

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

**NONALKOLİK STEATOHEPATİT TANILI HASTALARDA PLAZMA VE
TÜKRÜKTE SUBFATİN VE ASPROSİN HORMONLARININ
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE BULGULARIN SAĞLIKLI
KONTROLLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Uğurcan COŞAR**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Kader UĞUR**

**ELAZIĞ
2021**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Nevzat GÖZEL

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Kader UĞUR _____ **Danışman**

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

TEŞEKKÜR

İhtisasımı yaparken bilgi ve birikimleriyle bana yol gösteren Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine ve bugüne kadar üzerimde emeği olan tüm öğretmenlerime, beraber çalışma fırsatı bulduğum, çalışma ortamımızın her zaman yardımlaşma içinde ve dostluk havasında geçmesini sağlayan ve çoğu artık uzman olan değerli asistan arkadaşlarıma, çalışma ortamımızı her zaman kolaylaştıran hemşire ve personel arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanma sürecinde bana her fırsatta özveriyle yardımcı olan tez danışmanım Endokrinoloji AD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Kader Uğur'a, tezimin kurgu aşamasından itibaren fikirleriyle yol gösteren, tezimdeki biyokimyasal çalışmalarını yürüten Biyokimya AD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Süleyman Aydın'a, tezimdeki immunhistokimyasal çalışmalarını yürüten Patoloji AD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Adile Ferda Dağlı'ya, çalışmamda bana yardımcı olan Uzm. Dr. Meltem Yardım'a teşekkürü borç bilirim.

Son olarak üzerimde herkesten çok emeği olan, desteklerini ve varlıklarını her anımda hissettiğim annem ve babama, en yakın arkadaşlarım, hayatımı paylaşmaktan mutluluk duyduğum eşim Merve Coşar ve değerli varlığım oğlum Ege Coşar ve kızım Deniz Coşar'a teşekkür ederim.

Dr. Uğurcan COŞAR

ÖZET

Nonalkolik steatohepatit (NASH) karaciğer yağlanmasıyla karakterize metabolik bir hastalıktır. Karaciğer yağlanması ile metabolik hormonların düzensizlikleri arasında ilişkiler bulunmaktadır. Subfatin ve asprosin yağ dokusunun iki önemli metabolik mensupları olup obezite, insülin direnci ve glukoz regülasyonunda rol oynamaktadırlar. Dolayısıyla bu çalışmada temel amacımız, NASH' li hastaların eş zamanlı alınan tükürük ve plazmalarında subfatin ve asprosin miktarlarının nasıl değiştiği, kontrol vakalarla karşılaştırılması ve diğer metabolik parametrelerle (HDL, LDL vb.) ilişkisinin olup olmadığının da ortaya çıkarılmasıdır.

Bu çalışmaya daha önceden histopatolojik olarak tanı almış olan 97 NASH hastalığı olan ve bilinen bir hastalığı olmayan 30 sağlıklı gönüllü bireyden oluşan kontrol grubu dahil edildi. Hastalar, Evre 1 (n=30), Evre 2 (n=30), Evre 3 (n=22) ve Evre 4 (n=15) toplam 4 Evre olacak şekilde gruplandırıldı. Hastalardan 5 cc kan ve 1 cc tükürük alındı. Alınan biyolojik numunelerden subfatin ve asprosin düzeyleri ELİSA yöntemiyle çalışıldı. Diğer biyokimyasal parametreler (AKŞ, HbA1C, LDL, HDL, total kolesterol, trigliserid, AST, ALT, insülin, üre, kreatinin, ürik asit) ise otoanalizörlerle çalışıldı. Ayrıca cinsiyet, yaş, kan basıncı ve VKİ kayıt edildi. Gruplararası karşılaştırma yapıldı.

Vaka grubunda obez olanların yaş ve VKİ ortancaları kontrol grubundakilerden anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,05$). Vaka grubunun HbA1C, glukoz, insülin, LDL, total kolesterol, trigliserid, AST, ALT, üre ve ürik asit kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek, HDL seviyeleri ise anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p<0,05$). Vaka grubunun plazma asprosin seviyesi ve tükürük asprosin seviyeleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,05$). Plazma subfatin ve tükürük subfatin değerleri açısından vaka grubunda kontrol grubuna göre düşük olarak değerlendirildi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Bu çalışmada subfatin ve asprosin miktarları NASH'te sağlıklı bireylere göre daha düşük saptandı. Plazmaya ek olarak subfatin ve asprosin tükürükte mevcuttur. Tükürükte bulunan subfatin ve asprosin kaynağının hem kan hem de tükürük olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla subfatin ve asprosin metabolik olayların bir göstergesi

olup (NASH dahil) bu iki hormon tükürükte de bulunup tükürüğün invaziv olmaması nedeniyle kana önemli bir alternatif olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Nonalkolik steatohepatit, subfatin, asprosin



ABSTRACT

EVALUATION OF SERUM AND SALIVARY SUBFATIN AND ASPROSIN HORMONE LEVELS IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is a metabolic disease characterized by liver steatosis. There is a correlation between liver steatosis and metabolic hormone dysregulation. Subfatin and asprosin are two important metabolic components of adipose tissue and play a role in carbohydrate metabolism, insulin resistance, and glucose regulation. Therefore, the primary aims of this study were to determine how serum and salivary subfatin and asprosin levels change simultaneously in samples obtained from patients with NASH; to compare these levels with those in control cases; and to determine whether there is any correlation of these levels with other metabolic parameters, such as high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein cholesterol (LDL).

Ninety-seven patients with NASH with a previous histopathological diagnosis and 30 healthy volunteers with no known disease (control group) were included in the study. The patients were classified under four stages: stage 1 (n = 30), stage 2 (n = 30), stage 3 (n = 22), and stage 4 (n = 15); 5 cc blood and 1 cc saliva were collected from the patients. Subfatin and asprosin levels in biological samples were studied using ELISA method. Other biochemical parameters (FBS, HbA1C, LDL, HDL, total cholesterol, triglyceride, AST, ALT, insulin, urea, creatinine, and uric acid) were studied using autoanalyzers. Furthermore, gender, age, blood pressure, and BMI values were recorded. These parameters were compared between the two groups.

The median age and BMI of obese patients were significantly higher in the patient group than in the control group ($P < 0.05$). HbA1C and glucose, insulin, LDL, total cholesterol, triglyceride, AST, ALT, urea, and uric acid levels were significantly higher and HDL levels were significantly lower in the patient group than in the control group ($P < 0.05$). Serum and salivary asprosin levels of the patient group were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). Serum and salivary subfatin levels were lower in the patient group than in the control group; however, the difference was not significant ($P > 0.05$).

On the basis of the study results, we concluded that subfatin and asprosin levels are lower in patients with NASH than in healthy subjects. In addition to serum, subfatin and asprosin are present in saliva. Both blood and saliva are thought to be the sources of subfatin and asprosin in saliva. Therefore, subfatin and asprosin are indicators of metabolic events (including NASH), and their presence in the saliva constitutes an important alternative to blood as the collection of saliva is noninvasive.

Key words: Nonalcoholic steatohepatitis, subfatin, asprosin



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı	1
1.1.1. Epidemiyoloji	1
1.1.2. Etiyoloji	2
1.1.3. Nonalkolik Steatohepatit Patogenezini	4
1.1.3.1. İlk Darbe: İnsulin Direnci	5
1.1.3.2. İkinci Darbe: Oksidatif Stres, İnflamasyon, Serbest Yağ Asitleri	5
1.1.4. Histopatolojik Bulgular	7
1.1.5. Klinik Bulgular, Laboratuvar Bulgular Ve Tanı	9
1.1.6. Tedavi	11
1.2. Subfatin (METRNL)	11
1.3. Asprosin	14
2. GEREÇ ve YÖNTEM	17
2.1. Biyokimyasal Analizler:	19
2.3. İmmünohistokimya	20
2.4. Prosedür	20
2.5. İstatistiksel analiz	21
3. BULGULAR	22
4. TARTIŞMA	35
5. KAYNAKLAR	40
6. ÖZGEÇMİŞ	50

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Nonalkolik steatohepatit etiyolojisi	4
Tablo 2.	NAYKH histopatolojik bulgulara göre sınıflandırma	8
Tablo 3.	NASH yarı kantitatif derecelendirme yöntemleri	8
Tablo 4.	Karaciğer Yağlanması Ultrasonografi Bulguları	10
Tablo 5.	Vaka ve Kontrol Grubunun Yaş ve VKİ Dağılımları	22
Tablo 6.	Vaka ve Kontrol Grubunun Kan Değerlerinin Karşılaştırılması	24
Tablo 7.	Asprosin ve Subfatin Değerlerinin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması	24
Tablo 8.	Vaka ve Kontrol Grubunun Asprosin ve Subfatin Değerlerinin Karşılaştırılması	25
Tablo 9.	Asprosin ve Subfatin Korelasyonu	26
Tablo 10.	Asprosin ve Subfatin Seviyelerinin VKİ'ye Göre Karşılaştırılması	26
Tablo 11.	Plazma ve Serum Asprosin Düzeylerinin Parametreler ile İlişkisi	29
Tablo 12.	Plazma ve Serum Subfatin Düzeylerinin Parametreler ile İlişkisi	29
Tablo 13.	Plazma Asprosin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi	32
Tablo 14.	Tükrük Asprosin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi	32
Tablo 15.	Plazma Subfatin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi	33
Tablo 16.	Tükrük Subfatin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi	33
Tablo 17.	Asprosin Düzeylerinin Evreye Göre Karşılaştırılması	34
Tablo 18.	Subfatin Düzeylerinin Evreye Göre Karşılaştırılması	34

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	NASH patogenezinde çift vuruş hipotezi	7
Şekil 2.	İnsanda Metrn ve Metrnl moleküllerinin aminoasid dizilimi	12
Şekil 3.	Metrl'nin soğuk ve egzersizle beyaz adipoz dokuda kahverengileşme üzerine etkisi	13
Şekil 4.	Parotis bezinin subfatin immunhistokimyası	17
Şekil 5.	Parotis bezinin asprosin immunhistokimyası	18
Şekil 6.	Hastaların Evrelerinin dağılımı	23
Şekil 7.	Vaka ve Kontrol Grubunun VKİ'lerinin Karşılaştırılması (%)	23
Şekil 8.	Vaka ve Kontrol Grubunun Plazma ve Tükrük Asprosin Düzeylerinin Karşılaştırılması	25
Şekil 9.	Plazma Asprosin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması	27
Şekil 10.	Tükrük Asprosin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması	27
Şekil 11.	Plazma Subfatin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması	28
Şekil 12.	Tükrük Subfatin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması	28
Şekil 13.	Nonalkolik Steatohepatit İçin Plazma ve Tükrük Asprosin Değerinin ROC Eğrisi	30
Şekil 14.	Nonalkolik Steatohepatit İçin Plazma ve Tükrük Asprosin Değerinin ROC Eğrisi	31

KISALTMALAR LİSTESİ

AgRP	: Agouti-related protein
ANA	: Anti nükleer antikor
BT	: Bilgisayarlı tomografi
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
FBN1	: Fibrillin-1
IL-8	: İnterlökin-8
KCFT	: Karaciğer fonksiyon testlerinde
MCSF	: Macrophage colony stimulating factors
NASH	: Nonalkolik steatohepatit
NAYKH	: Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
NHANES III	: The Third National Health and Nutrition Examination Survey
POMC	: Bağımlı pro-opiomelanokortin
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
SYA	: Serbest yağ asidi
TG	: Trigliserid
TGF-beta	: Transforming growth faktör beta
TNFα	: Tümör nekrozis faktör- α
VKİ	: Vücut kitle indeksi
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein

1. GİRİŞ

Nonalkolik steatohepatit (NASH) karaciğerde yağlanma ile beraber alkolik karaciğer hastalığındaki gibi hepatositlerde balonlaşma, iltihabi infiltrasyon ve bazı vakalarda Mallory cisimcikleri, megamitokondriya, fibrozis gibi bulguların bulunduğu bir hastalıktır. NASH' in patogenezi çift vuruş olarak adlandırılan hipotez ile açıklanmaktadır. İlk aşama; hareketsiz yaşam, yağdan zengin beslenme, obezite, insülin direnci ve hepatositlerde yağ birikimini içerirken, ikinci aşamayı ise NASH progresyonunu artıracak fibrojeniz ile ilgili inflamatuvar olayları kapsamaktadır (1). Bu aşamaları açıklarken insülin direnci, oksidatif stres, sitokin regülasyonundaki anormallikler, mitokondriyal disfonksiyon gibi mekanizmalar kullanılmaktadır (2).

Subfatin (Meteorin benzeri/ Metrnl) 311 aminoasitten oluşan ve büyük çoğunlukla subkutanöz adipoz dokuda bulunan bir adipokindir (3, 4). Adipokinler ve inflamasyon, obezite ile ilişkili lokal ve sistemik insülin direnci gelişiminde oldukça önemlidir (5). Li ve ark. (6) tarafından yüksek yağ içerikli beslenme olan deneklerde yapılan bir araştırmada subfatinin inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir.

Asprosin, Romere ve arkadaşlarının 2016 yılında bulduğu yeni bir adipokindir. Yağ dokusu tarafından salgılanır, plazma glukoz ve insülin seviyelerini artırır. Yapılan araştırmalarda asprosin yüksekliğinin insülin direncine sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca asprosinin inflamasyonda da rol oynadığı saptanmıştır (7, 8).

Bu araştırmada erişkin dönemde nonalkolik steatohepatit etiolojisinde rol oynayabileceği düşünülen belirteçlerin araştırılması amaçlanmıştır. Böylece nonalkolik steatohepatit nörobiyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi, etiopatogenezinde rol aldığı düşünülen subfatin ve asprosin arasında korelasyon olup olmadığı belirlenebilecektir.

1.1. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

1.1.1. Epidemiyoloji

NASH çoğunlukla obezite, diabetes mellitus ve hiperlipidemi tanıları bulunan hastalarda görülen karaciğerde yağlanma ile seyreden, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Thaler H. ilk defa 1962 senesinde anlamlı seviyelerde alkol kullanmayan,

fakat alkolik steatohepatit ile uyum gösteren histolojik bulgulara sahip bir vaka bildirmiştir (9). 1979 yılında ise Miller ve arkadaşları tarafından alkolik hepatiti taklit eden bulgulara sahip bir grup vaka bildirilmiştir (10, 11). Ludwig ve ark. (12) karaciğer testleri normal seviyelerde olan ve alkol kullanım hikayesi olmayan ama bunlara rağmen karaciğerlerinde alkolik hepatit ile uyum gösteren histolojik bulgulara sahip 20 yetişkin hastada tespit ettikleri karaciğer hastalığını adlandırabilmek için nonalkolik steatohepatit tanımını ilk kez 1980 yılında kullanmışlardır.

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) terimi, temel anlamda karaciğerin makroveziküler steatozu ile karakterizedir. Tıbbi bakımdan önemli miktarda alkol tüketimi bulunmayan kişilerde (erkeklerde 30 g/dl, kadınlarda 20 g/dl altında) meydana gelen hastalık grubunu tanımlamak için kullanılır (13). NAYKH hepatik fibrozis, siroz ve neticede hepatik karsinomaya kadar gidebilen basit yağlanmadan NASH'a kadar değişen geniş bir hastalık grubunu temsil eder (14, 15). Kilosu normal olan ve metabolik açıdan herhangi bir risk etmeni olmayan kişilerde NAYKH sıklığı yaklaşık %16'dır. Öte yandan yüksek riskli grupta bulunan diyabetik hastalarda %60 sıklıkta, hiperlipidemik hastalarda %90 sıklıkta ve obez hastalarda %80 sıklığında görülmektedir (13, 16). Hepatosteatoz tüm yaş gruplarını etkileyebilir (17). Sıklığın en fazla olduğu yaş grubu 40-49 yaşlardır ve her iki cinsiyette de eşit sıklıkta görülmektedir (18, 19). Diyabet ve obezitenin yanısıra NASH oluşup fibrozis ve siroz aşamasına ilerlemesine sebep olan diğer bağımsız risk faktörleri yaş, kadın cinsiyet, siyah etnik kökenden olmak ve sigara kullanımındır (20, 21).

