore M, Tremblay K et al. 2006. Hex homeobox gene controls the transition of the endoderm to a pseudostratified, cell emergent epithelium for liver bud development. *Dev Biol*, 290, 44–56.
- Boursier J, Anty R, Vonghia L, Moal V, Vanwolleghem T, Canivet CM, et al. 2018. Screening for therapeutic trials and treatment indication in clinical practice: MACK-3, a new blood test for the diagnosis of fibrotic NASH. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 47, 10, 1387–96.
- Boyle M, Tiniakos D, Schattenberg JM, Ratzliff V, Bugianesi E, Petta S, Oliveira CP, Govaere O, Younes R, McPherson S, Bedossa P, Nielsen MJ, Karsdal M, Leeming D, Kendrick S, Anstee QM, 2019. Performance of the PRO-C3 collagen neo-epitope biomarker in non-alcoholic fatty liver disease. *JHEP Reports*, 1, 3, 188-198.
- Bril F, Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, et al. 2015. Clinical value of liver ultrasound for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in overweight and obese patients. *Liver Int*, 35, 2139–2146.
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. 2004. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 40, 1387–1395.

- Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR, 1999. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 94, 2467–2474.
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA, 2011. NASH Clinical Research Network (CRN) Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*, 53, 810–820.
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, et al. 2009. NASH Clinical Research Network. 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*, 46, 809–820.
- Brunt EM, Ramrakhiani S, Cordes BG, et al. 2003. Concurrence of histologic features of steatohepatitis with other forms of chronic liver disease. *Mod Pathol*, 16, 49–56.
- Burt AD, Ferrell LD, Hubscher SG, 2018. *MacSween's pathology of the liver*. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone.
- Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA, 2016. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 65, 1038–1048.
- Byron D, Minuk GY, 1996. Clinical hepatology: Profile of an urban, hospital-based practice. *Hepatology*, 24, 813–815.
- Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. 2010. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 22, 24–32.
- Camhi SM, Bray GA, Bouchard C, Greenway FL, Johnson WD, Newton RL, et al. 2011. The relationship of waist circumference and BMI to visceral, subcutaneous, and total body fat: sex and race differences. *Obesity*, 19, 402–408.
- Campos GM, Bambha K, Vittinghoff E, et al. 2008. A clinical scoring system for predicting nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Hepatology*, 47, 1916–1923.
- Cao W, Zhao C, Shen C, Wang Y, 2013. Cytokeratin 18, alanine aminotransferase, platelets and triglycerides predict the presence of nonalcoholic steatohepatitis. *PLoS One*, 8, 12, 82092.
- Castera L, 2015. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*, 35, 291–303.
- Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R, 2019. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, 156, 5, 1264–1281, e4.
- Caussy C, Reeder SB, Sirlin CB, et al. 2018. Non-invasive, quantitative assessment of liver fat by MRI-PDFF as an endpoint in NASH trials. *Hepatology*, 68, 763–772.
- Caussy C, Soni M, Cui J, et al. 2017. Nonalcoholic fatty liver disease with cirrhosis increases familial risk for advanced fibrosis. *J Clin Invest*, 127, 2697–2704.
- Chakraborty JB, Oakley F, Walsh MJ, 2012. Mechanisms and biomarkers of apoptosis in liver disease and fibrosis. *Int J Hepatol*, 64, 8, 915.
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. 2018. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 67, 328–357.
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ, 2012b. American Gastroenterological Association; American Association for the Study of Liver Diseases; American College of Gastroenterology. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*, 142, 1592–1609.
- Chalasani N, Abdelmalek MF, Loomba R, Kowdley KV, McCullough AJ, Dasarthy S, et al. 2019. Relationship between three commonly used non-invasive fibrosis biomarkers and improvement in fibrosis stage in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int*, 39, 924–932.

- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. 2012a. The diagnosis and management of non- alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the american association for the study of liver diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*, 55, 2005– 2023.
- Chan WK, Treeprasertsuk S, Imajo K, Nakajima A, Seki Y, Kasama K, et al. 2018. Clinical features and treatment of nonalcoholic fatty liver disease across the Asia Pacific region-the GO ASIA initiative. *Aliment Pharmacol Ther*, 47, 816–825.
- Chen J, Deng X, Liu Y, Tan Q, Huang G, Che Q, Guo J, Su Z, 2020. Kupffer Cells in Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Friend or Foe?. *International journal of biological sciences*, 16, 13, 2367–2378.
- Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO, Ehman RL, 2011. Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology*, 259, 749–756.
- Chen J, Zhu Y, Zheng Q, Jiang J, 2014. Serum cytokeratin-18 in the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis: A meta-analysis. *Hepatology research: the official journal of the Japan Society of Hepatology*, 44, 8, 854–62.
- Chernbumroong S, Grove JJ, Astbury S, et al. 2017. Advanced machine learning techniques to identify a panel of biomarkers that identify nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, MD)*, 66, 53-54.
- Choi ES, Kim MK, Song MK, Kim JM, Kim ES, Chung WJ, et al. 2014. Association between serum irisin levels and non-alcoholic fatty liver disease in health screen examinees. *PLoS One*, 9, 10, 110680..
- Clotman F, Libbrecht L, Gresh L, et al. 2003. Hepatic artery malformations associated with a primary defect in intrahepatic bile duct development. *J Hepatol*, 39, 686–692.
- Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH, 2011. Human Fatty Liver Disease: Old Questions and New Insights *Science*, 24, 332, 6037, 1519-1523.
- Conway BN, Han X, Munro HM, Gross AL, Shu XO, Hargreaves MK, Zheng W, Powers AC, Blot WJ, 2018. The obesity epidemic and rising diabetes incidence in a low-income racially diverse southern US cohort. *PLoS ONE*, 13, 0190993.
- Coppell KJ, Miller JC, Gray AR, *et al.* 2015. Obesity and the extent of liver damage among adult New Zealanders: findings from a national survey. *Obes Sci Pract*, 1 pp. 67-77.
- Cross TJ, Calvaruso V, Maimone S, et al. 2010. Prospective comparison of Fibroscan, King's score and liver biopsy for the assessment of cirrhosis in chronic hepatitis C infection. *J Viral Hepat*, 17, 546–54.
- Cusi K, Chang Z, Harrison S, Lomonaco R, Bril F, Orsak B, Ortiz-Lopez C, Hecht J, Feldstein AE, Webb A, et al. 2014. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 60, 167–174.
- Çelik-Samancı T, 2015. Kateşin ve Gallik Asitin Sıçan Karaciğer Yağlanmasına Etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Dam-Larsen S, Franzmann M, Andersen IB, Christoffersen P, Jensen LB, Sørensen TI, Becker U, Bendtsen F, 2004. Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. *Gut*, 53, 750–755.
- Diab DL, Yerian LP, Schauer SR, Kashyap R, Lopez Hazen SL, et al. 2008. Cytokeratin 18 fragment levels as a noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 6, 1249-1254.
- Dolce CJ, Russo M, Keller JE, et al. 2009. Does liver appearance predict histopathologic findings: prospective analysis of routine liver biopsies during bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis*, 5, 323– 328.
- Dongiovanni P, Anstee QM, Valenti L, 2013. Genetic predisposition in NAFLD and NASH: impact on severity of liver disease and response to treatment. *Curr Pharm Des*, 19, 5219–5238.
- Donoso L, Martínez-Noguera A, Zidan A, Lora F, 1989. Papillary process of the caudate lobe of the liver: sonographic appearance. *Radiology*, 173, 631–633.
- Drescher HK, Weiskirchen S, Weiskirchen R, 2019. Current Status in Testing for Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Cells*, 8, 8, 845.

