

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

**NONALKOLİK STEATOHEPATİT HASTALARINDA NONİNVAZİV
FİBROZİS TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Bahadır KÖYLÜ

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA

2021

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

**NONALKOLİK STEATOHEPATİT HASTALARINDA NONİNVAZİV
FİBROZİS TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Bahadır KÖYLÜ

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman Öğretim Üyesi
Doç. Dr. Onur KESKİN

ANKARA
2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmam sürecinde kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak akademik hayatıma yön veren, desteğini hep yanımda hissettiğim değerli büyüğüm ve tez danışmanım Doç. Dr. Onur Keskin hocama çalışmamızdaki ve üzerimdeki emekleri için en içten şekilde teşekkür ederim.

Bu çalışmanın her basamağında yanımda olan, sadece destek olmakla kalmayıp çözüm odaklı fikirleriyle en zor işleri bile kolaylaştıran, yol arkadaşım, sevgili eşim Dr. Nur Yazdalı Köylü'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın patoloji ile ilgili kısmında son derece titiz bir şekilde çalışan Prof. Dr. Cenk Sökmensüer hocama değerli emeği, samimiyeti ve desteği için şükranlarımı sunarım.

Biyokimyasal analiz aşamasında çalışmamız için kıymetli zamanlarını ayıran Prof. Dr. İncilay Lay hocama ve biyolog Yasin Kıran Bey'e emekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın yürütülmesinde desteklerini esirgemeyen Gastroenteroloji Bilim Dalı öğretim üyelerine ve görevli tüm personele içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Bir parçası olmaktan her zaman büyük mutluluk ve onur duyduğum Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı ailesinde beraber çalıştığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür eder, tüm kıymetli hocalarıma saygılarımı sunarım.

Hayatım boyunca destekleriyle bana güç veren, emeklerini ödeyemeyeceğim sevgili aileme canıgönülden teşekkür ederim.

Dr. Bahadır Köylü

Ankara, 2021

ÖZET

Köylü B. Nonalkolik Steatohepatit Hastalarında Noninvaziv Fibrozis Testlerinin Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2021. Nonalkolik steatohepatitte(NASH) karaciğer ilişkili komplikasyonlar ve karaciğer ilişkili mortalite ile en kuvvetli ilişkisi olan parametre fibrozis evresidir. NASH tanısında ise altın standart test karaciğer biyopsisidir. Ancak karaciğer biyopsisinin uygulamadaki bazı kısıtlılıkları nedeniyle her hastaya biyopsi yapılamamaktadır. Bu durumda fibrozis evresini doğru bir şekilde öngörebilecek noninvaziv yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada; NASH hastalarına ait demografik, klinik, laboratuvar, görüntüleme verileri ve çeşitli serum fibrozis biyobelirteçleri kullanılarak elde edilen yeni bir noninvaziv skorum sistemi ile NASH hastalarının değerlendirilmesi ve fibrozis predikasyonu yapılması amaçlanmıştır. Biyopsi tanılı 56 hasta prospektif olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar patolojik değerlendirme sonucunda fibrozis evrelerine göre dört gruba ayrılmış ve toplam 59 değişken açısından karşılaştırma yapılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanan değişkenler içinden toplam metabolik sendrom puanı($p=0.001$), AST/ALT oranı($p<0.001$) ve MMP-1($p=0.009$) değişkenleri kullanılarak iki durumlu lojistik regresyon analiziyle fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları saptayabilecek yeni bir skorum elde edilmiştir. Yeni skorum fibrozis evresi ≥ 2 olan risk altındaki NASH hastalarını ve fibrozis evresi ≥ 3 olan ileri fibrozis hastalarını saptamadaki tanısal performansı, ROC analizi yapılarak FIB-4 skoru, NAYKH fibrozis skoru, BARD skoru, APRI skoru ve MRE'den elde edilen kPa ölçümlerinin tanısal performansı ile karşılaştırılmıştır. Yeni skor, hem fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları diğer noninvaziv testler ve MRE'ye göre daha yüksek bir tanısal doğruluk oranıyla saptayabilmekte(AUROC 0.88, %95 GA 0.79 – 0.97), hem de ileri fibrozisi olan hastaları bu testlere yakın ve MRE'den yüksek bir tanısal doğruluk oranıyla(AUROC 0.95, %95 GA 0.90 – 1.00) tespit edebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yağlı karaciğer, fibrozis, biyobelirteç, MMP

Bu alışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir(Proje Kodu: THD-2020-18787).

ABSTRACT

Koylu B. Evaluation of the Noninvasive Fibrosis Tests in Nonalcoholic Steatohepatitis Patients, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2021. The parameter that has the strongest relationship with liver-related complications and liver-related mortality in nonalcoholic steatohepatitis(NASH) patients is the fibrosis stage. The current gold standard test for the diagnosis of NASH is liver biopsy. However, because of the limitations of liver biopsy, there is an ongoing need for noninvasive methods that can accurately detect the fibrosis stage. The main aim of this study is to develop a new noninvasive scoring system that can predict hepatic fibrosis by using the most relevant variables among the demographic, clinical, laboratory, imaging data and 7 serum fibrosis biomarkers. 56 patients diagnosed as NASH by liver biopsy were prospectively enrolled in the study. Participants were divided into four groups according to fibrosis stage and a comparison was made for a total of 59 variables. Among the variables with statistically significant differences between the groups, total metabolic syndrome score($p=0.001$), AST/ALT ratio($p<0.001$) and MMP-1($p=0.009$) variables were used in binary logistic regression analysis to develop a new scoring system. The diagnostic accuracy of this new score in detecting patients with fibrosis stage ≥ 2 (at-risk NASH patients) and also patients with fibrosis stage ≥ 3 (advanced fibrosis) was compared with the diagnostic performance of the FIB-4 score, NAFLD fibrosis score, BARD score, APRI score and kPa measurements obtained from MRE by using ROC analysis. The new score can detect patients with fibrosis stage ≥ 2 with a higher diagnostic accuracy (AUROC 0.88, %95 CI 0.79 – 0.97) than other noninvasive tests and MRE, and also can detect advanced fibrosis with a strong diagnostic accuracy(AUROC 0.95, %95 CI 0.90 – 1.00) that is similar to other noninvasive tests and higher than MRE.

Keywords: Fatty liver, fibrosis, biomarker, MMP

This research was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit(Project Code: THD-2020-18787).

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanımlar	3
2.2. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri	4
2.3. NAYKH'ta Hastalık Seyri	6
2.4. Serum Hepatik Fibrozis Biyobelirteçleri	8
2.4.1. Alfa-2 Makroglobulin	9
2.4.2. Hyaluronik Asit	10
2.4.3. Apolipoprotein A1	10
2.4.4. Matriks Metalloproteinaz-1 ve 3(MMP-1 ve MMP-3)	10
2.4.5. Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1 (TIMP-1)	11
2.4.6. Prokollajen III N-Terminal Propeptit(PIIINP)	12
2.5. Görüntüleme Yöntemleri	12
2.6. Tedavi	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM	14
3.1. Hasta Seçimi	14
3.2. Değerlendirilen Parametreler	14
3.2.1. Demografik Veriler	14
3.2.2. Antropometrik Ölçümler	17
3.2.3. Serum Fibrozis Biyobelirteçleri İçin Kan Örneklerinin Alınması ve Çalışılması	18
3.2.4. Değerlendirmeye Dahil Edilen Diğer Tetkikler	18
3.2.5. Karaciğer Biyopsilerinin Yeniden Değerlendirilmesi	19
3.3. Hasta Gruplarının Belirlenmesi	19
3.4. İstatistiksel Analiz	20
3.5. Araştırmanın Etik Kurul İzni	21
4. BULGULAR	22

4.1. Biyopsi, Serum Örneklerinin Alınması ve MRE Tarihleri Arasında Geçen Süreler	22
4.2. Demografik Verilerin Analizleri	22
4.3. Antropometrik Ölçümlere Ait Verilerin Analizleri	24
4.4. Biyokimyasal Verilerin Analizleri	26
4.5. Serum Fibrozis Biyobelirteçleri ile İlgili Verilerin Analizleri	30
4.6. Mevcut Noninvaziv Testlere ve MRE'ye Ait Verilerin Analizleri.....	32
4.7. Yeni Skorlama Panelinin Elde Edilmesi	34
4.8. Yeni Skor ile Mevcut Noninvaziv Testler ve Kilopascal Ölçümlerinin Tanısal Doğruluklarının Karşılaştırılması	35
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

A2M	: Alfa-2 Makroglobulin
ABCA1	: ATP-Bağlayıcı Kaset Taşıyıcı A1(ATP-Binding Casette Transporter A1)
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ApoA1	: Apolipoprotein A1
APRI	: AST/Platelet Oranı İndeksi(AST to Platelet Ratio Index)
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AUROC	: Area Under the Receiver Operating Characteristics
BARD	: Vücut Kitle İndeksi – AST/ALT Oranı – Diabetes Mellitus (BMI - AST/ALT Ratio – Diabetes Mellitus)
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BUN	: Kan Üre Azotu(Blood Urea Nitrogen)
ELF Skoru	: Geliştirilmiş Karaciğer Fibrozis Skoru (Enhanced Liver Fibrosis Score)
GA	: Güven Aralığı
HA	: Hyaluronik Asit
HbA1c	: Hemogloblin A1c
HCV	: Hepatit C virüs
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein(High Density Lipoprotein)
HSK	: Hepatoselüler Karsinom
INR	: Uluslararası Normalize Edilmiş Oran(International Normalized Ratio)
IQR	: Çeyrekler Arası Aralık(Interquartile Range)
kPa	: Kilopascal
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein(Low Density Lipoprotein)
MAX	: Maksimum
MIN	: Minimum
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
NAS	: NASH Aktivite Skoru
NASH	: Nonalkolik Steatohepatit

NASH-CRN	: Nonalkolik Steatohepatit Klinik Araştırma Ağı (Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network)
NAYK	: Nonalkolik Yağlı Karaciğer
NAYKH	: Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NFS	: NAYKH Fibrozis Skoru
NPD	: Negatif Prediktif Değer
MRE	: Manyetik Rezonans Elastografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRG-PDF	: Manyetik Rezonans Görüntüleme-Proton Dansite Yağ Fraksiyonu (Proton Density Fat Fraction)
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
PPD	: Pozitif Prediktif Değer
ROC	: Receiver Operating Characteristics
SD	: Standart Deviasyon
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
TIMP-1:	: Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1 (Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1)
USG	: Ultrasonografi
VKI	: Vücut Kitle İndeksi

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. NAYKH'ta hastalık seyri	7
Şekil 2.2. Faz II ve faz III aşamasında olan aday moleküller	13
Şekil 3.1. Hasta gruplarının belirlenmesi	20
Şekil 4.1. Fibrozis evrelerine göre yaş ve toplam metabolik sendrom puanı değişkenlerine ait grafikler	24
Şekil 4.2. Fibrozis evrelerine göre ALT ve AST/ALT oranı değişkenlerine ait grafikler	26
Şekil 4.3. Fibrozis evrelerine göre trombosit sayısı ve albumin değişkenlerine ait grafikler	29
Şekil 4.4. Fibrozis evrelerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık belirlenen diğer biyokimyasal değişkenlere ait grafikler	30
Şekil 4.5. Fibrozis evrelerine göre MMP-1 değişkenine ait grafik	31
Şekil 4.6. FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve MRE'de kPa ölçümlerinin fibrozis evrelerine göre değişimlerine ait grafikler	33
Şekil 4.7. Yeni skorun fibrozis evrelerine göre değişimine ait grafik	35
Şekil 4.8. Fibrozis evresi ≥ 2 için yeni skor, FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve kPa ölçümlerinin tanısal doğruluklarının ROC analizi ile karşılaştırılması	36
Şekil 4.9. Fibrozis evresi ≥ 3 için yeni skor, FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve kPa ölçümlerinin tanısal doğruluklarının ROC analizi ile karşılaştırılması	36

TABLULAR

Tablo 2.1. NASH-CRN NAYKH aktivite skoru(NAS) ve fibrozis evrelemesi	4
Tablo 2.2. NAYKH hastalarında valide edilmiş noninvaziv testler ve spesifik fibrozis panelleri	9
Tablo 3.1. Hastaların çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri	15
Tablo 3.2. Serumların çalışılmasında uygulanan dilüsyon oranları	18
Tablo 4.1. Biyopsi, serum örneklerinin alınması ve MRE tarihleri arasında geçen süreler	22
Tablo 4.2. Demografik verilerin analizleri	23
Tablo 4.3. Antropometrik ölçümlere ait verilerin analizleri	25
Tablo 4.4. Biyokimyasal verilerin analizleri	27
Tablo 4.5. Serum fibrozis biyobelirteçleri ile ilgili verilerin analizleri	31
Tablo 4.6. Mevcut noninvaziv testlere ve MRE'ye ait verilerin analizleri	32
Tablo 4.7. Fibrozis evrelerine göre yeni skorun karşılaştırılması	34
Tablo 4.8. ROC analizine ait sonuçlar	37

1. GİRİŞ

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı(NAYKH), hepatositlerde yağ birikimine (hepatik steatoz) neden olan sekonder nedenlerin(yüksek miktarda alkol kullanımı, steatojenik ilaçların uzun süreli kullanımı, hepatit C, parenteral nutrisyon, Wilson hastalığı gibi) dışlandığı kişilerde histopatolojik olarak hepatositlerin ≥ 5 'inde yağ birikimi olması şeklinde tanımlanmaktadır(1). Tip 2 diabetes mellitus(T2DM), prediyabet, insülin direnci, obezite, dislipidemi, metabolik sendrom, polikistik over sendromu(PKOS) gibi metabolik hastalıklar, NAYKH gelişimi için önemli risk faktörleridir(1, 2). Küresel obezite pandemisi ile paralel olarak tüm dünyada yaygın bir karaciğer hastalığı haline gelen NAYKH'nın prevalansının, coğrafi farklılıklar göstermekle birlikte, dünya genelinde %24 civarında olduğu tahmin edilmektedir ve önemli bir halk sağlığı sorunudur(3, 4).

NAYKH spektrumunda, prognoz açısından farklılık gösteren iki klinik-patolojik alt tip bulunmaktadır. Bunlardan ilki olan nonalkolik yağlı karaciğer(NAYK), histopatolojik olarak hepatositlerde ≥ 5 steatoz varlığı ve steatoza eşlik eden hepatoselüler hasarın ve fibrozisin olmaması olarak tanımlanırken, hastalık spektrumundaki progresif seyirli alt tip olan nonalkolik steatohepatit(NASH) ise ≥ 5 hepatik steatoz ile birlikte lobüler inflamasyon ve hepatosit hasarı(balonlaşma) ile karakterizedir ve çeşitli derecelerde perisinüzoidal fibrozis eşlik edebilir(1). NAYK'ın ileri fibroze progresyon riski ihmal edilebilir düzeydeyken, NASH hastaları progresif karaciğer hasarı, ileri fibrozis, siroz gelişimi ve karaciğer ilişkili mortalite açısından ciddi bir risk altındadır(5). Bunun sonucu olarak NASH, tüm dünyada kronik karaciğer hastalığının en sık sebeplerinden biri ve Amerika Birleşik Devletleri(ABD)'nde yapılan karaciğer transplantasyonlarının en sık ikinci endikasyonu durumuna gelmiştir(6). Ancak henüz NASH ve NASH ilişkili fibrozis tedavisinde kullanım onayı alan herhangi bir medikal tedavi bulunmamaktadır.

NASH ve fibrozis tanısında mevcut altın standart test karaciğer biyopsisidir(1). Ancak karaciğer biyopsisinin, invaziv bir işlem olması nedeniyle kanama, infeksiyon, ağrı ve perforasyon gibi komplikasyon riskleri ve örnekleme hatası, gözlemci-içi ve gözlemciler arası değişkenlikler nedeniyle güvenilirliğinin suboptimal olması gibi

kısıtlılıkları mevcuttur(7, 8). Ayrıca oldukça yaygın görülen bir karaciğer hastalığı olması nedeniyle tanı, risk ve prognoz tayini, tedaviye yanıtın değerlendirilmesi gibi amaçlarla her hastaya karaciğer biyopsisi yapılması mümkün görünmemektedir. Karaciğer biyopsisinin bu kısıtlılıkları nedeniyle, fibrozis predikasyonu için çeşitli serum biyobelirteçlerinin kullanıldığı noninvaziv testlerin ve/veya karaciğer sertliğinin değerlendirildiği görüntüleme modalitelerinin kullanılması giderek önem kazanmaktadır.

Ülkemizde yapılan toplum temelli çalışmaların sayısı az olmakla birlikte, Türk toplumunda NAYKH prevalansının %30'un üzerinde olduğu tahmin edilmektedir ve bu oranla Türkiye, NAYKH prevalansının en yüksek olduğu ülkeler arasındadır(4, 9). NASH zemininde gelişebilecek karaciğer ilişkili morbidite ve mortalite riski göz önüne alındığında, bu durum önemli bir halk sağlığı problemi olarak öne çıkmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Türk toplumunda biyopsi ile tanımlı NASH hastalarına ait demografik, klinik, laboratuvar, görüntüleme verileri ve çeşitli serum fibrozis biyobelirteçleri kullanılarak elde edilen bir noninvaziv skorlama sistemi ile NASH hastalarının değerlendirilmesi ve karaciğer fibrozisi predikasyonu yapılmasının sağlanmasıdır. Çalışılması planlanan serum fibrozis biyobelirteçleri, literatür taraması ve konu ilgili rehberlerin incelenmesi sonucunda alfa-2 makroglobulin(A2M), apolipoprotein A1(ApoA1), hyaluronik asit, TIMP-1(matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1), MMP-1(matriks metalloproteinaz-1), MMP-3(matriks metalloproteinaz-3) ve PIIINP (prokollajen III N-terminal propeptit) olarak seçilmiştir. Elde edilecek bir skorlama sistemi özellikle birinci ve ikinci basamak sağlık merkezlerinde hangi hastaların NASH ve fibrozis açısından riskli olabileceğini öngörebilecek, böylece hangi hastaların ileri merkezlere sevk edilmesi gerektiği konusunda hekimlere kolaylık sağlayacaktır. Elde edilecek skorlama sisteminin potansiyel diğer kullanım alanları ise hastalık progresyonunun takibi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanımlar

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı(NAYKH), klinik ve histopatolojik olarak farklılıklar gösteren nonalkolik yağlı karaciğer(NAYK) ve nonalkolik steatohepatit (NASH) durumları ile bu hastalıklar zemininde gelişen fibrozis ve siroz durumlarını içeren bir spektrumu ifade etmektedir(10). NAYKH tanısı konulabilmesi için sağlanması gereken iki koşul, hepatik steatozun görüntüleme yöntemleri ile veya histolojik olarak kanıtlanması ve hepatik yağ birikimine neden olabilecek sekonder nedenlerin dışlanmasıdır(1). Sık görülen sekonder hepatik steatoz nedenleri arasında yüksek miktarda alkol kullanımı(erkeklerde >30 gr/gün, kadınlarda >20 gr/gün), genotip 3 kronik hepatit C, parenteral nutrisyon, malnutrisyon, Wilson hastalığı ve steatojenik ilaçların uzun süreli kullanımı(kortikosteroidler, tamoksifen, metotreksat, amiodaron, diltiazem, valproik asit, proteaz inhibitörleri gibi) bulunmaktadır(1, 11).

