



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI VE NON-ALKOLİK
STEATOHEPATİTİS'DE OKSİDATİF STRES ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yüstra ÇİFTÇİ

Antalya, 2022



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI VE NON-ALKOLİK
STEATOHEPATİTİS'DE OKSİDATİF STRES ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yüstra ÇİFTÇİ

Tez Danışmanı: Doü. Haydar ADANIR

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2022

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında; tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mustafa Ender TERZİOĞLU olmak üzere bütün değerli öğretim üyelerine,

Tezimi hazırlamamda büyük desteğini aldığım, tez sürecinin her aşamasında sabırla ve nezaketle ilgilenen, saygıdeğer tez hocam Sayın Doç. Haydar ADANIR'a,

İhtisas sürem boyunca hemen her konuda ve tez sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesi ile örnek aldığım Sayın Prof. Dr. Bülent YILDIRIM'a

Hayatımın her döneminde yanımda olan, sevgi ve sabırlarını hiçbir zaman esirgemeyen aileme,

Yaşamı boyunca hekimliğe olan büyük saygı ve hayranlığı ile hekim olmamda destek olan, yanımda olan ve hayatta olmayan babama,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı	4
2.1.1 Tanımlama	4
2.1.2 Epidemiyoloji	4
2.1.3 Risk Faktörleri	5
2.1.4 Patofizyoloji	6
2.1.4.1 Lipotoksisite	7
2.1.4.2 İnsülin Direnci	7
2.1.4.3 Mitokondri Fonksiyon Bozukluğu.....	8
2.1.4.4 Oksidatif Stres	9
2.1.4.5 Bağırsak-Karaciğer Aksı.....	10
2.1.4.6 Demir	11
2.1.4.7 Diyet	12
2.1.4.8 Genetik ve Epigenetik.....	13
2.1.4.9 Adipokin Disregülasyonu	13
2.1.5 Tanı.....	14
2.1.5.1 Semptom ve Bulgular	14
2.1.5.2 Ultrasonografi	15
2.1.5.3 Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG).....	16
2.1.5.4 Bilgisayarlı Tomografi (BT)	16
2.1.5.5 Elastografi	16
2.1.5.6 Karaciğer Biyopsisi.....	17
2.1.6 Prognoz	17
2.1.7 Tedavi	17
2.1.7.1 Kilo kaybı, Diyet ve Yaşam Tarzı Değişikliği.....	18
2.1.7.2 İnsülin Direncine Yönelik Tedavi	18

2.1.7.2.1 Tiazolidindionlar	18
2.1.7.2.2 Metformin	19
2.1.7.3 Lipit Düşürücü Tedavi	19
2.1.7.4 Ursadeoksikolik Asit	20
2.1.7.5 E Vitamini	20
2.1.7.6 Diğer Tedaviler	20
2.1.7.6.1 Probiyotikler	20
2.1.7.6.2 Anti-Fibrotik Ajanlar	20
2.1.7.6.3 Demir Yükünün Azaltılması	21
2.1.7.6.4 Karaciğer Nakli	21
2.2 Serbest Radikaller	21
2.2.1 Reaktif Oksijen Türevleri (ROT)	21
2.2.1.1 Süperoksit Radikalleri (O_2^-)	22
2.2.1.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	22
2.2.1.3 Hidroksil Radikalleri ($OH^\cdot$)	22
2.2.1.4 Hipokloröz Asit (HOCl)	23
2.2.2 Reaktif Nitrojen Türevleri (RNT)	23
2.2.3 Reaktif Sülfür Türevleri (RST)	23
2.2.4 Serbest Radikal Oluşum Kaynakları	24
2.2.5 Serbest Radikallerin Etkileri	24
2.2.5.1 Lipit Oksidasyonu	24
2.2.5.2 Protein Oksidasyonu	26
2.2.5.3 DNA ve RNA Oksidasyonu	26
2.2.5.4 Karbonhidratlara Etkisi	26
2.2.6 Antioksidan Savunma	27
2.2.6.1 Enzimatik Anti-oksidanlar	27
2.2.6.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)	27
2.2.6.1.2 Katalaz (KAT)	27
2.2.6.1.3 Glutasyon Peroksidaz (GSH-PX)	27
2.2.6.1.4 Miyeloperoksidaz (MPO)	28
2.2.6.2 Enzimatik Olmayan Anti-oksidanlar	28
2.2.6.2.1 Vitamin C (Askorbik Asit)	28
2.2.6.2.2 Vitamin E	28

2.2.6.2.3 Glutasyon (GSH).....	28
2.2.6.2.4 Karotenoidler	29
2.2.6.2.5 Selenyum.....	29
2.2.6.2.6 Diğer Antioksidanlar[22]	29
2.2.7 Total Oksidan Status (TOS) ve Total Antioksidan Status (TAS)	30
2.2.8 Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1 Çalışma Protokolü.....	31
3.1.1 Hasta Alım ve Dışlama Kriterleri	31
3.2 Yöntem.....	32
3.2.1 NAYKH ve NASH tanısı.....	32
3.2.2 Antropometrik Ölçümler	32
3.2.3 Biyokimyasal Ölçümler	32
3.3 İstatistiksel Değerlendirmeler	34
4.BULGULAR.....	35
5.TARTIŞMA	44
6.SONUÇ	50
7.ÖZET	51
8.SUMMARY.....	53
9. KAYNAKLAR	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

8-OHdG	8-hidroksideoksiguanozin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin transaminoferaz
AST	Aspartat transaminoferaz
BMI	Body mass index
BT	Bilgisayarlı tomografi
DM	Diyabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EİYS	Edinsel immün yetmezlik sendromu
Ek-SOD	Ekstrasellüler SOD
GGT	Gamma glutamil-transferaz
GSH	Glutasyon
GSH-PX	Glutasyon peroksidaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HNE	4-hidroksi-2-nonenal
HOCl	Hipokloröz asit
HSK	Hepatosellüler karsinom
İD	İnsülin direnci
İHTG	İntrahepatik trigliserid
IL-1β	İnterlökin-1 β

IL-6	Interlökin 6
KAT	Katalaz
LOX	Lipoksijenaz
MDA	Malondialtehit
Mn-SOD	Mitokondriyal SOD
MPO	Miyeloperoksidaz
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease
NASH	Non-alkolik steatohepatit
NAYKH	Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı
NF-kβ	Nükleer faktör kappab
NO	Nitrik oksit
O₂-	Süperoksit anyonu
OH$\cdot$	Hidroksil
OS	Oksidatif stres
OSI	Oxidative stress index
OSİ	Oksidatif stres indeksi
R-OO$\cdot$	Peroksil
R-OOH	Hidroperoksil
RNA	Ribo nükleik asit
RNT	Reaktif nitrojen türevleri
ROT	Reaktif oksijen türevleri