Nonalkolik steatohepatit; hepatositlerin %5'ten fazlasında histopatolojik açıdan yağ vakuollerinin görülmesi veya karaciğer toplam ağırlığının %5'inden daha fazlasını lipid miktarının oluşturması olarak tanımlanmaktadır. Bununla beraber NASH'te karaciğerde yağlanmanın yanısıra alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi karaciğer hücrelerinde balonlaşma, fibrozis, iltihabi infiltrasyon, mitokondrinin büyümesi ve bazı vakalarda Mallory cisimcikleri gibi bulgular da görülmektedir (22).

1.1.2. Etiyoloji

Obezite ve NASH arasında çok yakın bir ilişki bulunmaktadır. Normal kilolu bireylerle kıyaslandığında obezlerde NASH sıklığı 6 kat daha fazla bulunmuştur.

Morbid obez hastalarının %75'inden fazlasında karaciğer yağlanması, %24'ünde NASH ve %3-11'inde siroz bulunduğu tespit edilmiştir. Fibrozis şiddeti ile ilişkili olduğu bulunan obezitenin etkisi diyabet ve yaştan bağımsız olarak da büyük bir risk faktörü olarak görülmektedir (23, 24). Obezite ve Tip 2 DM'nin beraber olması yağlı karaciğer meydana gelme ihtimalini artırmaktadır. O kadar ki erişkinlerde, morbid obez olan diyabetik hastaların tamamında steatoz, yarısında steatohepatit ve yaklaşık beşte birinde (%19) siroz geliştiği gösterilmiştir (25). Karaciğer yağlanmasının, erkeklerde kadınlardan daha fazla bulunduğu ve bu durumun toplam vücut ağırlığından ve total vücut yağından bağımsız olarak yağ hücrelerinin abdominal dağılımı ile alakalı olduğu ifade edilmiştir (26).

Temel anlamda insülin direncinin beraber olduğu her durum nonalkolik hepatosteatoz için bir risk faktörüdür. Bundan dolayı başta Tip 2 DM olmak üzere, artmış bel/kalça oranı, obezite, metabolik sendrom, sedanter yaşam ve ileri yaş başlıca risk faktörleri arasında yer almaktadır. Amerika'da yetişkinlerin ve çocukların sağlık ve beslenme durumlarının değerlendirilmesi amacıyla yapılmış olan NHANES III (The Third National Health and Nutrition Examination Survey) sonuçlarına göre yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi ve diyabet faktörleri açısından benzer olan fakat trigliserid seviyesi >200 mg/dl olan bireylerde 3 kat artmış nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı sıklığı bulunmuştur. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı hiperkolesterolemisi olan bireylerden çok yüksek trigliserid (TG) seviyeli ve düşük düzeyli çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) kolesterolü olanlarda bulunmuştur. NAYKH artık metabolik sendromun bir bileşeni olarak düşünülmektedir (26).

Tablo 1. Nonalkolik steatohepatit etiyolojisi (27, 28).

1) İnsülin direnci durumları <ul style="list-style-type: none">➤ Tip 2 diabetes mellitus➤ Obezite➤ Hiperlipidemi➤ Trunkal obezite	B) Cerrahi Uygulamalar <ul style="list-style-type: none">➤ Jejunioleal bypass➤ Biliopankreatik diversiyon➤ Geniş ince barsak rezeksiyonları➤ Gastropleksi
2) Diğer Faktörler A) Metabolik Durumlar <ul style="list-style-type: none">➤ Hızlı kilo kayıpları➤ Total parenteral nütrisyon➤ Akut açlık➤ Protein kalori malnütrisyonu➤ Abetalipoproteinemi➤ Hipobetalipoproteinemi➤ Weber-Christian hastalığı➤ Sedanter yaşam➤ Aşırı bakteriyel çoğalma➤ Açlık	C) İlaçlar <ul style="list-style-type: none">➤ Tamoksifen -Metotreksat➤ Kortikosteroidler➤ Sentetik östrojenler -Klorokin➤ Tetrasiklin➤ Valproik asit➤ Aspirin - Klorfenilamin - Kalsiyum kanal blokerleri➤ Griseofulvin➤ Amiodarone➤ Zidovudin➤ Tioridazin

1.1.3. Nonalkolik Steatohepatit Patogenezi

Brunt ve arkadaşları tarafından 1999 yılında NASH'ı sınıflandırmak ve evrelemek için yağlanma, fibrozis ve nekroinflamasyon miktarı gibi değişkenleri barındıran bir histolojik evreleme ve sınıflandırma sistemi tavsiye edilmiştir. Amerikan Karaciğer Hastalığı Araştırma Derneğinin önerdiği bir rehberde göre NASH karaciğerde yağlanma ve inflamasyonla birlikte hepatosit hasarı varlığı şeklinde tanımlanmıştır (29). Day ve ark. (30) 1998 yılında NAYKH'nin patogenezi ortaya koyan iki vuruş hipotezini bulmuştur. İlk vuruş hepatositlerde lipid birikmesi ve insülin direncinin görülmesi ile ifade edilir, ikinci vuruş ise hepatik inflamasyon, fibrozis ve nekrozla neticelenen artmış oksidatif stresle ifade edilir. Bu model NAYKH'nin gelişimine neden olan çeşitli moleküller ve metabolik değişiklikleri açıklama konusunda yetersiz kaldığından dolayı artık eskimiş olarak kabul görmektedir.

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının etiyolojisine yönelik yapılan çalışmalarda bazı gen farklılaşmalarının bu durumu stimüle edici ve hızlandırıcı etkilerinin bulunması nedeniyle “çoklu vuruş” hipotezi bulunmuştur (31). Varolan çoklu vuruş hipotezine göre ilk vuruş; karaciğeri hepatik hasarı uyarıcı etkisi bulunan mitokondriyal disfonksiyon, lipid peroksidasyonu, adipoz doku disfonksiyonu ve adipokin sekresyonuna karşı daha hassas duruma getirir (32). NASH patogenezinde ilk zararlı faktör, yağlı karaciğer gelişmesine, ikinci zararlı faktör ise NASH

gelişmesine neden olmaktadır. İlk darbe olarak insülin direnci ve karaciğerin artmış serbest yağ asidi (SYA) kaynağı rol oynamaktadır (33).

1.1.3.1. İlk Darbe: İnsülin Direnci

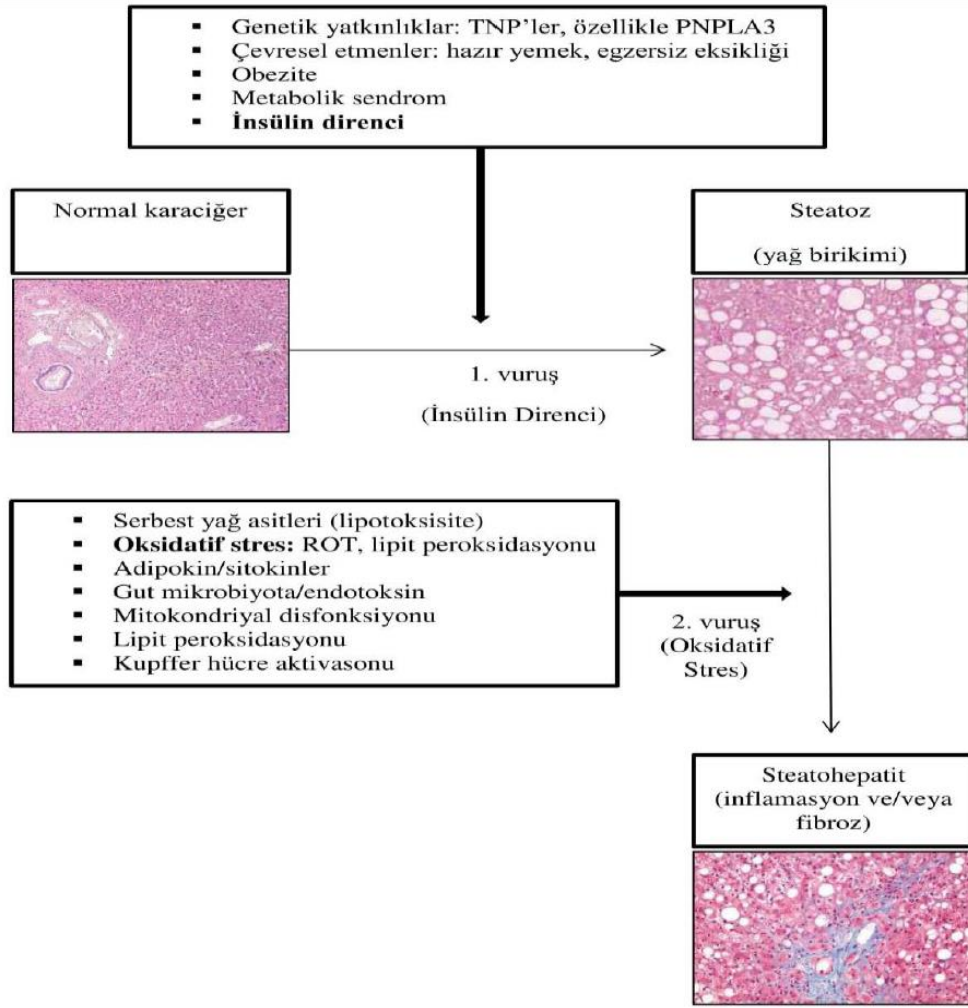
İnsülin temel olarak hücre yüzeyinde glukoz taşınmasını regüle ederek hücreler tarafından glukozun alınması işlevini yapar. Bunun yanında adipoz dokuda lipogenezi uyarırken lipolizin ise inhibisyonuna sebep olur (34). İlk vuruş insülin direnci ile startını vermektedir. İnsülin direncinin tesiri ile kaslar ve adipozitlere okside lipidlerin alımı artarken serbest yağ asitleri salınmaya başlar. Kaslardan ve adipozitlerden salınımı olan serbest yağ asitleri ya karaciğerde trigliseritlerle birleşirler ya da peroksizomlarda, mitokondrilerde veya mikrozomlarda oksidasyona uğrayarak oksidasyon son ürünleri oluştururlar. Bu oksidasyon sonucu oluşan ürünler karaciğer zedelenmesi ve fibrozise neden olabilecek zararlı ürünlerdir (35). Yağ birikiminden başka insülin direncinin bir diğer etkisi de trigliserid ve kolesterol esterlerinin hepatositlerden perifere taşınmasında rol alan apolipoprotein B-100 sentezini engelleyerek hepatositlerde de novo lipogenezi indüklemesidir. Bu etki karaciğerde yağlanma ile neticelenir (36, 37).

1.1.3.2. İkinci Darbe: Oksidatif Stres, İnflamasyon, Serbest Yağ Asitleri

İlk vuruşun neticesinde yağlanma ile hassas duruma gelmiş olan karaciğer ikinci darbe ile karşı karşıya kalırsa iltihabi infiltrasyon ve fibrozis süreci başlama aşamasına gelmektedir (22). Yağlanma ile sonuçlanan hastalık seyrinde ilk darbe dediğimiz olay insülin direncidir. İnflamasyon ve fibrozis ile neticelenen ikinci darbeden sorumlu etmenler; mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, oksidatif stres, tümör nekrozis faktör- α (TNF α) benzeri sitokinler ve adiponektin, leptin benzeri hormonlardır (38). Karaciğerde steatoz meydana geldikten sonra ikinci vuruş olarak isimlendirilen oksidatif strese hassas duruma gelir. Oksidatif stres NAYKH'de steatozdan steatohepatit oluşmasında sebep olan etmendir. Mitokondride serbest yağ asitlerinin oksidasyonu olduğu zaman boyunca çoğu hidrojen peroksit formunda bulunan reaktif oksijen türevleri (ROT) birikimi olur. Oksidatif stres oluşumundan ötürü ROT ile karaciğerdeki antioksidanlar daima bir denge durumunda bulunurlar. Bahsi geçen bu denge bozulmaya yüz tuttuğunda reaktif oksijen türleri sitokin oluşumu, fas ligand oluşumu ve lipid peroksidasyonu aracılığıyla steatohepatit

oluşumuna sebep olur. Lipid peroksidasyonu karaciğerde hücrelerin nekroza uğramasına ve kollajenin sentez edilmesinde artmaya neden olur. ROT bunun yanında TNF α , transforming growth faktör beta (TGF-beta) ve interlökin-8 (IL-8) benzeri sitokinlerin üretimini ve salınımını da artırır. TNF α ve TGF-beta hepatosit ölümüne sebep olur. TGF-beta aynı zamanda mallory cisimciklerinin yapısında bulunur ve fibroze sebebiyet veren ito hücreleri tarafından kollajen sentezini stimüle eder (39). Reaktif oksijenlerle uyarılan TNF α ise mitokondrilerde solunum zincirindeki elektronların transferini bozar ve mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin artmasını stimüle ederek hepatik antioksidanların bitmesine ve sonuç olarak da daha reaktif durumda olan oksijen türlerinin birikimine neden olur. Zaman içerisinde artış gösteren serbest oksijen radikalleri de TNF α ekspresyonuna ve enflamasyona bağlı olarak hepatit oluşmasına neden olur (40). IL-8 de nötrofil infiltrasyonu oluşmasına sebep olur. ROT hepatositte fas ligand ekspresyonuna sebep olur. Hepatosit normalde bir membran reseptörü olan fas meydana getirir. Fas ligand oluşumu olan bir hepatosit fas membran reseptörü olan başka bir hepatositle etkileşimde bulunarak onu öldürme yeteneği kazanır (41).

Reaktif oksijen türevleri steatohepatit ve fibrozis gelişiminde en temel nedendir. ROT ile lipid peroksidasyonun artması antioksidan enzimler, glutasyon ve E vitaminini tüketir. Eksojen antioksidanların kullanımının NASH ile birlikte olan oksidatif stresi düşürebileceği varsayılmaktadır (41). Hastalısız bir karaciğerde ikinci darbeden sorumlu olan etmenler adaptasyon mekanizmaları sayesinde etkisiz duruma getirilebiliyorken, yağlanmış bir karaciğerde bu olmaz ve sonuç itibariyle hastalığın ilerleyici hallerine dönüşecek süreç başlamış olur (42).



Şekil 1. NASH patogenezinde çift vuruş hipotezi (43).

1.1.4. Histopatolojik Bulgular

Karaciğer yağlanması histopatolojik olarak tanımlanmasında herhangi bir problem yoktur fakat NASH için henüz tam olarak belli bir standart tanımlama oluşturulamamıştır. Brunt NASH tanısı için gereken temel histopatolojik bulguları steatoz, mikst tip lobul içi iltihabi infiltrasyon ve hepatositlerde balonlaşma şeklinde ifade etmiştir (44). Matteoni ve arkadaşları farklı bir tarz ile sınıflandırma metodu geliştirmişlerdir. Bunlar NAYKH'nı temel histopatolojik bulgulara göre 4 tipe ayırmışlardır (45).