NAYKH'in histopatolojik olarak tanımlanmış iki alt tipi bulunmaktadır. Bu alt tiplerden daha sık görüleni NAYK'tır ve bu grup tüm NAYKH hastalarının yaklaşık %90'ını oluşturur(12). NAYK, hepatositlerin \geq %5'inde steatoz varlığı ve steatoza eşlik eden hepatoselüler hasarın ve fibrozisin bulunmaması olarak tanımlanmaktadır(13). NAYKH hastalarının yaklaşık %10-30'unu oluşturan NASH ise histopatolojik olarak \geq %5 hepatik steatoz ile birlikte lobüler inflamasyon ve hepatosit hasarı(balonlaşma) ile karakterizedir ve bu duruma çeşitli derecelerde perisinüzoidal fibrozis eşlik edebilir(1, 12, 13). Histopatolojik incelemede NASH-Clinical Research Network (NASH-CRN) skora sistemi veya SAF(Steatoz-Aktivite-Fibrozis) skora sistemi kullanılmaktadır(13). NAYKH hastalarında nekroinflamatuvar lezyonların fibrozise göre geri döndürülebilme potansiyelinin daha yüksek olması nedeniyle NASH-CRN tarafından nekroinflamatuvar lezyonların ve fibrozis evresinin ayrı değerlendirilmesi önerilmiştir(14). Bu amaçla geliştirilen NAYKH Aktivite Skoru(NAS), steatoz(0-3), lobüler inflamasyon(0-3) ve hepatositlerde balonlaşma(0-2) parametrelerini içermektedir ve NASH ile ilgili pek çok klinik araştırmada dahil etme-dışlama kriteri olarak kullanılmaktadır(14). Fibrozis evresi(F0-4) ise ayrıca değerlendirilmektedir.

NASH-CRN NAYKH Aktivite Skoru(NAS) ve fibrozis evrelemesi Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. NASH-CRN NAYKH aktivite skoru(NAS) ve fibrozis evrelemesi(14)

Histolojik Parametre	Tanım	Skorlama	NAS 0-8
Steatoz	<%5	0	
	%5-33	1	
	>%33-66	2	
	>%66	3	
Lobüler İnflamasyon	Yok	0	
	<2 odak / x200	1	
	2-4 odak / x200	2	
	>4 odak / x200	3	
Hepatositlerde Balonlaşma	Yok	0	
	Az sayıda hücrede	1	
	Çok sayıda hücrede/belirgin	2	
Fibrozis	Yok	0	
	Hafif, zon 3, perisinüzoidal	1A	
	Orta, zon 3, perisinüzoidal	1B	
	Portal/periportal	1C	
	Perisinüzoidal ve portal/periportal	2	
	Köprüleşme fibrozisi	3	
	Siroz	4	

2.2. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Son yüzyılda beslenme alışkanlıklarında meydana gelen değişikliklerin ve sedanter yaşam tarzının etkisiyle tüm dünyada obezitenin giderek yaygınlaşması, paralel olarak NAYKH prevalansında da artışa neden olmuştur. Global NAYKH prevalansının yaklaşık %24, NASH prevalansının ise %3-5 civarında olduğu tahmin edilmektedir(4). Bütün kıtalarda oldukça yaygın olmakla birlikte, en yüksek NAYKH prevalans oranlarının bildirildiği coğrafi bölgeler Orta Doğu(%32) ve Güney Amerika(%31)'dir. Asya'da %27, ABD'de %24, Avrupa'da %23 ve Afrika'da %14 oranlarında NAYKH prevalansı bildirilmiştir(3). Ülkemizde yapılan toplum temelli

çalışmaların sayısı az olmakla birlikte, Türk toplumunda NAYKH prevalansının %30'un üzerinde olduğu tahmin edilmektedir(4, 9).

NAYKH için en önemli risk faktörlerinden biri obezitedir. Obezitesi olan hastalarda genel popülasyona göre çok daha yüksek oranlarda NAYKH prevalansı bildirilmekle birlikte, bu oranlar etnisite, yaş, eşlik eden T2DM varlığı, tanı metodu gibi değişkenlere bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda NAYKH prevalansındaki artışın vücut kitle indeksi(VKİ) ile neredeyse lineer ilişki gösterdiği saptanmıştır ve morbid obezitesi olan hastalarda %90'a varan oranlarda NAYKH sıklığı bildirilmiştir(15).

NAYKH ve T2DM'nin ortak patogenezi mekanizmalarına sahip oldukları ve aralarında iki yönlü bir nedensel ilişki olduğu gösterilmiştir(16). Bunun bir sonucu olarak, T2DM hastalarında NAYKH sıklığının genel popülasyona kıyasla 2 kattan daha fazla olduğu(%55) bildirilmiştir(17). Aynı meta-analizde, T2DM hastalarında NASH prevalansı ise %37.3 olarak saptanmıştır. NAYKH'a eşlik eden T2DM varlığında karaciğer ilişkili sonuçları açısından prognoz daha kötü olduğu ve karaciğer biyopsisi yapılan T2DM tanılı NAYKH hastalarının %17'sinde ileri fibrozis olduğu saptanmıştır(17, 18).

NAYKH prevalansı yaşla paralel olarak artmakta, yaşlı bireylerde NAYKH ilişkili fibrozis de daha sık görülmektedir(4). Bu sonucun, yaşlı bireylerde eşlik eden metabolik hastalıkların sıklığına bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda kadın cinsiyetin artmış NAYKH riski ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmış olsa da, erkeklerde NAYKH prevalansının daha yüksek olduğunu rapor eden çalışmalar da mevcuttur(4, 19).

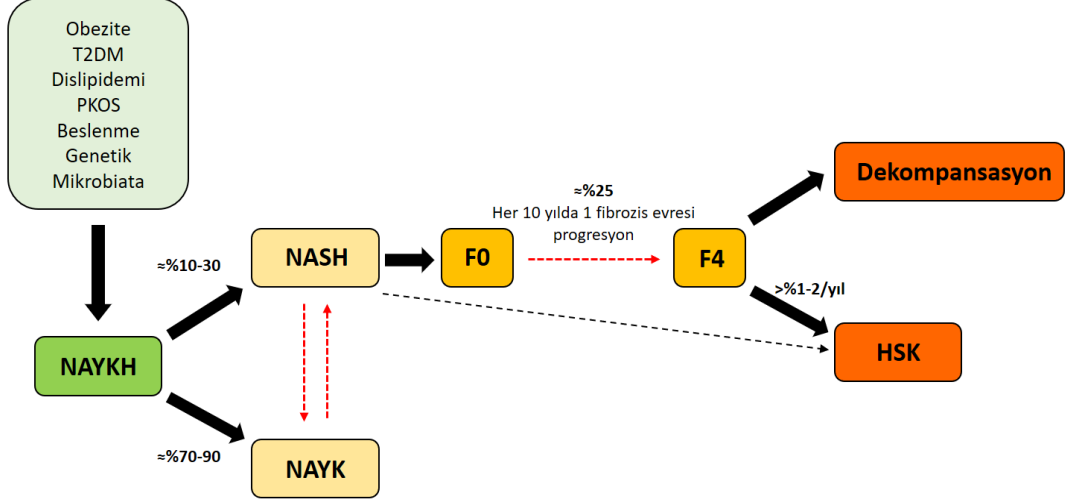
Her ne kadar NAYKH hastalarının büyük bir çoğunluğu aşırı kilolu ya da obezitesi olan hastalardan oluşsa da, zayıf kişilerde karaciğerde steatoz ile seyreden bir NAYKH subfenotipi de mevcuttur. "Zayıf NAYKH/NASH" olarak adlandırılan bu durum Batı ülkelerinde yaklaşık %7-20 sıklıkta görülürken, Asya ülkelerinde %5-26 arasında prevalans bildirilmiştir(3, 20). Patofizyolojide artmış viseral obezite, yüksek fruktoz ve yağ tüketimi, genetik mutasyonlar(*PNPLA3* geninde tek nükleotid polimorfizmi), epigenetik değişiklikler ve mikrobiota ile ilgili faktörlerin rol

oynayabileceği düşünülmektedir(21). Zayıf NAYKH'ın uzun dönem prognozu ile ilgili veriler çelişkili olmakla birlikte, bu hasta grubunun NAYKH seyrinde görülebilecek tüm karaciğer ilişkili sonlanımlar açısından risk altında olduğu bildirilmiştir(20).

2.3. NAYKH'ta Hastalık Seyri

NAYKH progresyonu ile ilgili sınırlı miktarda yüksek kalitede prospektif veri mevcuttur. Genetik varyasyonlar ile çevresel faktörlerin kompleks etkileşimleri sonucunda hastalık seyri bireyler arasında oldukça farklılık gösterebilmektedir(22). Olguların çoğunda yavaş ilerleyen bir karaciğer hastalığı olmasına rağmen hastalık seyri sırasında hastaların önemli bir kısmında kardiyovasküler nedenlere bağlı ve/veya son dönem karaciğer hastalığı, siroz, hepatoselüler karsinom(HSK) gibi karaciğer ilişkili nedenlere bağlı morbidite ve mortalite gelişebilmektedir(23). Hangi hastalarda ne zaman karaciğer ilişkili komplikasyonların gelişebileceğini öngörebilmenin oldukça zor olması nedeniyle, bu riski öngördürebilecek klinik ve histolojik parametrelerin belirlenmesi yüksek önem taşımaktadır. Yapılan prospektif kohort çalışmalarında NAYKH hastalarında karaciğer ilişkili komplikasyonları, karaciğer ilişkili ve karaciğer dışı nedenlere bağlı mortaliteyi en kuvvetli predikte eden histolojik parametrenin fibrozis evresi olduğu saptanmıştır(22, 24). Bir diğer önemli histolojik parametre olan NAYKH aktivite skorunun(NAS) tek başına mortaliteyi predikte etmede fibrozis kadar güvenilir olmadığı, yüksek NAS skoruna(NAS 5-8) sahip olmasına rağmen ciddi fibrozisi olmayan(evre 0-2) NAYKH hastalarında referans popülasyona göre karaciğer ilişkili ve karaciğer dışı nedenlere bağlı mortalitede artış olmadığı saptanmıştır(25). Bununla beraber, basit steatozun görüldüğü ve rölatif olarak daha yavaş progrese olan NAYK hastaları ile NASH hastaları arasında fibrozis gelişimi ve progresyon hızı farklılık göstermektedir. NAYK ve NASH grupları arasında yıllık fibrozis progresyon hızının karşılaştırıldığı bir meta-analizde, başlangıçta fibrozis evresi 0 olan NAYK hastalarında ortalama 14.3 yılda 1 fibrozis evresi progresyon görülürken, başlangıçta fibrozis evresi 0 olan NASH hastalarında ortalama 7.1 yılda 1 fibrozis evresi progresyon görüldüğü saptanmıştır(5). Genetik, çevresel ve mikrobiyal faktörlerin etkileşimleri fibrozis gelişiminde rol oynamakla beraber, bazı çalışmalarda

NAYKH'a eşlik eden diyabet, obezite ve hipertansiyon durumlarının fibrozis progresyonu ile ilişkili olabileceği sonucuna ulaşılmış, ancak bazı çalışmalarda ise bu ilişki gösterilememiştir(5, 22, 26).



Şekil 2.1. NAYKH'ta hastalık seyri (Diehl et al. 2017'den uyarlanmıştır.)(27)

Hepatoselüler karsinom(HSK), tüm dünyada en sık görülen altıncı kanser olup kansere bağlı ölümlerin en sık üçüncü nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır(22). Etiyolojide en sık etken kronik viral hepatitler olmasına rağmen, direkt antiviral ajanlarla hepatit C virüs(HCV) tedavisinde sağlanan başarı sonrasında HCV insidansında meydana gelen azalma ve giderek artan NAYKH prevalansı nedeniyle NAYKH'ın gelişmiş ülkelerde yakın gelecekte HSK'nin en sık nedeni konumuna yükseleceği öngörülmektedir(28). NAYKH ve NASH hastalarında HSK prevalansının sırasıyla yaklaşık %0.5 ve %2.8 olduğu tahmin edilmektedir(29). Olguların büyük çoğunluğu ileri fibrozis veya siroz zemininde gelişmesine rağmen, NAYKH/NASH hastalarında siroz gelişmeden de HSK gelişebileceği gösterilmiştir(30). Ayrıca NAYKH/NASH zemininde gelişen HSK olgularının kronik viral hepatit zemininde gelişen HSK olgularına göre daha ileri evrede tespit edildiği ve daha kötü prognozlu olduğu bildirilmiş, bu durumun olası nedenleri olarak NAYKH hastalarında HSK açısından düzenli tarama yapılmaması ve NAYKH hastalarında ultrasonografik

görüntülemeye visceral obezite ve intrahepatik yağ birikimi nedeniyle küçük HSK odaklarının gözden kaçırılması gösterilmiştir(28).

NAYKH'in klinik öneminin anlaşılması ve NAYKH hastalarında karaciğer ilişkili sonuçlara kıyasla kardiyovasküler olayların yaşamı tehdit eden daha büyük bir tehlike olduğu yönünde giderek artan veriler, kardiyovasküler hastalık gelişiminde ve progresyonunda NAYKH'in rolü ile ilgili araştırmaların yapılmasına neden olmuştur(23). NAYKH, kardiyovasküler hastalık gelişimi açısından önemli risk faktörleri olan insülin direnci, diyabet, abdominal obezite, aterosjenik dislipidemi ve hipertansiyon ile sıklıkla birliktelik göstermektedir ve karaciğerin glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesindeki ana görevleri nedeniyle metabolik sendromun hepatik komponenti olarak da kabul edilmektedir(31). NASH hastalarında daha yüksek olmak üzere NAYKH hastalarında çeşitli proinflatuar belirteçlerin(C-reaktif protein, interlökin-6, tümör nekrozis faktör gibi) ve prokoagülan faktörlerin(fibrinojen, von Willebrand faktör, plazminojen aktivatör inhibitör-1) hepatik ekspresyonunda artış olması ve buna bağlı dolaşımdaki düzeylerinin yükselmesi, hızlanmış ateroskleroz ile ilişkilendirilmiştir(32). Çeşitli çalışmalarda NAYKH'in daha yüksek koroner kalsiyum skorları ile, sol ventrikül morfolojisinde değişiklikler ile ve erken diastolik disfonksiyon ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır(33-35).

2.4. Serum Hepatik Fibrozis Biyobelirteçleri

Karaciğer fibrozisi; viral hepatitler, hepatositlerde yağ birikimi, ilaç ya da toksinlere bağlı hepatotoksisite gibi hepatik hücre hasarına ve inflamasyona yol açan çeşitli durumlara bağlı olarak meydana gelen iyileşme cevabıdır. Bu süreçte meydana gelen major değişiklikler, hepatik stellate hücrelerin aktive olarak myofibroblastlara dönüşümü, hepatositlerin kaybı, ekstraselüler matriks ve fibriller kollajenlerin birikimidir(36). Bu süreçlerde yer alan moleküllerin biyobelirteç olma potansiyeli mevcuttur. Bu bölümde bu çalışmada değerlendirilen yedi adet molekül hakkında ayrıntılı bilgi verilecektir. Birden fazla serum biyobelirtecinin bir arada kullanılmasıyla oluşturulan ve NAYKH hastalarında valide edilmiş tanısal paneller Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

2.4.1. Alfa-2 Makroglobulin

Alfa-2 makroglobulin(A2M) bir proteinaz inhibitörüdür. Karaciğerde hepatositlerde ve stellate hücrelerde sentezlenir(37). Karaciğerde inflamasyon varlığında A2M düzeyi yükselerek matriks proteinlerinin katabolizmasını inhibe eder ve hepatik fibrozis gelişiminde rol oynar(38). Bu nedenle karaciğer fibrozisinde iyi tanımlanmış bir belirteç olan A2M, hepatit B ve C zemininde gelişen hepatik fibrozisin öngörülmesinde valide edilmiş çeşitli algoritmalarda rutin pratikte kullanılmaktadır (FibroTest, FibroMeter, FibroSpectII, Hepascore)(39-42). NAYKH hastalarında ise, A2M, miR-34a-5p, YKL-40 ve HbA1c'nin bir arada kullanılmasıyla geliştirilen NIS4 skoru(Bkz. Tablo 2.2), NASH aktivite skoru(NAS) ≥ 4 ve fibrozis evresi ≥ 2 olan NASH hastalarını %79.2 pozitif prediktif değer ile öngördürebilmektedir(43).

Tablo 2.2. NAYKH hastalarında valide edilmiş noninvaziv testler ve spesifik fibrozis panelleri

Noninvaziv Testler	Kullanılan Parametreler
FIB-4 Skoru	Yaş, ALT, AST, trombosit sayısı
NAYKH Fibrozis Skoru(NFS)	Yaş, vücut kitle indeksi, bozulmuş açlık glukozu ve/veya diyabet, AST, ALT, trombosit sayısı, albumin
BARD Skoru	Diyabet, vücut kitle indeksi, AST, ALT
APRI Skoru	AST, trombosit sayısı
Spesifik Fibrozis Panelleri	Kullanılan Parametreler
FibroTest	Alfa-2 makroglobulin, apolipoprotein A1, haptoglobin, GGT, total bilirubin
FibroMeter NAYKH	Vücut ağırlığı, protrombin indeksi, ALT, AST, ferritin, açlık plazma glukozu
FibroSpect	Alfa-2 makroglobulin, hyaluronik asit, matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1(TIM-1)
ELF Skoru	Hyaluronik asit, prokollajen III N-terminal propeptit(PIIINP), matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1(TIM-1)
NIS4	Alfa-2 makroglobulin, YKL-40, HbA1c, miR-34a-5p
Hepascore	Yaş, cinsiyet, alfa-2 makroglobulin, hyaluronik asit, bilirubin, GGT

2.4.2. Hyaluronik Asit

Glikozaminoglikan yapısındaki hyaluronik asit(HA) ekstraselüler matriksin komponentlerindedir, hepatik stellate hücreler tarafından sentezlenir ve karaciğerde sinuzoidal endotelial hücreler tarafından yıkılır(44, 45). Serum HA düzeyleri, karaciğerde inflamasyon zemininde stellate hücrelerin myofibroblastlara dönüşümünün tetiklenmesinden etkilenir(46). Serumda yüksek konsantrasyonda bulunması karaciğerde sinuzoidal endotelial hücrelerin disfonksiyonu, aşırı ekstraselüler matriks birikimi ve hepatik fibrozis ile ilişkilidir. Çeşitli kronik karaciğer hastalıklarında karaciğer hasarının şiddetiyle paralel olarak serum HA düzeylerinin yükseldiği gözlenmiş ve hepatik fibrozis prediksyonunda kullanılabileceği belirtilmiştir(47, 48). Tek başına kullanıldığında hepatik fibrozis evresini öngörmeye kısıtlı bir değere sahipken, çeşitli belirteçlerin bir arada kullanıldığı panellerde sıklıkla yer almıştır(FibroSpect, Hepascore, ELF; Bkz. Tablo 2.2)(40, 41, 49).

2.4.3. Apolipoprotein A1

Apolipoprotein A1(ApoA1), yüksek dansiteli lipoprotein(HDL) major yapısal protein komponentidir. Ters kolesterol transportu adı verilen yolağın ilk basamağında, bir hücre membran proteini olan ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı A1(ABCA1) aracılığıyla ApoA1 periferik dokulardan ve karaciğerden serbest kolesterol ve fosfolipidleri alır(50). ApoA1 ekspresyonundaki artışın ters kolesterol transportu yolağı ile hepatik lipid birikimini azalttığı ve yağ asidi sentezini baskıladığı bilinmektedir(51, 52). Çeşitli çalışmalarda, hepatik fibrozis varlığında serum ApoA1 düzeyinde azalma olduğu ve fibrozisin evresi ilerledikçe serum ApoA1 düzeyindeki azalmanın daha belirgin hale geldiği gösterilmiştir(53, 54). NAYKH hastalarında da ileri fibrozisi güvenilir bir şekilde öngördürebildiği kanıtlanmış olan FibroTest(FibroSure) panelindeki biyokimyasal parametrelerden biri de ApoA1'dir(55)(Bkz. Tablo 2.2).