RST	Reaktif sülfür türevleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Total antioksidan status
TBA	Tiyobarbitürik asit
Tip2DM	Tip 2 Diyabetes Mellitus
TNF-α	Tümör nekroz faktörü- α
TOS	Total oksidan status
USG	Ultrasonografi
VKİ	Vücut kitle indeksi

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>		<u>Sayfa</u>
2.1.	Metabolik sendrom risk faktörleri	6
4.1.	NAYKH ve NASH gruplarının demografik verileri	35
4.2.	NAYKH ve NASH gruplarının biyokimyasal verileri	36
4.3.	NAYKH ve NASH gruplarının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri	37
4.4.	Karaciğer yağlanma derecesine göre demografik veriler	38
4.5.	Karaciğer yağlanma derecesine göre biyokimyasal veriler	39
4.6.	Karaciğer yağlanma derecesine göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri	41
4.7.	MDA'nın trigliserit düzeyi ile korelasyonu	41
4.8.	ALT/AST oranının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri ile korelasyonu	42
4.9.	Diyabetes Mellitus durumuna göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
4.1.	NAYKH ve NASH gruplarının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri	37
4.2.	Karaciğer yağlanma derecelerine göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri	40
4.3.	MDA'nın trigliserit düzeyi ile korelasyonu	41
4.4.	ALT/AST oranının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri ile korelasyonu	42

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) aşırı alkol tüketimi olmadan özellikle Tip 2 Diyabetes Mellitus (Tip2DM) ve obezite ile ilişkili olarak karaciğerde yağ birikimini ifade eder. NAYKH basit steatozdan, hafif inflamasyon ya da karaciğer nekrozu gibi çok çeşitli patolojik bulguları kapsayan bir tanımlamadır [1]. Non-alkolik steatohepatit (NASH) ise hepatositlerde aşırı trigliserit birikimi (steatoz), inflamasyon, hasarlanma ve apoptozisin görüldüğü, NAYKH' nın ilerlemiş ciddi olan formudur [2]. Basit yağlanmanın prognozu iyi olmasına karşın NASH siroza ilerleyebilmekte ve hepatosellüler karsinom (HSK) gelişebilmektedir. Ayrıca NASH görülen hastalarda kardiyovasküler mortalite oranı artmıştır [3].

NAYKH'na neden olan mekanizmalar halen net değildir [4]. 'Çoklu paralel darbe' modeline göre NAYKH'nın patofizyolojisi ve gelişiminde birçok neden rol oynamaktadır ve bu modele göre çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi söz konusudur. Bu faktörler; genetik polimorfizm, epigenetik değişimler, insülin direnci (İD), diyet, fiziksel aktivite azlığı, obezite, adipokin disregülasyonu, lipotoksiste, oksidatif stres (OS), bağırsak florasının bozulması ve endokrin bozuklardan meydana gelmektedir [5].

NASH gelişiminde sıklıkla yağ birikimine dışında ek etiyolojik faktörler bulunmaktadır [6]. Yapılan birçok çalışma NAYKH'nın NASH'e ilerlemesinde OS' in önemli olduğunu göstermiştir [7]. Aşırı miktarda reaktif oksijen türevleri (ROT) üretimi ve oluşan lipit peroksidasyonu, azalmış mitokondriyal ve peroksizomal lipit oksidasyonu ve sitokin salınımına neden olarak inflamasyona, satelit hücrelerinin aktivasyonuna ve fibrozise neden olmaktadır [8].

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren kimyasal bileşiklerdir [9]. Serbest radikaller eşleşmemiş elektron bulundurması nedeniyle oldukça instabil ve son derece reaktiftir; başka maddeler ile tepkimeye girerek kendilerini nötralize etme eğilimindedir ve oksidasyona neden olur [10, 11].

ROT, reaktif nitrojen türevleri (RNT) ve reaktif sülfür türevleri (RST) vücutta oluşan üç ana oksidan grubudur [11].

Serbest radikal olan süperoksit (O_2^-) ve hidroksil ($OH^\cdot$) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipokloröz asit ($HOCl$) ROT' ni oluşturan ana oksidanlardır. ROT fizyolojik ve patofizyolojik mekanizmalarda önemli rol oynamaktadır [12]. Yüksek konsantrasyonlarda ROT proteinlerle, lipitlerle, nükleik asitlerle ve karbonhidratlarla tepkimeye girerek hücrelerde sıklıkla geri dönüşümsüz olan fonksiyonel değişimlere ya da hasara neden olmaktadır [13].

Hücre ya da organel membranları çoklu doymamış yağ asitleri içermesi nedeniyle oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Serbest radikaller lipitlerden elektron uzaklaştırarak daha ileri tepkimeleri başlatan reaktif ara ürün oluşumuna neden olur ve bu durum lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır [14]. Lipit peroksidasyon zincir reaksiyonları sonucunda biyolojik aktiviteleri yüksek ürünler açığa çıkar [15]. Ortaya çıkan bu ürünler deoksiribo nükleik asit (DNA), proteinler ve enzimlere zarar vermekte; aynı zamanda hücre ölümünü başlatan sinyal yollarının aktivasyonuna neden olmaktadır [16]. Malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-20-nonenal (HNE) lipit peroksidasyonu sonucu oluşan esas aldehytlerdir [17]. MDA, HNE ve isoprostanlar ölçümleri yapılabilen lipit peroksidasyon ürünleridir [18].

Hücre ve dokuları normal metabolik süreçler sırasında açığa çıkan oksidanlara karşı koruyan enzimatik ve enzimatik olmayan anti-oksidanlar mevcuttur [19]. Enzimatik antioksidanlar içerisinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), miyeloperoksidaz (MPO) bulunmaktadır [20, 21]. Non-enzimatik antioksidanlar içerisinde Vitamin C (Askorbik asit), Vitamin E, Glutatyon (GSH), karotenoidler, selenyum, albümin, seruloplazmin, laktoferrin, transferrin, adenozin, lipoik asit, haptoglobülin, ferritin, mannitol, sistein, asetilsistein, histidin, yüksek dansiteli lipoprotein, ürik asit, bilirübin, ubikinon, polifenoller, melatonin, allopürinol, hemopeksin ve sitokinler bulunmaktadır [20, 22].

OS; kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, inflamatuvar hastalıklar, otoimmün hastalıklar, diyabet gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır [13, 23, 24].