Tablo 2. NAYKH histopatolojik bulgulara göre sınıflandırma (45).

Tip 1	Sadece yağlanma olan ama iltihabi infiltrasyon görülmeyenler
Tip 2	Yağlanma ve lobular iltihabi infiltrasyon
Tip 3	Yağlanma + hepatositlerde balonlaşma
Tip 4	Yağlanma + hepatositlerde balonlaşma + fibrozis veya Mallory cisimcikleri

Histopatolojik tanı standartları ile alakalı belirsizlikler bulunmaktadır. Bundan dolayı son senelerde NASH tanısının yarı kantitatif skorlara göre yapılmasını tavsiye eden fikirler ortaya çıkmıştır. Kleiner ve arkadaşları 14 histopatolojik kriteri düşünerek bir tanı skorunu meydana getirmişlerdir (46). Burada bulunan histopatolojik kriterlerin 4'ü yarı kantitatif olarak, 9'u var/yok şeklinde kategorik olarak, 1'i de lokalizasyonuna göre puanlanmış ve toplam skor NAYKH aktivite skoru (NAS) şeklinde adlandırılmışlardır.

- $NAS \geq 5$ olan NAYKH vakalarının NASH olduğu,
- $NAS = 4$ olanların borderline (muhtemel steatohepatit) olduğu,
- $NAS < 3$ olanların ise NASH olmadığı varsayılmıştır.

Yarı kantitatif skora metodu tanıdan ziyade öncelikle hastalığın ağırlığını tanımlamak amacıyla kullanılmıştır. Bu skora sistemlerinin ilki Brunt tarafından 1999 senesinde önerilmiş olan sistemdir (47). Bu sınıflama sonrasında kısmi olarak düzenlenmiştir ve temelde yağlanma ve iltihabi infiltrasyon ile alakalı bulgular Grade I, Grade II ve Grade III olarak derecelendirilirken, fibrozis I, II, III ve IV (Siroz) olarak sınıflandırılmıştır (44). İleriki yıllarda başka bazı skora sistemleri de öne sürülmüştür. Mendler ve arkadaşları portal fibrozis (0-6), lobular inflamasyon ve nekroz, Mallory cisimleri, hepatosit balonlaşması (0-3), perisinuzoidal fibrozis (0-3), yağlanma (1-4) bulgularını aralarında puanlayarak oluşturdukları aktivite skorunu (AS) kullanmışlardır. Bu skora sisteminde kullanılan kriterler tablo 3'te bulunmaktadır (44).

Tablo 3. NASH yarı kantitatif derecelendirme yöntemleri (44).

Grade 1	Aktivite skoru: 0-4 ve Portal Fibrozis: 0-2
Grade 2	Aktivite skoru: 5-7 veya Portal Fibrozis: 3
Grade 3	Aktivite skoru: 8-12 veya Portal Fibrozis > 3

1.1.5. Klinik Bulgular, Laboratuvar Bulgular Ve Tanı

Nonalkolik steatohepatit hastaları çoğunlukla semptomatik değildir. Genellikle başka şikayetlere yönelik yapılan tetkiklerde insidental olarak hepatosteatoz, hepatomegali veya karaciğer fonksiyon testlerinde (KCFT) bozukluk saptanmasıyla NASH mevcudiyeti bulunur. Bazen bu hastalarda hassasiyet, kırgınlık, yorgunluk, sağ yanda mevcut olan bir ağrı, dolgunluk hissi gibi bulgular görülebilir (18). Hastalarda tespit edilebilecek tek fizik muayene bulgusu olan hepatomegali vakaların %25'inde bulunurken yapılan tetkikler neticesinde hastaların yaklaşık olarak %75'inde hepatomegali görülmüştür, fakat obez hastalarda fizik muayenede hepatomegaliyi anlayabilmek oldukça zordur (48). Bundan dolayı hastalığın tanısı çoğunlukla laboratuvar sonuçlarına göre konulmaktadır. Hastalığın en sık karşılaşılan laboratuvar bulgusu, ALT, AST değerinin normal değerinin 1-3 kat kadar üzerine çıkmasıdır fakat karaciğer yağlanması tespit edilmiş olan birçok hastada KCFT normal sınırlarda da olabilir. Transaminaz yükselmesi bazı nadir vakalarda daha yüksek düzeylerde olabilir fakat bu durum genelde geçici ve kısa sürelidir. AST/ALT oranı sirotik evredeki hastalar dışında 1'den azdır. ALT yüksekliği daha ön plandadır (ALT>AST). Bu bulgu AST'nin daha fazla artış gösterdiği alkolik karaciğer hastalığından ayırımı için kıymetlidir. GGT birçok vakada normal değerinin üzerinde görülür. Vakaların yarısından azında hafif alkalin fosfataz artması meydana gelebilir. Albumin, bilirubin, globulin düzeyleri ve protrombin zamanı siroz gelişen vakalar haricinde normal aralıklarda görülür. Biyokimyasal bulgular diğer sebeplerle oluşan karaciğer hastalıklarından çok farklı değildir ve karaciğer yağlanmasının spesifik bir biyokimyasal verisi bulunmamaktadır. Anti nükleer antikor (ANA) ve düz kas antikor (SMA) pozitifliği görülebilir ve bu durum bazen klinik tanıda hatalar oluşmasına sebep olabilir (49). Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı olanlarda hemokromatozis gen mutasyon heterozigotluğu yüksek oranda bulunmuş ve artmış demir varlığı bu hastalarda prognozu kötü yönde etkilemektedir (50). Ayırıcı tanıda yararlanılacak testlerden olan hepatit serolojisi bütün hastalarda bakılmalı, otoimmün hepatit ve hemokromatozis gibi hastalıklar ise klinik ve biyokimyasal verilerin bu hastalıklarla uyum içerisinde olduğu düşünülen hastalarda ayrıca araştırılmalıdır. Spesifik semptom ve laboratuvar bulgularının bulunmayışı hastalığın tanısında radyolojik tetkiklerin kıymetini artırmaktadır. Buna karşın ultrasonografi (USG),

bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yağlı karaciğer hastalığındaki faydası genellikle yağlanmanın tespit edilmesi ile sınırlıdır ve yağlı karaciğer hastalığının farklı formları için ayırıcı tanı yapmak imkan dahilinde olmamaktadır. Ultrasonografik incelemelerde yağlanmanın temel bulgusu karaciğer ekojenitesindeki artış olmakla beraber posterior akustik zayıflama, vasküler yapıların duvar ekolarındaki silinme gibi ek bulgular da bu tanıya yardımcı olmaktadır (51, 52). Genel pratik olarak steatoz grade I-III arasında basamaklandırılarak belirtilmektedir ancak bu basamaklandırmanın klinik olarak bir anlamı yoktur.

Tablo 4. Karaciğer Yağlanmasında Ultrasonografi Bulguları (51, 52).

Grade 1	Hafif difüz eko artışı bulunmaktadır. Diyafram ve intrahepatik damar duvarlarındaki görünüm normaldir.
Grade 2	Orta derecede ekojenite artışı bulunmaktadır. Diyafram ve intrahepatik damar duvarları görüntüsünde hafif silinme bulunmaktadır.
Grade 3	İleri derecede ekojenite artışı bulunmaktadır. Diyafram ve intrahepatik damar duvarlarında belirgin silinme, karaciğer sağ lob posteriorunun görüntüsünde silinme görülür.

Karaciğerdeki yağlanmayı bulmada USG'nin özgüllüğü %93 ve duyarlılığı %89'dur (53, 54). Karaciğerde yağlanma BT'de karaciğer yoğunluğunun azalması ile bulunur (55). MRG görüntüleme karaciğerdeki fokal yağlanmaları metastazlardan ayırmak amacıyla kullanılabilir (56). Fakat hastalığın ciddiyetinin tespit edilmesi için, prognozun belirlenmesi ve ayırıcı tanıların yapılabilmesi bakımından karaciğer biyopsisi olmalıdır. Özellikle yüksek fibrozis ihtimali olan vakalar için mutlaka biyopsi tavsiye edilmektedir. Yüksek fibrozis riski taşıyan kişiler ise;

- 45 yaş üzeri olanlar,
- Obezler,
- Tip 2 DM tanısı olanlar,
- ALT/AST oranı 1'in üzerinde olanlar ve
- Takiplerde ALT artışı iki kattan fazla olanlardır (57).

3.1.6. Tedavi

Tedavide öncelik olarak fiziksel aktivite, egzersiz ve uygun beslenme programı olmalıdır. Bu hastalık için yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar gösteriyor ki; tip 2 diyabet ve obezite en çok beraberlik gösteren hastalıklardır ve hastalık oluşmasına en çok zemin hazırlayan olaylardır. Bundan dolayı bu hastalıkların engellenmesi ve engellenemez ise uygun tedavileri ile iyileşmeye veya hastalığın kontrol altına alınması amaçlanmaktadır (58, 59). Diyabet hastalarında HbA1C değeri muhakkak 7'nin altında tutulmalıdır. Lipit düzeyleri de yüksek tutulmamalıdır (59). İnsülin duyarlılığında artışa neden olan farmakolojik ajanlar kullanılabilir. İnsülin direncini düzenlemek için iki türlü ilaç grubu bulunmaktadır. Tiazolidinedionlar (rosiglitazon ve pioglitazon) ve biguanidler (örnek; metformin) (58). Ursodeoksikolik asitin immunomodülatör, direkt sitoprotektif (karaciğer hücre membran stabilizasyonu) ve antiapoptotik tesiri bulunmaktadır. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında tedaviye yönelik olarak üzerinde en çok çalışma yapılan ilaçtır. Bu anlamda yapılan çalışmaların sonuçları birbirine benzerdir. Transaminaz seviyeleri ve steatozda anlamlı iyileşmelere neden olmaktadır, ancak histopatoloji üzerine olan tesiri farklı bulunmuştur. Demir, NAYKH patogenezinde hepatik fibrozis ve oksidatif stres oluşmasında görev alır. Öte yandan bu vakalarda hiperferritinemi ve hafif demir yüklenmesi çoğunlukla tespit edilir. Bu konuda yapılan bilimsel çalışmalarda flebotomi ile demirin düşürülmesinin, NAYKH'da olumlu etkilerinin olduğu bulunmuştur (60).

N-asetilsistein karaciğerde glutasyon seviyelerinde yükselmeye neden olarak karaciğeri oksidatif stres etkisinden korur. Biyopsi kontrollü yapılan bir çalışmada (1000 mg/gün üç ay süreyle) NAYKH olan hastalarda, histolojik ve enzimatik bir iyileşme görüldüğü ifade edilmiştir. Önemli bir endojen antioksidan olan E vitamini, oksidatif stresi düşürebilir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda transaminazlarda düzelme sağladığı görülürken USG ile yağlanmada azalmaya neden olmadığı bulunmuştur (61).

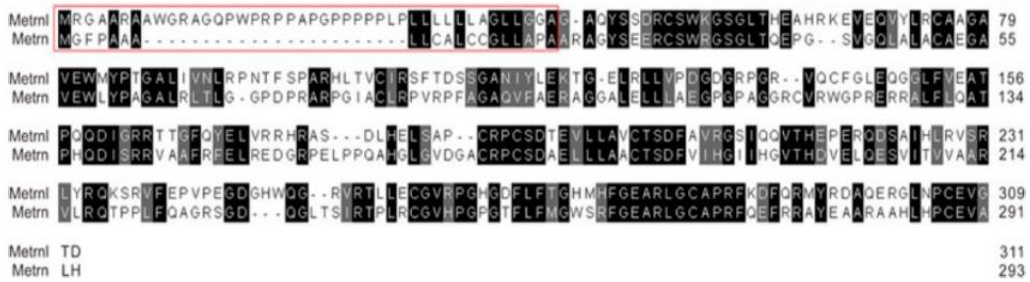
1.2. Subfatin (METRNL)

Adipoz doku, adipokin ismiyle bilinen çeşitli proteinler ve peptidlerin salınımını yapan aktif bir endokrin organdır (62). İnsülin duyarlılığı, metabolik

homeostaz, immünite, inflamasyon benzeri çoğu işlevin düzenlenmesinde adipokinler görev alır. İnsülin direnci tip 2 DM metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalık (KVH) için çok önemli bir risk faktörüdür (63). Nishino ve arkadaşları 2004 senesinde Metrn1 homoloğu bir protein olan Meteorin'i (Metrn) tanımlamıştır (64). Jorgensen ve arkadaşları 2012 senesinde Metrn1 molekülünü tanımlayıp Metrn benzeri bir nörotropik faktör olarak işlevini tespit ederek Cometin olarak isimlendirmiştir (65).

Son dönemlerde, Metrn1 molekülünün yeni bir adipokin olduğu belirtilmiştir (3). Aslında Metrn1, sekanslarındaki benzerlik nedeniyle Meteorin-like (Metrn1) şeklinde isimlendirilmiştir. Ancak işlevleri ve buldukları dokular birbirlerinden farklılık göstermektedir. Meteorin beyinde yüksek oranda bulunur ve glial hücre diferansiyasyon düzenleyicisi olarak fonksiyon gösterir (64). Metrn1 ise büyük oranda subkutanöz adipoz dokuda bulunur. Bu nedenle alanında otorite olan bazı bilim adamlarınca "Subfatin" teriminin kullanılması tavsiye edilmiştir (4).

Subfatin molekülü 311 aminoasitten mütevellit olup 45 aminoasitten oluşan NH2-terminal sinyal peptidine sahiptir ve transmembran bölgesi bulunmamaktadır. Bu da 266 aminoasitten oluşan matur protein olarak salındığı anlamına gelmektedir (3). Metrn1 geni insanda kromozom 17q25.3 üzerinde bulunur (65). Şekil 2'de insan Metrn ve Metrn1 aminoasid dizilimleri gösterilmektedir.



İki molekül arasında aynı dizilime sahip olan alanlar siyah, benzer dizilimdeki alanlar gri renk ile gösterilmiştir. NH2- terminal sinyal peptidi sekansı kırmızı çerçeve içinde yer almaktadır.

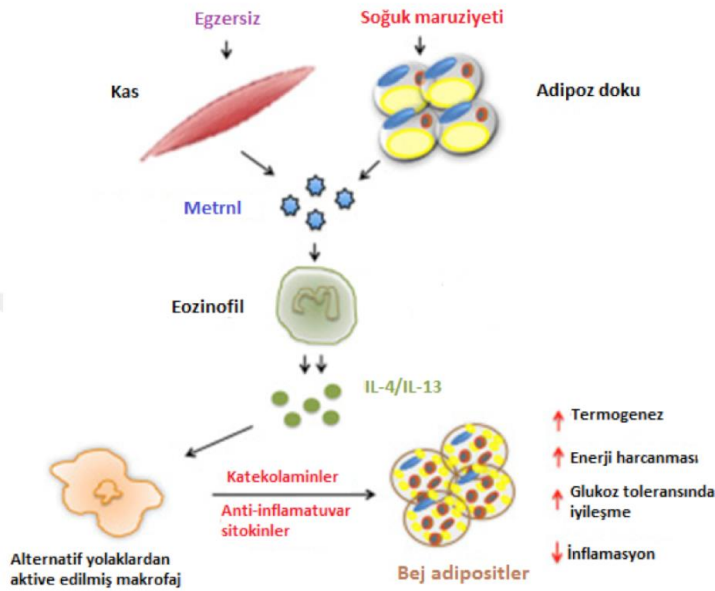
Şekil 2. İnsanda Metrn ve Metrn1 moleüllerinin aminoasid dizilimi (3).