2.4.4. Matriks Metalloproteinaz-1 ve 3(MMP-1 ve MMP-3)

Matriks metalloproteinaz(MMP) enzimleri, ekstraselüler matriksin komponentlerini ve çeşitli non-matriks proteinleri yıkabilme özelliği olan proteinazlardır. MMP enzimlerinin karaciğer hastalıklarındaki kesin etki mekanizmaları tam olarak bilinmese de, çeşitli deneysel modellerde MMP

enzimlerinin proliferasyon, gen ekspresyonu gibi hücrel aktiviteleri etkiledikleri ve inflamasyonda rol oynadıkları gösterilmiştir(56). MMP-1, insanlarda major interstisyel kollajenazdır. Hayvan çalışmalarında, geri dönüşümsüz skar dokusundaki ana kollajenler olan kollajen I ve III'ü yıkabilen MMP-1'in geçici aşırı ekspresyonunun hepatik fibrozisi efektif bir şekilde azalttığı ve hepatosit proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir(57). Kronik karaciğer hastalıklarında serum MMP-1 düzeyi ile hepatik fibrozis evresi arasında negatif korelasyon bildirilen çalışmalar mevcuttur(58). Bir başka çalışmada ise, NASH'in erken dönemlerinden itibaren inflamasyon ve steatoza bağlı olarak hepatik progenitör hücrelerde MMP-1 ekspresyonunun arttığı, özellikle erken evre fibrozis(F1) hastalarında diğer fibrozis evrelerindeki hastalara ve sağlıklı kontrollere göre serum MMP-1 düzeylerinin istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlenmiştir(59, 60). MMP-3 ise karaciğer hasarı durumunda hepatik stellate hücreler tarafından eksprese edilir(61). Karaciğerde inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı, HCC ya da metastaz varlığında artmış MMP-3 ekspresyonu gözlenmiştir(62). İnflamasyon varlığında artış göstermesi ve MMP-1, MMP-7 ve MMP-9'un aktivasyonunda rol oynaması, MMP-3'ün bağ dokuda remodelling sürecinde ve erken evre fibroziste rol oynadığını düşündürmektedir(56, 62).

2.4.5. Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1 (TIMP-1)

Matriks metalloproteinazlar(MMP'ler) ekstraselüler matriksin yıkımında rol oynarken, matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri(TIMP'ler) ise MMP'lerin fibrolitik etkisini önler. MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki dengenin bozulması, hepatik fibrojenizde rol oynamaktadır(63). Karaciğerde kronik hasar varlığında aktive olan hepatik stellate hücrelerde özellikle TIMP-1 ekspresyonunda artış meydana gelir ve bunun sonucunda MMP aktivitesinin inhibisyonu ve ekstraselüler alanda matriks proteinlerinin birikimi meydana gelir(64). Obezitesi olan hastalar arasında yapılan çalışmalarda TIMP-1'in yüksek tanısal doğruluk oranıyla NASH tanısı koydurabildiği gösterilmiştir(65, 66). Bu sonuçlarla TIMP-1'in NASH tanısı koymak amacıyla üretilecek biyobelirteç panellerinde kullanılması önerilmiş ve TIMP-1, hyaluronik asit(HA), prokollajen III N-terminal propeptit(PIIINP) parametreleri bir arada kullanılarak ELF skoru elde edilmiştir(49)(Bkz. Tablo 2.2).

2.4.6. Prokollajen III N-Terminal Propeptit(PIIINP)

Prokollajen III N-terminal propeptit(PIIINP), prokollajen III'ün parçalanması sonucu ortaya çıkan bir maddedir. Karaciğer hastalıklarında artmış PIIINP düzeylerinin proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde artışla ilişkili olduğu gösterilmiş ve bu proinflamatuvar durumun progresif fibroziste rol oynadığı düşünülmüştür(67). NAYKH hastalarında PIIINP, NASH veya ileri fibrozis hastalarını yüksek tanısal doğruluk değeriyle basit steatozu olan hastalardan ayırt edebilmektedir(68). ELF skorunda kullanılan üç parametreden biri de PIIINP'dir(49)(Bkz. Tablo 2.2).

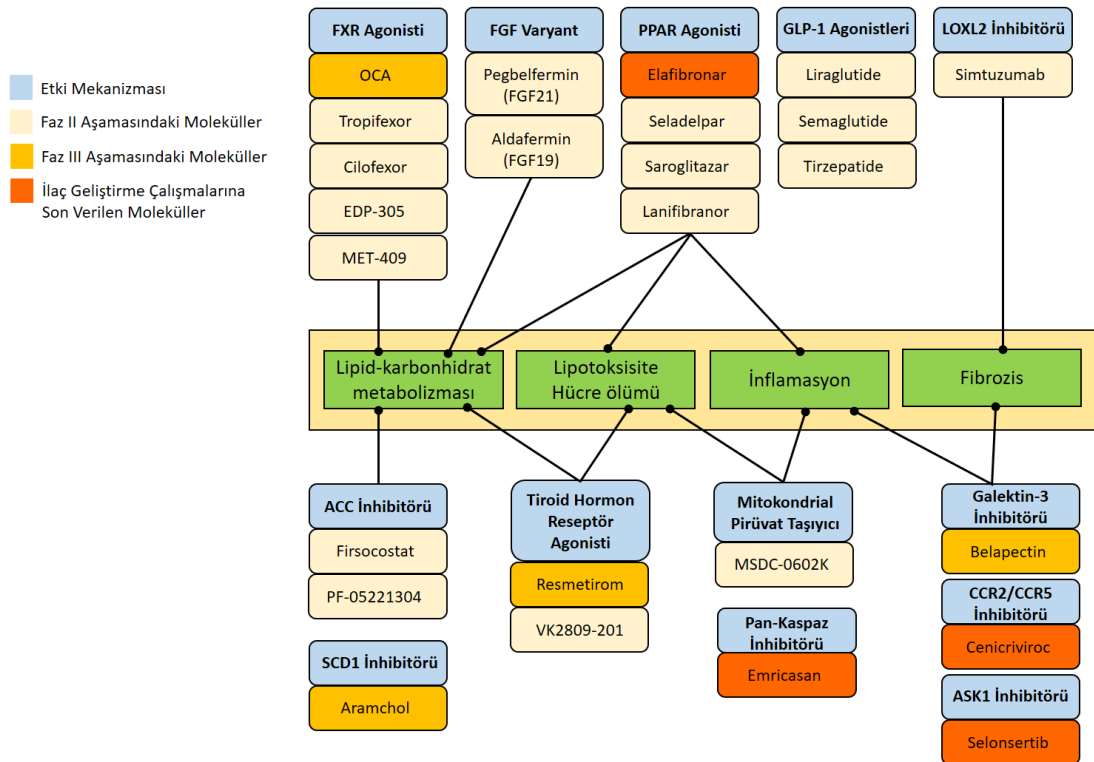
2.5. Görüntüleme Yöntemleri

NASH ve fibrozis tanısında karaciğer biyopsisi altın standart test olarak kabul edilmesine rağmen, karaciğer biyopsisinin kısıtlılıkları nedeniyle spesifik serum fibrozis biyobelirteçlerinin yanı sıra geliştirilen çeşitli görüntüleme modaliteleri de kullanıma girmiştir. Konvansiyonel ultrasonografi(USG) ve bilgisayarlı tomografinin(BT) hafif düzeydeki steatozu saptamadaki sensitivitelerinin düşük olması, ileri fibrozis ya da siroz gelişimi sonucunda hepatik steatozun azalmasına bağlı olarak bu hasta grubunun gözden kaçırılması riskine neden olmaktadır(69). Manyetik rezonans görüntüleme(MRG) geliştirilen MRG-PDFF yöntemi ile karaciğerdeki steatoz miktarı doğru bir şekilde hesaplanabilmektedir ve MRG-PDFF'de ≥ 30 azalmanın histolojik parametrelerde iyileşme ve NASH rezolüsyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(70). Manyetik rezonans elastografi(MRE) ise karaciğerin sertliğini ölçmektedir ve USG-transient elastografiye kıyasla erken evrelerden itibaren hepatik fibrozis için çok daha yüksek tanısal doğruluğa sahiptir(71). MRG-PDFF ile karaciğerdeki steatoz miktarını doğru bir şekilde belirleyebilmek ve MRE sayesinde yüksek bir tanısal doğruluk ile erken evrelerden itibaren fibrozisi değerlendirebilmek mümkün olsa da, mevcut görüntüleme yöntemlerinin NASH tanısı koymada yararlılıkları kısıtlıdır(69).

2.6. Tedavi

NASH tedavisinde en etkili yöntem yaşam tarzı değişiklikleri ve kilo verilmesidir. Randomize kontrollü çalışmalarda yaşam tarzı değişiklikleri ile ≥ 7 kilo

verilmesi sonucunda histolojik hastalık aktivitesinde iyileşme meydana geldiği gösterilmiş, ancak bu hedefin hastaların %50'sinden azında sağlanabildiği bildirilmiştir(72). Bir başka çalışmada ise \geq %10 kilo kaybı hedefine ulaşan hastaların %45'inde fibroziste gerileme saptanmıştır(73). Yaşam tarzı değişiklikleri ve kilo verilmesi ile NASH rezolüsyonu ve fibroziste regresyon sağlamak mümkün olsa da, hastaların çok az bir kısmının bu hedeflere ulaşabilmesi ve tüm dünyada giderek artan NAYKH hastalık yükü nedeniyle etkili medikal tedavi arayışı devam etmektedir. Patogenezin daha iyi anlaşılması sayesinde anti-steatotik, anti-inflamatuar, anti-fibrotik etkinlik gösterme potansiyeli olan ve çok sayıda basamakta etkili olabilecek aday moleküller ile klinik araştırmalar yürütülmektedir(74). Faz II ve faz III aşamasında olan aday moleküller ve etki mekanizmaları Şekil 2.2'de gösterilmiştir(75). Ancak Nisan 2021 tarihi itibarıyla NASH ve fibrozis tedavisinde kullanım onayı almış olan herhangi bir medikal tedavi bulunmamaktadır.



Şekil 2.2. Faz II ve faz III aşamasında olan aday moleküller(Vuppalanchi et al. 2021'den uyarlanmıştır.)(75)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

8 Ocak 2020 – 31 Ocak 2021 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'na çeşitli nedenlerle başvuran ve karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik saptanan, bu yüksekliğe yol açabilecek tüm olası kronik karaciğer hastalıklarının ve steatoza neden olabilecek sekonder nedenlerin klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleriyle ekarte edildiği 107 hasta NASH ön tanısıyla takip edilmiş ve bu hastalar içinden son 1 yıl içinde karaciğer biyopsisi yapılmış olan ve/veya izlemde karaciğer fonksiyon testlerindeki yüksekliğin devam etmesi nedeniyle tanısal amaçlı karaciğer biyopsisi yapılarak NASH tanısı konulan toplam 56 hasta bu çalışmaya prospektif olarak dahil edilmiştir. Hasta seçiminde takip edilen kriterler Tablo 3.1'de ayrıntılı olarak belirtilmiştir. Her hastadan, çalışmaya katılmaya onay verdiğine dair yazılı onam alınmıştır.

3.2. Değerlendirilen Parametreler

3.2.1. Demografik Veriler

Hastaların doğum tarihleri, yaşları, cinsiyetleri, eşlik eden hastalıkları, geçirilmiş ameliyat öyküleri, kullandıkları ilaçlar, sigara ve alkol kullanımları ile ilgili bilgiler, hastaların kendilerinden öykü alınarak kayıt altına alınmıştır.

Eşlik eden hastalıklar ile ilgili veri kaydı ve analizinde aşağıda belirtilen kriterlere göre değerlendirme yapılmıştır.

T2DM: Belirtilen kriterlerden en az bir tanesini sağlayan hastalar "T2DM tanılı" olarak değerlendirilirken, hiçbirini sağlamayan hastalar "T2DM tanılı değil" olarak değerlendirilmiştir:

- Açlık plazma glukozunun ≥ 126 mg/dL olması,
- 75 gr OGTT sonrası 2. saat plazma glukozunun ≥ 200 mg/dL olması,
- Hiperglisemi semptomları olan bir hastada random bakılan plazma glukozunun ≥ 200 mg/dL olması,
- HbA1c \geq %6.5 olması,
- Daha önce bu kriterlerden birinin sağlanması ile T2DM tanısı konularak tedavi başlanmış olması

Tablo 3.1. Hastaların çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri

Dahil Etme Kriterleri	Dışlama Kriterleri
<ul style="list-style-type: none"> • >18 yaş, ≤75 yaş olmak, • Karaciğer fonksiyon testlerinde yüksekliğe yol açabilecek tüm olası nedenlerin ekarte edilmiş olması, • Steatozun sekonder nedenlerinin ekarte edilmiş olması, • Son 1 yıl içinde karaciğer biyopsisi yapılmış olması, • Eşlik eden ciddi komorbid hastalıkların olmaması, • Çalışmaya katılmaya hastanın onay vermiş olması 	<ul style="list-style-type: none"> • ≤18 yaş, >75 yaş olmak • Karaciğerde hasara neden olabilecek başka bir patoloji saptanmış olması, <ul style="list-style-type: none"> ✓ Viral hepatitler ✓ Otoimmün karaciğer hastalıkları ✓ Wilson hastalığı ✓ İlaça bağlı hepatotoksisite ✓ Hepatoselüler karsinom(HSK) ya da şüpheli karaciğer lezyonu gibi • Steatoza yol açabilecek sekonder nedenlerin varlığı, <ul style="list-style-type: none"> ✓ Erkeklerde >30 gr/gün, kadınlarda >20 gr/gün alkol kullanımı ✓ Steatojenik ilaçların uzun süreli kullanımı(Kortikosteroid, tamoksifen, metotreksat gibi) • Klinik, laboratuvar ve görüntüleme sonuçları ile NASH düşünülmesine rağmen karaciğer biyopsisi yapılmamış olması veya karaciğer biyopsisi yapılmasından bu yana 1 yıldan daha uzun zaman geçmiş olması • Eşlik eden ciddi komorbidite varlığı, <ul style="list-style-type: none"> ✓ Kalp yetmezliği, ✓ Solunum yetmezliği, ✓ Kronik böbrek yetmezliği, ✓ Malignite gibi • Hastanın gebe olması, • Çalışmaya katılmaya hastanın onay vermemiş olması

Hipertansiyon: Hastalarla yapılan görüşmeler sırasında tüm hastalara her iki üst ekstremiteden kan basıncı ölçümü yapılmıştır. Ölçümlerden önceki en az 1 saatlik süre içerisinde hastaların sigara, kahve, çay gibi kan basıncı ölçümlerini etkileyebilecek bir madde tüketmemiş olmalarına dikkat edilmiştir. Hastaların en az 5 dakika oturur pozisyonda istirahat etmeleri sağlandıktan sonra her iki üst ekstremiteden manuel olarak kan basıncı ölçümleri yapılmış ve daha yüksek olan

ölçüm kaydedilmiştir. Standardizasyon sağlanması amacıyla tüm ölçümler aynı kan basıncı ölçüm aletiyle ve aynı kişi tarafından yapılmıştır. Belirtilen kriterlerden en az bir tanesini sağlayan hastalar “hipertansiyon tanılı”, hiçbirini sağlamayan hastalar “hipertansiyon tanılı değil” olarak değerlendirilmiştir:

- Ofis ölçümlerinde sistolik kan basıncı ≥ 140 mmHg ve/veya diastolik kan basıncı ≥ 90 mmHg olması,
- Daha önce ofis ölçümleri, evde kan basıncı monitorizasyonu ve/veya ambulatuvar kan basıncı monitorizasyonu sonucunda hipertansiyon tanısıyla anti-hipertansif etkili ilaç tedavisi başlanmış olması

Dislipidemi: En az 8 saat açlığı takiben alınan serum örneklerinde lipid profili sonuçları belirtilen kriterlerden en az bir tanesini sağlayan hastalar “hiperlipidemi tanılı”, hiçbirini sağlamayan hastalar “hiperlipidemi tanılı değil” olarak değerlendirilmiştir:

- LDL düzeyinin > 190 mg/dL olması,
- LDL düzeyinin > 160 mg/dL olması durumunda en az iki ek kardiyovasküler risk faktörünün bulunması (>65 yaş olmak, hipertansiyon, ailede erken yaşta kardiyovasküler hastalık öyküsü olması kriterlerinden en az ikisinin olması),
- LDL düzeyinin > 130 mg/dL olması durumunda en az üç ek kardiyovasküler risk faktörünün bulunması (>65 yaş olmak, hipertansiyon, ailede erken yaşta kardiyovasküler hastalık öyküsü olması kriterlerinin üçünün de olması),
- LDL düzeyinin >70 mg/dl olması durumunda eşlik eden diabetes mellitus, koroner arter hastalığı, akut koroner sendrom, geçirilmiş miyokard infarktüsü, geçirilmiş inme, periferik arter hastalığı, karotid arter hastalığı veya abdominal aort anevrizması varlığı,
- Trigliserid düzeyinin > 500 mg/dL olması,
- Trigliserid düzeyinin > 200 mg/dL olması durumunda eşlik eden diabetes mellitus, koroner arter hastalığı, akut koroner sendrom, geçirilmiş miyokard infarktüsü, geçirilmiş inme, periferik arter hastalığı, karotid arter hastalığı veya abdominal aort anevrizması varlığı,

- Daha önce bu kriterlerden birinin sağlanması ile hiperlipidemi tanısı konularak lipid düşürücü tedavi başlanmış olması

Metabolik Sendrom: Belirtilen kriterlerden en az üç tanesini taşıyan hastalar “metabolik sendrom mevcut”, üçten daha az kritere sahip olan hastalar “metabolik sendrom mevcut değil” olarak değerlendirilmiştir. Hastaların bu 5 beş kriterden kaçını sağladıkları kayıt altına alınmış ve analizlere “toplam metabolik sendrom puanı” olarak dahil edilmiştir:

- Bel çevresi ölçümünün erkekler için ≥ 102 cm, kadınlar için ≥ 88 cm olması,
- Hipertansiyon tanısı olmayan hastalarda ofis ölçümlerinde sistolik kan basıncı ≥ 130 mmHg ve/veya diastolik kan basıncı ≥ 85 mmHg olması veya daha önce ofis ölçümleri, evde kan basıncı monitorizasyonu ve/veya ambulatuvar kan basıncı monitorizasyonu sonucunda hipertansiyon tanısıyla anti-hipertansif etkili ilaç tedavisi başlanmış olması,
- En az 8 saat açlığı takiben bakılan açlık plazma glukozunun ≥ 100 mg/dL olması veya daha önce T2DM tanısı konularak tedavi başlanmış olması,
- En az 8 saat açlığı takiben bakılan trigliserid düzeyinin ≥ 150 mg/dL olması veya daha önce lipid düşürücü tedavi başlanmış olması,
- En az 8 saat açlığı takiben bakılan HDL düzeyinin erkeklerde < 40 mg/dL, kadınlarda < 50 mg/dL olması

3.2.2. Antropometrik Ölçümler

Her hastanın boy uzunluğu, bel çevresi ve kalça çevresi ölçümleri yapılarak TANITA BC 418 MA cihazı ile kilo ölçümü ve bölümlendirilmiş vücut analizi yapılmıştır ve vücut kitle indeksleri(kg/m^2) hesaplanmıştır. Bel çevresi ölçümünde ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri(National Institutes of Health) önerileri kriter olarak alınarak crista iliaca'nın üst sınırı hizasından, zemine paralel bir şekilde bel çevresi ölçümü yapılmıştır. Kalça çevresi ölçümü ise kalçanın en geniş olduğu hizadan, zemine paralel bir şekilde yapılmıştır. Standardizasyon sağlanması amacıyla tüm ölçümler aynı ölçüm aletiyle ve aynı kişi tarafından yapılmıştır. Kilo ölçümleri ve bölümlendirilmiş vücut analizi, en az 8 saat açlığı takiben TANITA BC 418 MA cihazı ile yapılmıştır.