Bu çalışmamızda basit yağlanma ve NASH'te oksidan ve antioksidan düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Böylelikle basit yağlanmadan NASH'e geçişte oksidatif stresin rolü değerlendirilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

2.1.1 Tanımlama

NAYKH, metabolik risk faktörleri ile ilişkili olarak (özellikle obezite ve Tip2DM), aşırı alkol tüketimi (erkeklerde >30 g/gün, kadınlarda >20 g/gün), kronik karaciğer hastalığı ve diğer sekonder nedenler (ilaç, herediter hastalıklar) olmaksızın hepatositlerin %5'inden daha fazlasında yağ birikimidir [1, 25].

NASH ise siroz ve karaciğer kanserine ilerleyebilen; hepatositlerde yoğun trigliserid birikimi (steatoz), inflamasyon, hasarlanma ve apoptozun görüldüğü; NAYKH'nın daha ciddi, ilerlemiş olan formudur. NASH; siroz ve HSK gelişme riski ve sık görülmesi nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir [2]. NAYKH olan bireylerin yaklaşık 1/3'ünde NASH gelişmektedir [26].

Son yıllarda NAYKH için, metabolik fonksiyon bozukluğu ile ilişkili karaciğer hastalıkları için daha uygun bir tanım olması nedeniyle 'Metabolik Disfonksiyon İlişkili Yağlı Karaciğer Hastalığı' olarak bir isimlendirme önerilse de henüz tüm dünyada kabul görmemektedir [25].

2.1.2 Epidemiyoloji

NAYKH tüm dünyada kronik karaciğer hastalığının en yaygın nedenlerinden biri olmakla beraber karaciğer ilişkili morbidite ve mortalitenin majör nedenidir [27].

NAYKH'nın prevalansı obezite ile artmakta; ülkelere ve etnik kökene göre değişkenlik göstermektedir. Tüm dünyada genel popülasyonda ortalama %25, çocuklarda %10 oranında görüldüğü tahmin edilmekle beraber; Tip2DM hastalarında bu oran %55,5'e kadar çıkabilmektedir [28, 29]. NASH görülme oranı ise %3-5 arasında olduğu tahmin edilmektedir [30]. Hispaniklerde (%45), Kafkasyalılar (%10-%33) ve Afrikan Amerikalılar (%24)'a göre daha sık görülmekte; ve bunun nedeni muhtemelen bu etnik grupta obezite ve İD'nin

prevalansının daha yüksek olmasından ve genetik faktörlerden kaynaklanmaktadır [31].

NAYKH erkeklerde daha sık görülmekte ve hastalık prevalansı yaşla beraber artmaktadır. Bununla beraber; NAYKH obez çocuk ve adolesanlarda da ortaya çıkabilmekte ve bu kişilerde siroza ilerleme, HSK gelişimi, nakil ihtiyacı ve mortalite oranı yetişkinlere göre daha sık görülmektedir [32].

Çocuklarda görülen obezite NAYKH için önemli bir risk faktörü olmakla beraber sayısı giderek artmaktadır; Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 2-5 yaş arası çocuklarda obezite oranı 2011-2012'de %8,4 iken, 2015-2016'da %13,9'a yükselmiştir [1].

NAYKH olan bireylerde %4-8 oranında siroz komplikasyonlarına, %1-5 oranında HSK'e bağlı ölüm görülmektedir [33].

Epidemiyolojik veriler son 20 yılda batı ülkelerinde artan HSK insidansının, NAYKH prevalansının artışının kısmen etkili olduğunu göstermektedir [34]. HSK nedeniyle karaciğer nakli olan kişilerde %13,5 oranında NAYKH ilişkili HSK görülmektedir [35].

2.1.3 Risk Faktörleri

NAYKH, genetik ve çevresel risk faktörlerinden kaynaklanan kompleks bir hastalıktır [32]. Yapılan çalışmalar NAYKH'na sahip bireylerin birinci derece akrabalarında hastalık gelişme riskinin genel popülasyona göre artmış olduğunu göstermiştir [36]. Özellikle PNPLA3 rs738409 polimorfizmi olmak üzere genetik faktörler NAYKH'nın gelişiminde önemlidir [37]. NAYKH erkeklerde daha sık görülmekte ve yaşla beraber hastalık prevalansı artmaktadır [32].

Obezite, NAYKH için en önemli risk faktörüdür [28] ve NAYKH'na sahip bireylerin yaklaşık %80'inde obezite görülmektedir (vücut kitle indeksi (VKİ) >30) [38].

Metabolik sendrom ve NAYKH arasında kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır [39]. Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık riskini artıran etkenlerden meydana

gelmekte ve bu etkenleri de; santral obezite, artmış kan basıncı, dislipidemi (kanda artmış trigliserid ve LDL düzeyi ve azalmış HDL düzeyi), hiperglisemi ve İD gibi metabolik bozukluklar oluşturmaktadır [39].

Tablo 2.1. Metabolik sendrom risk faktörleri [32]

Risk Faktörleri	Eşik Değer
Santral Obezite	Bel çevresi erkeklerde >102 cm, kadınlarda >88 cm
Hipertrigliseridemi	>1,7 mmol/L ya da tedavi altındakiler
Azalmış HDL düzeyleri	Erkeklerde <1 mmol/l, kadınlarda<1,3 mmol/L
Hipertansiyon	Sistolik kan basıncı> 130 ya da Diyastolik kan basıncı>85 ya da tedavi alanlar
Bozulmuş Açlık Glukozu	Açlık glikozu>5,5 mmol/l ya da tedavi alanlar

Tip2DM NAYKH gelişiminde önemli bir risk faktörüdür ve Tip2DM bulunan bireylerin %50'den fazlasında NAYKH görülmektedir [28].

Sigara, hava kirliliği, früktoz/yağ bakımından zengin diyet gibi çevresel risk faktörleri NAYKH sıklığını artırmaktadır [28].

NASH olan bireylerde fibrozis görülme riski Tip2DM, kilo alımı, hipertansiyon ve genetik polimorfizm ile artmaktadır [40].

2.1.4 Patofizyoloji

NAYKH'na neden olan mekanizmalar halen net değildir. Bir çok mekanizma öne sürülmekle birlikte İD, hem NAYKH hem de Tip2DM'nin patogenezinde en önemli neden olarak görünmektedir [4].

'Çoklu paralel darbe' modeline göre NAYKH'nın patofizyolojisi ve gelişiminde birçok neden rol oynamaktadır ve bu modele göre çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi söz konusudur. Bu faktörler; genetik polimorfizm, epigenetik değişimler, İD, diyet, fiziksel aktivite azlığı, obezite, adipokin disregülasyonu,

lipotoksisite, OS, bağırsak florasının bozulması ve endokrin bozuklardan meydana gelmektedir [5].