- DSO, 2016a. Prevention and management of the global epidemic of obesity. Report of the WHO Consultation on Obesity (Geneva, June, 3–5, 1997). Geneva: WHO. file:///C:/Users/tr/Documents/Downloads/WHO_NUT_NCD_98.1_(p1-158).pdf (Erişim Tarihi: 13.03.2016).
- DSO, 2016b. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Global report on diabetes.
- DSO, 2017. Tenfold increase in childhood and adolescent obesity in four decades: new study by Imperial College London and WHO 11 October, News Release LONDON. <http://www.who.int/news-room/detail/11-10-2017-tenfold-increase-in-childhood-and-adolescent-obesity-in-four-decades-new-study-by-imperial-college-london-and-who>.
- Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al. 2017. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*, 65, 1557-1565.
- Dyson JK, McPherson S, Anstee QM, 2013. Non-alcoholic fatty liver disease: non-invasive investigation and risk stratification *J Clin Pathol*, 66, 1033-1045.
- Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, Mizuta T, Ono N, Fujimoto K, et al. 2012. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J Gastroenterol*, 47, 586–595.
- Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, et al. 2015. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*, 61, 1547-1554.
- Eren F, Yilmaz Y, Kose S, Ozdemir FT, Yonal O, Kurt R, et al. 2010. Caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18 in patients with chronic hepatitis B. *Clin Chim Acta*, 411, 23-24, 2029-32.
- Eslam M, et al. 2020. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease. *Gastroenterology*, 158, 1999–2014.
- Estes C, Anstee QM, Arias-Loste MT, Bantel H, Bellentani S, Caballeria J, et al. 2018a. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030. *J Hepatol*, 69, 896-904.
- Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ, 2018b. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology*, 67, 123-133.
- European Association for Study of Liver (EASL), 2015. Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*, 63, 237–264.
- European Association for the Study of the Liver (EASL) 2016, European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 64, 1388–1402
- Fair JH, Cairns BA, Lapaglia M, et al. 2003. Induction of hepatic differentiation in embryonic stem cells by co-culture with embryonic cardiac mesoderm. *Surgery*, 134, 189–196.
- Fan JG, Kim SU, Wong VW, 2017. New trends on obesity and NAFLD in Asia. *J Hepatol*, 67, 862–73.
- Farrell GC, Wong VW, Chitturi S, 2013. NAFLD in Asia--as common and important as in the West. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10, 307–318.
- Fazel Y, Koenig AB, Sayiner M, Goodman ZD, Younossi ZM, 2016. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 65, 1017–1025.
- FDA, 2016. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet] [cited 2019]; Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>
- Feldstein AE, Alkhouri N, De Vito R, Alisi A, Lopez R, Nobili V, 2013. Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children. *Am J Gastroenterol*, 108, 9, 1526-31.
- Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, Gores GJ, 2003. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 125, 437–443.

- Feldstein AE, Gores GJ, 2005. Apoptosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *Front Biosci*, 10, 3093–3099.
- Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ, 2009. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *J Hepatol*, 50, 1072-1078.
- Friedman LS, 2015. Liver, Biliary Tract Pancreatic disorders: Non-Alcoholic fatty liver disease. New York: Academic.
- Frith J, Day CP, Henderson E, Burt AD, Newton JL, 2009. Non-alcoholic fatty liver disease in older people. *Gerontology*, 55, 607–613.
- Gawrieh S, Knoedler DM, Saeian K, Wallace JR, Komorowski RA, 2011. Effects of interventions on intra- and interobserver agreement on interpretation of nonalcoholic fatty liver disease histology. *Ann Diagn Pathol*, 15, 19–24.
- Gawrieh S, Wilson LA, Yates KP, Cummings OW, Vilar- Gomez E, Ajmera V, Kowdley KV, Rosenberg WM, Tonascia J and Chalasani N, 2021. Relationship of ELF and FIB-4 With Liver Histology and Response to Vitamin E or Pioglitazone in the PIVENS Trial. *Hepatol Commun*.
- Ghoul BE, Squalli T, Servais A, et al. 2010. Urinary procollagen III amino- terminal propeptide (PIIINP): a Fibrotest for the nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol*, 5, 205- 210.
- Goh GB, McCullough AJ, 2016. Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*, 6, 1226–1233.
- Goldberg D, Ditah IC, Saeian K, et al. 2017. Changes in the prevalence of hepatitis C virus infection, nonalcoholic steatohepatitis, and alcoholic liver disease among patients with cirrhosis or liver failure on the waitlist for liver transplantation. *Gastroenterology*, 152, 1090–1099.
- Gouysse G, Couvelard A, Frachon S, et al. 2002. Relationship between vascular development and vascular differentiation during liver organogenesis in humans. *J Hepatol*, 37, 730–740.
- Grigorescu M, Crisan D, Radu C, et al. 2012. A novel pathophysiological-based panel of biomarkers for the diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis. *J Physiol Pharmacol*, 63, 347–353.
- Gudowska M, Gruszevska E, Panasiuk A, Cylwik B, Swiderska M, Flisiak R, Szmitkowski M, Chrostek L, 2017. High serum N-terminal propeptide of procollagen type III concentration is associated with liver diseases. *Przegląd gastroenterologiczny*, 12, 3, 203–207.
- Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. 2009. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European liver fibrosis panel and exploring simple markers. *Hepatology*, 47, 455- 460.
- Guido M, Sarcognato S, Sacchi D, Ludwig K, 2019. The Anatomy and Histology of the Liver and Biliary Tract. In: D'Antiga L. (eds) *Pediatric Hepatology and Liver Transplantation*. Springer, Cham.
- Hagstrom H, Nasr P, Ekstedt M, et al. 2017. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol*, 67, 1265–1273.
- Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, et al. 2005. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*, 143, 722–728.
- Haubrich WS, 2004. Dissection of the space of Dissection. *Gastroenterology*, 127, 1684.
- He L, Deng L, Zhang Q, et al. 2017. Diagnostic value of CK- 18, FGF- 21, and related biomarker panel in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta- analysis. *Biomed Res Int*, 1- 12.
- Herman MA, 2021. Metabolic liver disease - what's in a name? *Nat Rev Endocrinol*, 17, 79–80.
- Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, Clark JM, 2011. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology*, 54, 1082–1090.
- Hirode G, Vittinghoff E, Wong RJ, 2019. Increasing clinical and economic burden of nonalcoholic fatty liver disease among hospitalized adults in the United States. *J. Clin. Gastroenterol*, 10, 1097.