Subfatin erişkinlerin beyin dokusunda ya çok düşük miktarlarda bulunur ya da hiç bulunmaz (65). En yüksek oranda beyaz adipoz dokuda bulunur (4). Bundan başka karaciğer, kas dokusu, dalak, subkutanöz adipoz doku, kalp, timus, omental

adipoz doku ve interskapular adipoz dokuda da bulunmaktadır. Aktive insan monositlerinde de çok fazla eksprese edilir. Bunun dışında alternatif yollardan aktivasyonu sağlanmış makrofajlar ve macrophage colony stimulating factors (MCSF) tarafından uyarılmış kemik iliği makrofajlarınca da üretilir (66).

Subfatin normal şartlar altında fibroblastlarda eksprese olurken, keratinosit ve periferel damar mononükleer hücrelerinde olmazlar. Ancak keratinositlerin IFN γ (interferon gama) ile uyarılması neticesinde ekspresyonları artar. Psöriaziste, ailesel primer lokalize kutanöz amiloidozda, atopik dermatitte ve romatoid artritte sinoviyal membranlarda belirgin şekilde artmış olması, bu hem edinsel hem de kazanılmış immün yanıtlarda rolü olabileceğini akla getirmektedir (66).

Metnrl'nin Metrn ile sinerjistik etki gösterdiği nöronal dokuda nörotropik faktör olarak etkileri bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada akut soğuk maruziyeti ve egzersiz sonrası beyaz adipoz dokuda subfatin ekspresyonunda upregulasyon görülmüştür. Artmış subfatin düzeyleri eozinofil bağımlı IL-4 (interlökin-4) artışı ve makrofaj aktivasyonu yoluyla beyaz adipoz dokunun kahverengi adipoz dokuya çevrilmesini uyarmıştır. Şekil 3'te subfatinin soğuk maruziyeti ve egzersizle beyaz adipoz dokuda kahverengileşme mekanizması şematik olarak gösterilmiştir (67).



Şekil 3. Metnrl'nin soğuk ve egzersizle beyaz adipoz dokuda kahverengileşme üzerine etkisi

PPAR γ , adiposit diferansiyasyonunun düzenlenmesinde, lipid metabolizması ve adipoz doku inflamasyonunda kilit noktada bulunmaktadır (68). Adipositlerde PPAR γ uyarılması sistemik insülin duyarlılaşması için yeterlidir (69). Konsantrasyon bağımlı olarak subfatin tarafından uyarılır. Subfatin PGC1 α 4 (proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α) tarafından düzenlenir (67). PGC1 α , mitokondriyal biyogenez ve enerji harcanmasının temel regüle edicisidir. PGC1 α 4 ise PGC1 α 'nın bir izoformudur. Soğuğa maruz kalınması ile kahverengi adipoz dokuda uyarılarak termogenezi kontrol altında tutar. Ayrıca egzersiz sonucu iskelet ve kalp kasında da artış gösterir (70). PGC1 α , PPAR γ 'nın da dahil olduğu birçok transkripsiyon faktörünün kofaktörüdür (71).

1.3. Asprosin

Romere ve arkadaşları tarafından 2016 senesinde ABD'de fibrillin-1 (FBN1) gen mutasyonu ile karakterize NPS (konjenital parsiyel lipodistrofi, fasiyal dismorfizm, yüz ve ekstremiteler anomalileri) hastalarında tespit edilen ve açlıkla uyarılan, hepatik glukoz çıkışı temin eden bir hormon tespit edilmiştir. Bu hormon FBN1 tarafından kodlanan profibrilin proteininin C-terminal klivaj ürünüdür. Beyaz adipoz dokudan salgılandığı için bu hormona Yunanca 'beyaz' manasına gelen 'asprosin' ismi verilmiştir (7). Bu çalışmada NPS hastaları arasında iki tanesinin diğer NPS hastalarından farklı olduğu farkedilmiştir. Hem parsiyel hem jeneralize lipodistrofilerde çoğunlukla insülin direnci bulunmasına karşın bu hastaların diğerlerine kıyasla iki misli daha düşük açlık insülin seviyelerine sahip olduğu ve genetik analizler sonucunda her iki hastada da FBN1 geninde heterozigot mutasyon olduğu tespit edilmiştir. Mutasyonu olmayan NPS vakalarında dolaşımda bulunan asprosin seviyeleri bariz bir şekilde düşük görülmüştür. Gün içerisinde asprosin seviyelerinin dalgalanması araştırıldığında; asprosinin sirkadiyen ritminin bulunduğu, beslenmenin sonunda hızlı bir şekilde düştüğü ve gece boyunca açlık sonrası insanlarda, farelerde ve sıçanlarda dolaşım düzeylerinin düştüğü tespit edilmiştir. Bütün dokularda FBN1 mRNA profili araştırıldığında beyaz adipoz dokunun en yüksek seviyede FBN1 mRNA ekspresyonu gösterdiği belirlenmiştir. Adipositlerin asprosin üretebilme ve sekrete edebilme becerileri hücre kültürlerinde tespit edilmiştir. Havyan deneylerinde hem dışardan verilen bakteri kaynaklı

rekombinant asprosinin hem de endojen olarak adenovirüs kaynaklı overekspresyon metoduyla sentez edilen asprosinin kan glukozu ve insülin seviyelerini yeterli ölçüde arttırdığı bulunmuştur. Farelerde tek doz asprosin enjeksiyonu sonrası 30. dakikada glukoz piki bulunmuştur. Kompansatuar hiperinsülineminin araya girmesi ile 60. dakikada kan glukozu normal seviyelerine gelmiştir. Artmış plazma asprosin düzeyleri artmış hepatik glukoz çıkışına sebep olmakla beraber insüline cevap olarak periferel dokuların glukoz alımı üzerinde bir etkisi bulunamamıştır (7).

Asprosin birincil etki yeri olan karaciğerde hepatosit yüzeyinde yer alan reseptörlerine bağlanarak doz bağımlı glukoz çıkışını artırmaktadır. Hücre içi tesirini hem in vitro hem de in vivo G protein-cAMP-Protein Kinaz A yolağı üstünden yapmaktadır. Bununla aynı hücre içi sinyal yolları kullanan öteki mediatörlerin asprosinin etkisi asprosin üretimini negatif feedback ile inhibe etmektedir. İnsülin direnci bulunan obez insan ve hayvan modellerinde (diyetle indüklenen obezite ve leptin mutasyonu) asprosin düzeyleri üstündeki rolü incelendiğinde glukagon veya adrenalin blokajı olmasının asprosin ilişkili hepatik glukoz eksportunu etkilemediği, insülinin ise arttırdığı bulunmuştur. Plazma glukoz seviyesi patolojik şekilde artmıştır. İnsülin direnci ile beraber yükselen asprosinin temel çıkış noktasının ne olduğunu bulabilmek adına homozigot leptin eksikliği bulunan ve normal farelerin çeşitli dokularındaki FBN1 mRNA profili incelenmiştir. Yapılan çalışmada en fazla beyaz adipoz dokuda olmak üzere kahverengi adipoz doku ve iskelet kasında kuvvetli değişim bulunmuştur. Bu üç organ aynı anda çoğunlukla insülin direnci patogenezi ile ilişkilendirilen organlardır. Adipoz doku ve iskelet kasında görülen artmış FBN1 mRNA aracılığı ile plazma asprosin seviyesinin yükselmesi insülin direnci patogenezi için temel mekanizma olarak varsayılmaktadır zira diğer organlarda ne açlıkta ne de streptozotosin uygulaması neticesinde kan glukozu yükselmesiyle FBN1 mRNA düzeyinde herhangi bir değişiklik bulunamamıştır (7).

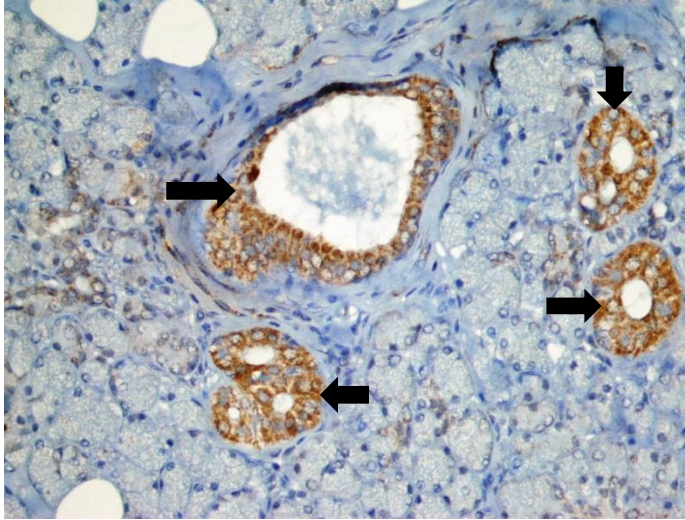
Asprosin tüm bunların yanında aynı zamanda santral etkili oreksijenik bir hormondur. Dolaşımda bulunan asprosinin kan beyin bariyerini geçerek doğrudan oreksijenik Agouti-related protein (AgRP) nöronlarını cAMP bağımlı mekanizma ile aktive etmektedir. Bu aktivasyon neticesinde anoreksijenik GABA-bağımlı pro-opiomelanokortin (POMC) nöronları inhibe olarak açlık uyarılmakta bunun neticesinde adipozite ile vücut ağırlığı artışı görülmektedir (72).

Bu anlamda yapılan araştırmalarda Tip 2 DM, PKOS ve obezite gibi metabolik hastalıklarda asprosin düzeylerinin arttığı bulunmuştur (73-78). Asprosin düzeyinde cinsiyetler arası fark olup olmadığı literatürde tartışmalı bir konudur. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda kadın ve erkeklerde asprosin düzeyleri açısından fark gözlenmemiştir (73, 75, 78). Yapılan bir araştırmada ise obez erkek çocuklarda obez kız çocuklara kıyasla plazma asprosin düzeylerinde anlamlı yükseklik saptanmış olup obez olmayan kız ve erkek çocuklar arasında bu fark bulunamamıştır (79).



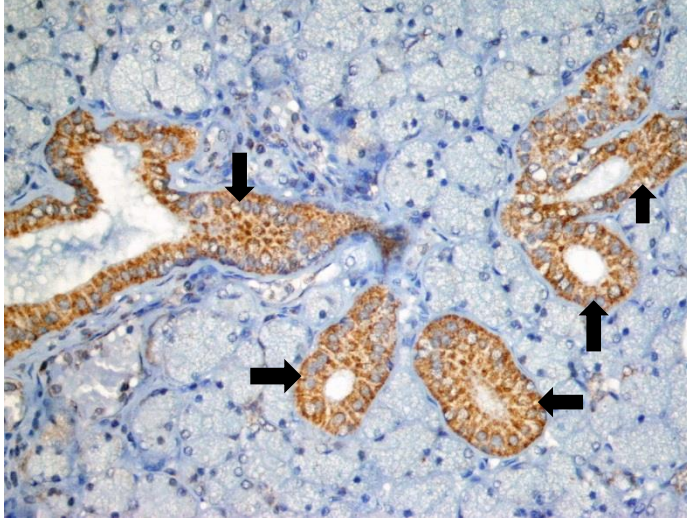
2. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Hastanesi Gastroenteroloji, Endokrinoloji ve Genel Dahiliye polikliniğine daha önce başvuran ve karaciğer biyopsisi ile nonalkolik steatohepatit tanısı kesinleştirilmiş hastalar alınmıştır. İç hastalıkları polikliniğine rutin kontrol amaçlı gelen hastalar histopatolojik sınıflama sistemi Brunt 'a göre 4 evreye ayrılmıştır. Çalışma ölçütlerine uyan, yaş, vücut kitle indeksi (VKI) ve cinsiyet açısından benzer nonalkolik steatohepatit tanılı 4 ayrı histopatolojik evreden, 1. Evreden 30, 2. Evreden 30, 3. Evreden 22 ve 4. Evreden ise 15 vaka (Toplamda 97) grubu oluşturulmuştur. Yine çalışma şartlarını karşılayan ve hasta gruplarıyla yaş ve cinsiyet bakımında eşleştirilmesi sağlanmış, geçmiş ve şimdiki öyküsünde ek hastalık tablosu olmayan 30 sağlıklı kontrol grubu alınmıştır. Hem nonalkolik steatohepatit tanılı hastalardan hem de sağlıklı kontrol grubundan yazılı onam alındıktan sonra kan ve tükürük örnekleri alınmıştır. Ayrıca insan tükürük bezlerinin subfatin ve asprosin sentezleyip sentezlemediğini ortaya çıkarmak amacıyla patoloji arşivinde 3 tükürük bezi (submandibular, parotis ve minör tükürük bezi) bu molekülerin antikorlarıyla boyanarak immunhistokimyasal olarak ortaya koyulmuştur (Şekil 4 ve Şekil 5).



Şekil 4. Parotis bezinin subfatin immunhistokimyası

Parotis bezi striated (çizgili kanal) duktuslarının asprosin ile immunhistokimyasal boyanması şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 5. Parotis bezinin aspirin immunhistokimyası

Parotis bezi striad (çizgili kanal) duktuslarının aspirin ile immunhistokimyasal boyanması şekil 5’te gösterilmiştir.

Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

1. 18 yaş üstü olmak
2. Klinik, laboratuvar ve patolojik olarak nonalkolik steatohepatit tanısı konulmuş olması ve USG’de hepatosteatozu destekleyen bulguların olması
3. Kronik karaciğer hastalığının olmaması
4. Alkol kötüye kullanım öyküsünün olmaması
5. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması

Gönüllülerin Araştırmadan Dışlanma Kriterleri:

1. 18 yaşından küçük olmak
2. Klinik ve laboratuvar olarak nonalkolik steatohepatit tanısı konulmamış olmak
3. Alkol kötüye kullanım öyküsünün olması (kadın>20 gr/gün, erkek 40>gr/gün)
4. Gebelik
5. Wilson hastalığı, Hemakromatozis, Primer biliyer siroz vs diğer kronik karaciğer hastalığının olması
6. Hepatit B, Hepatit C olması
7. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olmaması

Kontrol Grubunun Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 1) Klinik ve laboatuvar olarak organik bir hastalığının olmaması
- 2)Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması

Kontrol Grubunun Araştırmadan Dışlanma Kriterleri:

- 1) Klinik ve laboratuvar olarak organik bir hastalığının olması
- 2)Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olmaması

Kontrol grubunda ise dışlanma kriterlerinin bulunmaması ve hastane personeli olmaması gerekli kabul edilmiştir.

2.1. Biyokimyasal Analizler:

Her bir katılımcıdan başvuru anında rutin tetkikler için alınan kana ilaveten eş zamanlı olarak 5 cc kan örneği proteaz inhibitörünü içeren (aprotinin) tüplere ve 1 cc tükürük örneği daha önceden tarif edildiği şekilde alındı. Alınan bu numuneler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen plazma ve süpernatant (tükürük) ependorf tüplere aktararak Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) çalışmalarında kullanılmak üzere çalışma gününe kadar -80 C°'de saklandı.

Plazma ve tükürük süpernatant örneklerinde Asprosin düzeyleri, Human Asprosin ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory. Katalog no: E4095Hu Shanghai, CHINA) kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Kitin Intra-Assay: CV değeri <8% iken, Inter-Assay: CV değeri <10% idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, ABD) cihazı, absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazı (Awareness Technology Instruments, ABD) kullanıldı. Test sonuçları ng/mL olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı (standart curve range) 0,5 ng/mL – 100 ng/mL, minimum ölçülebilir düzeyi (sensitivity) 0,23 ng/mL idi.