Antropometrik ölçümlerin tamamı, tüm hastalarda serum örneklerinin alındığı gün yapılmıştır.

3.2.3. Serum Fibrozis Biyobelirteçleri İçin Kan Örneklerinin Alınması ve Çalışılması

Çalışmaya dahil edilen hastalardan, en az 8 saat açlığı takiben sabah saatlerinde 3 biyokimya tüpüne kan örneği alınmıştır. Bu örnekler santrifüj edildikten sonra serumlar Gastroenteroloji ünitesine ait olan -80°C derecedeki dolaplarda saklanmıştır. Çalışmaya hasta dahil edilmesi süreci tamamlandıktan sonra tüm serumlar Hacettepe Üniversitesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Merkez Laboratuvarı ELISA ünitesinde sandviç ELISA yöntemiyle çalışılmıştır. Serumdan çalışılan tüm fibrozis biyobelirteçleri için(alfa-2 makroglobulin, apolipoprotein A1, hyaluronik asit, TIMP-1, MMP-1, MMP-3, PIIINP) Bioassay Technology Laboratory(BT Lab) markalı ELISA kitleler kullanılmıştır. Dilüsyon oranları Tablo 3.2’de belirtilmiştir.

Tablo 3.2. Serumların çalışılmasında uygulanan dilüsyon oranları

Fibrozis Biyobelirteçleri	Dilüsyon Oranı
Alfa-2 makroglobulin	1:11
Apolipoprotein A1	1:101
Hyaluronik asit	1:11
TIMP-1	1:11
MMP-1	Dilüsyon uygulanmadı
MMP-3	1:11
PIIINP	1:11

3.2.4. Değerlendirmeye Dahil Edilen Diğer Tetkikler

Çalışmaya dahil edilen hastaların, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Hastane Bilgi Yönetimi Sistemi(NUCLEUS)’nde kayıtlı laboratuvar ve görüntüleme tetkikleri arasından aşağıda sıralanan tetkiklerin sonuçları, belirtilen kriterlere uygun bir şekilde çalışmaya dahil edilmiştir. Bu parametreler hem mevcut noninvaziv testlere(FIB-4 skoru, NAYKH fibrozis skoru, BARD skoru, APRI skoru) ait hesaplamaların yapılmasında kullanılmış, hem de oluşturulması planlanan yeni noninvaziv skorlama sistemine olası katkıları açısından değerlendirilmiştir.

- Serum fibrozis biyobelirteçleri için kan örneklerinin alınmasından önceki ve sonraki 1'er aylık süre içinde yapılan tetkiklerden ALT, AST, ALP, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, trombosit sayısı, INR, aPTT, albumin, BUN, HbA1c, açlık plazma glukozu, total kolesterol, LDL, HDL, non-HDL, trigliserid, haptoglobin, amonyak düzeyi(NH₃), alfa-fetoprotein ve 25-OH-D düzeyi sonuçları çalışmaya dahil edilmiştir. Belirtilen zaman aralığında aynı tetkikin birden fazla yapılmış olması durumunda, serum fibrozis biyobelirteçleri için kan örneklerinin alındığı tarihe en yakın tarihte yapılmış olan tetkik sonucu kaydedilerek analizlere dahil edilmiştir.
- Son 1 yıl içinde yapılmış olan MRE tetkiklerinin(Siemens, MAGNETOM Aera) sonuçları ve buradan elde edilen kilopascal(kPa) ölçümleri kaydedilerek analizlere dahil edilmiştir. Kilopascal ölçümlerinin aralık olarak verildiği durumlarda en yüksek kPa ölçümü analizlere dahil edilmiştir.

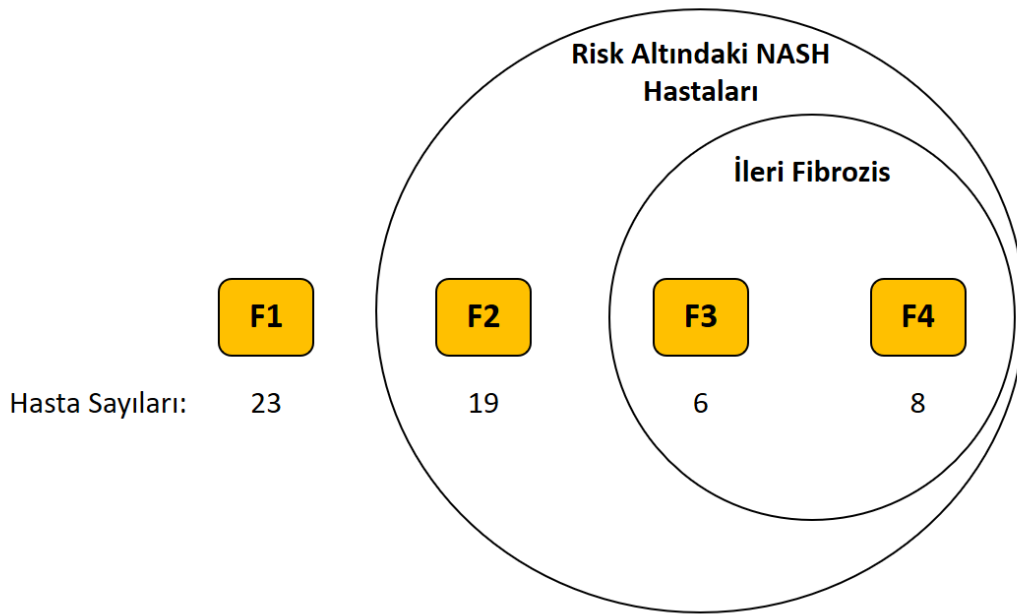
3.2.5. Karaciğer Biyopsilerinin Yeniden Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen hastaların karaciğer biyopsi materyallerine ait hazır preparatlar, Hacettepe Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda yeniden değerlendirilerek her bir hasta için NAYKH Aktivite Skoru(NAS) hesaplanmıştır ve fibrozis evrelendirmesi yapılmıştır(Bkz. Tablo 2.1). Tüm patolojik değerlendirmeler, hastaların klinik bilgileri ve laboratuvar verilerinden habersiz olan ve hepatoloji alanında uzmanlaşmış tek bir patoloji doktoru tarafından yapılmıştır.

3.3. Hasta Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen 56 hasta, karaciğer biyopsilerindeki fibrozis evrelerine göre gruplara ayrıldı. Hiçbir hastada evre 0 fibrozis(F0) saptanmaması nedeniyle hastalar evre 1-4(F1-4) fibrozis şeklinde 4 gruba ayrıldı. Bu şekilde yapılan gruplandırma sonrasında F1 grubunda 23 hasta, F2 grubunda 19 hasta, F3 grubunda 6 hasta ve F4 grubunda 8 hasta yer aldı. Demografik veriler, antropometrik ölçümler, biyokimyasal veriler, serum fibrozis biyobelirteçleri, mevcut noninvaziv testler ve MRE'den elde edilen kPa ölçümleri bu gruplandırmaya göre karşılaştırıldı. Geliştirilmesi planlanan skora sistemi ve ROC(Receiver Operating Characteristics) analizleri için ise iki ayrı gruplama daha yapıldı. İlk gruplamada fibrozis evresi ≥ 2 olan

hastalar “Risk altındaki NASH hastaları”(F2+F3+F4) olarak, F1 grubundaki hastalar ise “Risk altında olmayan NASH hastaları”(F1) olarak yeniden gruplandı ve skorlama sistemi geliştirilirken iki durumlu(binary) lojistik regresyon analizi bu gruplamaya göre yapıldı. İkinci gruplamada ise F3 ve F4 gruplarındaki hastalar “ileri evre fibrozis olan hastalar”(F3+F4), F1 ve F2 gruplarındaki hastalar ise “ileri evre fibrozis olmayan hastalar”(F1+F2) olarak gruplandı.



Şekil 3.1. Hasta gruplarının belirlenmesi

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde *IBM® SPSS® Statistics 24.0 (Statistical Package for Social Sciences version 24.0 for Windows)* paket programı ve *EasyROC version 1.3.1* programı kullanılmıştır. Dikotom değişkenler için dört bağımsız grup arasındaki karşılaştırmalarda ki-kare testi kullanılmış, istatistiksel anlamlılığa ulaşılan ($p < 0.05$) değişkenler için post-hoc analizlerde Bonferroni düzeltmesi kullanılmıştır. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları, gruplara düşen kişi sayıları 50'nin altında olduğu için Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Çalışmada yer alan sayısal değişkenlerin normal dağılıma uymaması nedeniyle tanımlayıcı istatistiklerinin

gösterilmesinde merkezi eğilim ölçütü olarak median(ortanca), yayılım ölçütü olarak ise çeyrekler arası aralık(interquartile range, IQR) kullanılmıştır. Sayısal değişkenler için bağımsız dört grup arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi, post-hoc ikili grup analizlerinde Dunn-Bonferroni yöntemi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bağımsız dört grup arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan sayısal ve dikotom değişkenler, elde edilmesi planlanan model için “aday değişkenler” olarak belirlenmiş, aday değişkenler için iki durumlu(binary) lojistik regresyon analizi yapılmıştır. Elde edilen model ile mevcut diğer noninvaziv yöntemler ve kPa ölçümleri arasındaki karşılaştırmalarda ROC analizi kullanılmıştır.

3.5. Araştırmanın Etik Kurul İzni

Bu çalışma(Proje No: GO 19/1148), Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 7 Ocak 2020 tarihli toplantıda değerlendirilmiş ve aynı tarihte 2020/01-07 numaralı karar ile etik açıdan uygun bulunmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Biyopsi, Serum Örneklerinin Alınması ve MRE Tarihleri Arasında Geçen Süreler

Çalışmaya dahil edilen 56 hastadan 54 tanesinin serum örneklerinden çalışılan serum fibrozis biyobelirteçleri ve 49 tanesinin MRE tetkikleri analizlere dahil edilmiştir. Karaciğer biyopsisi yapılması, serum örneklerinin alınması ve MRE tetkikinin yapılması arasında geçen süreler Tablo 4.1’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre hastalara karaciğer biyopsisi yapılması ile serum örneklerinin alınması arasında geçen median süre 25.5 gün(IQR 88.0), hastalara karaciğer biyopsisi yapılması ile MRE tetkiki yapılması arasında geçen median süre 18.0 gün(IQR 38.0) ve hastalardan serum örneklerinin alınması ile MRE tetkiki yapılması arasında geçen median süre 7.0 gün(IQR 41.0) olarak saptanmıştır.

Tablo 4.1. Biyopsi, serum örneklerinin alınması ve MRE tarihleri arasında geçen süreler

Değişkenler	Median(IQR)	Minimum	Maksimum	Ortalama±SD
Biyopsi ile Serum Örneklerinin Alınması Arasında Geçen Süre (Gün)	25.5 (88.0)	1.0	249.0	55.34 ± 66.88
Biyopsi ile MRE Arasında Geçen Süre (Gün)	18.0 (38.0)	3.0	286.0	45.78 ± 70.30
Serum Örneklerinin Alınması ile MRE Arasında Geçen Süre (Gün)	7.0 (41.0)	0.0	282.0	40.98 ± 66.29

4.2. Demografik Verilerin Analizleri

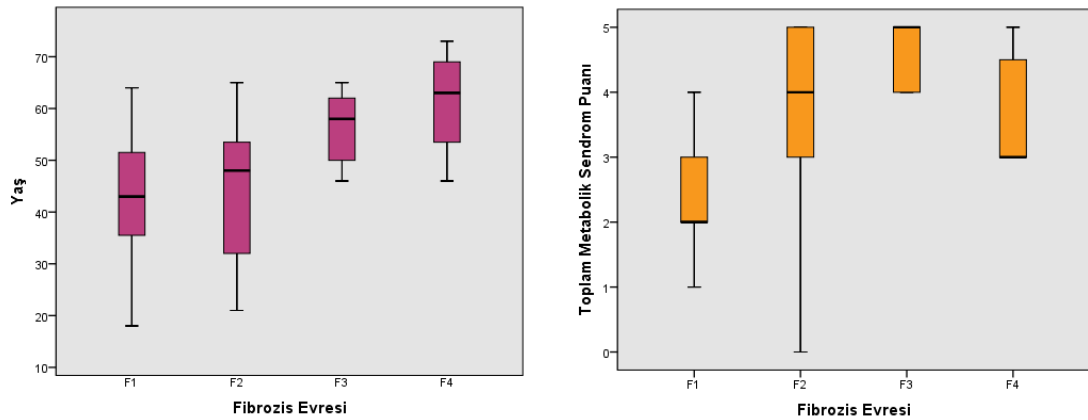
Bu bölümde çalışmaya dahil edilen 56 hasta fibrozis evrelerine göre dört gruba ayrılarak(evre 1-2-3-4 fibrozis) yaş, cinsiyet, sistolik/diastolik/ortalama kan basıncı ölçümleri, hipertansiyon varlığı, T2DM varlığı, dislipidemi varlığı, metabolik sendrom varlığı ve toplam metabolik sendrom puanı değişkenleri açısından karşılaştırılmıştır. Bu değişkenlere ait bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Demografik verilerin analizleri

Değişkenler	F1 (n=23)	F2 (n=19)	F3 (n=6)	F4 (n=8)	p Değeri
Cinsiyet					
Kadın, n(%)	8 (34.8)	9 (47.4)	6 (100.0)	4 (50.0)	0.042
Erkek, n(%)	15 (65.2)	10 (52.6)	0 (0.0)	4 (50.0)	
T2DM					
Var, n(%)	10 (43.5)	12 (63.2)	5 (83.3)	6 (75.0)	0.21
Yok, n(%)	13 (56.5)	7 (36.8)	1 (16.7)	2 (25.0)	
Hipertansiyon					
Var, n(%)	10 (43.5)	11 (57.9)	5 (83.3)	5 (62.5)	0.35
Yok, n(%)	13 (56.5)	8 (42.1)	1 (16.7)	3 (37.5)	
Dislipidemi					
Var, n(%)	13 (56.5)	12 (63.2)	5 (83.3)	6 (75.0)	0.59
Yok, n(%)	10 (43.5)	7 (36.8)	1 (16.7)	2 (25.0)	
Metabolik Sendrom					
Var, n(%)	11 (47.8)	13 (68.4)	6 (100.0)	8 (100.0)	0.011
Yok, n(%)	12 (52.2)	5 (26.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Toplam Metabolik Sendrom Puanı					
Median(IQR)	2 (1)	4 (2)	5 (1)	3 (2)	0.001
Min – Max	1 – 4	0 – 5	4 – 5	3 – 5	
Yaş					
Median(IQR)	43 (20)	48 (23)	58 (12)	63 (16)	0.001
Min – Max	18 – 64	21 – 65	46 – 65	46 – 73	
Sistolik Kan Basıncı					
Median(IQR)	130 (20)	135 (20)	137 (25)	142.5(22.5)	0.40
Min – Max	110 – 165	115 – 165	110 – 160	115 – 155	
Diastolik Kan Basıncı					
Median(IQR)	80 (15)	85 (10)	82.5 (14)	77.5 (20)	0.11
Min – Max	65 – 100	65 – 110	75 – 90	60 – 85	
Ortalama Kan Basıncı					
Median(IQR)	100 (11.7)	101.7 (10)	100.2(13.3)	97.5(16.7)	0.42
Min – Max	81.7 – 120	81.7-128.3	86.7-113.3	78.3-103.3	

Cinsiyet değişkeni için yapılan analizde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır(p=0.042). Post-hoc analizlerde bu farkın F3 grubundaki hastaların tamamının kadın cinsiyette olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. F1, F2 ve F4 gruplarındaki hastalar arasında cinsiyet değişkeni açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Gruplar arasında hastalarda T2DM, hipertansiyon ve dislipidemi varlığı açısından yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Metabolik sendrom varlığı açısından yapılan analizde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır(p=0.011) ve post-hoc analizlerde bu farkın F1 grubunda metabolik sendromu olan hastaların oranının diğer gruplara göre

belirgin olarak daha düşük olmasından ve F4 grubundaki hastaların tamamında metabolik sendromun mevcut olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. Benzer bir şekilde, toplam metabolik sendrom puanı değişkeni için de F1 grubundaki hastaların aldıkları puanların F2 ve F3 gruplarındaki hastalara göre daha düşük olmasından kaynaklanan anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ($p=0.001$; ikili grup analizlerinde F1-F2 için $p=0.039$, F1-F3 için $p=0.001$)(Şekil 4.1). F1 grubundan F4 grubuna doğru gidildikçe hastaların median yaş değerlerinin de giderek yükseldiği ve gruplar arasında yaş değişkeni açısından istatistiksel açıdan var olan anlamlılığın ($p=0.001$) F1 ve F2 grupları ile F4 grubu arasında farklılıktan kaynaklandığı görülmüştür (F1-F4 için $p=0.003$, F2-F4 için $p=0.017$)(Şekil 4.1). Gruplar arasında sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncı değişkenleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.