2.1.4.1 Lipotoksisite

NAYKH, hepatositlerde %5'ten daha fazla yağ birikimi(steatoz) olarak tanımlanmaktadır [25]. İntrahepatik lipit birikimi; karaciğerde de novo lipogenez ile hepatik yağ asidi sentezinin ve karaciğere gelen yağ asitlerinin artması ve/veya lipit klirensisin sekresyon ve oksidasyonla azalması ve VLDL sentezinin artması sonucunda meydana gelmektedir [41, 42]. Birçok çalışma, özellikle de novo lipogenez artışının NAYKH'nda ortaya çıkan önemli bir bozukluk olduğunu göstermektedir [41]. Dolaşımdaki yağların büyük kısmını oluşturan serbest yağ asitlerinin adipoz dokudan salınımının artması, başta trigliserid hidrolizi olmak üzere artmış lipoliz sonucu meydana gelmektedir. Obez NAYKH olan hastalarda adipoz dokunun lipolizi artmıştır [43].

İntrahepatik trigliserid (İHTG) oranı ve VLDL-trigliserid sekresyonu birbirine paraleldir [44]. Normal düzeylerde İHTG varlığında (%5'e kadar) İHTG artışı ile VDRL-trigliserid eksportu da artmakta ancak steatoz varlığında İHTG düzeyinden bağımsız olarak plato çizmektedir [44].

Lipit metabolizmasındaki bu değişimler inflamasyon ve OS oluşumunu tetiklemekte; bununla beraber sinyal yollarını etkileyen adipokinlerin (leptin, adiponektin, resistin, visfatin, retinol bağlayıcı protein 4 gibi) üretimini artırmaktadır [42].

2.1.4.2 İnsülin Direnci

İD NAYKH ve NASH gelişiminde kilit rol oynayan faktörlerden bir tanesidir ve hepatik de novo lipogenesis artışına, adipoz doku lipolizinde azalmış inhibisyona ve bunların sonucunda da serbest yağ asitlerinin karaciğere girişinde artışa yol açar [45].

Yetişkinler ve adolesanlar üzerinde yapılan bazı büyük kohort çalışmaları İD'nin karaciğerde yağ birikiminin başlıca nedeni olduğunu göstermektedir [46]. Ancak buna rağmen İD ve hepatik steatoz arasındaki ilişki halen tartışmalıdır çünkü İD'nin

karaciğer yağlanması neden olan bir risk faktörü mü yoksa karaciğer yağlanmasının sonucu mu olduğu halen bilinmemektedir [46]. Bir meta-analiz çalışmasında karaciğer yağlanması olanlarda Tip2DM riskinin karaciğer yağlanması olmayanlara göre 2 kat artmış olduğu ve bu riskin NASH hastalarında en yüksek oranda olduğu gösterilmiştir [47].

Yağ dokusundan salgılanan adiopenektin insülin duyarlılığını artırmaktadır[48]. Adiponektin ilişkili sinyal yolları yağ asidi oksidasyonu, glikoz kullanımı ve serbest yağ asidi sentezinin supresyonunu sağlar. NAYKH'nda serum adiponektin seviyeleri NAYKH olmayanlara göre azalmıştır [48].

NAYKH ve serbest yağ asitleri arasındaki ilişki tartışmalıdır. Yapılan bir kesitsel çalışma, karaciğer yağlanması olanlarda serum serbest yağ asitlerinin karaciğer yağlanması olmayanlara göre önemli derecede arttığını göstermiştir [49]. İnsülin aracılı lipoliz supresyonunun azalmış olması serum serbest yağ asitlerinin miktarını artırmaktadır [48].

Steatozda NF- κ B (nükleer faktör kappaB) transkripsiyonu artmıştır ve NF- κ B aktivasyonu tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 β (IL-1 β) gibi pro-inflamatuar mediatörlerin artmasına neden olmaktadır [4]. Bu sitokinler, Kupffer hücrelerinin (hepatik makrofajlar) sayısını ve aktivasyonun artırmakta ve inflamasyon gelişimine neden olmaktadır [4]. Aynı zamanda TNF- α ve IL-6 seviyelerinin artışı SOCS3 (sitokin sinyal supresörü) up-regülasyonuna neden olarak hepatik İD'nin oluşmasına yol açmaktadır [4].

2.1.4.3 Mitokondri Fonksiyon Bozukluğu

Karaciğer parankim hücrelerinde bol miktarda bulunan ve sellüler enerjinin büyük kısmının üretimini sağlayan mitokondri lipid metabolizmasından primer sorumlu organeldir. Mitokondri, aynı zamanda ROT' nin ve oksidatif programlı hücre ölümü/apoptozisi regüle eden majör bölgedir [50].

Yapısal ve fonksiyonel mitokondriyal değişikliklerin NAYKH patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir [51]. NAYKH'nda görülen metabolik bozukluklar mitokondriyal disfonksiyona neden olmaktadır [50]. Mitokondride görülen yapısal

değişiklikler içerisinde morfolojik değişimler, ultra strüktürel lezyonlar ve mitokondriyal DNA'nın azalması bulunurken; fonksiyonel değişikliklerin içerisinde mitokondriyal β -oksidasyon ve solunum zincirinin aktifleşmesi bulunmaktadır [51].

NAYKH'nda yağ birikimini engellemeye yönelik birçok adaptasyon mekanizması gelişir. Bu adaptasyon mekanizmalarından özellikle mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunun artması önemli bir rol oynamakla beraber sekonder olarak OS gelişimini indüklemektedir [52].

2.1.4.4 Oksidatif Stres

OS, ROT'nin üretimi ve antioksidan sisteminin temizleme kapasitesinin dengesizliği sonucu ortaya çıkmaktadır. O_2^- radikalleri ve H_2O_2 içeren ROT, karaciğerin farklı tip hücrelerinde enerji metabolizması sonucunda yan ürün olarak ortaya çıkan ve devamlı üretilen ürünlerdir. Karaciğerde aşırı yağ birikimi ROT üreten mekanizmaları etkileyerek oksidan maddelerin aşırı üretimine neden olmaktadır [53].

Makromoleküllerin (lipit, protein, DNA vs.) oksidatif hasara uğraması sonucunda oksidatif hasarlanma ürünleri ortaya çıkmaktadır ve bu ortaya çıkan bu ürünler OS biyobelirteçleri olarak ölçülebilmektedir. MDA, lipit peroksitler, 8-isoprostane ve HNE lipitlerin oksidatif hasarlanması sonucu ortaya çıkan önemli oksidatif maddelerdir [54].