Plazma ve tükürük süpernatant örneklerinde Meteorin-like Protein düzeyleri, Human Meteorin-like Protein ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory. Katalog no: E3941Hu Shanghai, CHINA) kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Kitin Intra-Assay: CV değeri <8% iken, Inter-Assay: CV değeri <10% idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, ABD) cihazı, absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazı (Awareness Technology Instruments, ABD) kullanıldı. Test sonuçları

ng/mL olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı (standart curve range) 0,05 ng/mL – 15 ng/mL, minimum ölçülebilir düzeyi (sensitivity) 0,023 ng/mL idi.

Tükrük supernatantlarında ELISA kitlerinin asprosin ve meteorin-like protein düzeylerini doğru ölçüp ölçmediğini ortaya koymak için Aydın' ın daha önce tarif ettiği şekilde deneyin validasyonu yapıldı. Tükrük supernatantlarında, asprosin ve meteorin-like protein seviyesinin aynı duyarlılıkla ölçüldüğü tespit edildi (80).

2.3. İmmünohistokimya

Asprosin ve subfatin immünreaktivitesi için tükrük bezlerinden parotis bezi kullanıldı. İmmünohistokimyasal inceleme için seçilen parafin bloklardan 3-4 mikron kalınlığında kesitler poly-1 lisine kaplı lamlara alındı. Sonrasında ilk deparafinizasyon işlemi için bir gece etüvde 72 santigrat derecede 30-45 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler antijen retrieval işlemi de dahil olmak üzere tüm boyama aşamalarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştirilen tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA Benchmark Ultra SN:3144159) boyandı. Kesitlere primer antikor olarak asprosin antikoru (Dilüsyon 1/100, Asprosin primer antibody Code: A00229-10-100 : Anti-Asprosin/Fibrillin-1) (2732-2871) Human Monoklonal Antibody ve subfatin antikoru (Dilüsyon 1/100, Subfatin primer antibody Code: A00478-07-100, Anti-Human Meteorin Like Protein) (METRNL) Monoklonal Antibody (Aviscera Bioscience, Inc. ABD) damlatılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirildi. Boyanan kesitler Olympus BX53 ışık mikroskobu altında boyanma yaygınlığı ve şiddeti açısından patologlar tarafından değerlendirildi.

2.4. Prosedür

Çalışma başlangıcında bütün hastaların başvuru anında ayrıntılı öykü, fizik muayene ile demografik bilgileri alınmıştır. Bütün vakaların vücut ağırlığı, boy, kan basıncı ve fizik muayene değerlendirmesi yapılmıştır. Normal poliklinik değerlendirmesinde rutin uygulanan biyokimyasal ve hormonal değerleri (açlık plazma glukozu, HbA1c, insülin, tam kan sayımı, lipid profili, üre, kreatinin, elektrolitler) incelenmiştir. Hastaların demografik özellikleri ve diğer biyokimyasal verileri hasta dosyalarından elde edilmiştir. Hastalardan başvuru anında rutin tetkikler için alınan kana ilaveten 3 ml kan ve tükrük örneği alınmıştır. Alınan kan örneği proteaz inhibitörünü içeren (aprotinin) tüplere alınmıştır. Alınan numuneler

3500-4000 rpm 5-10 dakika santrifuj edildikten sonra eppendorf tüplere alınarak çalışmaya kadar -80 santigrat derecede saklanmıştır. Tüm biyolojik numuneler toplandıktan sonra üretici firmanın kataloğunda belirtildiği şekilde ELİSA yöntemiyle çalışılmıştır.

2.5. İstatistiksel analiz

Çalışmada tanımlayıcı veriler kategorik verilerde n, % değerleri, sürekli verilerde ise medyan interquartile range (25-75 persantil değerleri) değerleri ile gösterilmiştir. VKİ verileri hem ölçümsel olarak verilmiştir hem de kategorik hale getirilip verilmiştir. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Fisher testi kullanılmıştır. Ölçümsel veriler normal dağılım varsayımı için Kolmogrov-Smirnov testleri ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen ölçümsel verilerin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi ve Kruskal Wallis testi kullanım alanına uygun yerlerde kullanılmıştır. Ölçümsel verilerin birbirleri ile ilişkisini incelemek için spearman korelasyon analizi yapılmıştır. Asprosin ve subfatin değerlerinin tahmin edici etkilerini ölçmek için çoklu doğrusal regresyon analizi yapılmıştır. Asprosin ve subfatin değerlerinin tanıdaki değerini ölçmek için Receiver operating characteristic (ROC) eğrileri çizilmiştir. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edilmiştir. Analizler IBM © SPSS programı 20 sürümü ile gerçekleştirilmiştir.

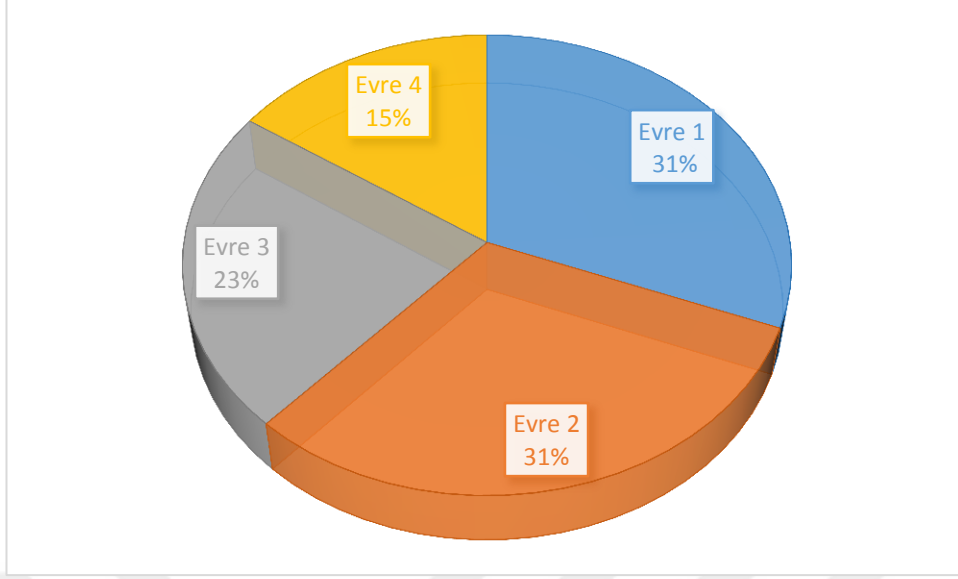
3. BULGULAR

Çalışmaya 97 (%76,4) hasta 30 (%23,6) kontrol olmak üzere toplamda 127 katılımcı dâhil edilmiştir. Vaka grubunun %61,9'u kontrol grubunun ise %53,3'ü kadın olarak bulunmuştur. Vaka grubu da kendi içinde evrelere ayrıldığında en fazla Evre 1 ve Evre 2'den hasta bulunmaktadır (Şekil 6). Vaka grubunda obez olanların oranı kontrol grubunda olanlardan yüksek bulunmuştur (Şekil 7). Vaka grubunun yaş ve VKİ ortancaları kontrol grubundakilerden anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (Tablo 5).

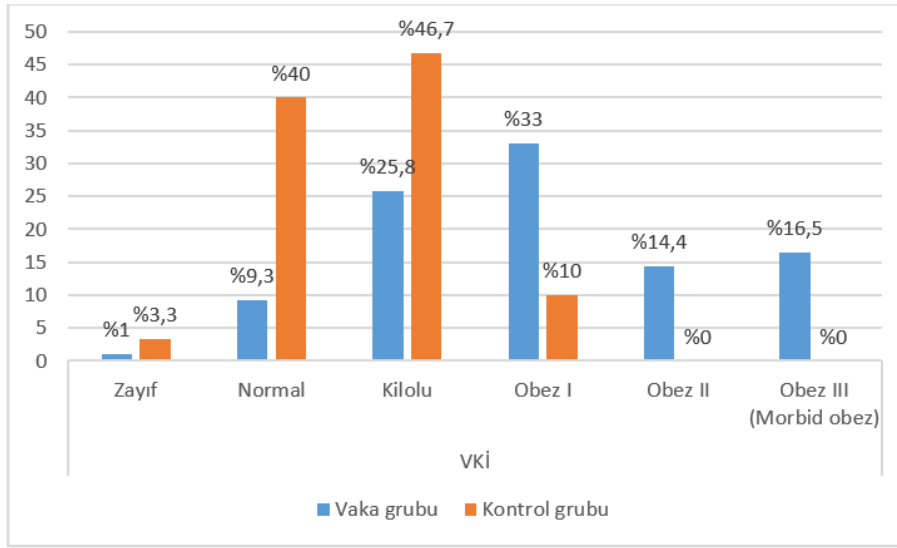
Tablo 5. Vaka ve Kontrol Grubunun Yaş ve VKİ Dağılımları

		Vaka Grubu		Kontrol Grubu		P
		Sayı	%	Sayı	%	
Yaş*	Ortanca (IQR)	54,0 (45,0-61,0)		46,5 (39,0-53,0)		0,002
Cinsiyet	Erkek	37	38,1	14	46,7	0,523
	Kadın	60	61,9	16	53,3	
Evre	Evre 1	30	30,9	-	-	-
	Evre 2	30	30,9	-	-	
	Evre 3	22	22,7	-	-	
	Evre 4	15	15,5	-	-	
VKİ sınıflaması**	Zayıf	1	1,0	1	3,3	<0,001
	Normal	9	9,3	12	40,0	
	Kilolu	25	25,8	14	46,7	
	Obez I	32	33,0	3	10,0	
	Obez II	14	14,4	0	,0	
Obez III (Morbid obez)	16	16,5	0	,0		
VKİ*	Ortanca (IQR)	31,6 (27,2-36,2)		25,3 (23,0-28,0)		<0,001

* Mann Whitney u testi, ** Fisher exact testi IQR: Interquartile range



Şekil 6. Hastaların Evrelerinin dağılımı



Şekil 7. Vaka ve Kontrol Grubunun VKİ'lerinin Karşılaştırılması (%)

Vaka grubunun HbA1C, glukoz, insülin, LDL, kolesterol, trigliserid, AST, ALT, üre ve ürik asit değerleri kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek HDL seviyeleri ise anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur (Tablo 6).

Tablo 6. Vaka ve Kontrol Grubunun Kan Değerlerinin Karşılaştırılması

	Vaka Grubu		Kontrol Grubu		p*
	Ortanca	IQR	Ortanca	IQR	
HbA1C (%)	6,4	5,6-9,3	5,3	5,0-5,6	<0,001
Glukoz (mg/dl)	118,0	94,0-180,0	89,0	84,0-96,0	<0,001
İnsülin (uIU/ml)	15,2	9,8-21,5	6,5	5,3-11,5	<0,001
LDL (mg/dl)	128,9	102,0-156,0	100,6	85,0-124,0	0,007
Kolesterol (mg/dl)	200,0	173,0-229,0	161,0	145,0-183,0	<0,001
Trigliserid (mg/dl)	166,0	132,0-229,0	108,0	88,0-163,0	<0,001
HDL (mg/dl)	42,0	34,0-50,0	46,5	38,0-58,0	0,034
AST (u/l)	22,0	18,0-31,0	19,5	17,0-21,0	0,014
ALT (u/l)	25,0	18,0-38,0	18,0	15,0-23,0	<0,001
Üre (mg/dl)	31,0	26,0-38,0	26,0	24,0-30,0	0,004
Kreatinin (mg/dl)	,8	,6-,9	,7	,6-,8	0,099
Ürik asit (mg/dl)	4,4	3,6-5,7	3,3	3,0-4,2	<0,001

* Mann Whitney u testi IQR: Interquartile range

Plazma asprosin, tükrük asprosin, plazma subfatin ve tükrük subfatin değerleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde cinsiyet açısından anlamlı farklılık bulunamamıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Asprosin ve Subfatin Değerlerinin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

	Erkek		Kadın		p*
	Ortanca	IQR	Ortanca	IQR	
Plazma asprosin (ng/ml)	28,5	22,3-38,6	28,5	20,3-41,1	0,616
Tükrük asprosin (ng/ml)	21,4	7,2-44,8	23,0	6,9-46,5	0,974
Plazma subfatin (ng/ml)	3,2	2,5-4,1	3,1	2,4-5,5	0,994
Tükrük subfatin (ng/ml)	4,3	2,8-7,3	4,2	2,2-6,7	0,602

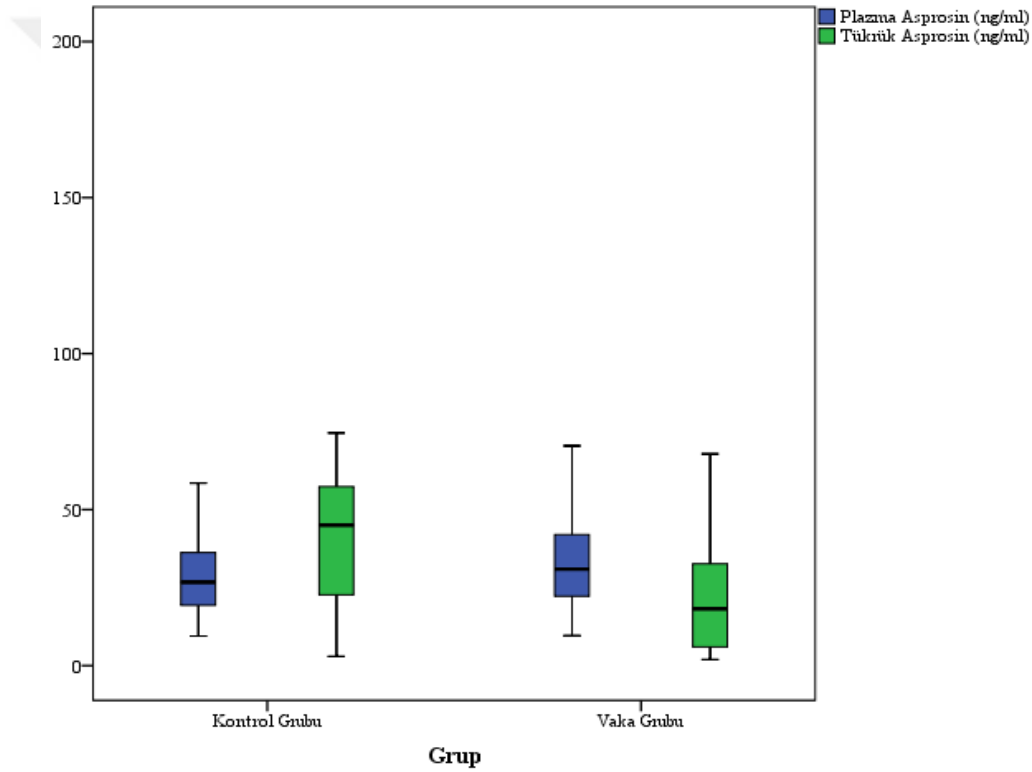
* Mann Whitney u testi IQR: Interquartile range

Vaka grubunun plazma asprosin seviyesi ve tükrük asprosin seviyeleri kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Vaka ve kontrol grubu arasında plazma subfatin ve tükrük subfatin değerleri açısından anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 8, Şekil 8, 9).