Şekil 4.1. Fibrozis evrelerine göre yaş ve toplam metabolik sendrom puanı değişkenlerine ait grafikler

4.3. Antropometrik Ölçümlere Ait Verilerin Analizleri

Fibrozis evrelerine göre boy uzunluğu, bel çevresi, kalça çevresi, kilo, vücut kitle indeksi, bel/kalça oranı, bel/boy oranı ve bölümlendirilmiş vücut analizindeki diğer değişkenlere ait bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir. Bu değişkenlere ait analizlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

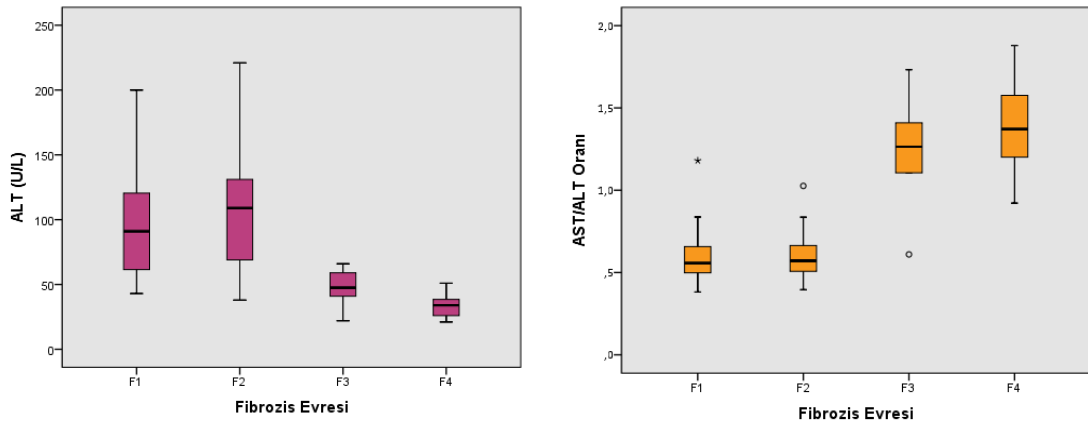
Tablo 4.3. Antropometrik ölçümlere ait verilerin analizleri

Değişkenler	F1 (n=23)	F2 (n=19)	F3 (n=6)	F4 (n=8)	p Değeri
Boy(cm)					
Median(IQR)	167 (15)	167 (14)	158 (10)	165 (22)	0.072
Min – Max	155 – 188	156 – 191	148 – 165	142 – 189	
Kilo(kg)					
Median(IQR)	80.3 (17.5)	91.0 (29.2)	86.0 (29.9)	82.1 (26.55)	0.47
Min – Max	58.4 – 118	66 – 128	67.6 – 103	66.8 – 124	
Vki(kg/m²)					
Median(IQR)	30.57 (4.68)	33.21 (7.95)	32.19 (10.39)	31.01 (6.64)	0.43
Min – Max	22.6 – 37.7	24.2 – 42.8	25.4 – 42.9	26.8 – 40.7	
Bel Çevresi(cm)					
Median(IQR)	104 (16)	112 (19)	110.5 (21)	112 (17)	0.36
Min – Max	89 – 122	87 – 137	91 – 125	104 – 130	
Kalça Çevresi(cm)					
Median(IQR)	106 (10)	109 (18)	112.5 (23)	112.5 (7.5)	0.19
Min – Max	92 – 131	100 – 136	102 – 132	109 – 128	
Bel/Kalça Oranı					
Median(IQR)	0.96 (0.10)	0.97 (0.07)	0.93 (0.06)	1 (0.08)	0.22
Min – Max	0.87 – 1.09	0.85 – 1.12	0.89 – 1.03	0.93 – 1.04	
Bel/Boy Oranı					
Median(IQR)	0.63 (0.08)	0.66 (0.14)	0.68 (0.11)	0.68 (0.13)	0.22
Min – Max	0.54 – 0.78	0.52 – 0.82	0.55 – 0.81	0.59 – 0.89	
Yağsız Kütle(kg)					
Median(IQR)	60.5 (20.4)	61.35 (16.4)	50.3 (3.9)	55.25 (29.9)	0.18
Min – Max	44.3 – 88.5	46.7 – 83.2	45.4 – 57.1	41.8 – 86.4	
Yağsız Kütle(oran)					
Median(IQR)	0.71 (0.13)	0.71 (0.13)	0.63 (0.15)	0.66 (0.11)	0.11
Min – Max	0.55 – 0.84	0.53 – 0.85	0.48 – 0.69	0.56 – 0.79	
Yağ Ağırlığı(kg)					
Median(IQR)	23.7 (11.2)	25.45 (17.6)	31.8 (25.3)	25.45 (7.95)	0.32
Min – Max	9.5 – 41.1	10.6 – 56.0	21.6 – 54.1	20.4 – 40.2	
Yağ Oranı					
Median(IQR)	0.29 (0.13)	0.29 (0.13)	0.37 (0.15)	0.34 (0.11)	0.11
Min – Max	0.16 – 0.45	0.15 – 0.47	0.31 – 0.52	0.21 – 0.44	
Abdominal Yağ(kg)					
Median(IQR)	13.7 (6.5)	15.05 (8.3)	14.45 (11.5)	13.45 (2.9)	0.98
Min – Max	8.7 – 19.2	6.2 – 26.8	8.6 – 26.5	11.3 – 28.0	
Abdominal Yağ/ Toplam Yağ Oranı					
Median(IQR)	0.55 (0.14)	0.52 (0.15)	0.46 (0.08)	0.53 (0.18)	0.31
Min – Max	0.45 – 0.62	0.35 – 0.65	0.39 – 0.5	0.4 – 0.7	
Obezite Derecesi					
Median(IQR)	0.28 (0.17)	0.36 (0.34)	0.31 (0.45)	0.22 (0.33)	0.88
Min – Max	-0.13 – 0.54	-0.05 – 0.89	-0.003 – 0.69	0.05 – 0.6	
Mineral Miktarı (kg)					
Median(IQR)	4.3 (1.55)	4.02 (1.66)	3.13 (0.59)	3.42 (2.24)	0.13
Min – Max	2.3 – 6.46	2.9 – 5.77	2.8 – 3.74	2.6 – 6.31	
Mineral Miktarı (oran)					
Median(IQR)	0.047 (0.01)	0.044 (0.01)	0.041 (0.01)	0.041 (0.01)	0.12
Min – Max	0.034 – 0.059	0.038 – 0.062	0.03 – 0.045	0.035 – 0.058	
Protein Miktarı(kg)					
Median(IQR)	11.8 (3.9)	12.2 (3.0)	10.1 (0.9)	11.4 (5.5)	0.17
Min – Max	9.2 – 17.2	9.6 – 17.1	9.4 – 11.8	8.6 – 17.3	
Protein Miktarı (oran)					
Median(IQR)	0.15 (0.02)	0.14 (0.03)	0.13 (0.03)	0.14 (0.02)	0.16
Min – Max	0.11 – 0.17	0.1 – 0.17	0.1 – 0.14	0.12 – 0.15	

4.4. Biyokimyasal Verilerin Analizleri

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda ALT, AST/ALT oranı, trombosit sayısı, INR, albumin, BUN, açlık plazma glukoza ve LDL değişkenleri için istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken, diğer değişkenler için fark bulunmamıştır. Laboratuvar parametrelerine ait bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.4'te verilmiştir.

ALT düzeylerinin F1 ve F2 gruplarındaki hastalarda F3 ve F4 gruplarındaki hastalara kıyasla belirgin olarak yüksek olduğu görülmektedir(Şekil 4.2). Post-hoc analizlerde ALT düzeyleri açısından gruplar arasında var olan istatistiksel açıdan anlamlı farklılığın($p<0.001$) F4 grubu ile F1 ve F2 grupları arasındaki farklılıktan ve F3 grubu ile F2 grubu arasındaki farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiştir(F4-F1 için $p<0.001$, F4-F2 için $p<0.001$, F3-F2 için $p=0.027$). F3 ve F1 grupları arasında ise ALT düzeyi açısından istatistiksel açıdan anlamlılığa yakın düzeyde bir fark bulunmaktadır($p=0.084$). ALT düzeyi açısından F1-F2 ve F3-F4 grupları arasında ise fark saptanmamıştır. AST düzeyi açısından gruplar arasında farklılık saptanmamıştır($p=0.51$).



Şekil 4.2. Fibrozis evrelerine göre ALT ve AST/ALT oranı değişkenlerine ait grafikler

AST/ALT oranı açısından dört bağımsız grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmaktadır($p<0.001$). Fibrozis evresi ilerledikçe ALT düzeyindeki düşüşe paralel olarak AST/ALT oranının F3 ve F4 gruplarındaki hastalarda F1 ve F2 gruplarındaki hastalara göre belirgin şekilde yüksek olduğu görülmektedir(Şekil 4.2).

Post-hoc analizlerde sadece F1-F2 ve F3-F4 grupları arasında AST/ALT oranı açısından fark saptanmazken, diğer tüm ikili grup analizlerinde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmıştır (F1-F3 için $p=0.005$, F1-F4 için $p<0.001$, F2-F3 için $p=0.011$, F2-F4 için $p<0.001$).

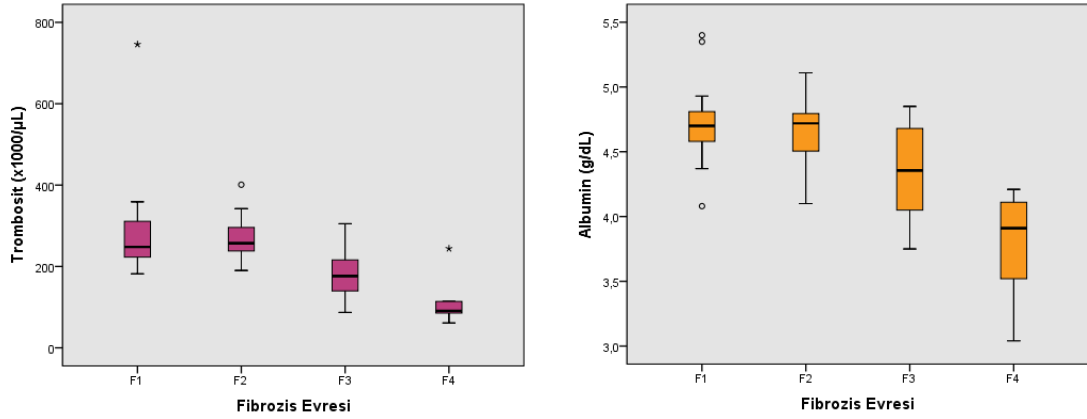
Tablo 4.4. Biyokimyasal verilerin analizleri

Değişkenler	F1 (n=23)	F2 (n=19)	F3 (n=6)	F4 (n=8)	p Değeri
ALT (U/L)					
Median(IQR)	91 (74)	109 (66)	48 (18)	34 (13)	<0.001
Min – Max	43 – 200	38 – 221	22 – 66	21 – 51	
AST (U/L)					
Median(IQR)	47 (29)	54 (40)	63 (35)	45 (16)	0.51
Min – Max	28 – 103	29 – 131	28 – 73	32 – 62	
AST/ALT Oranı					
Median(IQR)	0.56 (0.20)	0.57 (0.17)	1.26 (0.30)	1.37 (0.38)	<0.001
Min – Max	0.38 – 1.18	0.40 – 1.03	0.61 – 1.73	0.92 – 1.88	
ALP (U/L)					
Median(IQR)	88 (39)	88 (40)	94 (49)	96 (38)	0.81
Min – Max	56 – 178	39 – 134	65 – 159	57 – 164	
GGT (U/L)					
Median(IQR)	59 (46)	79 (51)	56 (102)	130 (118)	0.25
Min – Max	25 – 232	21 – 228	35 – 288	32 – 192	
Total Bilirubin (mg/dL)					
Median(IQR)	0.65 (0.38)	0.75 (0.46)	0.61 (0.38)	0.97 (0.58)	0.58
Min – Max	0.41 – 3.98	0.38 – 2.24	0.40 – 1.26	0.36 – 1.98	
Direkt Bilirubin (mg/dL)					
Median(IQR)	0.12 (0.06)	0.13 (0.08)	0.13 (0.06)	0.23 (0.16)	0.22
Min – Max	0.06 – 0.48	0.08 – 0.30	0.07 – 0.25	0.07 – 0.41	
İndirekt Bilirubin (mg/dL)					
Median(IQR)	0.54 (0.31)	0.63 (0.38)	0.49 (0.33)	0.73 (0.45)	0.68
Min – Max	0.33 – 3.50	0.30 – 1.94	0.33 – 1.01	0.29 – 1.57	
Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)					
Median(IQR)	248 (94)	257 (65)	177 (76)	91 (29)	<0.001
Min – Max	182 – 746	190 – 401	87 – 305	61 – 244	
INR					
Median(IQR)	0.92 (0.06)	0.95 (0.07)	1.04 (0.12)	1.12 (0.08)	<0.001
Min – Max	0.87 – 1.07	0.88 – 1.06	0.93 – 1.24	1.03 – 1.20	
aPTT (saniye)					
Median(IQR)	26.0 (3.0)	24.6 (4.0)	27.45 (1.0)	26.15 (5.0)	0.16
Min – Max	21.6 – 30.3	19.7 – 29.7	24.8 – 29.9	23.1 – 35.2	
Albumin (g/dL)					
Median(IQR)	4.70 (0.27)	4.72 (0.33)	4.36 (0.63)	3.91 (0.59)	<0.001
Min – Max	4.08 – 5.40	4.10 – 5.11	3.75 – 4.85	3.04 – 4.21	
BUN (mg/dL)					
Median(IQR)	13.0 (4.0)	12.3 (4.0)	11.65 (2.0)	16.57 (6.0)	0.035
Min – Max	6.8 – 29.4	7.8 – 20.2	8.5 – 21.63	11.9 – 22.5	
HbA1c (%)					
Median(IQR)	6.1 (2.0)	6.7 (3)	7.6 (4)	6.85 (1.0)	0.61
Min – Max	4.9 – 11.4	5.3 – 9.2	4.9 – 10.0	4.9 – 8.7	

Tablo 4.4.(Devam) Biyokimyasal verilerin analizleri

Değişkenler	F1 (n=23)	F2 (n=19)	F3 (n=6)	F4 (n=8)	p Değeri
Açlık Plazma Glukozu (mg/dL)					
Median(IQR)	102 (41)	112 (48)	193 (94)	133 (70)	0.02
Min – Max	86 – 290	76 – 188	104 – 282	106 – 222	
25-OH-D (µg/L)					
Median(IQR)	12.94 (14.0)	21.0 (17.0)	23.58 (11.0)	15.76 (8.0)	0.25
Min – Max	5.14 – 42.81	5.25 – 76.78	9.53 – 44.74	9.32 – 36.52	
Amonyak(NH₃)(µg/dL)					
Median(IQR)	44.3 (32.0)	44.95 (17.0)	58.85 (25.0)	47.1 (17.0)	0.47
Min – Max	6.8 – 143.38	9.3 – 97.8	38.8 – 98.6	30.8 – 56.0	
Haptoglobin (mg/dL)					
Median(IQR)	146.0 (116.0)	146.5 (96.0)	152.0 (142.0)	65.5 (82.0)	0.10
Min – Max	5.83 – 333.0	17.5 – 226.0	5.83 – 194.0	25.9 – 132.0	
Alfa-Feto Protein (µg/L)					
Median(IQR)	2.89 (2.0)	2.82 (3.0)	3.57 (3.0)	3.78 (2.0)	0.56
Min – Max	1.18 – 8.23	1.47 – 9.33	1.14 – 6.49	1.9 – 8.09	
Total Kolesterol (mg/dL)					
Median(IQR)	225 (66)	197 (46)	201.5 (40)	174.5 (73)	0.11
Min – Max	136 – 256	145 – 312	148 – 219	128 – 240	
LDL (mg/dL)					
Median(IQR)	151 (33)	136 (23)	138 (19)	107.5 (56)	0.015
Min – Max	96 – 180	90 – 190	92 – 148	84.4 – 150	
HDL (mg/dL)					
Median(IQR)	47 (15)	40.5 (12)	40.5 (4)	41.5 (18)	0.11
Min – Max	31 – 66	31 – 65	35 – 49	29 – 67	
Non-HDL (mg/dL)					
Median(IQR)	179 (45)	156.5 (52)	159 (40)	120.5 (70)	0.061
Min – Max	101 – 202	105 – 280	105 – 179	90 – 189	
Trigliserid (mg/dL)					
Median(IQR)	158 (87)	156.5 (68)	183 (44)	114 (84)	0.25
Min – Max	76 – 380	87 – 1185	112 – 229	78 – 183	

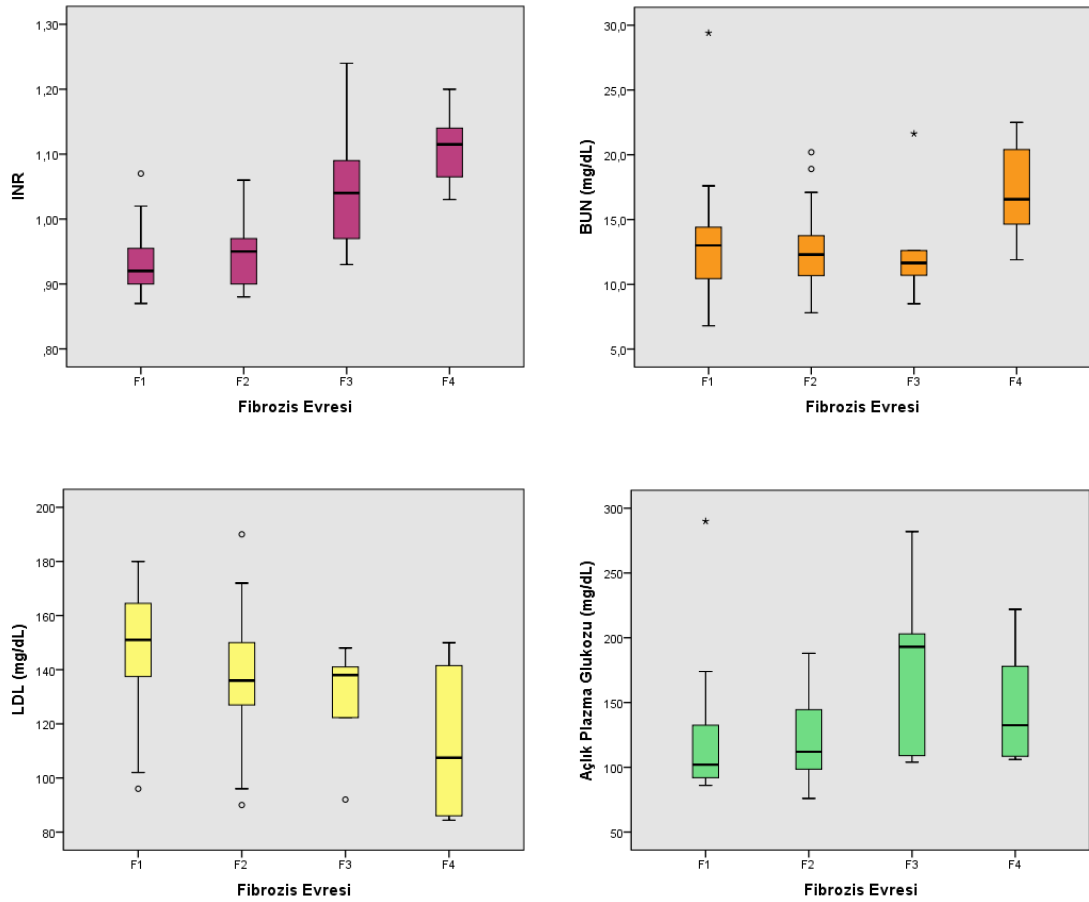
Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanan diğer iki önemli parametre trombosit sayısı ve albumindir (Trombosit sayısı için $p < 0.001$, albumin için $p < 0.001$). Fibrozis evresi F2'den F4'e doğru ilerledikçe her iki değişkenin de azalma eğiliminde olduğu görülmektedir (Şekil 4.3). Her iki değişken için de bu farklılığın F4 grubu ile F1 ve F2 grupları arasındaki farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiş, F1, F2 ve F3 grupları arasında ve F3 ile F4 grupları arasında ikili analizlerde anlamlı farklılık saptanmamıştır (Trombosit sayısı değişkeninde F4-F1 için $p = 0.001$, F4-F2 için $p < 0.001$; albumin değişkeninde F4-F1 için $p < 0.001$, F4-F2 için $p = 0.001$). Trombosit sayısı değişkeni için F2 ve F3 grupları arasında ise istatistiksel düzeyde anlamlılığa yakın bir fark bulunmaktadır (F3-F2 için $p = 0.08$).



Şekil 4.3. Fibrozis evrelerine göre trombosit sayısı ve albumin değişkenlerine ait grafikler

Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanan diğer değişkenlere ait grafikler Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Fibrozis evresi ilerledikçe INR değişkeni için median değerde artış görülmekle birlikte, gruplar arasındaki istatistiksel açıdan anlamlı farklılığın ($p < 0.001$) F1 grubu ile F3 ve F4 grupları arasındaki farklılıklardan ve F2-F4 grupları arasındaki farktan kaynaklandığı belirlenmiştir (F1-F3 için $p = 0.028$, F1-F4 için $p < 0.001$, F2-F4 için $p = 0.001$). INR değişkeni açısından F1-F2, F2-F3 ve F3-F4 grupları arasında fark olmadığı saptanmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda BUN değişkeni için saptanan anlamlı farklılık ($p = 0.035$) F2-F4 grupları arasındaki farktan kaynaklanmaktadır (F2-F4 için $p = 0.048$). F1-F4 grupları arasında ise istatistiksel açıdan anlamlılığa yakın bir fark bulunmaktadır (F1-F4 için $p = 0.068$). Açlık plazma glukozu değişkeni için gruplar arasında saptanan anlamlı farklılık ($p = 0.02$) sadece F1-F3 grupları arasındaki farktan kaynaklanmaktadır (F1-F3 için $p = 0.042$). LDL değişkeni için gruplar arasında saptanan anlamlı farklılık ($p = 0.015$) ise sadece F4-F1 grupları arasındaki farktan kaynaklanmaktadır (F4-F1 için $p = 0.015$).

Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda non-HDL düzeyi için istatistiksel açıdan anlamlılığa yakın düzeyde bir fark saptanmıştır ($p = 0.061$). Ancak AST, ALP, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, aPTT, HbA1c, total kolesterol, HDL, trigliserid, haptoglobin, amonyak düzeyi, alfa-feto protein değişkenleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.



Şekil 4.4. Fibrozis evrelerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık belirlenen diğer biyokimyasal değişkenlere ait grafikler

4.5. Serum Fibrozis Biyobelirteçleri ile İlgili Verilerin Analizleri

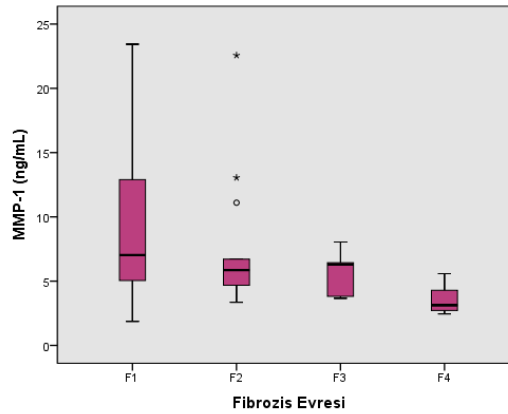
Serum fibrozis biyobelirteçlerine ait bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.5'te verilmiştir.

Bu sonuçlara göre, belirtilen değişkenlerden sadece MMP-1 değişkeni için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.009$). Post-hoc analizlerde MMP-1 için saptanan bu farklılığın F4 grubu ile F1 ve F2 grupları arasındaki farklılıktan kaynaklandığı belirlenmiştir (F4-F1 için $p=0.004$, F4-F2 için $p=0.048$), F1, F2 ve F3 grupları arasında ve F3 ile F4 grupları arasında ikili analizlerde farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4.5. Serum fibrozis biyobelirteçleri ile ilgili verilerin analizleri

Değişkenler	F1 (n=22)	F2 (n=18)	F3 (n=6)	F4 (n=8)	p Değeri
A2M (g/L)					
Median(IQR)	7.80 (3.01)	6.80 (2.0)	7.12 (3.43)	6.73 (2.26)	0.83
Min – Max	5.35 – 28.51	5.38 – 11.32	5.44 – 9.22	5.07 – 11.18	
ApoA1 (g/L)					
Median(IQR)	1.01 (0.27)	1.02 (0.18)	1.00 (0.21)	0.97 (0.10)	0.71
Min – Max	0.84 – 1.64	0.83 – 1.50	0.87 – 1.12	0.91 – 1.10	
Hyaluronik Asit (ng/mL)					
Median(IQR)	797.2 (292.5)	749.4 (227.0)	831.2 (62.5)	798.2 (93.1)	0.46
Min – Max	602.1–2925.3	568.9 – 1147	734.7 – 961	710 – 909.8	
TIMP-1 (ng/mL)					
Median(IQR)	909.2 (295.2)	825.1 (271.7)	844.4 (129.2)	824.9 (204.1)	0.18
Min – Max	709.8–3140.8	287.7–1341.2	732.3 – 940.7	180.8 – 972.4	
PIIINP (ng/mL)					
Median(IQR)	25.52 (5.76)	23.26 (6.27)	23.43 (2.77)	24.94 (4.60)	0.46
Min – Max	14.73 – 131.9	14.49 – 33.84	22.15 – 29.46	19.42 – 27.18	
MMP-1 (ng/mL)					
Median(IQR)	7.03 (7.84)	5.85 (2.04)	6.30 (2.62)	3.13 (1.57)	0.009
Min – Max	1.87 – 23.44	3.35 – 22.57	3.67 – 8.05	2.45 – 5.58	
MMP-3 (ng/mL)					
Median(IQR)	17.67 (3.93)	17.40 (4.12)	16.84 (1.87)	17.57 (2.41)	0.50
Min – Max	15.01 – 49.3	14.29 – 25.43	15.06 – 18.09	14.96 – 18.89	

F1 grubunda MMP-1 için median değer 7.03 ng/mL(IQR 7.84) iken F2 grubunda 5.85 ng/mL(IQR 2.04), F3 grubunda 6.3 ng/mL(IQR 2.62) ve F4 grubunda 3.13 ng/mL(IQR 1.57) olarak bulunmuştur. Fibrozis evresi ilerledikçe MMP-1 düzeyinin azalma eğiliminde olduğu dikkat çekmektedir(Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Fibrozis evrelerine göre MMP-1 değişkenine ait grafik

A2M, ApoA1, hyaluronik asit, TIMP-1, PIIINP ve MMP-3 değişkenleri için ise gruplar arasındaki karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık saptanmamış, fibrozis evrelerine

bağlı olarak bu değişkenlerin düzeylerinde herhangi bir azalma/artma eğilimi gözlenmemiştir.

4.6. Mevcut Noninvaziv Testlere ve MRE'ye Ait Verilerin Analizleri

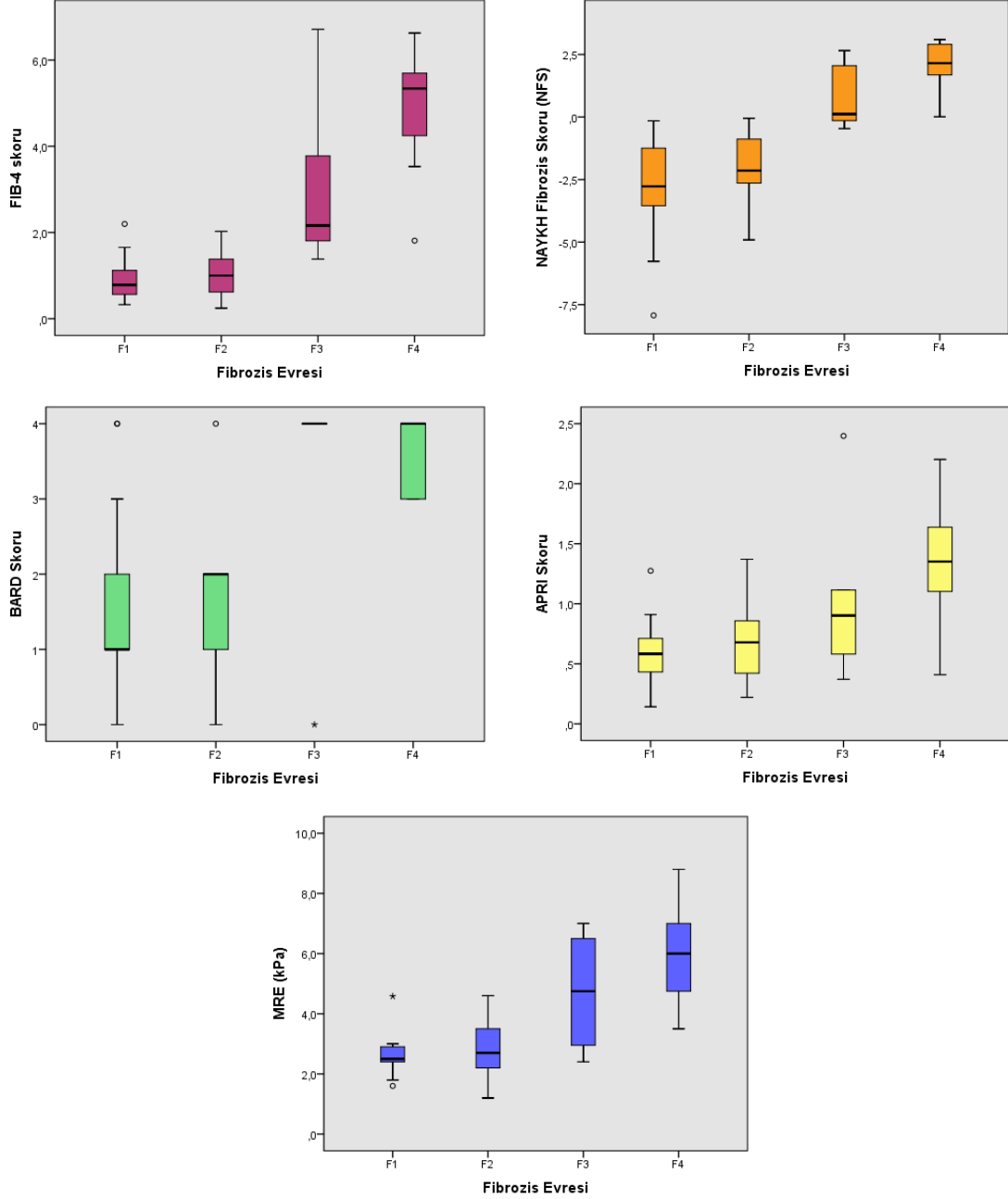
Bu bölümde, hastaların demografik ve laboratuvar verileri kullanılarak hesaplanan FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru ve APRI skorları ile hastalara ait MRE tetkiklerindeki en yüksek kPa ölçümleri için, fibrozis evrelerine göre oluşturulan gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır. Belirtilen noninvaziv testlere ve kPa ölçümlerine ait bulgular ve istatistiksel analizler Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Mevcut noninvaziv testlere ve MRE'ye ait verilerin analizleri

Değişkenler	F1 (n=22)	F2 (n=18)	F3 (n=6)	F4 (n=8)	p Değeri
FIB-4 Skoru					
Median(IQR)	0.79 (0.61)	1.00 (0.87)	2.16 (1.97)	5.34 (1.45)	<0.001
Min – Max	0.32 – 2.2	0.25 – 2.03	1.38 – 6.71	1.81 – 6.63	
NAYKH Fibrozis Skoru					
Median(IQR)	-2.77 (2.50)	-2.14 (1.76)	0.12 (2.20)	2.15 (1.22)	<0.001
Min – Max	-7.93 – -0.15	-4.91 – -0.05	-0.46 – 2.65	0.009 – 3.09	
BARD Skoru					
Median(IQR)	1 (1)	2 (1)	4 (0)	4 (1)	<0.001
Min – Max	0 – 4	0 – 4	0 – 4	3 – 4	
APRI Skoru					
Median(IQR)	0.58 (0.32)	0.68 (0.49)	0.90 (0.53)	1.35 (0.53)	0.005
Min – Max	0.14 – 1.27	0.22 – 1.37	0.37 – 2.40	0.41 – 2.20	
Değişkenler	F1 (n=21)	F2 (n=17)	F3 (n=4)	F4 (n=7)	p Değeri
kPa Ölçümü					
Median(IQR)	2.50 (0.50)	2.70 (1.30)	4.75 (3.55)	6.0 (3.0)	<0.001
Min – Max	1.60 – 4.58	1.20 – 4.60	2.40 – 7.0	3.50 – 8.80	

FIB-4 skoru ve NFS'nin F3 ve F4 gruplarındaki hastalarda F1 ve F2 gruplarındaki hastalara kıyasla belirgin şekilde yüksek olduğu görülmektedir(Şekil 4.6) ve her iki skor için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık mevcuttur($p < 0.001$). Her iki skor için de bu durum F1 ve F2 grupları ile F3 ve F4 grupları arasındaki farklılardan dolayı ortaya çıkmaktadır. NFS'de F1-F3 için $p = 0.002$, F1-F4 için $p < 0.001$, F2-F3 için $p = 0.032$ ve F2-F4 için $p = 0.001$ iken FIB-4 skorunda F1-F3 için $p = 0.005$, F1-F4 için $p < 0.001$, F2-F3 için $p = 0.026$, F2-F4 için $p < 0.001$ olarak bulunmuştur. Ancak bu

skorlar için F1-F2 ve F3-F4 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.



Şekil 4.6. FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve MRE'de kPa ölçümlerinin fibrozis evrelerine göre değişimlerine ait grafikler

BARD skoru için de gruplar arasında anlamlı bir fark mevcuttur($p < 0.001$) ve post-hoc analizlerde F1-F3, F1-F4 ve F2-F4 grupları arasında anlamlı farklılık

saptanmışken(F1-F3 için p=0.038, F1-F4 için p=0.001, F2-F4 için p=0.004), F1-F2 ve F3-F4 grupları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. F2-F3 grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlılığa yakın düzeyde bir fark bulunmaktadır(p=0.071). APRI skorunda ve kPa ölçümlerinde ise F1-F4 ve F2-F4 grupları arasındaki farklardan kaynaklanan istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmaktadır(APRI skoru için p=0.005, kPa ölçümleri için p<0.001), gruplar arasında yapılan diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık saptanmamıştır(APRI skorunda F1-F4 için p=0.004, F2-F4 için p=0.033; kPa ölçümlerinde F1-F4 için p<0.001, F2-F4 için p=0.011).

4.7. Yeni Skorlama Panelinin Elde Edilmesi

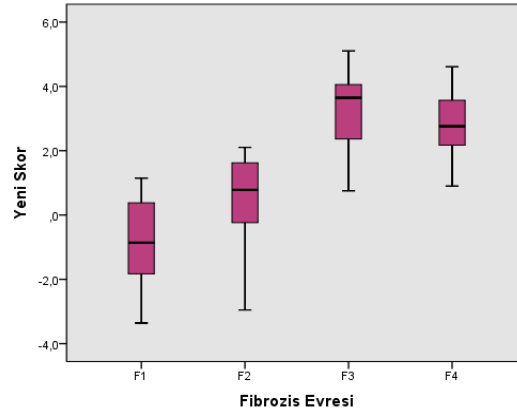
Aday değişkenler kullanılarak, fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları yüksek bir tanısal doğruluk oranı ile predikte edebilecek bir skorlama panelinin geliştirilmesi için iki durumlu(binary) lojistik regresyon analizi yapılmış ve üç parametrenin(MMP-1, AST/ALT oranı ve toplam metabolik sendrom puanı) dahil edildiği bir denklem oluşturulmuştur. Bu yeni skorun elde edilmesinde kullanılan denklem aşağıdaki gibidir:

$$\text{Yeni skor} = -4.414 + (2.830 \times \text{AST/ALT oranı}) - (0.049 \times \text{MMP-1}(\text{ng/mL})) + (0.959 \times \text{Toplam Metabolik Sendrom Puanı})$$

Elde edilen denkleme göre hesaplanan yeni skorun fibrozis evrelerine göre değişimine ait grafik Şekil 4.7'de, gruplar arasında karşılaştırılmasına ait veriler Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Fibrozis evrelerine göre yeni skorun karşılaştırılması

Gruplar	Median(IQR)	Min – Max	Gruplar	p Değeri
F1 (n=22)	-0.86 (2.20)	-3.36 – 1.15	Tüm gruplar	<0.001
F2 (n=17)	0.78 (1.86)	-2.95 – 2.10	F1 – F2	0.064
F3 (n=6)	3.65 (1.69)	0.75 – 5.10	F1 – F3	<0.001
F4 (n=8)	2.76 (1.39)	0.90 – 4.61	F1 – F4	<0.001
			F2 – F3	0.096
			F2 – F4	0.083
			F3 – F4	1.0

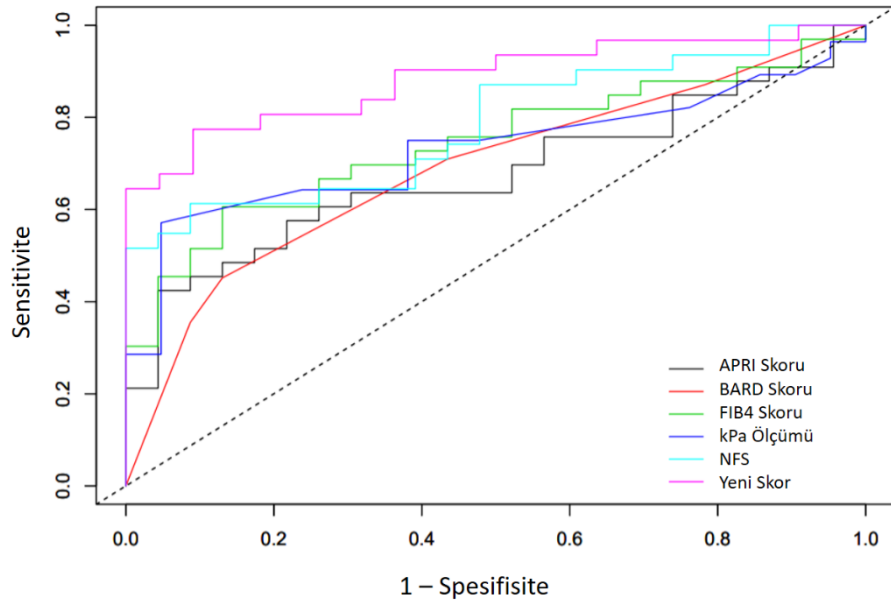


Şekil 4.7. Yeni skorun fibrozis evrelerine göre değişimine ait grafik

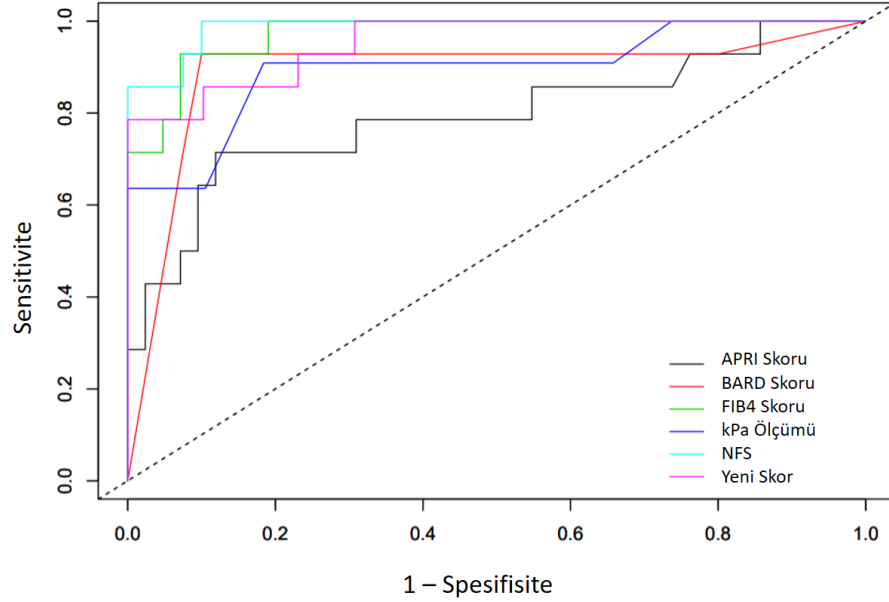
Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda, yeni skor açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p < 0.001$). Post-hoc ikili grup analizlerinde bu farkın F1-F3 ve F1-F4 grupları arasındaki farklardan kaynaklandığı saptanmıştır (F1-F3 için $p < 0.001$, F1-F4 için $p < 0.001$). F1-F2, F2-F3 ve F2-F4 grupları arasında ise istatistiksel açıdan anlamlılığa yakın düzeyde fark olduğu gözlenmiştir (Bkz. Tablo 4.7). Ancak yeni skor açısından F3-F4 grupları arasında fark saptanmamıştır.