OS, özellikle inflamasyon ile ilişkili olan birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Birçok karaciğer hastalığında ROT ve RNT yüksek düzeylerde görülmekte ve hastalığın şiddeti ile artmaktadır [54].

NASH gelişiminde sıklıkla yağ birikimi dışında ek etiyolojik faktörler bulunmaktadır [6]. Yapılan birçok çalışma, NAYKH'nın NASH'e ilerlemesinde OS' in önemli olduğunu göstermiştir [7]. Aşırı miktarda ROT üretimi ve oluşan OS lipit peroksidasyonu, azalmış mitokondriyal ve peroksizomal lipit oksidasyonu ve sitokin salınımına neden olarak inflamasyona, satelit hücrelerinin aktivasyonuna ve fibrozise neden olmaktadır [8]. NAYKH'nda görülen aşırı ROT üretimi aynı

zamanda LDL oksidasyonuna yol açarak makrofajların köpük hücresine dönüşümünü indüklemekte ve aterosklerotik lezyonların oluşumunda ilk basamak olmaktadır [8]. Leghi ve ark. yaptığı bir çalışmada, NASH olan hastalarda NASH olmayan gruba göre anlamlı düzeyde SOD düzeyinin yüksek olduğunu göstermiştir [55].

NAYKH'nda SOD, KAT ve GSH gibi antioksidanların düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [8]. Irie ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada NASH olan hastalarda 8-hidroksi-deoksiguanozin düzeyinin NAYKH olan gruba göre daha yüksek olduğu, serum GSH düzeyinin daha düşük olduğu gösterilmiştir [56]. Kumar ve ark. yaptığı bir çalışmada NAYKH olan hastalarda MDA seviyesinin anlamlı düzeyde daha yüksek olduğunu gösterirken, GSH ve KAT düzeylerinin de önemli oranda daha düşük olduğunu göstermiştir [57]. Yine yapılan bir çok çalışmada resveratrol, E vitamini, L-karnitin, pentoksifilin ve lipoik asit gibi antioksidanların kullanımının lipogenez ve OS' i azaltarak karaciğer yağlanmasında teröpatik etki yarattığı gösterilmiştir [8].

2.1.4.5 Bağırsak-Karaciğer Aksı

Son yıllarda yapılan çalışmalar bağırsak-karaciğer aksındaki disfonksiyonun (intestinal disbiyozis, bakteriyel aşırı üreme, mukoza permeabilitesinin değişimi gibi) NAYKH'nda tedavi edici yaklaşımlarda hedef olabileceğini göstermiştir. İnce bağırsak lümeninden gelen besinler ve maddeler portal dolaşım aracılığıyla karaciğere ulaşır ve hepatositler tarafından üretilen safra asidi safra yolları ile ince bağırsağa gelir. Bu iki komponentin (intestinal bariyer ve bağırsak mikrobiyotası) karaciğer hasarlanması ve progresyonunda anahtar rol olabileceği görünmektedir [58]. Miele ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, NAYKH olan hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde intestinal bakteriyel aşırı üreme prevalansı ve bağırsak permeabilitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir [59]. Yine Thuy ve ark. bağırsak permeabilitesindeki artışın portal ven aracılığıyla karaciğere gelen endotoksinlerin karaciğer yağlanmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir [60].

Bağırsak mikrobiyotasının özellikle NAYKH gibi birçok hastalıkla rol oynayabileceği son yıllarda odak noktası haline gelmiştir. Varsayılan hipoteze göre

bağırsak mikrobiyatasının bileşimi ve mikrobiyatadaki değişimler karaciğer, yağ doku ve kas dokuda metabolik dengesizliğe katkıda bulunmaktadır [46]. Bağırsak mikrobiyatası karbonhidrat ve lipid metabolizmasını ve aynı zamanda karaciğerdeki pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar dengeyi etkileyerek karaciğer yağlanmasına ve karaciğer yağlanmasının NASH'e ilerlemesine neden olmaktadır [28]. Bağırsakta bulunan bazı bakteri türleri amonyak, etanol, asetaldehit gibi karaciğerde metabolize olan maddeleri üreterek karaciğerde bulunan Kupffer hücrelerinin aktivasyonuna ve inflammatuar sitokinlerin salınımına neden olur [61]. Bağırsak mikrobiyatasının değişimi aynı zamanda diyetle alınan liflerin monosakkarit, oligosakkarit ve kısa zincirli yağ asitlerine dönüşümünü artırmaktadır [62]. Hem disbiyosis (intestinal bakterilerin kalitatif ve kantitatif değişimleri) hem de intestinal bakteriyel aşırı üreme bağırsak permeabilitesinin artışına ve portal yolla endotoksinlerin karaciğere gelişinde artışına yol açarak inflammatuar sitokinlerin sinyal yollarının aktivasyonuna yol açmaktadır [63]. Boursier ve ark. yaptığı bir çalışmada NASH hastalarında ve sağlıklı bireylerde Proteobacteria ve Bacteriodes gibi bakteri türlerinin feçesteki oranının anlamlı düzeyde farklı olduğu göstermiştir [64]. Yatsunenko ve ark. ise Proteobacteria ve Bacteriodes türlerinin düzeyi ve NASH arasında ters ilişki olduğunu göstermiştir [65].

Bağırsak-karaciğer aksının NAYKH gibi birçok karaciğer hastalığının etiyolojisinde rol almasından dolayı bağırsak mikrobiyatası üzerine yapılacak tedavi rejimleri mantıklı görünmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar da probiyotik, prebiyotik, sinbiyotik gibi bağırsak florasını değiştirmeye yönelik yeni tedavi yaklaşımlarını önermekte ve etkilerini göstermektedir [62].

2.1.4.6 Demir

İD/metabolik sendrom ve demir yükü arasında kuvvetli bağlantı bulunmaktadır. Demir yükünün azalması sonucunda insülin hassasiyeti artmaktadır [66]. Wrede ve ark. yaptığı bir çalışmada IR/Diyabetes Mellitus (DM) olan bireylerde anlamlı düzeyde yüksek ferritin oranları olduğunu göstermiştir [67]. Yine Fargion ve ark.'nın yaptığı bir kohort çalışmasında ferritin yüksekliği olan hastaların %69'unda İD saptamıştır [68].