Tablo 8. Vaka ve Kontrol Grubunun Asprosin ve Subfatin Değerlerinin Karşılaştırılması

	Vaka Grubu		Kontrol Grubu		P*
	Ortanca	IQR	Ortanca	IQR	
Plazma asprosin (ng/ml)	26,7	19,3-36,2	33,0	22,3-42,0	0,044
Tükrük asprosin (ng/ml)	18,2	6,0-32,6	45,0	22,7-57,4	<0,001
Plazma subfatin (ng/ml)	3,1	2,4-5,1	3,1	2,7-4,8	0,442
Tükrük subfatin (ng/ml)	4,1	2,5-6,6	5,5	2,9-7,0	0,469

* Mann Whitney u testi IQR: Interquartile range



Şekil 8. Vaka ve Kontrol Grubunun Plazma ve Tükrük Asprosin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Yapılan korelasyon analizinde plazma asprosin ile tükrük asprosin arasında pozitif yönde düşük düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Yine plazma asprosin ile plazma subfatin arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tükrük asprosin ile tükrük subfatin arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Tablo 9).

Tablo 9. Asprosin ve Subfatin Korelasyonu

		Plazma asprosin	Tükrük asprosin	Plazma subfatin	Tükrük subfatin
Plazma asprosin (ng/ml)	r	1			
Tükrük asprosin (ng/ml)	r	,210*	1		
Plazma subfatin (ng/ml)	r	,643**	,086	1	
Tükrük subfatin (ng/ml)	r	-,052	,452**	-,022	1

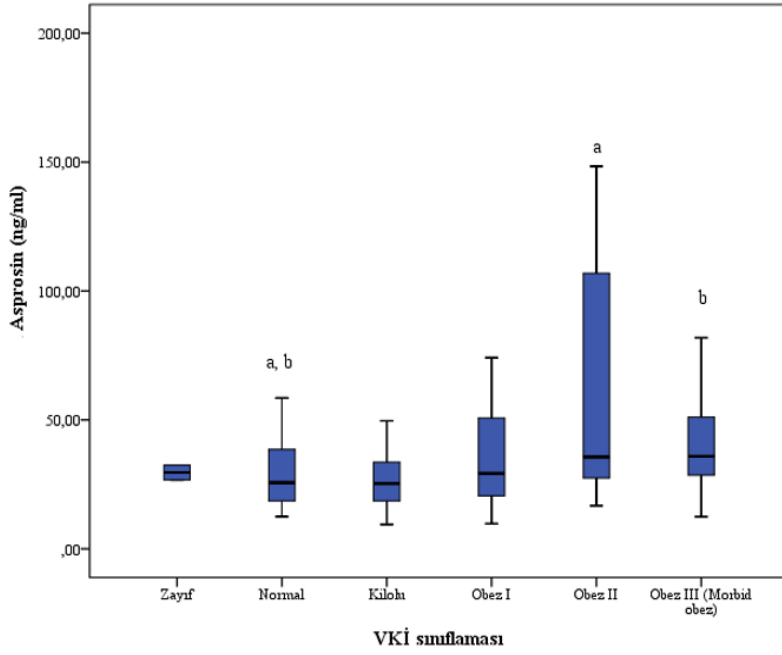
*p<0,05 **p<0,01

Asprosin seviyeleri ile VKİ karşılaştırılması ikili şekilde yapıldığında obez II ve obez III grubundakilerin plazma asprosin düzeyleri normal gruptakilerden anlamlı şekilde yüksek tükrük asprosin seviyeleri ise anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur (Tablo 10).

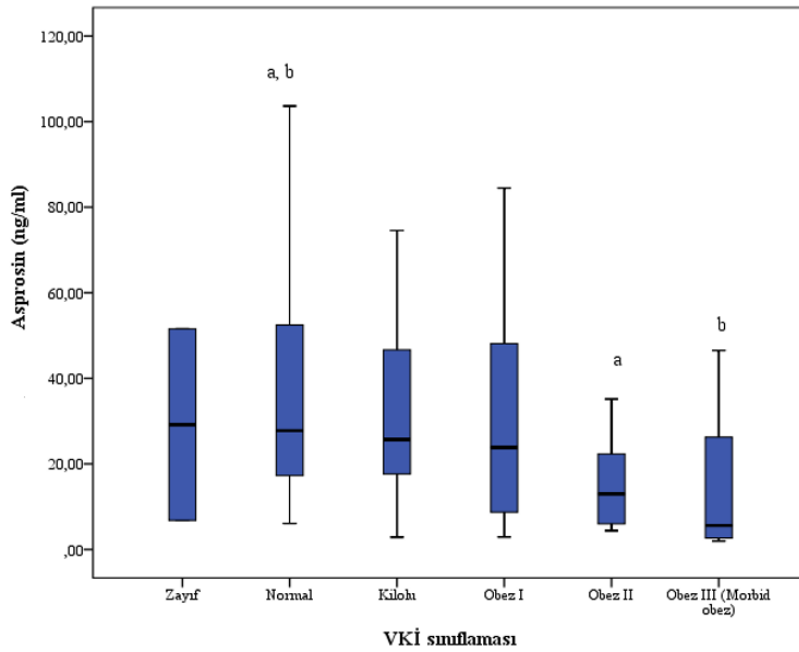
Tablo 10. Asprosin ve Subfatin Seviyelerinin VKİ'ye Göre Karşılaştırılması

	Plazma asprosin (ng/ml)		Tükrük asprosin (ng/ml)		Plazma subfatin (ng/ml)		Tükrük subfatin (ng/ml)	
	Ortanca	IQR	Ortanca	IQR	Ortanca	IQR	Ortanca	IQR
Zayıf	29,61	26,7332,49-	29,18	6,79-51,57	3,99	3,84-4,14	8,20	5,57-10,83
p*	0,741		0,752		0,443		0,189	
Normal	25,67	18,60-38,56	27,78	17,27-52,48	3,09	2,63-5,85	4,27	1,89-6,35
Kilolu	25,35	17,86-34,00	25,70	17,50-46,83	3,15	2,49-3,98	4,33	2,81-7,26
p*	0,847		0,741		0,642		0,481	
VKİ Obez I	29,22	20,04-51,23	23,84	7,22-48,48	2,97	2,20-6,66	4,34	2,52-6,98
p*	0,209		0,289		0,298		0,441	
Obez II	35,64	27,46-106,90	12,98	6,00-22,33	5,05	3,19-9,58	3,89	2,70-7,24
p*	0,021		0,035		0,089		0,654	
Obez III (Morbid obez)	35,94	28,56-51,07	5,61	2,6926,25-	2,96	2,42-4,67	4,11	2,17-6,35
p*	0,024		0,001		0,391		0,878	

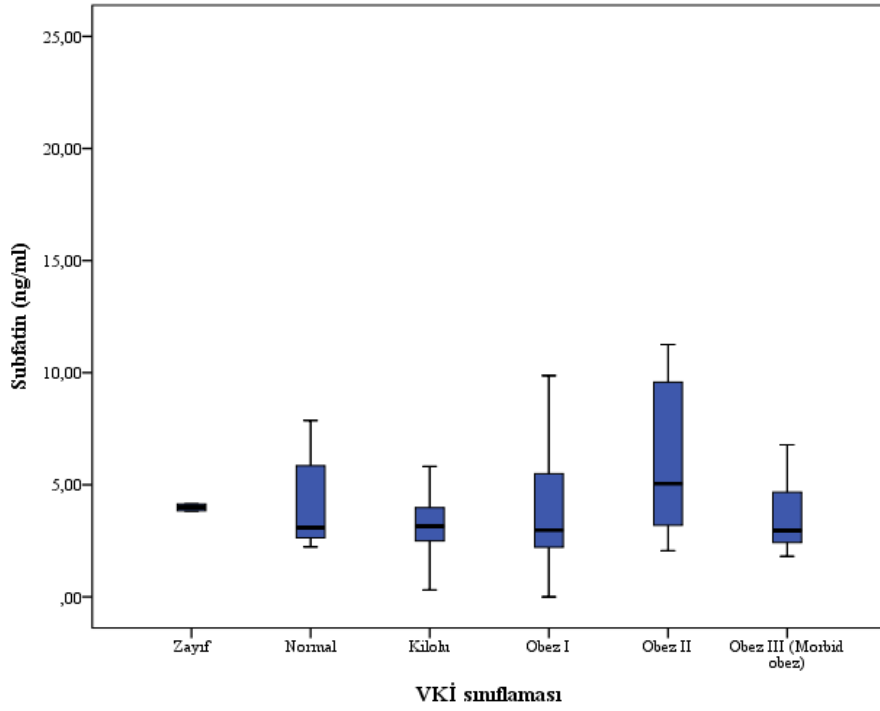
*Mann Whitney U Testi IQR: Interquartile range, p değerleri her biri normal kilolulara göre karşılaştırılmıştır.



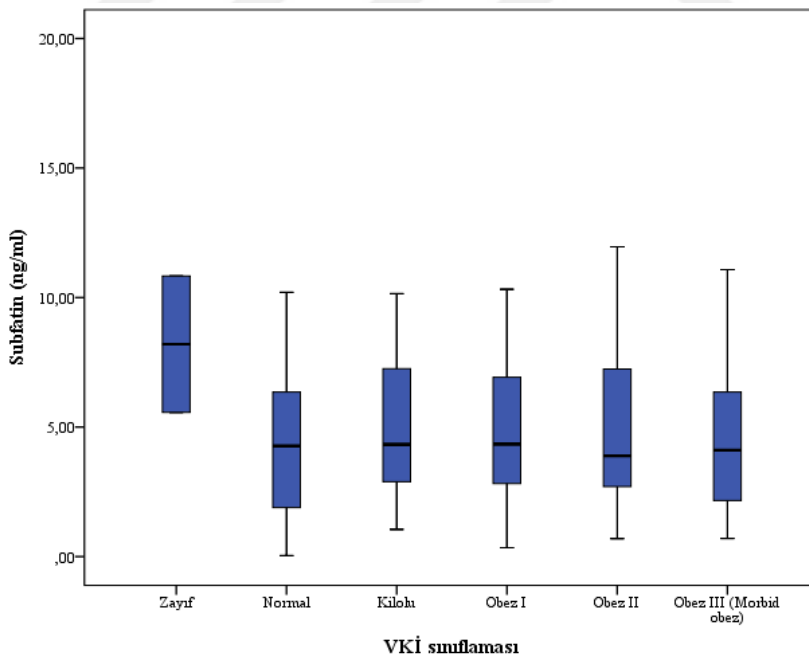
Şekil 9. Plazma Asprosin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması (a, b: farklılığın kaynaklandığı grup)



Şekil 10. Tükrük Asprosin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması (a, b: farklılığın kaynaklandığı grup)



Şekil 11. Plazma Subfatin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması



Şekil 12. Tükrük Subfatin Seviyesinin VKİ ile Karşılaştırılması

Korelasyon analizi sonucuna göre plazma asprosin düzeyi ile VKİ ve insülin arasında düşük düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tükrük asprosin düzeyi ile VKİ, HbA1c, insülin, LDL, kolesterol, trigliserid ve ürik asit arasında düşük düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Tablo 11).

Tablo 11. Plazma ve Serum Asprosin Düzeylerinin Parametreler ile İlişkisi

Parametre	Plazma Asprosin (ng/ml)		Tükrük Asprosin (ng/ml)	
	r değeri	p değeri	r değeri	p değeri
VKİ	0,213	0,016	0,298	0,001
HbA1C (%)	0,55	0,536	0,189	0,034
Glukoz (mg/dl)	0,043	0,631	0,147	0,100
İnsülin (uIU/ml)	0,231	0,009	0,258	0,003
LDL (mg/dl)	0,01	0,909	0,234	0,008
Kolesterol (mg/dl)	0,075	0,403	0,293	0,001
Trigliserid (mg/dl)	0,106	0,237	0,201	0,023
HDL (mg/dl)	-0,126	0,158	-0,128	0,153
AST (u/l)	-0,01	0,914	0,083	0,355
ALT (u/l)	0,079	0,278	0,005	0,959
Üre (mg/dl)	-0,093	0,300	-0,173	0,051
Kreatinin (mg/dl)	-0,051	0,569	-0,072	0,423
Ürik asit (mg/dl)	0,003	0,975	0,223	0,012

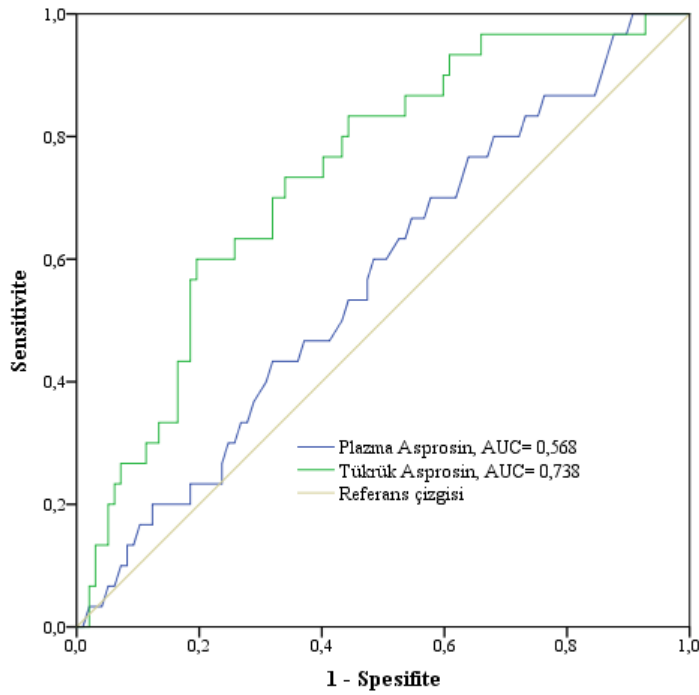
Plazma ve tükrük subfatin düzeyleri ile parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 12).

Tablo 12. Plazma ve Serum Subfatin Düzeylerinin Parametreler ile İlişkisi

Parametre	Plazma Subfatin (ng/ml)		Tükrük Subfatin (ng/ml)	
	r değeri	p değeri	r değeri	p değeri
VKİ	0,014	0,877	0,026	0,771
HbA1C (%)	-0,069	0,442	-0,144	0,107
Glukoz (mg/dl)	-0,043	0,630	-0,079	0,378
İnsülin (uIU/ml)	0,015	0,864	-0,079	0,380
LDL (mg/dl)	0,033	0,716	-0,042	0,637
Kolesterol (mg/dl)	0,056	0,535	-0,026	0,773
Trigliserid (mg/dl)	-0,042	0,641	0,106	0,234
HDL (mg/dl)	0,034	0,704	-0,009	0,916
AST (u/l)	0,01	0,915	0,114	0,201
ALT (u/l)	0,044	0,622	0,012	0,895
Üre (mg/dl)	-0,119	0,184	-0,172	0,054
Kreatinin (mg/dl)	-0,052	0,561	-0,132	0,141
Ürik asit (mg/dl)	-0,023	0,798	-0,127	0,156

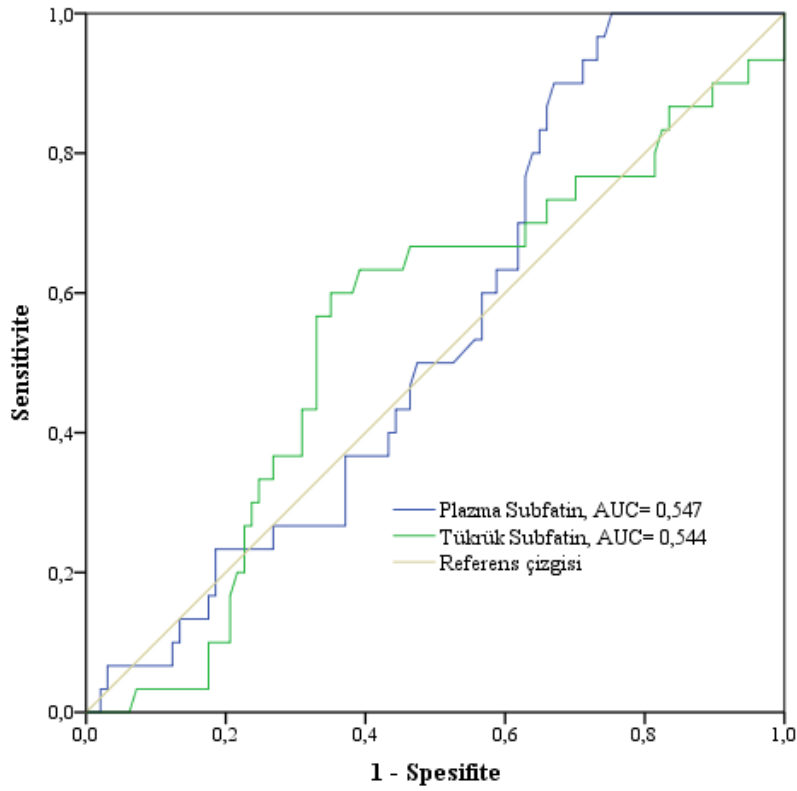
Vaka grubunu sağlıklı kontrollerden ayırmak için asprosin ve subfatinin potansiyel tanısal değerini araştırmak için ROC eğrileri analizi uygulanmıştır. Vaka ve kontrol grubu arasında plazma asprosin için yapılan ROC eğrisinde Eğri Altında Kalan Alan (AUC) 0,568 (%95CI=0,454-0,681) olarak bulunmuşken tükrük asprosin için AUC 0,738 (%95CI=0,641-0,835) olarak bulunmuştur (Şekil 13).