- Honda G, Iwanaga T, Kurata M, 2008. Dissection of the gallbladder from the liver bed during laparoscopic cholecystectomy for acute or subacute cholecystitis. *J Hepato-Biliary-Pancreat Surg*, 15, 293–296.
- Hu R, Hu R, Pandol SJ, 2018. Physiology of the Biliary Tree. In: Barreto S, Windsor J, (eds) *Surgical Diseases of the Pancreas and Biliary Tree*. Springer, Singapore.
- Huang JF, Yeh ML, Huang CF, et al. 2017. Cytokeratin-18 and uric acid predicts disease severity in Taiwanese nonalcoholic steatohepatitis patients. *PLoS One*, 12, 0174394.
- Imajo K, Kessoku T, Honda Y, Tomeno W, Ogawa Y, Mawatari H, Fujita K, Yoneda M, Taguri M, Hyogo H, et al. 2016. Magnetic Resonance Imaging More Accurately Classifies Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Than Transient Elastography. *Gastroenterology*, 150, 626–637.
- Ivarsson MA, Loh L, Marquardt N, et al. 2013. Differentiation and functional regulation of human fetal NK cells. *J Clin Invest*, 123, 3889–3901.
- James OF, Day CP, 1998. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): A disease of emerging identity and importance. *J. Hepatol*, 29, 495–501.
- Joka D, Wahl K, Moeller S, Schlue J, Vaske B, Bahr MJ, Manns MP, Schulze-Osthoff K, Bantel H, 2012. Prospective Biopsy-Controlled Evaluation of Cell Death Biomarkers for Prediction of Liver Fibrosis and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*, 55, 2, 455–464.
- Juluri R, Vuppalanchi R, Olson J, Unalp A, Van Natta ML, Cummings OW, Tonascia J, Chalasani N, 2011. Generalizability of the nonalcoholic steatohepatitis Clinical Research Network histologic scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol*, 45, 55–58.
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, 2005. *Temel histoloji*. Ç. Editörü, Aytekin Yener, İstanbul, Beta A.Ş. Matbaacılık, 202.
- Kalia HS, Gaglio PJ, 2016. The prevalence and pathobiology of nonalcoholic fatty liver disease in patients of different races or ethnicities. *Clin Liver Dis*, 20, 215–224.
- Kara M, Dogru T, Genc H, Sertoglu E, Celebi G, Gurel H, et al. 2015. Neutrophil-to-lymphocyte ratio is not a predictor of liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 27, 1144–1148.
- Karsdal MA, Daniels SJ, Holm Nielsen S, et al. 2020. Collagen biology and non- invasive biomarkers of liver fibrosis. *Liver Int*, 40, 736– 750.
- Kaswala DH, Lai M, Afdhal NH, 2016. Fibrosis Assessment in Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in 2016. *Dig Dis Sci*, 61, 1356–1364.
- Kaya E, Yılmaz Y, 2019. Non-alcoholic fatty liver disease: A growing public health problem in Turkey. *Turk J Gastroenterol*. 30(10):865-871.
- Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M, 1992. İnsan embriyolojisi, Alfa Basım Yayım Dağıtım.
- Kiernan F, 1833. The anatomy and physiology of the liver. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci Biol*, 123, 711–70.
- Kim SP, Ellmerer M, Van Citters GW, Bergman RN, 2003. Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. *Diabetes*, 52, 2453-2460.
- Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, et al. 2008. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology*, 47, 1363–70.
- Kiserud T, 2005. Physiology of the fetal circulation. *Semin Fetal Neonatal Med*, 10, 493–503.
- Kleiner DE, Bedossa P, 2015. Liver histology and NASH clinical trials: two pathologists' perspective gastroenterology. *Gastroenterology*, 149, 1305– 1308.
- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. 2005. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41, 1313–1321.
- Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, et al. 2009. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology*, 137, 865–872.

- Kramer G, Erdal H, Mertens HJMM, et al. 2004. Differentiation between cell death modes using measurements of different soluble forms of extracellular cytokeratin 18. *Cancer Res*, 64, 5, 1751- 1756.
- Kutlu O, Altun O, Dikker O, Aktas S, Ozsoy N, Arman Y, et al. 2019. Serum Adropin Levels Are Reduced in Adult Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Med Princ Pract*, 28, 5, 463-9.
- Kwok R, Tse Y- K, Wong GL- H, et al. 2014. Systematic review with meta- analysis: non- invasive assessment of non- alcoholic fatty liver disease – the role of transient elastography and plasma cytokeratin- 18 fragments. *Aliment Pharmacol Ther*, 39, 3, 254- 269.
- Lackner C, Gogg-Kamerer M, Zatloukal K, Stumptner C, Brunt EM, Denk H, 2008. Ballooned hepatocytes in steatohepatitis: the value of keratin immunohistochemistry for diagnosis. *J Hepatol*, 48, 821–828.
- Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Abrams SH, Scheimann AO, Sanyal AJ, Chalasani N, et al. 2011. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA*, 305, 1659–1668.
- Le Y, Kroeker R, Kipfer HD, Lin C, 2012. Development and evaluation of TWIST Dixon for dynamic contrast-enhanced (DCE) MRI with improved acquisition efficiency and fat suppression. *J Magn Reson Imaging*, 36, 483–491.
- Lee J, Vali Y, Boursier J, Duffin K, Verheij J, Brosnan MJ, et al. 2020. Accuracy of cytokeratin 18 (M30 and M65) in detecting non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 15, 9, 0238717.
- Lee JH, Kim D, Kim HJ, et al. 2010. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*, 42, 503–508.
- Lemaigre FP, 2003. Development of the biliary tract. *Mech Dev*, 120, 81–87.
- Li C, Liu S, Lu L, Dong Q, Xuan S, et al. 2018. Association between Serum Cytokeratin-18 Neopeptide M30 (CK-18 M30) Levels and Chronic Hepatitis B: A Meta-Analysis. *Hepat Mon*, 18, 4, 64152.
- Li P, He K, Gong J, et al. 2017. The role of Kupffer cells in hepatic diseases. *Mol Immunol*, 85, 222–9.
- Liang J, Liu F, Wang F, Han T, Jing L, Ma Z, et al. 2017. A Noninvasive Score Model for Prediction of NASH in Patients with Chronic Hepatitis B and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int*, 2017, 8793278.
- Liu X, Wu H, Byrne M, et al. 1997. Type III collagen is crucial for collagen I fibrillogenesis and for normal cardiovascular development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 1852–6.
- Lonardo A, Nascimbeni F, Maurantonio M, Marrazzo A, Rinaldi L, Adinolfi LE, 2017. Nonalcoholic fatty liver disease: Evolving paradigms. *World J Gastroenterol*, 23, 36, 6571-6592.
- Loo CKC, Wu X-J, 2008. Origin of stellate cells from submesothelial cells in a developing human liver. *Liver Int*, 28, 1437–1445.
- Loomba R, Sanyal AJ, 2013. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10, 686–690.
- Loomba R, Schork N, Chen CH, et al. 2015b. Heritability of hepatic fibrosis and steatosis based on a prospective twin study. *Gastroenterology*, 149, 1784–1793.
- Loomba R, Sirlin CB, Ang B, Bettencourt R, Jain R, Salotti J, Soaft L, Hooker J, Kono Y, Bhatt A, Hernandez L, Nguyen P, Nouredin M, Haufe W, Hooker C, Yin M, Ehman R, Lin GY, Valasek MA, Brenner DA, Richards L, 2015a. San Diego Integrated NAFLD Research Consortium (SINC) Ezetimibe for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: assessment by novel magnetic resonance imaging and magnetic resonance elastography in a randomized trial (MOZART trial). *Hepatology*, 61, 1239–1250.
- Loomba R, Sanyal AJ, Kowdley KV, Terrault N, Chalasani NP, Abdelmalek MF, et al. 2019. Factors associated with histologic response in adult patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 156, 88- 95.e5.
- Lotowska JM, Elzbieta Sobaniec-Lotowska M, Marek Lebensztejn D, 2018. Ultrastructural characteristics of the respective forms of hepatic stellate cells in chronic hepatitis B as an example of high fibroblastic cell plasticity. The first assessment in children. *Adv Med Sci*, 63, 127–33.

- Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ, 1980. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 55, 7, 434-438.
- Luo D-Z, Vermijlen D, Ahishali B, et al. 2000. On the cell biology of pit cells, the liver-specific NK cells. *World J Gastroenterol*, 6, 1-11.
- Luo Y, Oseini A, Gagnon R, Charles ED, Sıdk K, Vincent R, et al. 2018. An Evaluation of the Collagen Fragments Related to Fibrogenesis and Fibrolysis in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Sci Rep*, 8, 12414.
- Ma X, Liu S, Zhang J, et al. 2020. Proportion of NAFLD patients with normal ALT value in overall NAFLD patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol*, 20, 10.
- Malarkey DE, Johnson K, Maronpot RR, et al. 2005. New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Pathol*, 33, 27-34.
- Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AMI, 1999. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med*, 107, 450-455.
- Margagliotti S, Clotman F, Pierreux CE, et al. 2008. Role of metalloproteinases at the onset of liver development. *Develop Growth Differ*, 50, 331-338.
- Martini EM, Garrett N, Lindquist T, Isham GJ, 2007. The boomers are coming: a total cost of care model of the impact of population aging on health care costs in the United States by Major Practice Category. *Health Serv Res*, 42, 201-218.
- Matsumoto K, Yoshitomi H, Rossant J, Zaret KS, 2001. Liver organogenesis promoted by endothelial cells prior to vascular function. *Science* 294, 559-563.
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ, 1999. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*, 116, 1413-1419.
- Mavrides E, Moscoso G, Carvalho JS, et al. 2001. The anatomy of the umbilical, portal and hepatic venous systems in the human fetus at 14-19 weeks of gestation: anatomy of the ductus venosus. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 18, 598-604.
- McPherson S, Anstee QM, Henderson E, Day CP, Burt AD, 2013. Simple noninvasive scoring systems for fibrosis reliable in patients with NAFLD and normal ALT levels? *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 25, 652-658.
- McPherson S, Hardy T, Dufour JF, et al. 2017. Age as a confounding factor for the accurate non-invasive diagnosis of advanced NAFLD fibrosis. *Am J Gastroenterol*, 112, 740-751.
- McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM, 2015. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*, 62, 1148-1155.
- McPherson S, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM, 2014. Serum immunoglobulin levels predict fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease *J Hepatol*, 60, 1055-1062.
- McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP, 2010. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease *Gut*, 59, 1265-1269.
- Meex RC, Hoy AJ, Morris A, Brown RD, Lo JC, Burke M, et al. 2015. Fetuin B Is a Secreted Hepatocyte Factor Linking Steatosis to Impaired Glucose Metabolism. *Cell metabolism*, 22, 6, 1078-1089.
- Mescher AL, 2019. *Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas (14.baskı)*, Solakoğlu S, Erdoğan A, Mutlu HS, Güneş Tıp Kitabevleri, 573.
- Minot CS, 1900. On a hitherto unrecognized form of blood circulation without capillaries in the organs of vertebrates. *J Boston Soc Med Sci*, 4, 133-4.
- Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, et al. 2010. A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell metabolism*, 12, 5, 483-495.
- Mittal S, El-Serag HB, Sada YH, Kanwal F, Duan Z, Temple S, May SB, Kramer JR, Richardson PA, Davila JA, 2016. Hepatocellular Carcinoma in the Absence of Cirrhosis in United States Veterans is Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 14, 124-131.