4.8. Yeni Skor ile Mevcut Noninvaziv Testler ve Kilopascal Ölçümlerinin Tanısal Doğruluklarının Karşılaştırılması

Yeni skor, FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve MRE ile elde edilen en yüksek kPa ölçümleri, iki farklı durum için tanısal doğruluk değerleri açısından ROC analizi ile karşılaştırılmıştır. Bu iki durum, fibrozis evresinin ≥ 2 olması (risk altındaki NASH hastaları) ve fibrozis evresinin ≥ 3 olması (ileri evre fibrozis olan hastalar) durumlarıdır. İlk durum için (fibrozis evresi ≥ 2) belirtilen testlerin ve kPa ölçümlerinin tanısal doğruluklarının karşılaştırıldıkları ROC analizine ait grafik Şekil 4.8'de verilmiştir. İkinci durum için (fibrozis evresi ≥ 3) yapılan ROC analizine ait grafik ise Şekil 4.9'da verilmiştir. ROC analizi sonucunda elde edilen AUROC değerleri ve Youden indeksi kullanılarak belirlenen optimal cut-off değerlerine göre elde edilen sensitivite, spesifisite, pozitif prediktif değerler ve negatif prediktif değerler Tablo 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Fibrozis evresi ≥ 2 için yeni skor, FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve kPa ölçümlerinin tanısal doğruluklarının ROC analizi ile karşılaştırılması



Şekil 4.9. Fibrozis evresi ≥ 3 için yeni skor, FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve kPa ölçümlerinin tanısal doğruluklarının ROC analizi ile karşılaştırılması

Tablo 4.8. ROC analizine ait sonuçlar

<i>Fibrozis Evresi ≥ 2</i>	AUROC (%95 GA)	Optimal Cut-off	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPD (%)	NPD (%)	<i>p</i> Değeri
Yeni Skor	0.88 (0.79 – 0.97)	0.75	77.4	90.9	92.3	74.1	<0.001
FIB-4	0.74 (0.61 – 0.87)	1.30	60.6	87.0	87.0	60.6	<0.001
NFS	0.78 (0.66 – 0.91)	-0.88	61.3	91.3	90.5	63.6	<0.001
BARD	0.69 (0.55 – 0.83)	3	45.2	87.0	82.4	54.1	0.008
APRI	0.68 (0.54 – 0.82)	1.00	42.4	95.7	93.3	53.7	0.014
kPa	0.73 (0.59 – 0.88)	3.50	57.1	95.2	94.1	62.5	0.002
<i>Fibrozis Evresi ≥ 3</i>							
Yeni Skor	0.95 (0.90 – 1.00)	2.37	78.6	100.0	100.0	92.9	<0.001
FIB-4	0.97 (0.94 – 1.00)	1.81	92.9	92.9	81.3	97.5	<0.001
NFS	0.99 (0.97 – 1.00)	-0.46	100.0	90.0	77.8	100.0	<0.001
BARD	0.89 (0.76 – 1.00)	3	92.9	90.0	76.5	97.3	<0.001
APRI	0.79 (0.63 – 0.96)	1.00	71.4	88.1	66.7	90.2	<0.001
kPa	0.90 (0.77 – 1.00)	3.50	90.7	81.6	58.8	96.9	<0.001

Elde edilen yeni skorun fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları predikte etmede FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru ve kPa ölçümüne göre daha yüksek AUROC değerine sahip olduğu (AUROC 0.88, %95 GA 0.79 – 0.97) görülmektedir. Belirlenen 0.75 cut-off değerine göre yapılan analizlerde yeni skorun fibrozis evresi ≥ 2 tanısı koymada %92.3 pozitif prediktif değere ulaştığı, ayrıca diğer noninvaziv testlere ve kPa ölçümüne göre daha yüksek sensitiviteye (%77.4) ve negatif prediktif değere (%74.1) sahip olduğu saptanmıştır. İleri fibrozis (fibrozis evresi ≥ 3) tanısı koymada ise yeni skor için AUROC değeri 0.95 (%95 GA 0.90 – 1.00) olarak saptanmıştır ve bu değer FIB-4 skoru (AUROC 0.97, %95 GA 0.94 – 1.00) ile NFS (AUROC 0.99, %95 GA 0.97 – 1.00) için elde edilen değerlere oldukça yakındır. Tüm testler ve kPa ölçümü için Youden indeksi kullanılarak belirlenen optimal cut-off değerlerine göre yapılan analizlerde, yeni skorun diğer noninvaziv testlere ve kPa ölçümüne göre daha düşük sensitiviteye sahip olmasına rağmen, belirlenen 2.37 cut-off değeri ile ileri fibrozis tanısı koymada bu hasta grubunda en yüksek spesifisite (%100) ve pozitif prediktif değere (%100) ulaştığı görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen yeni skor, NASH'e bağlı ileri evre fibrozis(fibrozis evresi ≥ 3) hastalarını mevcut noninvaziv testlere ve MRE'den elde edilen kPa ölçümlerine yakın bir tanısal doğruluk oranıyla predikte edebilmesinin yanında, çok daha geniş bir hasta grubunu oluşturan "risk altındaki NASH hastaları"na(fibrozis evresi ≥ 2) da oldukça yüksek bir tanısal doğruluk oranıyla (AUROC 0.88, %95 GA 0.79 – 0.97 ; PPD %92.3) tanı koyabilmektedir.

Önceki çalışmalarda, NASH hastalarında karaciğer ilişkili ve karaciğer dışı nedenlere bağlı mortalite ile en kuvvetli ilişkiye sahip olan histolojik parametrenin fibrozis evresi olduğu saptanmış ve fibrozis evresi ≥ 2 olan hastalar pek çok klinik çalışmada "risk altındaki NASH hastaları" olarak tanımlanmıştır(43). Noninvaziv testler, NASH hastalarında fibrozisin şiddetinin değerlendirilmesi için kolay ulaşılabilir, ucuz ve güvenli bir yöntemdir. Mevcut noninvaziv testler arasında klinik pratikte sık kullanılan değişkenler(rutin karaciğer fonksiyon testleri, trombosit sayısı, yaş, VKİ gibi) ile elde edilen panellerin(FIB-4 skoru, NFS, APRI skoru, BARD skoru gibi) çeşitli çalışmalarda ileri evre fibrozisin saptanmasındaki etkinlikleri gösterilmiştir; ancak bu vakaların yaklaşık %30'unda yetersiz kaldıkları görülmüştür(76). Bu çalışmada değerlendirilen noninvaziv testlerden özellikle NFS ve FIB-4 skorlarının oldukça yüksek bir tanısal doğruluk oranıyla(NFS için AUROC 0.99, %95 GA 0.97 – 1.00 ; FIB-4 skoru için AUROC 0.97, %95 GA 0.94 – 1.00) ileri fibrozis hastalarını saptayabildikleri ve tüm noninvaziv testlerin belirlenen cut-off değerlerine göre negatif prediktif değerlerinin pozitif prediktif değerlerinden daha yüksek olduğu, dolayısıyla ileri fibrozisin ekartasyonunda daha başarılı oldukları görülmüştür(Bkz. Tablo 4.8). Ancak bu testler F3 ve F4 gruplarındaki hastaları F1 ve F2 gruplarındaki hastalardan güvenilir bir şekilde ayırabilmekteyken, pek çok klinik çalışmada "risk altındaki NASH hastaları" grubuna dahil edilen F2 grubundaki hastaları F1 grubundaki hastalardan ayıramamaktadır(Bkz. Şekil 4.6). Fibrozis evresi ≥ 2 olan hastalar için yapılan ROC analizlerinde NFS, FIB-4 skoru, BARD skoru ve APRI skorunun tanısal doğruluk değerlerinde belirgin bir düşüş olduğu görülmüş ve AUROC değerleri sırasıyla 0.78, 0.74, 0.69 ve 0.68 bulunmuştur. Ayrıca belirlenen cut-off değerlerine

göre bu testlerin negatif prediktif değerlerinin ve sensitivitelerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir(Bkz. Tablo 4.8). Bu sonuçlar, NASH hastalarının oldukça büyük bir kısmını oluşturan ve fibrozis progresyonu açısından önemli bir risk taşıyan F2 grubundaki hastaları saptamada bu testlerin yeterli olmadıklarını göstermektedir. Ayrıca FIB-4 skorunda ve NFS'de yaş değişkeninin yer alması nedeniyle, artan yaşla birlikte bu testlerin spesifisitesinin düştüğü ve yaşlı hastalarda ileri fibrozisin ekarte edilmesi için daha yüksek cut-off değerlerine ihtiyaç duyulduğu ile ilgili görüşler de mevcuttur(76).

Kolay hesaplanabilen noninvaziv skorlamaların yanı sıra hepatik fibrojenizde rol oynayan çeşitli moleküllerin de dahil edildiği daha kompleks skorlama sistemleri de mevcuttur(Bkz. Tablo 2.2) ve bu panellerin fibrozis prediksyonunda FIB-4 skoru, NFS gibi kolay hesaplanabilen skorlara göre daha doğru sonuçlar verdiği gösterilmiştir(77). Bu çalışmaya dahil edilen yedi adet serum fibrozis biyobelirtecinden sadece MMP-1 düzeyinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmış(Bkz. Tablo 4.5) ve fibrozis evresi ilerledikçe MMP-1 düzeyinin azalma eğiliminde olduğu görülmüştür(Bkz. Şekil 4.5). Fibrozis evresi ile MMP-1 düzeyleri arasındaki bu negatif ilişki, daha önce yapılmış çalışmalarla da uyumludur(58). Ancak MMP-1'in karaciğer hastalıklarındaki kesin etki mekanizması net olarak bilinmemektedir. Diğer serum fibrozis biyobelirteçleri açısından gruplar arasında bir fark saptanmamasının, özellikle F3 ve F4 grupları olmak üzere gruplarda yer alan hasta sayılarının yetersiz olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

MRE, karaciğerin sertliğini ölçen ve serum fibrozis biyobelirteçlerine göre erken evrelerden itibaren hepatik fibrozis için çok daha yüksek tanısal doğruluğa sahip olduğu gösterilen bir görüntüleme yöntemidir(71, 76). Ancak bu çalışmada ileri fibrozis için yapılan analizde kPa ölçümleri ile yüksek bir tanısal doğruluk değerine(AUROC 0.90, %95 GA 0.77 – 1.00) ve negatif prediktif değere(%96.9) ulaşılmasına rağmen, pozitif prediktif değerin %58.8 olması çok sayıda yanlış pozitif sonucun olduğu anlamına gelmektedir(Bkz. Tablo 4.8). İleri fibrozis için bu çalışmada belirlenen 3.50 kPa cut-off değeri, önceki çalışmalarda belirlenen değerler ile de uyumludur(78). Fibrozis evresi ≥ 2 olan hastalar için yapılan analizlerde ise cut-off

değeri yine 3.50 kPa olarak hesaplanmıştır ve bu kesim noktasına göre fibrozis evresi ≥ 2 için pozitif prediktif değer %94.1 iken negatif prediktif değer %62.5'e ve sensitivitenin %57.1'e gerilemesi, F2 grubundaki hastaların bir kısmının MRE'de >3.5 kPa ölçümlere sahipken önemli bir kısmının da <3.5 kPa ölçümlere sahip olmasından kaynaklanmaktadır(Bkz. Şekil 4.6, Tablo 4.6). Bu nedenle, fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaların tespit edilmesinde tek başına MRE kullanıldığında F2 grubunda yer alan çok sayıda hastanın yanlış negatif olarak değerlendirilmesi riski mevcuttur.

Mevcut noninvaziv testlerin ve MRE'nin yukarıda bahsedilen kısıtlılıkları ve MRE'nin aynı zamanda pahalı bir görüntüleme yöntemi olması nedeniyle halen ideal bir noninvaziv yöntem ve biyobelirteç arayışı devam etmektedir. İdeal bir noninvaziv testin; fibrozis varlığını gösterebilen, evreleme yapılmasını sağlayabilen, böylelikle risk tayini yapılmasına olanak verip prognostik değere sahip olan ve tedaviye yanıtı izlemede kolaylık sağlayan bir yöntem olması beklenmektedir. Bu çalışmada NASH hastalarında fibrozis evresini öngördürebilecek ideal bir noninvaziv testin geliştirilebilmesi amacıyla, NASH tanısı biyopsi ile doğrulanmış 56 hastanın demografik verileri, antropometrik ölçümleri, biyokimyasal verileri ve serum fibrozis biyobelirteçlerine ait verilerini kapsayan toplamda 59 farklı değişken değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler neticesinde bu değişkenler arasından MMP-1 düzeyi, AST/ALT oranı ve toplam metabolik sendrom puanı değişkenleri kullanılarak yeni bir skor elde edilmiştir. Dahil edilen üç değişken ayrı ayrı yorumlanacak olursa; MMP-1 bu çalışmada değerlendirilen yedi adet serum fibrozis biyobelirteci arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanan tek molekül olup MMP-1 düzeyinin F4 grubunda F1 ve F2 gruplarına göre belirgin olarak düşük olduğu bulunmuştur. Önceki çalışmalarda da MMP-1 düzeyinin erken dönem NASH hastalarında yüksek olduğu ve fibrozis progresyonu ile birlikte MMP-1 düzeylerinin azaldığı gösterilmiş, matriks metalloproteinazların karaciğer hastalıklarında biyobelirteç olarak kullanılabilceği belirtilmiştir(62). Daha önce kronik hepatit C hastalarında fibrozis evresini tespit edebilmek için serum fibrozis biyobelirteçlerinin değerlendirildiği bir çalışmada sadece MMP-1 ve PIIINP'nin fibrozis ile bağımsız ilişkili olduğu gösterilmiş ve iki değişkenin kombine kullanımıyla MP3 skoru

geliştirilmiştir(79). Ancak NASH hastaları için valide edilmiş noninvaziv testler arasında MMP-1 düzeyinin dahil edildiği bir skorlama bulunmamaktadır. Bu açıdan, bu çalışmanın sonucunda elde edilen yeni skor ile NASH hastalarında fibrozis prediksyonunda MMP-1 düzeyinin kullanılması literatüre önemli bir katkı sunmaktadır.

ALT ve AST düzeyleri, çeşitli noninvaziv testlerde yer almaktadır(Bkz. Tablo 2.2). Bunlardan en önemlileri FIB-4 skoru, NFS ve BARD skorudur. FIB-4 skorunun hesaplanmasında AST düzeyinin ALT düzeyinin kareköküne oranı kullanılırken NFS'de AST/ALT oranı denklemde yer almaktadır. BARD skorunda ise diğer iki değişken 1'er puan üzerinden değerlendirilirken AST/ALT oranının ≥ 0.8 olması 2 puan olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada da benzer şekilde fibrozis evresi ilerledikçe ALT düzeyinin düşme eğiliminde olduğu ve buna paralel olarak AST/ALT oranının F3 ve F4 gruplarında F1 ve F2 gruplarına göre belirgin olarak yüksek olduğu görülmektedir(Bkz. Tablo 4.4, Şekil 4.2). Bu çalışma kapsamında değerlendirilen parametreler içinde F1 ve F2 gruplarındaki hastalarla F3 ve F4 gruplarındaki hastalar arasında tek başına ayırım yapmayı sağlayabilecek en güçlü parametrenin AST/ALT oranı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ancak F1-F2 ve F3-F4 grupları arasında AST/ALT oranı açısından fark saptanmamıştır.

Bu çalışma kapsamında değerlendirilen 59 farklı değişken, bu değişkenlerin bazılarının kullanılmasıyla elde edilen 4 noninvaziv test(FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru) ve MRE'den elde edilen kPa ölçümleri içinde F1-F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan tek değişken, toplam metabolik sendrom puanıdır. Hastaların metabolik sendrom için belirlenen beş kriterden karşıladıkları her bir kriter için 1 puan almaları ile hesaplanan toplam metabolik sendrom puanı için median değer F1 grubunda 2, F2 grubunda 4, F3 grubunda ise 5 olduğu görülmektedir(Bkz. Tablo 4.2, Şekil 4.1). Daha önce fibrozis prediksyonu amacıyla geliştirilen herhangi bir modelde yer almamasına rağmen bu parametrenin bu çalışmaya dahil edilen hasta grubunda fibrozis evresinin ≥ 2 olması ile tek başına en kuvvetli ilişkiye sahip olan değişkenlerden biri olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Belirtilen beş kriterin her birinin NAYKH için önemli risk faktörleri olduğu düşünülürse, fibrozis

evresi ile toplam metabolik sendrom puanı arasında pozitif ilişki olması şaşırtıcı bir sonuç değildir. Bu noktada dikkat çekilmek istenen durum, F1-F2 grupları arasında ayırım yapabilmeyi sağlayan bir değişkenin fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları predikte etmek için kullanılması planlanan bir modelin tanısal doğruluğunu oldukça arttıracak olmasıdır. Bu nedenle geliştirilen yeni skorlamada toplam metabolik sendrom puanı değişkenine de yer verilmiştir.

Elde edilen yeni skorun hem fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları, hem de fibrozis evresi ≥ 3 olan hastaları saptamadaki tanısal performansı ayrı ayrı değerlendirilmiştir ve yeni skorun tanısal performansı, başta FIB-4 skoru ve NFS olmak üzere NASH hastalarına yönelik diagnostik algoritmalarda yer alan önemli noninvaziv testlerin ve fibrozisin değerlendirilmesinde en kıymetli görüntüleme yöntemlerinden biri olan MRE'nin tanısal performansı ile karşılaştırılmıştır(Şekil 4.8, Şekil 4.9). Fibrozis evresi ≥ 2 olan risk altındaki NASH hastaları için yapılan analizde yeni skor için AUROC değeri 0.88(%95 GA 0.79 – 0.97) iken, bu değere en yakın sonucun elde edildiği NFS'de AUROC değerinin 0.78(%95 GA 0.66 – 0.91) olduğu ve diğer testlerde AUROC değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir(Bkz. Tablo 4.8). MRE için hesaplanan AUROC değeri ise bu hasta grubu için 0.73(%95 GA 0.59 – 0.88)'tür. Tüm noninvaziv testler ve MRE için hesaplanan optimal cut-off değerlerine göre, yeni skor oldukça yüksek bir pozitif prediktif değer(%92.3) ile evre 2 ve üzeri fibrozis tanısı koyabilmektedir ve aynı zamanda diğer tüm noninvaziv testlerden ve MRE'den daha yüksek sensitivite ve negatif prediktif değere sahiptir(Sensitivite %77.4, NPD %74.1). Bu da yeni skor için yanlış negatif sonuçların diğer noninvaziv testlere ve MRE'ye göre daha az olduğu anlamına gelmektedir. Bu durum, yeni skorda F1 ve F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılığa yakın düzeyde bir fark olmasından kaynaklanmaktadır($p=0.064$). F1 ve F2 gruplarında daha fazla sayıda hastanın olduğu validasyon çalışmalarında iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığa ulaşılması olası bir durumdur. İleri fibrozis(fibrozis evresi ≥ 3) olan hastaları saptamada ise en yüksek AUROC değerleri NFS(AUROC 0.99, %95 GA 0.97 – 1.00) ve FIB-4 skorunda(AUROC 0.97, %95 GA 0.94 – 1.00) elde edilmiş, bunları yeni skor(AUROC 0.95, %95 GA 0.90 – 1.00) ve MRE kPa ölçümü(AUROC 0.90, %95 GA 0.77

– 1.00) izlemiştir. Bu değerler, belirtilen testlerin ve MRE'nin ileri fibrozis hastaları için tanısal performanslarının birbirlerine oldukça yakın olduğunu göstermektedir. Ancak belirlenen optimal cut-off değerlerine göre yapılan analizlerde, NFS ve FIB-4 skorlarının pozitif prediktif değerlerinin sırasıyla %77.8 ve %81.3 olduğu görülmektedir. Yeni skorun ise, diğer noninvaziv testlere ve kPa ölçümüne göre daha düşük sensitiviteye sahip olmasına rağmen, belirlenen 2.37 cut-off değeri ile ileri fibrozis tanısı koymada bu hasta grubunda en yüksek spesifisite(%100) ve pozitif prediktif değere(%100) ulaştığı görülmektedir. Bu sonucun F3 ve F4 gruplarına daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği validasyon çalışmaları ile doğrulanması halinde, yeni skorlamada skoru > 2.37 olan hastalarda ikinci bir noninvaziv teste ya da görüntülemeye gerek kalmaksızın ileri fibrozis tanısı konulmasının mümkün olabileceği ve diagnostik algoritalarda ilk basamakta bu yeni skora yer verilmesinin ihtimal dahilinde olabileceği düşünülmektedir. Bu sayede karaciğer biyopsisine duyulan ihtiyacın da önemli ölçüde azalabileceği öngörülmektedir.