Vaka ve kontrol grubu arasında plazma subfatin için yapılan ROC eğrisinde AUC 0,547 (%95CI=0,441-0,652) olarak bulunmuşken tükrük subfatin için AUC 0,544 (%95CI=0,425-0,663) olarak bulunmuştur (Şekil 14).



Şekil 13. Nonalkolik Steatohepatit İçin Plazma ve Tükrük Asprosin Değerinin ROC Eğrisi

Plazma Asprosin $AUC = 0,568$ (%95CI=0,454-0,681), $p=0,263$, Tükrük Asprosin $AUC = 0,738$ (%95CI=0,641-0,835), $p<0,001$



Şekil 14. Nonalkolik Steatohepatit İçin Plazma ve Tükrük Asprosin Değerinin ROC Eğrisi

Plazma Subfatin $AUC = 0,547$ (%95CI=0,441-0,652), $p=0,442$, Tükrük Subfatin $AUC = 0,544$ (%95CI=0,425-0,663), $p=0,496$

Yapılan çok değişkenli lineer regresyon analizi sonucuna göre hiçbir parametre plazma asprosin, tükrük asprosin, plazma subfatin ve tükrük subfatin ile ilişkili bulunamamıştır (Tablo 13-16).

Tablo 13. Plazma Asprosin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi

	B±SE	t	p
VKİ	,571±,347	1,645	,103
Yaş	-,092±,281	-,329	,743
HbA1C (%)	-,817±1,750	-,467	,641
Glukoz (mg/dl)	-,001±,060	-,013	,990
İnsülin (uIU/ml)	,286±,228	1,254	,212
LDL (mg/dl)	-,233±,172	-1,357	,177
Kolesterol (mg/dl)	,226±,188	1,199	,233
Trigliserid (mg/dl)	-,045±,053	-,839	,403
HDL (mg/dl)	-,509±,310	-1,641	,104
AST (u/l)	-,700±,369	-1,897	,060
ALT (u/l)	,251±,144	1,746	,083
Üre (mg/dl)	-,250±,312	-,802	,424
Kreatinin (mg/dl)	2,920±8,883	,329	,743
Ürik asit (mg/dl)	-,185±1,971	-,094	,925

Tablo 14. Tükürük Asprosin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi

	B±SE	t	p
VKİ	-,409±,254	-1,607	,111
Yaş	,202±,206	,984	,327
HbA1C (%)	-,843±1,281	-,658	,512
Glukoz (mg/dl)	,025±,044	,567	,572
İnsülin (uIU/ml)	-,111±,167	-,664	,508
LDL (mg/dl)	,113±,126	,899	,371
Kolesterol (mg/dl)	-,212±,138	-1,537	,127
Trigliserid (mg/dl)	,039±,039	,994	,322
HDL (mg/dl)	,221±,227	,972	,333
AST (u/l)	,488±,270	1,806	,074
ALT (u/l)	-,145±,105	-1,375	,172
Üre (mg/dl)	-,408±,228	-1,786	,077
Kreatinin (mg/dl)	8,665±6,506	1,332	,186
Ürik asit (mg/dl)	-2,990±1,443	-2,071	,141

Tablo 15. Plazma Subfatin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi

	B±SE	t	p
VKİ	,012±,049	,237	,813
Yaş	,041±,040	1,017	,311
HbA1C (%)	-,252±,248	-1,013	,313
Glukoz (mg/dl)	,003±,009	,344	,732
İnsülin (uIU/ml)	,013±,032	,413	,680
LDL (mg/dl)	-,028±,024	-1,139	,257
Kolesterol (mg/dl)	,036±,027	1,356	,178
Trigliserid (mg/dl)	-,011±,008	-1,410	,161
HDL (mg/dl)	-,042±,044	-,954	,342
AST (u/l)	-,047±,052	-,902	,369
ALT (u/l)	,018±,020	,886	,377
Üre (mg/dl)	-,056±,044	-1,263	,209
Kreatinin (mg/dl)	,786±1,262	,623	,535
Ürik asit (mg/dl)	-,018±,280	-,066	,948

Tablo 16. Tükrük Subfatin ile Parametreler Arasında Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi

	B±SE	t	p
VKİ	,039±,035	1,121	,265
Yaş	,019±,028	,685	,495
HbA1C (%)	-,263±,177	-1,486	,140
Glukoz (mg/dl)	,005±,006	,823	,412
İnsülin (uIU/ml)	-,012±,023	-,532	,596
LDL (mg/dl)	,024±,017	1,366	,175
Kolesterol (mg/dl)	-,030±,019	-1,596	,113
Trigliserid (mg/dl)	,012±,005	2,309	,123
HDL (mg/dl)	,018±,031	,570	,570
AST (u/l)	,083±,037	2,226	,128
ALT (u/l)	-,027±,015	-1,858	,066
Üre (mg/dl)	-,043±,032	-1,367	,174
Kreatinin (mg/dl)	,607±,898	,676	,500
Ürik asit (mg/dl)	-,419±,199	-2,101	,238

Plazma asprosin seviyesi evreye göre karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır. Bu farklılığın evre 2 ile evre 3, evre 2 ile evre 4, evre 1 ile evre 3 ve evre 1 ile evre 4 arasından kaynaklandığı bulunmuştur. Aynı şekilde tükrük asprosin seviyesi evreye göre karşılaştırıldığında gruplar arasında

anlamli farklilik bulunmaktadir. Bu farklilikin evre 2 ile evre 3, evre 2 ile evre 4, evre 1 ile evre 3 ve evre 1 ile evre 4 arasindan kaynaklandigi bulunmustr (Tablo 17).

Tablo 17. Asprosin Düzeylerinin Evreye Göre Karşılaştırılması

	Plazma Asprosin		p*	Tükrük Asprosin		p*
	Ortanca	IQR		Ortanca	IQR	
Evre 1	26,92	21,45-36,22	<0,001	30,24	18,41-50,40	<0,001
Evre 2	23,37	16,70-34,00		24,00	17,79-48,48	
Evre 3	37,86	26,37-55,59		5,46	4,05-7,22	
Evre 4	44,31	34,28-63,30		4,58	2,69-19,86	

Plazma ve tükrük subfatin düzeyi evrelemeye göre karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farkliliğin olmadığı görülmüştür (Tablo 18).

Tablo 18. Subfatin Düzeylerinin Evreye Göre Karşılaştırılması

	Plazma Subfatin		p*	Tükrük Subfatin		p*
	Ortanca	IQR		Ortanca	IQR	
Evre 1	3,17	2,47-4,79	0,804	5,06	3,06-8,57	0,308
Evre 2	3,09	2,23-4,23		3,44	2,56-5,37	
Evre 3	2,82	1,98-6,33		4,04	1,39-5,50	
Evre 4	3,19	2,47-5,67		3,73	2,39-6,60	

4. TARTIŞMA

Nonalkolik steatohepatit tanılı hastalarda plazma ve tükürükte subfatin ve asprosin hormonlarının düzeylerinin değerlendirildiği ve bulguların sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığı bu çalışmada 97 (%76,4)'si vaka ve 30 (%23,6)'u kontrol olmak üzere toplamda 127 katılımcı incelenmiştir.

Bizim çalışmamızda vaka grubunun yaş ortalaması kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aydemir'in nonalkolik steatohepatit hastaları üzerinde yaptığı vaka-kontrol çalışmasında da vaka grubunun yaş ortalaması kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (81). Caballería ve arkadaşlarının İspanya'da yetişkin bir popülasyonda NASH varlığı ve prevalansı ile ilgili yapmış oldukları bir çalışmada da vaka grubunun yaş ortalaması kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (82).

Nonalkolik steatohepatit ile VKİ arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada vaka grubunun VKİ yaş ortalaması kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Lee ve arkadaşlarının nonalkolik steatohepatit tanısı olan ve olmayan canlı donörlerle ilgili yapmış oldukları çalışmada da vaka grubunun VKİ ortalaması kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (83). VKİ'nin yüksek olması ile NASH arasında çok yakın bir ilişki bulunmaktadır. Normal kilolu bireylerle kıyaslandığında obezlerde NASH sıklığı 6 kat daha fazla bulunmuştur. Morbid obez hastalarının %75'inden fazlasında karaciğer yağlanması, %24'ünde NASH ve %3-11'inde siroz bulunduğu tespit edilmiştir (23, 24).

Vaka grubunun HbA1C, glukoz, insülin, LDL, kolesterol, trigliserid, AST, ALT, üre ve ürik asit değerleri kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek HDL seviyeleri ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Aydemir'in yapmış olduğu çalışmada da benzer şekilde vaka grubunun glukoz, insülin, LDL, trigliserid, AST, ALT değerleri kontrol grubundan anlamlı şekilde fazla HDL seviyesi ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (81). Yine Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada vaka grubunun glukoz, LDL, kolesterol, trigliserid, AST ve ALT değerleri kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuş olup HDL seviyeleri ise düşük bulunmuştur (83). Marchesini ve arkadaşlarının nonalkolik steatohepatit ile insülin direnci ile ilgili yapmış oldukları çalışmada vaka grubunun ALT, trigliserid, glukoz ve insülin değerleri kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek HDL seviyesi ise

düşük bulunmuştur (84). NASH'de KCFT'de bozukluk olmaktadır ve AST, ALT değerlerinde yükselmeler görülmektedir (49). Bu durumda hem bizim çalışmamızda hem de literatürde KCFT değerlerinde yükselme olması normal olarak görülmektedir. Aynı zamanda NASH'deki etiyolojik hipotezler düşünüldüğünde ilk vuruş hipotezinde insülin direnci görülmektedir (34). İnsülin direncinin etkisi de trigliserid ve kolesterol esterlerinin hepatositlerden perifere taşınmasında rol alan apolipoprotein B-100 sentezini engelleyerek hepatositlerde de novo lipogenezisi indüklemesidir. Bu tesir karaciğerde yağlanma ile neticelenir (36, 37). Bu durumda NASH'de gerek insülin direncinin oluşması gerekse de apolipoprotein B-100 sentezinin engellenmesi hem bizim çalışmamızdaki hem de literatürdeki glukoz, insülin, trigliserid artışını açıklamaktadır.

Bu çalışmada plazma asprosin düzeyinin cinsiyetle anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır. Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da benzer şekilde cinsiyet ile plazma asprosin seviyesi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (78). Aynı şekilde Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da cinsiyet ile plazma asprosin düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (73).

Bu çalışmada vaka ve kontrol grubu arasında plazma subfatin ve tükrük subfatin seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık bulunamamış iken vaka grubunun plazma ve tükrük asprosin seviyeleri kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Alan ve arkadaşlarının Polikistik Over Sendromlu (PKOS) hastalar üzerinde yapmış olduğu vaka-kontrol çalışmasında vaka grubunun plazma asprosin seviyesini kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (74). Zhang ve arkadaşlarının diyabet hastalarında asprosin seviyesini incelediği vaka-kontrol çalışmasında diyabet grubunun plazma asprosin seviyesi kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (73). Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada bozulmuş glukoz regülasyonu olan hasta grubunun plazma asprosin seviyesi kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (75). Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada hem PKOS hastalarının hem de diyabet hastalarının plazma asprosin seviyesi kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (76). Şan'ın diyabet hastalarına yönelik olarak yapmış olduğu vaka-kontrol çalışmasında vaka grubunun subfatin değeri kontrol grubundan anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur (85). Çalışmamızdaki sonuçların literatür ile benzer çıkmaması vaka grubunun

seçimi ile alakalı olabilir. Bildiğimiz kadarı ile asprosin ile NASH ilişkisinin incelendiği çalışma bulunmamaktadır. Her ne kadar insülin direnci, diyabet, PKOS veya obezite hastalıklarında ortak olsa bile vaka grubumuz olan NASH'de insülin direncinin yanında başka faktörlerin etkili olabileceği akılda tutulmalıdır.

Çalışmamızda obez 2 ve obez 3 grubunda bulunanların plazma asprosin düzeyi normal grupta bulunanlardan anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Uğur ve Aydın'ın yapmış olduğu çalışmada da benzer şekilde obez grubun plazma asprosin düzeyi kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (77). Wang ve arkadaşlarının obezite cerrahisi olmuş obez hastalarda yaptığı vaka-kontrol çalışmasında obez grubun plazma asprosin seviyesi kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (78).

Bu çalışmada yapılan korelasyon analizi sonucuna göre plazma asprosin düzeyi ile VKİ arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Uğur ve Aydın'ın yapmış olduğu çalışmaya göre de VKİ ile plazma asprosin düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (78). Yine Özbay'ın yapmış olduğu çalışmaya göre de VKİ ile plazma asprosin düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (86). $VKİ > 35 \text{ kg/m}^2$ 117 obez hastanın alındığı bir başka çalışmada, tüm bu hastalara bariyatrik cerrahi uygulanmış olup cerrahi sonrası altıncı ayda asprosin düzeyi ile vücut ağırlığı değişimi ve obezite ilişkili klinik parametrelerin korelasyonu araştırılmış, cerrahi sonrası altıncı ayda vücut ağırlığındaki değişim yüzdesi ile asprosin arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır (75). Obezite dışında Tip 2 DM ve PKOS gibi diğer metabolik hastalık gruplarında yapılan çalışmalarda da asprosin düzeyi ile VKİ arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (73-76). Asprosin düzeyi ile VKİ arasında bu tür bir ilişki olması asprosinin insülin direnci ile ilişkili olması aynı zamanda da santral oreksijenik etkili bir adipokin olması ile alakalı olabilir.