- Molina DK, DiMaio VJM, 2012. Normal organ weights in men: part II-the brain, lungs, liver, spleen, and kidneys. *Am J Forensic Med Pathol*, 33, 368–372.
- Mongraw-Chaffin M, Golden SH, Allison MA, Ding J, Ouyang P, Schreiner PJ, et al. 2015. The sex and race specific relationship between anthropometry and body fat composition determined from computed tomography: evidence from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *PLoS One*, 10, 0139559.
- Moore KL, Dalley AF, Agur AMR, 2010. *Clinically Oriented Anatomy* (6.). Philadelphia: Wolters Kluwer, Lippincott Williams&Wilkins.
- Mosca A, Comparcola D, Romito I, Mantovani A, Nobili V, Byrne CD, Alisi A, Targher G, 2019. Plasma N-terminal propeptide of type III procollagen accurately predicts liver fibrosis severity in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int. Dec*, 39(12), 2317-2329.
- Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, et al. 2004. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes Surg*, 14, 635–637.
- Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G, 2011. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*, 43, 617-649.
- Musso G, Gambino R, Durazzo M, Cassader M, 2010. Noninvasive assessment of liver disease severity with liver fat score and CK-18 in NAFLD: prognostic value of liver fat equation goes beyond hepatic fat estimation *J Hepatol*, 51, 715-717.
- Naito M, Hasegawa G, Takahashi K, 1997. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cells. *Microsc Res Tech*, 39, 350–364.
- Nascimbeni F, Bedossa P, Fedchuk L, Pais R, Charlotte F, Lebray P, Poynard T, Ratziu V, 2020. Clinical validation of the FLIP algorithm and the SAF score in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatology*, 72, 5, 828-838.
- Nascimbeni F, Pais R, Bellentani S, Day CP, Ratziu V, Loria P, Lonardo A, 2013. From NAFLD in clinical practice to answers from guidelines. *J Hepatol*, 59, 859–871.
- Netter FH, Casasco E, 1983. *Embriologia umana ed anomalie congenite: da Atlante di anatomia, fisiopatologia e clinica di Frank H. Netter*. Ciba-Geigy edizioni, Origgio.
- Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Van Natta ML, Abdelmalek MF, Chalasani N, Dasarthy S, Diehl AM, Hameed B, et al. 2015. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 385, 956–965.
- Nielsen MJ, Nedergaard AF, Sun S, Veidal SS, Larsen L, Zheng Q, Suetta C, Henriksen K, Christiansen C, Karsdal MA, Leeming DJ, 2013. The neo-epitope specific PRO-C3 ELISA measures true formation of type III collagen associated with liver and muscle parameters. *Am J Transl Res*, 5, 3, 303-315.
- Njei B, Rotman Y, Ditah I, Lim JK, 2015. Emerging trends in hepatocellular carcinoma incidence and mortality. *Hepatology*, 61, 191–199.
- Nojgaard C, Johansen JS, Christensen E, et al. 2003. Serum levels of YKL-40 and PIIINP as prognostic markers in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol*, 39, 179–86.
- Norseen J, Hosooka T, Hammarstedt A, Yore MM, Kant S, Aryal P, et al. 2012. Retinol- binding protein 4 inhibits insulin signaling in adipocytes by inducing proinflammatory cytokines in macrophages through a c-Jun N-terminal kinase- and toll-like receptor 4- dependent and retinol-independent mechanism. *Mol. Cell Biol*, 32, 10, 2010–2019.
- Noureddin M, Lam J, Peterson MR, Middleton M, Hamilton G, Le TA, Bettencourt R, Changchien C, Brenner DA, Sirlin C, et al. 2013a. Utility of magnetic resonance imaging versus histology for quantifying changes in liver fat in nonalcoholic fatty liver disease trials. *Hepatology*, 58, 1930–1940.
- Noureddin M, Yates KP, Vaughn IA, Neuschwander-Tetri BA, Sanyal AJ, McCullough A, Merriman R, Hameed B, Doo E, Kleiner DE, et al. 2013b. Clinical and histological determinants of nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in elderly patients. *Hepatology*, 58, 1644–1654.
- Ober EA, Lemaigre FP, 2018. Development of the liver: insights into organ and tissue morphogenesis. *J Hepatol*, 68, 1049–62.

- Oh H, Jun DW, Saeed WK, Nguyen MH, 2016. Alkolsüz yağlı karaciğer hastalıkları: tanı ve tedavideki zorluklarla ilgili güncelleme. *Clin Mol Hepatol*, 22 (3), 327-335.
- Otgonsuren M, Estep MJ, Hossain N, et al. 2014. Single non-invasive model to diagnose non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *J Gastroenterol Hepatol*, 29, 2006–2013.
- Ovalle W, Nahirney P, 2009. *Netter's essential histology*, Güneş Kitabevi, 312.
- Özkalaycı F, Taylan G, Gürlertop HY, Aksoy Y, 2020. Epikardiyal yağ dokusu kalınlığının koroner arter hastalığı yaygınlığı, ciddiyeti ve homa indeksi ile ilişkisi. *MN Kardiyoloji*, 27(1):1-7.
- Paige JS, Bernstein GS, Heba E, et al. 2017. A Pilot comparative study of quantitative ultrasound, conventional ultrasound, and MRI for predicting histology-determined steatosis grade in adult nonalcoholic fatty liver disease. *AJR Am J Roentgenol*, 208, 168–177.
- Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, Ratzu V, LIDO Study Group, 2013. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol*, 59, 550–556.
- Pal D, Dasgupta S, Kundu R, Maitra S, Gas G, Mukhopadhyay S, et al. 2012. Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nat. Med*, 18, 8, 1279–1285.
- Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Tsochatzis E, et al. 2010. Serum apoptotic caspase activity in chronic hepatitis C and nonalcoholic Fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol*, 44, 87–95.
- Park CC, Nguyen P, Hernandez C, et al. 2017. Magnetic resonance elastography vs transient elastography in detection of fibrosis and noninvasive measurement of steatosis in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 152, 598–607.
- Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryoo JH, 2013. The clinical availability of non-alcoholic fatty liver disease as an early predictor of type2 diabetes mellitus in Korean men: 5-years' prospective cohort study. *Hepatology*, 57, 4, 1378–1383.
- Perumpail BJ, Khan MA, Yoo ER, Cholaneril G, Kim D, Ahmed A, 2017. Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 21, 23, 47, 8263–8276.
- Poisson J, Lemoine S, Rautou PE, et al. 2017. Liver sinusoidal endothelial cells: physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*, 66, 212–27.
- Polyzos SA, Kountouras J, Anastasilakis AD, Geladari EV, Mantzoros CS, 2014. Irisin in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 63, 2, 207-17.
- Polyzos SA, Kountouras J, Anastasilakis AD, Margouta A, Mantzoros CS, 2015. Association between circulating irisin and homocysteine in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrine*, 49, 2, 560-2.
- Poynard T, Ratzu V, Naveau S, et al. 2005. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol*, 4: 10.
- Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, Younossi ZM, 2009. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 7, 234–238.
- Rappaport AM, Borowy ZJ, Lotto WN, et al. 1954. Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit. *Anat Rec*, 119, 11–33.
- Ratzu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, et al. 2006. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*, 6, 6.
- Ratzu V, Harrison SA, Francque S, et al. 2016. Elafibranor, an agonist of the peroxisome proliferator-activated receptor- α and - δ , induces resolution of nonalcoholic steatohepatitis without fibrosis worsening. *Gastroenterology*, 150, 1147– 1159.
- Rinella ME, 2015. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*, 313, 2263–2273.
- Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. 2004. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*, 127, 1704- 1713.