Yeni skorun avantajlarından bir tanesi de yaştan bağımsız bir model olmasıdır. Artan yaş ile beraber spesifisitelerinde azalma olan FIB-4 skoru ve NFS'ye ileri yaştaki hastalarda bu açıdan da üstünlük sağlayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca hepatik fibrozis dışında başka durumlardan etkilenme ihtimali olan albumin düzeyi(akut ya da kronik inflamasyon, nefrotik sendrom gibi) ve trombosit sayısı(immün trombositopeni, ilaca bağlı trombositopeni, B12 eksikliği, folik asit eksikliği, infeksiyonlar gibi) değişkenlerinin de bu modelde yer almamış olmasının, yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçların azalmasını sağlayarak modelin tanısal performansını arttıracığı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın en önemli avantajlarından bir tanesi, 49 hastanın aynı zamanda MRE ile de değerlendirilmiş olması ve bu sayede kPa ölçümleri ile noninvaziv testleri karşılaştırma imkanı sağlamış olmasıdır. Karaciğer biyopsileri, serum örneklerinin alınması ve MRE tetkiklerinin yapılması arasında geçen sürelerin de oldukça kısa olması, bu karşılaştırmalı analizin gücünü ve değerini daha da arttırmaktadır(Bkz. Tablo 4.1). Aynı zamanda tüm hastalara ait antropometrik ölçümler de analiz edilmiş, ancak bu ölçümler ile fibrozis evreleri arasında bir ilişki saptanamamıştır.

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı, çalışmaya dahil edilen hasta sayısının 56 hasta ile sınırlı kalması gibi değerlendirilse de bu durum yeni skorun geliştirilmesinde bir istatistiksel engel oluşturmamıştır. Özellikle F3 ve F4 grubunda yer alan hasta sayılarının arttırılarak yeni skor için internal ve eksternal validasyon çalışmalarının yapılması gerekli olacaktır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- 1) Mevcut noninvaziv testlerden FIB-4 skoru, NFS , BARD skoru ve APRI skoru ile MRE, F3 ve F4 grupları ile F1 ve F2 gruplarını ayırt edebilmekte ve bu sayede ileri fibrozisi(fibrozis evresi ≥ 3) olan hastaları yüksek bir tanısal doğruluk ile saptayabilmektedirler. Ancak noninvaziv testler risk altındaki NASH hastaları grubunda değerlendirilen ve oldukça büyük bir hasta grubunu oluşturan F2 grubundaki hastaları tespit etmekte yetersiz kalmakta ve F1-F2 grupları arasında ayırım yapma imkanı sağlayamamaktadırlar.
- 2) Bu çalışma kapsamında değerlendirilen 59 farklı değişken, bu değişkenlerin bazılarının kullanılmasıyla elde edilen 4 noninvaziv test(FIB-4 skoru, NFS, BARD skoru, APRI skoru) ve MRE'den elde edilen kPa ölçümleri içinde F1-F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan tek parametre, toplam metabolik sendrom puanıdır.
- 3) Bu çalışmada değerlendirilen yedi adet serum fibrozis biyobelirteci arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanan tek molekül MMP-1 olup, MMP-1 düzeyinin F4 grubunda F1 ve F2 gruplarına göre belirgin olarak düşük olduğu bulunmuştur. Diğer serum fibrozis biyobelirteçleri açısından gruplar arasında bir fark saptanmamasının, özellikle F3 ve F4 grupları olmak üzere gruplarda yer alan hasta sayılarının yetersiz olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.
- 4) Bu çalışma kapsamında değerlendirilen parametreler içinde F1 ve F2 gruplarındaki hastalarla F3 ve F4 gruplarındaki hastalar arasında tek başına ayırım yapmayı sağlayabilecek en güçlü parametrenin AST/ALT oranı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ancak F1-F2 ve F3-F4 grupları arasında AST/ALT oranı açısından fark saptanmamıştır.
- 5) Bu çalışma kapsamında değerlendirilen antropometrik ölçümlere ait değişkenlerin hiçbiri için fibrozis evrelerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

- 6) MMP-1, AST/ALT oranı ve toplam metabolik sendrom puanı değişkenlerinin dahil edilmesiyle elde edilen yeni skor, hem fibrozis evresi ≥ 2 olan hastaları diğer noninvaziv testler ve MRE'ye göre daha yüksek bir tanısal doğruluk oranıyla saptayabilmekte(AUROC 0.88, %95 GA 0.79 – 0.97), hem de ileri fibrozisi(fibrozis evresi ≥ 3) olan hastaları bu testlere yakın ve MRE'den yüksek bir tanısal doğruluk oranıyla(AUROC 0.95, %95 GA 0.90 – 1.00) tespit edebilmektedir.
- 7) Yeni skor için belirlenen 2.37 cut-off değeri ile ileri fibrozis hastalarında %100 spesifisite ve %100 pozitif prediktif değere ulaşılmıştır. Bu sonucun F3 ve F4 gruplarına daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği validasyon çalışmaları ile doğrulanması halinde, yeni skorlamada skoru > 2.37 olan hastalarda ikinci bir noninvaziv teste ya da görüntülemeye gerek kalmaksızın ileri fibrozis tanısı konulmasının mümkün olabileceği ve diagnostik algoritmalarda ilk basamakta bu yeni skora yer verilmesinin ihtimal dahilinde olabileceği düşünülmektedir. Bu sayede karaciğer biyopsisine duyulan ihtiyacın da önemli ölçüde azalabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328-57. Epub 2017/07/18.
2. Cariou B, Byrne CD, Loomba R, Sanyal AJ. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: A literature review. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2021. Epub 2021/01/20.
3. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018;15(1):11-20. Epub 2017/09/21.
4. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *Journal of hepatology*. 2019;70(3):531-44. Epub 2018/11/12.
5. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2015;13(4):643-54 e1-9; quiz e39-40. Epub 2014/04/29.
6. Nouredin M, Vipani A, Bresee C, Todo T, Kim IK, Alkhoury N, et al. NASH Leading Cause of Liver Transplant in Women: Updated Analysis of Indications For Liver Transplant and Ethnic and Gender Variances. *The American journal of gastroenterology*. 2018;113(11):1649-59. Epub 2018/06/09.
7. Davison BA, Harrison SA, Cotter G, Alkhoury N, Sanyal A, Edwards C, et al. Suboptimal reliability of liver biopsy evaluation has implications for randomized clinical trials. *Journal of hepatology*. 2020;73(6):1322-32. Epub 2020/07/02.
8. Ratzu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005;128(7):1898-906. Epub 2005/06/09.
9. Kaya E, Yilmaz Y. Non-alcoholic fatty liver disease: A growing public health problem in Turkey. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*. 2019;30(10):865-71. Epub 2019/07/02.
10. Leoni S, Tovoli F, Napoli L, Serio I, Ferri S, Bolondi L. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. *World journal of gastroenterology*. 2018;24(30):3361-73. Epub 2018/08/21.
11. Amacher DE, Chalasani N. Drug-induced hepatic steatosis. *Seminars in liver disease*. 2014;34(2):205-14. Epub 2014/06/01.
12. Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to diagnosis and staging. *Frontline gastroenterology*. 2014;5(3):211-8. Epub 2014/07/16.
13. Bedossa P. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2017;37 Suppl 1:85-9. Epub 2017/01/05.
14. 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*. 2005;41(6):1313-21. Epub 2005/05/26.

15. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism: clinical and experimental*. 2019;92:82-97. Epub 2018/12/07.
16. Birkenfeld AL, Shulman GI. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes. *Hepatology*. 2014;59(2):713-23. Epub 2013/08/10.
17. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology*. 2019;71(4):793-801. Epub 2019/07/08.
18. Stepanova M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome are independent predictors of mortality in patients with chronic liver disease: a population-based study. *Gut*. 2010;59(10):1410-5. Epub 2010/07/28.
19. Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, Mizuta T, Ono N, Fujimoto K, et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *Journal of gastroenterology*. 2012;47(5):586-95. Epub 2012/02/14.
20. Younes R, Bugianesi E. NASH in Lean Individuals. *Seminars in liver disease*. 2019;39(1):86-95. Epub 2019/01/18.
21. Chrysavgis L, Ztriva E, Protopapas A, Tziomalos K, Cholongitas E. Nonalcoholic fatty liver disease in lean subjects: Prognosis, outcomes and management. *World journal of gastroenterology*. 2020;26(42):6514-28. Epub 2020/12/04.
22. Calzadilla Bertot L, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(5). Epub 2016/05/24.
23. Ekstedt M, Nasr P, Kechagias S. Natural History of NAFLD/NASH. *Current hepatology reports*. 2017;16(4):391-7. Epub 2017/01/01.
24. Hagstrom H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stal P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *Journal of hepatology*. 2017;67(6):1265-73. Epub 2017/08/15.
25. Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547-54. Epub 2014/08/16.
26. Wree A, Broderick L, Canbay A, Hoffman HM, Feldstein AE. From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2013;10(11):627-36. Epub 2013/08/21.
27. Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *The New England journal of medicine*. 2017;377(21):2063-72. Epub 2017/11/23.
28. Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology*. 2015;62(6):1723-30. Epub 2015/08/15.
29. Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology*. 2010;51(5):1820-32. Epub 2010/05/01.
30. Ertle J, Dechene A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *International journal of cancer*. 2011;128(10):2436-43. Epub 2010/12/04.
31. Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2013;10(6):330-44. Epub 2013/03/20.

32. Targher G, Chonchol M, Miele L, Zoppini G, Pichiri I, Muggeo M. Nonalcoholic fatty liver disease as a contributor to hypercoagulation and thrombophilia in the metabolic syndrome. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2009;35(3):277-87. Epub 2009/05/20.
33. Sung KC, Wild SH, Kwag HJ, Byrne CD. Fatty liver, insulin resistance, and features of metabolic syndrome: relationships with coronary artery calcium in 10,153 people. *Diabetes care*. 2012;35(11):2359-64. Epub 2012/07/26.
34. Goland S, Shimoni S, Zornitzki T, Knobler H, Azoulay O, Lutaty G, et al. Cardiac abnormalities as a new manifestation of nonalcoholic fatty liver disease: echocardiographic and tissue Doppler imaging assessment. *Journal of clinical gastroenterology*. 2006;40(10):949-55. Epub 2006/10/26.
35. Hallsworth K, Hollingsworth KG, Thoma C, Jakovljevic D, MacGowan GA, Anstee QM, et al. Cardiac structure and function are altered in adults with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2013;58(4):757-62. Epub 2012/11/28.
36. Lin B, Ma Y, Wu S, Liu Y, Liu L, Wu L. Novel Serum Biomarkers for Noninvasive Diagnosis and Screening of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Related Hepatic Fibrosis. *Omics : a journal of integrative biology*. 2019;23(4):181-9. Epub 2019/04/02.
37. Naveau S, Poynard T, Benattar C, Bedossa P, Chaput JC. Alpha-2-macroglobulin and hepatic fibrosis. Diagnostic interest. *Digestive diseases and sciences*. 1994;39(11):2426-32. Epub 1994/11/01.
38. Kawser CA, Iredale JP, Winwood PJ, Arthur MJ. Rat hepatic stellate cell expression of alpha2-macroglobulin is a feature of cellular activation: implications for matrix remodelling in hepatic fibrosis. *Clinical science*. 1998;95(2):179-86. Epub 1998/07/29.
39. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D, et al. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comparative hepatology*. 2004;3(1):8. Epub 2004/09/25.
40. Becker L, Salameh W, Sferruzza A, Zhang K, ng Chen R, Malik R, et al. Validation of hepascore, compared with simple indices of fibrosis, in patients with chronic hepatitis C virus infection in United States. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2009;7(6):696-701. Epub 2009/06/11.
41. Zaman A, Rosen HR, Ingram K, Corless CL, Oh E, Smith K. Assessment of FIBROSpect II to detect hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients. *The American journal of medicine*. 2007;120(3):280 e9-14. Epub 2007/03/14.
42. Cales P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005;42(6):1373-81. Epub 2005/12/01.
43. Harrison SA, Ratziu V, Boursier J, Francque S, Bedossa P, Majd Z, et al. A blood-based biomarker panel (NIS4) for non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis: a prospective derivation and global validation study. *The lancet Gastroenterology & hepatology*. 2020;5(11):970-85. Epub 2020/08/09.
44. McGary CT, Raja RH, Weigel PH. Endocytosis of hyaluronic acid by rat liver endothelial cells. Evidence for receptor recycling. *The Biochemical journal*. 1989;257(3):875-84. Epub 1989/02/01.
45. Rostami S, Parsian H. Hyaluronic Acid: from biochemical characteristics to its clinical translation in assessment of liver fibrosis. *Hepatitis monthly*. 2013;13(12):e13787. Epub 2014/01/10.
46. Rossi E, Adams LA, Bulsara M, Jeffrey GP. Assessing liver fibrosis with serum marker models. *The Clinical biochemist Reviews*. 2007;28(1):3-10. Epub 2007/07/03.

47. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Deydier R, Renou C, Botta-Fridlund D, et al. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. *Comparative hepatology*. 2005;4:6. Epub 2005/07/13.
48. Babaei Z, Parsian H. Hyaluronic acid algorithm-based models for assessment of liver fibrosis: translation from basic science to clinical application. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBDP INT*. 2016;15(2):131-40. Epub 2016/03/30.
49. Patel PJ, Connoley D, Rhodes F, Srivastava A, Rosenberg W. A review of the clinical utility of the Enhanced Liver Fibrosis test in multiple aetiologies of chronic liver disease. *Annals of clinical biochemistry*. 2020;57(1):36-43. Epub 2019/09/19.
50. Oram JF. ATP-binding cassette transporter A1 and cholesterol trafficking. *Current opinion in lipidology*. 2002;13(4):373-81. Epub 2002/08/02.
51. Liu W, Qin L, Yu H, Lv F, Wang Y. Apolipoprotein A-I and adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1 expression alleviates lipid accumulation in hepatocytes. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2014;29(3):614-22. Epub 2013/11/14.
52. Ma D, Liu W, Wang Y. ApoA-I or ABCA1 expression suppresses fatty acid synthesis by reducing 27-hydroxycholesterol levels. *Biochimie*. 2014;103:101-8. Epub 2014/05/06.
53. Rossi E, Adams L, Prins A, Bulsara M, de Boer B, Garas G, et al. Validation of the FibroTest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clinical chemistry*. 2003;49(3):450-4. Epub 2003/02/26.
54. Bedossa P, Poynard T, Abella A, Aubert A, Pignon JP, Naveau S, et al. Apolipoprotein AI is a serum and tissue marker of liver fibrosis in alcoholic patients. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 1989;13(6):829-33. Epub 1989/12/01.
55. Ratzu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, et al. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC gastroenterology*. 2006;6:6. Epub 2006/03/01.
56. Naim A, Pan Q, Baig MS. Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Liver Diseases. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2017;7(4):367-72. Epub 2017/12/14.
57. Iimuro Y, Nishio T, Morimoto T, Nitta T, Stefanovic B, Choi SK, et al. Delivery of matrix metalloproteinase-1 attenuates established liver fibrosis in the rat. *Gastroenterology*. 2003;124(2):445-58. Epub 2003/01/31.
58. Roderfeld M. Matrix metalloproteinase functions in hepatic injury and fibrosis. *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*. 2018;68-69:452-62. Epub 2017/12/10.
59. Yokomori H, Oda M, Ando W, Inagaki Y, Okazaki I. Hepatic progenitor cell expansion in early-stage nonalcoholic steatohepatitis: evidence from immunohistochemistry and immunoelectron microscopy of matrix metalloproteinase-1. *Medical molecular morphology*. 2017;50(4):238-42. Epub 2017/06/04.
60. Ando W, Yokomori H, Tsutsui N, Yamanouchi E, Suzuki Y, Oda M, et al. Serum matrix metalloproteinase-1 level represents disease activity as opposed to fibrosis in patients with histologically proven nonalcoholic steatohepatitis. *Clinical and molecular hepatology*. 2018;24(1):61-76. Epub 2017/11/21.
61. Folseraas T, Karlsen TH. To MMP or not to MMP: a role for matrix metalloproteinase 3 in primary sclerosing cholangitis? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2011;31(6):751-4. Epub 2011/06/08.
62. Geervliet E, Bansal R. Matrix Metalloproteinases as Potential Biomarkers and Therapeutic Targets in Liver Diseases. *Cells*. 2020;9(5). Epub 2020/05/18.

63. Wong VW, Adams LA, de Ledinghen V, Wong GL, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018;15(8):461-78. Epub 2018/05/31.
64. Hemmann S, Graf J, Roderfeld M, Roeb E. Expression of MMPs and TIMPs in liver fibrosis - a systematic review with special emphasis on anti-fibrotic strategies. *Journal of hepatology*. 2007;46(5):955-75. Epub 2007/03/27.
65. Abdelaziz R, Elbasel M, Esmat S, Essam K, Abdelaaty S. Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 and 2 and Obesity Related Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Is There a Relationship. *Digestion*. 2015;92(3):130-7. Epub 2015/09/04.
66. Li YW, Zhu CL, Gao RT, Pan JH. [Determination and clinical significance of tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in serum of children with nonalcoholic fatty liver disease]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics*. 2010;12(6):455-8. Epub 2010/06/15.
67. Koivisto H, Hietala J, Niemela O. An inverse relationship between markers of fibrogenesis and collagen degradation in patients with or without alcoholic liver disease. *The American journal of gastroenterology*. 2007;102(4):773-9. Epub 2007/01/16.
68. Tanwar S, Trembling PM, Guha IN, Parkes J, Kaye P, Burt AD, et al. Validation of terminal peptide of procollagen III for the detection and assessment of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2013;57(1):103-11. Epub 2012/08/30.
69. Ajmera V, Loomba R. Imaging biomarkers of NAFLD, NASH, and fibrosis. *Molecular metabolism*. 2021:101167. Epub 2021/01/19.
70. Stine JG, Munaganuru N, Barnard A, Wang JL, Kaulback K, Argo CK, et al. Change in MRI-PDFF and Histologic Response in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2020. Epub 2020/09/04.
71. Park CC, Nguyen P, Hernandez C, Bettencourt R, Ramirez K, Fortney L, et al. Magnetic Resonance Elastography vs Transient Elastography in Detection of Fibrosis and Noninvasive Measurement of Steatosis in Patients With Biopsy-Proven Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2017;152(3):598-607 e2. Epub 2016/12/03.
72. Musso G, Cassader M, Rosina F, Gambino R. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia*. 2012;55(4):885-904. Epub 2012/01/27.
73. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367-78 e5; quiz e14-5. Epub 2015/04/14.
74. Mantovani A, Dalbeni A. Treatments for NAFLD: State of Art. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(5). Epub 2021/03/04.
75. Vuppalanchi R, Noureddin M, Alkhoury N, Sanyal AJ. Therapeutic pipeline in nonalcoholic steatohepatitis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2021. Epub 2021/02/12.
76. Adams LA, Chan WK. Noninvasive Tests in the Assessment of NASH and NAFLD Fibrosis: Now and Into the Future. *Seminars in liver disease*. 2020;40(4):331-8. Epub 2020/06/12.
77. Loomba R, Jain A, Diehl AM, Guy CD, Portenier D, Sudan R, et al. Validation of Serum Test for Advanced Liver Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis.

- Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2019;17(9):1867-76 e3. Epub 2018/11/19.
78. Hoodeshenas S, Yin M, Venkatesh SK. Magnetic Resonance Elastography of Liver: Current Update. Topics in magnetic resonance imaging : TMRI. 2018;27(5):319-33. Epub 2018/10/06.
79. Leroy V, Monier F, Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. The American journal of gastroenterology. 2004;99(2):271-9. Epub 2004/03/30.