Nonalkolik steatohepatit hasta gruplarının asprosin değerlerinin incelendiği bu çalışmada plazma asprosin ile insülin arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Özbay'ın (86) yapmış olduğu çalışmada ve Alan ve arkadaşlarının (74) yaptığı çalışmada da benzer şekilde insülin düzeyi ile asprosin düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu durum çalışmamızın bu sonucunun literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda plazma asprosin düzeyi ile HbA1c ve glukoz arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Wang ve ark. (78) 2019 yılında yaptığı çalışmada da benzer şekilde plazma asprosin seviyesi ile HbA1c arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Yine Zhang ve ark. (73) yapmış olduğu çalışmada da plazma asprosin seviyesi ile HbA1c arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Fakat Wang ve ark. (75) 2018 yılında yaptıkları çalışmada ve Li ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmada plazma asprosin seviyesi ile HbA1c arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (76). Literatürde bu şekilde farklı sonuçların olması daha büyük örneklemlemlerle çalışmalar yapılmasını gerekli kılmakta olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda subfatin düzeyi ile kolesterol, LDL ve trigliserid arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da benzer şekilde insan grubunda subfatin düzeyleri ile serum kolesterol ve total kolesterol düzeyleri arasında korelasyon saptanamamıştır (6). Şan'ın yapmış olduğu çalışmada da subfatin düzeyleri ile LDL, HDL, total kolesterol ve trigliserid düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (85)

Sonuç olarak bu çalışmada NASH grubunun HbA1C, glukoz, insülin, LDL, kolesterol, trigliserid, AST, ALT, üre ve ürik asit değerleri kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek HDL seviyeleri ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Plazma asprosin, tükürük asprosin, plazma subfatin ve tükürük subfatin değerleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde cinsiyet açısından anlamlı farklılık bulunamamıştır. Vaka grubunun plazma asprosin seviyesi kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Yine vaka grubunun tükürük asprosin seviyesi kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Vaka ve kontrol grubu arasında plazma subfatin ve tükürük subfatin değerleri açısından kontrol grubunda plazma subfatin ve tükürük subfatin vaka grubuna göre yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Yapılan korelasyon analizinde plazma asprosin ile tükürük asprosin arasında negatif yönde düşük düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Yine plazma asprosin ile plazma subfatin arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tükürük asprosin ile tükürük subfatin arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Korelasyon analizi sonucuna göre plazma asprosin düzeyi ile VKİ ve insülin arasında düşük düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tükürük asprosin düzeyi ile VKİ, HbA1c, insülin,

LDL, kolesterol, trigliserid ve ürik asit arasında düşük düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Plazma ve tükürük subfatin düzeyleri ile parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Asprosin ve subfatin tükürükte bulunmaktadır. Tükürükte bulunan asprosin ve subfatinin kaynaklarından bir tanesinin de tükürük bezlerinin kendisi olduğu düşünülmektedir. Asprosin ve subfatin düzeyinin kandaki doygunluk düzeyine bağlı olarak tükürük bezlerinin de katkı sağladığı düşünülmektedir. Kanda bakılan asprosin ve subfatin, metabolik yollardaki çalışmalarda invaziv işlem olduğundan dolayı gelecekte kan asprosin ve subfatin yerine tükürük asprosin ve subfatin kullanımının tercih edilebileceği öngörülmektedir.



5. KAYNAKLAR

1. Benedict M, Zhang X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol* 2017; 9(16): 715-732.
2. McClain CJ, Mokshagundam SP, Barve SS, Song Z, Hill DB, Chen T, et al. Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. *Alcohol (Fayetteville, NY)* 2004; 34(1): 67-79.
3. Zheng S-L, Li Z-Y, Song J, Liu J-M, Miao C-Y. Metrnl: a secreted protein with new emerging functions. *Acta Pharmacol Sin* 2016; 37(5): 571-579.
4. Li ZY, Zheng SL, Wang P, Xu TY, Guan YF, Zhang YJ, et al. Subfatin is a novel adipokine and unlike Meteorin in adipose and brain expression. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 2014; 20(4): 344-354.
5. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature reviews Immunology* 2011; 11(2): 85-97.
6. Li ZY, Song J, Zheng SL, Fan MB, Guan YF, Qu Y, et al. Adipocyte Metrnl Antagonizes Insulin Resistance Through PPARgamma Signaling. *Diabetes* 2015; 64(12): 4011-4022.
7. Romere C, Duerschmid C, Bournat J, Constable P, Jain M, Xia F, et al. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell* 2016; 165(3): 566-579.
8. Birrell MA, Maher SA, Dekkak B, Jones V, Wong S, Brook P, et al. Anti-inflammatory effects of PGE2 in the lung: role of the EP4 receptor subtype. *Thorax* 2015; 70(8): 740-747.
9. Thaler H. The fatty liver and its pathogenetic relation to liver cirrhosis. *Virchows Archiv fur pathologische. Anatomie und Physiologie und fur klinische Medizin* 1962; 335: 180-210.
10. Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N, et al. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome:

- further evidence for an etiologic association. *Hepatology* (Baltimore, Md) 2002; 35(2): 367-372.
11. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* (Baltimore, Md) 2002; 35(2): 373-379.
 12. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clinic Proceedings* 1980; 55(7): 434-438.
 13. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharm Therap* 2011; 34(3): 274-285.
 14. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future. *Hepatology* (Baltimore, Md) 2007; 46(2): 582-589.
 15. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ* 2005; 172(7): 899-905.
 16. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients* 2013; 5(5): 1544-1560.
 17. Baldrige AD, Perez-Atayde AR, Graeme-Cook F, Higgins L, Lavine JE. Idiopathic steatohepatitis in childhood: a multicenter retrospective study. *J Pediatr* 1995; 127(5): 700-704.
 18. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107(4): 1103-1109.

19. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology (Baltimore, Md)* 1990; 11(1): 74-80.
20. Attar BM, Van Thiel DH. Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease. *World J TS* 2013; 2013: 2-11.
21. Hamabe A, Uto H, Imamura Y, Kusano K, Mawatari S, Kumagai K, et al. Impact of cigarette smoking on onset of nonalcoholic fatty liver disease over a 10-year period. *J Gastroenterol* 2011; 46(6): 769-778.
22. Sonsuz A, Baysal B. Karaciğer Yağlanması ve Non Alkolik Steatohepatit. *Güncel Gastroenteroloji* 2011; 15(2): 98-106.
23. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Seminars in liver disease*. 2001; 21(1): 27-41.
24. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122(6): 1649-1657.
25. Knobler H, Schattner A, Zhornicki T, Malnick SD, Keter D, Sokolovskaya N, et al. Fatty liver-an additional and treatable feature of the insulin resistance syndrome. *QJM* 1999; 92(2): 73-79.
26. Yenigün M. Her Yönüyle Kardiovasküler Diabet. 1 ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2010; 1: 35-55.
27. Fong DG, Nehra V, Lindor KD, Buchman AL. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2000; 32(1): 3-10.
28. Malavolti M, Battistini NC, Miglioli L, Bagni I, Borelli L, Marino M, et al. Influence of lifestyle habits, nutritional status and insulin resistance in NAFLD. *Frontiers Bioscience* 2012; 4: 1015-1023.

29. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. 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* (Baltimore, Md). 2012; 55(6): 2005-2023.
30. Day CP, James OFW. Steatohepatitis: *Gastroenterology* 1998; 114(4): 842-845.
31. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci* 2013; 14(10): 20704-20728.
32. Cimini FA, Barchetta I, Carotti S, Bertocchini L, Baroni MG, Vespasiani-Gentilucci U, et al. Relationship between adipose tissue dysfunction, vitamin D deficiency and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2017; 23(19): 3407-3417.
33. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123(5): 1705-1725.
34. Bergman RN. New concepts in extracellular signaling for insulin action: the single gateway hypothesis. *Recent Progr Horm Res* 1997; 52: 359-385.
35. Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of Non-alcoholic Steatohepatitis: Human Data. *Clin Liver Dis* 2007; 11(1): 75-104.
36. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107(5): 450-455.
37. Kim SP, Ellmerer M, Van Citters GW, Bergman RN. Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. *Diabetes* 2003; 52(10): 2453-2460.

38. Acay A. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Güncel Medikal Tedavi. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2015; 16: 67-76.
39. Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med* 2012; 52(1): 59-69.
40. Day CP, Saksena S. Non-alcoholic steatohepatitis: definitions and pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 377-384.
41. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21(1): 57-69.
42. Gruarin P, Thorne RF, Dorahy DJ, Burns GF, Sitia R, Alessio M. CD36 is a ditopic glycoprotein with the N-terminal domain implicated in intracellular transport. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275(2): 446-454.
43. Yang M, Gong S, Ye SQ, Lyman B, Geng L, Chen P, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in children: focus on nutritional interventions. *Nutrients* 2014; 6(11): 4691-4705.
44. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. in *Seminars in liver disease*. New York, NY 10001, USA. Thieme Medical Publishers. 2004; 24(1): 3-20.
45. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, LiuYC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116(6): 1413-1149.
46. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2005; 41(6): 1313-1321.
47. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(9): 2467-2474.

48. Garcia-Monzon C, Martin-Perez E, Iacono OL, Fernandez-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol* 2000; 33(5): 716-724.
49. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120(5): 1183-1192.
50. Grove J, Daly AK, Burt AD, Guzail M, James OFW, Bassendine MF, et al. Heterozygotes mutations have no increased risk of advanced alcoholic liver disease. *Gut* 1998; 43(2): 262-266.
51. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123(3): 745-750.
52. Vuppalanchi R, Cummings OW, Saxena R, Ulbright TM, Martis N, Jones DR, et al. Relationship among histologic, radiologic, and biochemical assessments of hepatic steatosis: a study of human liver samples. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41(2): 206-210.
53. Siegelman ES, Rosen MA. Imaging of hepatic steatosis. in *Seminars in liver disease*. New York, NY 10001, USA. Thieme Medical Publishers. 2001; 21(1): 71-80.
54. Joseph AE, Saverymuttu SH, al-Sam S, Cook MG, Maxwell JD. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin Radiol* 1991; 43(1): 26-31.
55. Bydder GM, Kreel L, Chapman RW, Harry D, Sherlock S, Bassan L. Accuracy of computed tomography in diagnosis of fatty liver. *Br Med J* 1980; 281(6247): 1042-1043.

56. Becker U, Deis A, Sorensen TI, Gronbaek M, Borch-Johnsen K, Muller CF, et al. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: a prospective population study. *Hepatology (Baltimore, Md)* 1996; 23(5): 1025-1029.
57. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: an agenda for clinical research. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2002; 35(4): 746-752.
58. Evans CDJ, Oien KA, MacSween RNM, Mills PR. Non-alcoholic steatohepatitis: a common cause of progressive chronic liver injury? *J Clin Pathol* 2002; 55(9): 689-692.
59. Mathur P, Das MK, Arora NK. Non-alcoholic fatty liver disease and childhood obesity. *Indian J Pediatr* 2007; 74(4): 401-407.
60. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2004; 39(3): 770-778.
61. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(11): 2485-2490.
62. Li ZY, Wang P, Miao CY. Adipokines in inflammation, insulin resistance and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol & Physiol* 2011; 38(12): 888-896.
63. Johnson AM, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell* 2013; 152(4): 673-684.
64. Nishino J, Yamashita K, Hashiguchi H, Fujii H, Shimazaki T, Hamada H. Meteorin: a secreted protein that regulates glial cell differentiation and promotes axonal extension. *The EMBO Journal* 2004; 23(9): 1998-2008.

65. Jorgensen JR, Fransson A, Fjord-Larsen L, Thompson LH, Houchins JP, Andrade N, et al. Cometin is a novel neurotrophic factor that promotes neurite outgrowth and neuroblast migration in vitro and supports survival of spiral ganglion neurons in vivo. *Exp Neurol* 2012; 233(1): 172-181.
66. Ushach I, Burkhardt AM, Martinez C, Hevezi PA, Gerber PA, Buhren BA, et al. METEORIN-LIKE is a cytokine associated with barrier tissues and alternatively activated macrophages. *Clin Immunol* 2015; 156(2): 119-127.
67. Rao RR, Long JZ, White JP, Svensson KJ, Lou J, Lokurkar I, et al. Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis. *Cell* 2014; 157(6): 1279-1291.
68. Siersbaek R, Nielsen R, Mandrup S. PPARgamma in adipocyte differentiation and metabolism-novel insights from genome-wide studies. *FEBS Letters* 2010; 584(15): 3242-3249.
69. Sugii S, Olson P, Sears DD, Saberi M, Atkins AR, Barish GD, et al. PPARgamma activation in adipocytes is sufficient for systemic insulin sensitization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009; 106(52): 22504-22509.
70. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1alpha, a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(4): 884-890.
71. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 1998; 92(6): 829-839.
72. Duerrschmid C, He Y, Wang C, Li C, Bournat JC, Romere C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature Medicine* 2017; 23(12): 1444-1453.
73. Zhang L, Chen C, Zhou N, Fu Y, Cheng X. Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently

associated with fasting glucose and triglyceride. *Clinica chimica acta; Int J Clin Chem* 2019; 489: 183-188.

74. Alan M, Gurlek B, Yilmaz A, Aksit M, Aslanipour B, Gulhan I, et al. Asprosin: a novel peptide hormone related to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2019; 35(3): 220-223.
75. Wang Y, Qu H, Xiong X, Qiu Y, Liao Y, Chen Y, et al. Plasma asprosin concentrations are increased in individuals with glucose dysregulation and correlated with insulin resistance and first-phase insulin secretion. *Mediators Inflamm* 2018; 2018: 1-7.
76. Li X, Liao M, Shen R, Zhang L, Hu H, Wu J, et al. Plasma asprosin levels are associated with glucose metabolism, lipid, and sex hormone profiles in females with metabolic-related diseases. *Mediators Inflamm* 2018; 2018: 3-12.
77. Ugur K, Aydin S. Saliva and Blood Asprosin Hormone concentration associated with obesity. *Int J Endocrinol* 2019; 2019: 1-8.
78. Wang CY, Lin TA, Liu KH, Liao CH, Liu YY, Wu VCC, et al. Serum asprosin levels and bariatric surgery outcomes in obese adults. *Int J Obes* 2019; 43(5): 1019-1025.
79. Long W, Xie X, Du C, Zhao Y, Zhang C, Zhan D, et al. Decreased circulating levels of asprosin in obese children. *Horm Res Paediatr* 2019; 91(4): 271-277.
80. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* 2015; 72: 4-15.
81. Aydemir BG. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalarında Metformin Kullanımının Chemerin Düzeyine Etkisi. *Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi; 2018.*

82. Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22(1): 24-32.
83. Lee JY, Kim KM, Lee SG, Yu E, Lim Y-S, Lee HC, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in potential living liver donors in Korea: A review of 589 consecutive liver biopsies in a single center. *J Hepatol* 2007; 47(2): 239-244.
84. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107(5): 450-455.
85. Şan Y. Metrn (Subfatin) Molekülü Düzeylerinin Tip 2 Diabetik Olgularda Metabolik Parametrelerle İlişkisi ve Klinik Kullanımında Yeri. Tıpta Uzmanlık Tezi. İzmir: İzmir İli KHB Güney Sekreterliği Sağlık Bilimleri Üniversitesi. 2017.
86. Özbay ÜN. Obez Erişkin Kadınlarda Serum Asprosin Düzeyinin İncelenmesi Tıpta Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2019.

6. ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Konak/İzmir’de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi İzmir’de tamamladım. 2013’de Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden , 2016’da Anadolu Üniversitesi Sağlık Kurumları İşletmeciliği bölümünden mezun oldum. 2017 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD’de ihtisas eğitimime başladım. Halen eğitimime burada ve Atatürk Üniversitesi İş Sağlığı ve Güvenliği bölümünde devam etmekteyim. Yabancı dilim Almanca, evli ve iki çocuk babasıyım.