NAYKH'nda sıklıkla yüksek ferritin düzeyleri görülmektedir fakat, bu ferritin yüksekliğinin karaciğerdeki inflamasyonu mu yoksa karaciğerdeki gerçek demir düzeyini mi gösterdiği halen net değildir [69]. Ancak ferritin yüksekliği ve NAYKH'nda görülen inflamasyon ilişkili histolojik belirteçler arasında kuvvetli bağlantı bulunmaktadır [70]. Bugianesi ve ark. serum ferritin düzeyinin karaciğerdeki demir konsantrasyonu ile ilişkili olmadığını ancak, karaciğerdeki histolojik hasarın düzeyi için bir belirteç olduğunu göstermiştir [71]. Benzer şekilde Kowdler ve ark.'nın yaptığı 628 hastadan oluşan bir kohort çalışmasında serum ferritin düzeyinin normalin 1,5 kat üzerinde olması NAYKH'nda görülen ileri fibrozis ilişkilendirilmiş ve NAYKH aktivite skorunun artmış olduğu görülmüştür [72].

Karaciğerde aşırı demir birikimi NASH'te görülen OS için önemli bir neden olarak görünmektedir çünkü demir birikimi NASH'te sıklıkla görülen bir bulgu olmaktadır [71]. Bir çalışmada karaciğerdeki serbest radikal düzeyinin NASH hastalarında basit yağlanması olanlara göre artmış ve bunun karaciğerdeki demir miktarı ile ilişkili olabileceği; flebotomi ve demirden fakir diyet gibi tedaviler sonrasında ise karaciğerdeki serbest radikal miktarının azalmış olduğu gösterilmiştir [73].

2.1.4.7 Diyet

Birçok çalışma NAYKH'nın başlangıcı ve progresyonunda beslenmenin rolü olduğunu göstermektedir. Alınan enerjinin miktarından bağımsız olarak alınan besinlerin birleşimi NAYKH/NASH ile ilişkili bulunmuştur. Doymuş yağ asitleri, trans yağlar, basit şekerler (sükroz ve früktoz) ve hayvansal proteinlerin tüketimi karaciğerde trigliserid birikimi ve anti-oksidan aktivasyona neden olarak insülin duyarlılığı ve postprandiyal trigliserid metabolizmasını etkilemektedir [74, 75]. Bunun tam tersine doymamış yağ asitleri, Omega-3 ve bitkisel kaynaklı protein ve liflerin karaciğere olumlu etkileri olmaktadır [76].

Bakır, çinko, Vitamin A, C, D, E ve karotenoid düşüklüğü NAYKH'nda olumsuz bir faktör olurken, selenyum ve demir gibi elementlerin yüksekliği NAYKH'nın şiddetini artırmaktadır[77].

2.1.4.8 Genetik ve Epigenetik

NAYKH, genetik ve çevresel etmenlerin birleşimi sonucunda ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır [78]. NAYKH olan bireylerin birinci derece yakınlarında hastalığın görülme riski genel popülasyona göre oldukça artar [79].

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar NAYKH'nın NASH'e dönüşümünde etnik kökenin önemli olduğunu göstermiştir [80, 81]. ABD'nde bulunan Hispaniklerde Avrupalılara göre NAYKH daha sık ortaya çıkmakta; yine Güney Amerika ve Asya bölgesinde Afrikalılara göre hastalık prevalansında artış olduğu görülmektedir [80, 82]. Etnik kökene göre hastalık riskinin farklı olması genetik risk faktörlerinden, özellikle de PNPLA3 genindeki varyasyonlardan kaynaklanmaktadır [83]. INFL3 genindeki değişimlerin birçok karaciğer hastalığında görülen fibrozis ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [84, 85]. Yine NAYKH'nın HSK'e dönüşümünde PNPLA3, TM6SF2 ve MBOAT7 genlerinin rol oynadığı gösteren çalışmalar mevcuttur [86].

2.1.4.9 Adipokin Disregülasyonu

Adiponektin karaciğerdeki yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen adipokinlerden biridir [87]. Adiponektinin karaciğer yağlanmasını engelleyen anti-steatotik, anti-inflamatuar ve anti-fibrotik etkileri bulunur [88, 89]. Adiponektin yağ asitlerinin oksidasyonunu artırmakta ve serbest yağ asitlerinin hepatositlere girişini engellemektedir [90]. Adiponektinin aynı zamanda TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinleri suprese ettiği, interlökin-10 gibi anti-inflamatuar sitokinlerin salınımını artırdığı, sellüler apoptozisi azalttığı ve fibrojenik hepatik satelit hücrelerinin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir [90, 89].

Birçok çalışmada NAYKH'nda serum adiponektin düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir [90, 91]. Bir çalışmada, serum adiponektin düzeyi ve karaciğer fibrozis derecesi/steatohepatit arasında ters ilişki bulunmuştur [92]. Başka bir çalışmada, serum adiponektin düzeyi ile karaciğerdeki nekroinflammatuar ve fibrotik düzey ilişkilendirilmiştir [93, 94]. Başka bir çalışmada ise, serum adiponektin düzeyinin karaciğerde bulunan yağ

oranı ile ilişkili olduğu ancak nekroinflamatuvar ve fibrozis düzeyi ile bağlantılı olmadığı gösterilmiştir [93, 95].

2.1.5 Tanı

2.1.5.1 Semptom ve Bulgular

NAYKH olan hastalar karaciğer disfonksiyonu gelişene kadar sıklıkla asemptomatiktir ancak bazı hastalarda halsizlik, dispepsi, sağ üst kadranda künt ağrı, gün içerisinde uyuklama, anksiyete/depresyon gibi şikayetler olabilir [96, 97]. Metabolik risk faktörleri ve kardiyovasküler komorbidite prevalansı NAYKH'nda yüksektir ve obezite ve DM gibi yüksek riskli hasta grubunda değerlendirilmelidir [98, 99].

Klinik pratikte serum aminotransferaz yüksekliği ve metabolik sendrom için risk faktörü olması NAYKH için şüphelendirici bulgular olmakla beraber hastaların neredeyse %80' inde biyokimyasal anormallik saptanmaz [81]. Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri normal ya da ılımlı düzeyde yüksek (Normalin 1,5-2 katı) görülür ve sıklıkla AST/ALT oranı <1'dir ancak bu bulgular zayıf belirteçlerdir [100, 101]. Aynı zamanda NAYKH'nın ileri evrelerinde ve fibrozis geliştiğinde aminotransferaz düzeyleri tipik olarak düşer ve karaciğer biyokimyasal parametreleri normal olabilir [102]. Hastaların %20'sinde serum ürik asit düzeyi yüksektir. Serum ferritin düzeyi birçok hastada normalin 1,5 kat üstünde görülmekte ve histolojik olarak ileri evre ile ilişkilendirilmektedir [100]. Serum gamma glutamil-transferaz (GGT) ve alkalin fosfataz (ALP) düzeyleri hafif yüksek ya da normal olabilmektedir. Yine hiperglisemi, trigliserid ve kolesterol yüksekliği sık görülen bulgulardır [103].