- Roskams T, Desmet V, 2008. Embryology of extra- and intrahepatic bile ducts, the ductal plate. *Anat Rec (Hoboken)*, 291, 628–35.
- Rossi JM, Dunn NR, Hogan BL, Zaret KS, 2001. Distinct mesodermal signals, including BMPs from the septum transversum mesenchyme, are required in combination for hepatogenesis from the endoderm. *Genes Dev*, 15, 1998–2009.
- Rosso C, Caviglia GP, Abate ML, Vanni E, Mezzabotta L, Touscoz GA, et al. 2016. Cytokeratin 18-Aspartate396 apoptotic fragment for fibrosis detection in patients with non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis. *Dig Liver Dis*, 48, 1, 55-61.
- Rutjes AW, Reitsma JB, Coomarasamy A, Khan KS, Bossuyt PM, 2007. Evaluation of diagnostic tests when there is no gold standard. A review of methods *Health Technol Assess*, 11, 51.
- Sadler TW, 2006. Digestive System. In, *Langman's Medical Embryology*. 10th ed. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, 203-28.
- Sanal MG, 2015. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease-the emperor has no clothes? *World J Gastroenterol*, 21, 3223–3231.
- Sanyal AJ, Brunt EM, Kleiner DE, et al. 2011. Endpoints and clinical trial design for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 54, 344– 353.
- Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, et al. 2010. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*, 362, 1675–1685.
- Sanyal AJ, Friedman SL, McCullough AJ, Dimick-Santos L, 2015. American Association for the Study of Liver Diseases; United States Food and Drug Administration. 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*, 61, 1392–1405.
- Sarah D, Berry SD, Vasan S, et al. 2013. Procollagen type III N-terminal peptide (P3NP) and lean mass: a cross-sectional study. *J Frailty Aging*, 2, 129–34.
- Saxena R, Theise ND, Crawford JM, 1999. Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces. *Hepatology*, 30, 1339–46.
- Sayin O, Tokgoz Y, Arslan N, 2014. Investigation of adropin and leptin levels in pediatric obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 27, 5-6, 479-84.
- Schoenwolf GC, 2015. *Larsen's human embryology*. Churchill Livingstone, Philadelphia, PA.
- Schuppan D, Surabattula R, Wang XY, 2018. Determinants of fibrosis progression and regression in NASH. *Journal of Hepatology*, 68(2), 238–250.
- Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F, 2009. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol*, 51, 433–445.
- Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, et al. 2005. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 42, 641– 649.
- Senoo H, Mezaki Y, Fujiwara M, 2017. The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). *Anat Sci Int*, 92, 387–455.
- Shanaki M, Moradi N, Emamgholipour S, Fadaei R, Poustchi H, 2017. Lower circulating irisin is associated with nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr*, 11, 1, 467-72.
- Shen J, Chan HL, Wong GL, et al. 2012. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers. *J Hepatol*, 56, 1363–1370.
- Sheng X, Che H, Ji Q, et al. 2018. The Relationship Between Liver Enzymes and Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Horm Metab Res*, 50, 397–402.
- Shibata M, Kihara Y, Taguchi M, Tashiro M, Otsuki M, 2007. Nonalcoholic fatty liver disease is a risk factor for type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetes Care*, 30, 2940–2944.
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A, 2012. Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 62, 10–29.

- Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R, 2015. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta- analysis of paired- biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 13, 643– 654.
- Si-Tayeb K, Lemaigre FP, Duncan SA, 2010. Organogenesis and development of the liver. *Dev Cell*, 18, 175–189.
- Sonsuz A, 2007. Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması. *Türkiyede sık karşılaşılan hastalıklar II Sempozyum dizi kitapçığı*, 91-98.
- Soto-Gutierrez A, Gough A, Monga SP, et al. 2017. Pre-clinical and clinical investigations of metabolic zonation in liver diseases: the potential of microphysiology systems. *Exp Biol Med (Maywood)*, 242, 1605–16.
- Sugimoto M, Saiki H, Tamai A, et al. 2016. Ventricular fibrogenesis activity assessed by serum levels of procollagen type III N- terminal amino peptide during the staged Fontan procedure. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 151, 1518- 1526.
- Summart U, Thinkhamrop B, Chamadol N, Khuntikeo N, Songthamwat M, Kim CS, 2017. Gender differences in the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the Northeast of Thailand: a population-based cross-sectional study. *F1000Research*, 6, 1630.
- Sun DQ, Zheng KI, Xu G, Ma HL, Zhang HY, Pan XY, Zhu PW, Wang XD, Targher G, Byrne CD, Chen YP, Yuan WJ, Zheng MH, 2020. PNPLA3 rs738409 is associated with renal glomerular and tubular injury in NAFLD patients with persistently normal ALT levels. *Liver Int*, 40(1), 107-119.
- Suzuki A, Angulo P, Lymp J, St Sauver J, Muto A, Okada T, Lindor K, 2005. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology*, 41, 64–71.
- Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, Hobbs HH, Dobbins RL, 2005. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288, 462–468.
- Tamimi TIA-R, Elgouhari HM, Alkhouri N, Yerian LM, Berk MP, Lopez R, Schauer PR, Zein NN, Feldstein AE, 2011. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis. *J. Hepatol*, 54, 1224–1229.
- Tanwar S, Trembling PM, Guha IN, Parkes J, Kaye P, Burt AD, et al. 2013. Validation of terminal peptide of procollagen III for the detection and assessment of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 57, 103- 111.
- Tapper EB, Loomba R, 2018. Noninvasive imaging biomarker assessment of liver fibrosis by elastography in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 15, 274- 282.
- Targher G, Bertolini L, Rodella S, Tessari R, Zenari L, Lippi G, et al. 2007. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 30, 2119–2121.
- Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Lippi G, Day C, et al. 2008. Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and proliferative/laser-treated retinopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetologia*, 51, 444–450.
- Taseer IH, Hussain L, Safdar S, Mirbahar AM, Ahmad I, 2009. Frequency of non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) & its biochemical derangements in Type-2 diabetic patients. *Pak J Med Sci*, 25, 5, 817–820.
- Teixeira A, Bellodi- Privato M, Carnevali JB, Pilla VF, Pareja JC, D'Albuquerque LA, 2009. The incapacity of the surgeon to identify NASH in bariatric surgery makes biopsy mandatory. *Obes Surg*, 19, 1678– 1684.
- Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP, 1995. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology*, 22, 1714–1719.
- TEMD, 2009. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Metabolik Sendrom Kılavuzu*.
- Tincopa MA, 2020. Diagnostic and interventional circulating biomarkers in nonalcoholic steatohepatitis. *Endocrinol Diab Metab*, 3, 00177.

- Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM, 2010. Nonalcoholic steatohepatitis: pathology and pathophysiology. *Annu Rev Pathol*, 5, 145–171.
- Ugo L, Brocco S, Merola A, Mescoli C, Quaia E, 2021. Liver Anatomy. In: Quaia E. (eds) *Imaging of the Liver and Intra-hepatic Biliary Tract*. Medical Radiology. Springer, Cham.
- Ugo L, Quaia E, 2021. Embryology and Development of the Liver. In: Quaia E. (eds) *Imaging of the Liver and Intra-hepatic Biliary Tract*. Medical Radiology. Springer, Cham.
- Umehara T, 2018. Nonalcoholic fatty liver disease with elevated alanine aminotransferase levels is negatively associated with bone mineral density: Cross-sectional study in U.S. adults. *PLoS One*, 13, 0197900.
- Venkatesh SK, Yin M, Takahashi N, Glockner JF, Talwalkar JA, Ehman RL, 2015. Non-invasive detection of liver fibrosis: MR imaging features vs. MR elastography. *Abdom Imaging*, 40, 766–775.
- Verma S, Jensen D, Hart J, Mohanty SR, 2013, Predictive value of ALT levels for non- alcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis in non- alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Liver Int*, 33, 1398–1405.
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM, 2011. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*, 34, 274–285.
- Vilar-Gomez E, Chalasani N, 2018. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol*, 68, 305–315.
- Vos MB, Barve S, Joshi-Barve S, Carew JD, Whittington PF, McClain CJ, 2008. Cytokeratin 18, a marker of cell death, is increased in children with suspected nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 47, 481–485.
- Vuppalanchi R, Chalasani N, 2009a. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: selected practical issues in their evaluation and management, 49, 306–307.
- Vuppalanchi R, Unalp A, Van Natta ML, et al. 2009b. Effects of liver biopsy sample length and number of readings on sampling variability in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 7, 481–486.
- Waidmann O, Brunner F, Herrmann E, Zeuzem S, Piiper A, Kronenberger B, 2016. Cytokeratin 18-based cell death markers indicate severity of liverdisease and prognosis of cirrhotic patients. *Liver Int*. 2016, 36, 1464–1472.
- Wake K, Sato T, 2015. “The sinusoid” in the liver: lessons learned from the original definition by Charles Sedgwick Minot (1900). *Anat Rec (Hoboken)*, 298, 2071–80.
- Waluga M, Kukla M, Kotulski R, Zorniak M, Boryczka G, Kajor M, et al. 2019. Omentin, vaspin and irisin in chronic liver diseases. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 70, (2), 277–85.
- Wanless IR, Physioanatomic considerations. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, editors. *Schiff's diseases of the liver*. Philadelphia: Lippincott; 1999.
- Wells JM, Melton DA, 1999. Vertebrate endoderm development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 15, 393–410.
- Whalley S, Puvanachandra P, Desai A, Kennedy H, 2007. Hepatology outpatient service provision in secondary care: a study of liver disease incidence and resource costs. *Clin Med (Lond)*, 7, 119–124.
- White DL, Kanwal F, El-Serag HB, 2012. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 10, 1342–1359.
- Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE, 2006. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 44, 27–33.
- Williams AL, 1988. JH Hoofnagle Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis *Gastroenterology*, 95, 734–739.
- Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA, 2011. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*, 140, 124–131.

- Wong T, Wong RJ, Gish RG, 2019. Diagnostic and treatment implications of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterol. Hepatol*, 15, 83–89.
- Wong VW, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Li MK, Chan HY, Chim AM, Yu J, Sung JJ, Chan HL, 2010. Disease progression of non-alcoholic fatty liver disease: a prospective study with paired liver biopsies at 3 years. *Gut*, 59, 969–974.
- Wu HT, Ou HY, Hung HC, Su YC, Lu FH, Wu JS, et al. 2016. A novel hepatokine, HFREP1, plays a crucial role in the development of insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 59, (8), 1732–1742.
- Xia M-F, Bian H, Gao X, 2019. NAFLD and Diabetes: Two Sides of the Same Coin? Rationale for Gene-Based Personalized NAFLD Treatment. *Front. Pharmacol*, 10, 877.
- Xiao G, Zhu S, Xiao X, et al. 2017. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Hepatology*, 66, 1486–1501.
- Xu L, Kitade H, Ni Y, Ota T, 2015. Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Obesity-Associated Insulin Resistance and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomolecules*, 5(3), 1563–1579.
- Yang ZH, Yang SX, Qin CZ, Chen YX, 2015. Clinical values of elevated serum cytokeratin-18 levels in hepatitis: a meta-analysis. *Hepat Mon*, 15, (5), 25328.
- Yilmaz Y, et al. 2019. Growing burden of nonalcoholic fatty liver disease in Turkey: A single center experience. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 30, (10), 892.
- Yilmaz H, Yalcin KS, Namuslu M, Celik HT, Sozen M, Inan O, et al. 2015. Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) could be better predictor than C-reactive protein (CRP) for liver fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Ann Clin Lab Sci*, 45, 278–286.
- Yilmaz Y, Dolar E, Ulukaya E, Akgoz S, Keskin M, Kiyici M, Aker S, Yilmaztepe A, Gurel S, Gulden M, et al. 2007. Soluble forms of extracellular cytokeratin 18 may differentiate simple steatosis from nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*, 13, 837–844.
- Yilmaz Y, Ulukaya E, Dolar E, 2009. Serum M30 levels: a potential biomarker of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease and normal aminotransferase levels. *Hepatology*, 49, 697.
- Yin C, Evason KJ, Asahina K, Stainier DYR, 2013. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *J Clin Invest*, 123, 1902–1910.
- Younes R, Bugianesi E, 2019. NASH in Lean Individuals. *Semin Liver Dis*, 39, (1), 86–95.
- Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, et al. 2018b. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 15, 11–20.
- Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Chander Sharma B, Mostafa I, Bugianesi E, Wai-Sun Wong V, Yilmaz Y, George J, Fan J, Vos MB, 2019. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*, 69(6), 2672–2682.
- Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Sharma BC, et al. 2019. Global perspectives on non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 69, 6, 2672–2682.
- Younossi ZM, 2018. The epidemiology of nonalcoholic steatohepatitis. *Clinical Liver Disease*, 11, 92–94.
- Younossi ZM, 2019. Non-alcoholic fatty liver disease – A global public health perspective. *J Hepatology*, 70, 3, 531–544.
- Younossi ZM, Blissett D, Blissett R, Henry L, Stepanova M, Younossi Y, Racila A, Hunt S, Beckerman R, 2016a. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. *Hepatology*, 64, 1577–1586.
- Younossi ZM, Jarrar M, Nugent C, Randhawa M, Afendy M, Stepanova M, Rafiq N, Goodman Z, Chandhoke V, Baranova A, . 2008. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH) *Obes Surg*, 18, 1430–1437.
- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M, 2016b. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 64, 73–84.

- Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, Hunt S, 2015. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology*, 62, 1723–1730.
- Younossi ZM, Page S, Rafiq N, Bireddine A, Stepanova M, Hossain N, et al. 2011. A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis. *Obes Surg*, 21, 431-439.
- Younossi ZM, Rinella ME, Sanyal AJ, Harrison SA, Brunt EM, Goodman Z, Cohen DE, Loomba R, 2021. From NAFLD to MAFLD: Implications of a Premature Change in Terminology. *Hepatology*, 73(3), 1194-1198.
- Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N, et al. 2011. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver- related mortality. *Hepatology*, 53, 1874– 1882.
- Younossi ZM, Loomba R, Anstee QM, Rinella ME, Bugianesi E, Marchesini G, et al. 2018a. Diagnostic modalities for non- alcoholic fatty liver disease (NAFLD), non- alcoholic steatohepatitis (NASH) and associated fibrosis. *Hepatology*, 68, 349- 360.
- Zaret KS, 2001. Hepatocyte differentiation: from the endoderm and beyond. *Curr Opin Genet Dev*, 11, 568–574.
- Zhang H, Pu W, Tian X, et al. 2016. Genetic lineage tracing identifies endocardial origin of liver vasculature. *Nat Genet*. 48, 537–543.
- Zhang H-J, Zhang X-F, Ma Z-M, Pan L-L, Chen Z, Han H-W, et al. 2013. Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *Journal of hepatology*, 59, (3), 557-62.
- Zhang X, Harmsen WS, Mettler TA, Kim WR, Roberts RO, Therneau TM, Roberts LR, Chaiteerakij R, 2014. Continuation of metformin use after a diagnosis of cirrhosis significantly improves survival of patients with diabetes. *Hepatology*, 60, 2008–2016.
- Zhou XH, P Castelluccio, C Zhou, 2005. Nonparametric estimation of ROC curves in the absence of a gold standard *Biometrics*, 61, 600-609.

7. EKLER

Ek-A. Power Raporu

AÇIKLAMA

“ALKOLSÜZ YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞININ SINIFLANDIRILMASINDA İNVAZİV (HİSTOLOJİK) VE NONİNVAZİV (CK18-M30 VE PIINP) YÖNTEMLER ARASINDAKİ KORELASYON” konulu çalışma için 3 grupta çalışma planlanmaktadır.

ADIMLAR

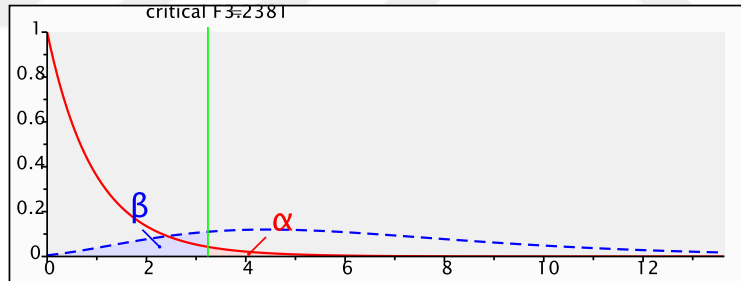
Örnek hacmi hesaplanırken izlenen adımlar;

- > 1.tip hata payı (α) = 0.05,
- > Etki büyüklüğü (effect size f) = 0.5
- > Testin gücü ($1-\beta$) = 0.80 alınmıştır.

Bu şekilde verilere dayanarak her grupta 14 birey olmak üzere toplam 42 birey ile çalışılması planlanmıştır.

SONUÇLAR

- Hesaplamalar neticesinde testin gücü ($1-\beta$)= 0.80'i sağlayacak örnek hacmi 42 olarak belirlenmiştir.

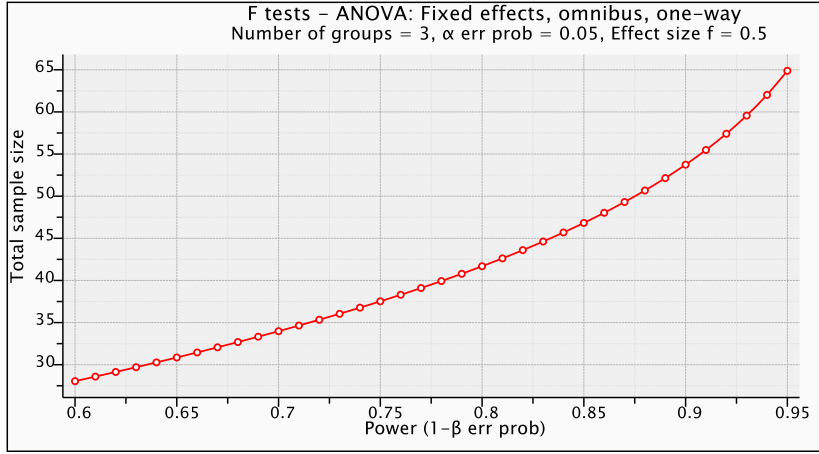


ANALİZİN KÜNYESİ

F tests – ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input:	Effect size f	= 0.5
	α err prob	= 0.05
	Power ($1-\beta$ err prob)	= 0.8
	Number of groups	= 3
Output:	Noncentrality parameter λ	= 10.500000
	Critical F	= 3.238096
	Numerator df	= 2
	Denominator df	= 39
	Total sample size	= 42
	Actual power	= 0.803414



Yöntem;

Bu çalışmada elde edilecek veriler SPSS 22 paket programı aracılığı ile analiz edilecektir.

Üç gruplu bu çalışmada elde edilen verilerin normallik analizleri sonucunda normal dağılım gösteren değişkenler için Anova, normal dağılım göstermeyen değişkenler için ise parametrik olmayan yöntemlerden Kruskal-Wallis H testi tercih edilecektir. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılacak olup, $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı farklılığın olmadığı belirtilecektir.

Alkolsüz Yağlı Karaciğer
Hastalığının
Sınıflandırılmasında İnvaziv
(Histolojik) ve Noninvaziv
(Sitokeratin 18 Ve Tip III Kollajen
N-Terminal Propeptid)
Yöntemler Arasındaki
Korelasyon

Submission date: 05-May-2021 03:07PM (UTC+0300)
Submission ID: 1578615922
File name: TEZ_Sercan_KAYA.docx (34.91M)
Word count: 22256
Character count: 144433

Alkolsüz Yağlı Karaciğer Hastalığının Sınıflandırılmasında
İnvaziv (Histolojik) ve Noninvaziv (Sitokeratin 18 Ve Tip III
Kollajen N-Terminal Propeptid) Yöntemler Arasındaki
Korelasyon

ORIGINALITY REPORT

7%	5%	2%	4%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Recep Tayyip Erdogan University Student Paper	1%
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	1%
3	Submitted to Selçuk Üniversitesi Student Paper	1%
4	burkonturizm.com Internet Source	<1%
5	wc SSR.org Internet Source	<1%
6	Submitted to (school name not available) Student Paper	<1%
7	Submitted to Okan Üniversitesi Student Paper	<1%
8	guncel.tgv.org.tr Internet Source	<1%