Karaciğerdeki fibrozis derecesini göstermede birçok skrolama sistemi geliştirilmiştir. Bunlardan NAYKH fibrozis skorunda yaş, VKİ, serum glikoz düzeyi, AST/ALT oranı, trombosit ve albümin düzeyi gibi klinik ve laboratuvar parametreleri kullanılmaktadır. Fib-4 skoru (yaş, ALT, AST, trombosit), AST/ALT oranı, APRI (AST/trombosit), BARD skoru (VKİ, AST, ALT, DM) kullanılan diğer skrolama sistemleridir [32].

NAYKH'nın çeşitli evrelerinde hastalık aktivitesini belirlemede potansiyel biyobelirteçlerin olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [104, 105]. Hücre ölümü ve apoptozis için biyobelirteçler olan CK-18 (sitokeratin 18 fragmanı), FGF21 (fibroblast büyüme faktörü 21), insülin benzeri büyüme faktörü-2 (IGF-2) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) bunlardan bazılarıdır [105, 106]. Bu belirteçlerin hastalığın şiddetini göstermede fayda sağlayabileceği beklenmektedir ancak NAYKH/NASH ayrımını kesin yapabilecek non-invaziv bir test günümüzde henüz mevcut değildir [107, 108].

2.1.5.2 Ultrasonografi

Ultrasonografi (USG) NAYKH tanısında en sık kullanılan yöntemdir. NAYKH için riskli olan hasta gruplarında non-invaziv bir görüntüleme yöntemi olarak ilk basamakta USG' nin kullanılması önerilmektedir [109].

Konvansiyonel B mod USG ucuz, ulaşılabilir ve radyasyon maruziyeti olmaması nedeniyle karaciğer hastalıklarında primer görüntüleme yöntemi olarak kullanılmaktadır [110]. Karaciğer yağlanması, ultrason ışınlarının intrasellüler yağ vakuollerinden yansması sonucunda karaciğer parankiminde diffüz ekojenite artışı ve parlak karaciğer görüntüsü oluşur. Karaciğerin sağ böbreğe göre ekojenite artışının olmasının yanında intrahepatik vasküler yapıların görünümünde farklı derecelerde silikleşme olur. Ekojenite artışı, hepatomegalinin varlığı, dalak boyutu ve vasküler silikleşme karaciğer yağlanmasını saptamada esas faktörlerdir [111]. Bu özelliklere göre karaciğer yağlanmasının derecesi sübjektif olarak hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırılmaktadır [112].

Karaciğer yağlanmasında USG'nin duyarlılığı %73,3-%90,5 arasında değişkenlik göstermekle beraber yağlanma derecesi ile duyarlılık oranı artmaktadır [113]. Ancak USG %5-%20 üzerinde olan yağlanmayı saptamakta, aynı zamanda hafif düzeyde karaciğer yağlanması olan hastalarda USG'nin sensitivitesi %55,3- %66,6 ve spesifitesi %77-%93,1'dir [114]. Eşlik eden kronik karaciğer hastalığı ve fibrozis varlığı, nadir görülen karaciğer depo hastalıklarının varlığında da ekojenite artışı görülebilmekte ve tanımlamada yanılgıya sebebiyet verebilmektedir. Ek

olarak, obezitenin varlığında USG'nin doğruluğu, teknik güçlükler ve ultrason sinyallerinin zayıf olması nedeniyle azalmaktadır [111].

2.1.5.3 Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) USG'ye göre karaciğerdeki yağ oranını daha kesin olarak tespit eder [115]. Üstelik MRG bazlı yöntemler karaciğer parankimi içerisindeki yağ dağılımını yüksek doğrulukta saptamakta ve histolojik özelliklerle güçlü korelasyon göstermektedir. Karaciğer hasarını göstermede difüzyon ağırlıklı görüntüleme, perfüzyon manyetik rezonans görüntüleme, manyetik rezonans spektroskopi ve manyetik rezonans elastografi gibi birçok MRG bazlı yöntemler kullanılmaktadır [116, 117]. En sık kullanılan MRG yöntemleri manyetik rezonans spektroskopi (MRS) ve manyetik rezonans görüntüleme-proton dansite yağ oranıdır (MRG-PDYO) [118, 119].

2.1.5.4 Bilgisayarlı Tomografi (BT)

BT, USG gibi uygulanması kolay, kullanılabilir ve orta-ağır derecede yağlanmayı göstermede oldukça duyarlıdır [114].

Kontrastsız tomografide yağlanmanın olduğu bölgeler daha koyu ve düşük dansitede görünür. Karaciğer/dalak dansite oranı 1'in altında ve yağlanmanın derecesi arttıkça oran azalmaktadır [96].

Radyasyon maruziyetinin olması, hafif düzeyde yağlanmayı (%30) göstermede zayıf olması, hastalık progresyonu ve tedavi etkinliğini göstermede USG'ye üstün olmaması nedeniyle NAYKH tanısında BT'nin yeri kısıtlıdır ve rutin kullanımı önerilmemektedir [120, 96].

2.1.5.5 Elastografi

USG ile karaciğer yağlanması, fibrozis, inflamasyon ve NASH ayrımı yapılamamaktadır [121]. Bu nedenle, karaciğerdeki inflamasyon ve fibrozisi değerlendirmek için son yıllarda ultrason bazlı elastografi teknikleri geliştirilmiştir.

Vibrasyon kontrollü transituvar elastografi (VCTE) ve shear-wave elastografi (pSWE, 2D-SWE) teknikleri fibrozisi göstermede kullanılan elastografi teknikleridir [111].

2.1.5.6 Karaciğer Biyopsisi

NAYKH tanısı ve fibrozisi göstermede karaciğer biyopsisi altın standarttır. Perkütan ya da transjugüler karaciğer biyopsisi düşük ancak ihmal edilemeyecek oranda komplikasyon oranına sahiptir [122]. Perkütan karaciğer biyopsisi sonrasında hospitalizasyon oranı %1-3 iken ağrı, vazovagal hipotansiyon, daha nadir olarak kanama, sepsis ve komşu organ hasarı görülebilen komplikasyonlardandır [123]. Yorumlamasındaki öznel farklılıklar ve tutarsızlıkların olmasının yanı sıra pahalı, invaziv ve alınan doku örneklemeindeki değişkenlikler karaciğer biyopsisinin kullanımını sınırlar [122]. Tüm bu nedenlerden ötürü NAYKH'nın araştırılmasında birinci basamakta non-invaziv yöntemler kullanılır [32]. Non-invaziv tanı yöntemleriyle karaciğer fibrozisi ya da sirozun belirlenemediği veya kronik karaciğer hastalığının daha ileri etyolojik araştırılmasının gerekli olduğu durumlarda karaciğer biyopsisi tercih edilebilmektedir [124].

2.1.6 Prognoz

Basit yağlanma benign bir seyir gösterirken NASH siroza ilerleyebilmekte ve HSK gelişebilmektedir. Siroz olmaksızın da NASH, HSK'e ilerleyebilir. Ayrıca, NASH görülen hastalarda kardiyovasküler mortalite oranı artmıştır. Çevresel ve genetik faktörler NAYKH/NASH prognozunda önemli rol oynar. Tip2 DM'nin varlığı karaciğer yağlanmasında olumsuz prognoza sahiptir. Fibrozis gelişen hastalarda siroz riskiyle beraber ekstra-hepatik (kolon, özofagus, mide, pankreas) ve ekstra-intestinal (kadınlarda meme, erkeklerde böbrek) morbidite ve kardiyovasküler mortalite oranı artar [3].

2.1.7 Tedavi

2.1.7.1 Kilo kaybı, Diyet ve Yaşam Tarzı Değişikliği

NAYKH tedavisinde esas yaklaşım kilo kaybı ve risk faktörlerini azaltmaya yöneliktir ki hastaların çoğunda obezite ya da metabolik sendrom mevcuttur [125]. %3-%5 arası kilo kaybının yağlanmayı, %-5-%7 üzerindeki kilo kaybının inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Daha yüksek (> %10) kilo kayıplarında ise fibrozis azalabilmektedir [126]. Yine az miktardaki kilo kaybı bile karaciğerdeki İD'ni azaltır [127].

Diyette kalori kısıtlı diyet (Akdeniz diyeti gibi) uygulanması ve karaciğer yağlanmasını tetikleyebilecek gıdalardan kaçınılması önerilmektedir [109]. Karbonhidrat tüketimi günlük toplam kalorinin %10'u altında olmalı ve yüksek früktoz içeren gıdalardan kaçınılmalıdır. Omega-3 yağ asitlerinden zengin besinler tüketilmeli, doymuş yağlar ve omega-6 içeren yiyecekler diyetten çıkarılmalıdır [128].

Kilo vermeye yardımcı olarak yine fiziksel aktivite artırılmalıdır ancak yapılması gereken fiziksel aktivitenin yoğunluğu ve miktarı konusunda henüz bir uzlaşma söz konusu değildir [129]. Yapılan bir retrospektif çalışmada haftada 250 dakikadan daha fazla egzersiz yapan kişilerde 250 dakikadan daha az yapan kişilere kıyasla karaciğer yağlanmasında daha yüksek oranda azalma olduğu gösterilmiştir [130].

Doğal kilo kaybının yanı sıra orlistat ve sibutramin gibi iştah baskılayıcı ve kilo kontrolünde kullanılan ajanlar karaciğer yağlanmasını ve serum transaminaz düzeylerini azaltır [131, 132].

2.1.7.2 İnsülin Direncine Yönelik Tedavi

2.1.7.2.1 Tiazolidindionlar

Tiazolidindionlar, plazma adiponektin seviyesini yükselterek hepatik ve periferik dokularda insülin duyarlılığını artıran PPAR (peroksizom proliferatör aktive reseptör) agonistleridir [133, 134]. Birinci kuşak tiazolidindion olan troglitazon'un steatohepatiti azalttığı gösterilmiş ancak hepatotoksisite nedeniyle kullanımdan kaldırılmıştır [135]. Bu nedenle hepatotoksik etkisi olmayan ikinci kuşak tiazolidindionlar (pioglitazon, rosiglitazon) geliştirilmiştir. İkinci kuşak

tiazolidindionların İD'ni, karaciğerdeki yağlanmayı ve serum aminotransferaz düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [136, 137]. Ancak konjestif kalp yetmezliği, kilo alımı, periferik ödem, anemi ve osteoporoz gibi yan etkilerinin olması tiazolidindionların uzun dönemde kullanılmasını sınırlandırmaktadır [138, 139, 109]. Aynı şekilde yaşam tarzı ve diyet değişikliği olmadan tek başına tiazolidindion ile efektif teröpatik etki sağlanamamaktadır [137].

2.1.7.2.2 Metformin

Metformin hepatik glukoneogenez, lipogenez ve bağırsaktan glukoz emilimini azaltarak karaciğerde ve periferik dokudaki İD'ni azaltır [140]. Birinci basamak anti-diyabetik olarak tercih edilen metformin NASH'te potansiyel bir tedavi seçeneği olarak kullanılır [141]. Ancak monoterapi olarak metforminin etkinliği tartışmalıdır; bu nedenle NAYKH tedavisinde multi-teröpatik rejimin bir parçası olarak kabul edilmelidir [126].

2.1.7.3 Lipit Düşürücü Tedavi

NAYKH'nda sıklıkla hiperlipidemi ve hipertrigliseridimi görülmektedir bu nedenle lipit düşürücü tedavinin karaciğer yağlanmasında faydası olabilmektedir [126]. Statinler hiperlipidemisi ve koroner arter hastalığı olan kişilerde yaygın olarak kullanılmaktadır [142]. Statinler kronik karaciğer hastalığı olanlarda güvenle kullanılabilir [143, 144]. Bazı çalışmalar statinlerin NASH'te faydalı olabileceğini gösterse de statinlerin herhangi bir teröpatik etki sağlamadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [145-147].

Ezetimib bağırsaktan lipit emilimini ve serum TNF- α düzeyini düşürür [148]. Bir fare modelinde karaciğer yağlanmasını ve ALT seviyesini düşürdüğü görülmüştür [149].

Klofibratın histolojik iyileşmeye herhangi bir katkısı olmadığını ancak gemfibrozilin NAYKH'nda ALT seviyesini düşürdüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur [150, 151].

2.1.7.4 Ursadeoksikolik Asit

Ursadeoksikolik asidin karaciğer için koruyucu etkileri bulunmaktadır [126]. Öncesinde karaciğer enzimleri ve yağlanmayı azalttığı gösterilmiş olsa da sonraki çalışmalarda aminotransferaz düzeyi ve inflamasyona etkisi olmadığı gösterilmiştir [150, 152].

2.1.7.5 E Vitamini

OS NAYKH patolojisinde suçlanan faktörlerden biridir [129]. E vitamini karaciğer hasarını engelleyen bir anti-oksidandır [142]. Bir çalışmada NASH tanısı olan hastalara 96 hafta boyunca günlük 800 IU vitamin E verilmiş ve aminotransferaz düzeylerinde anlamlı düzeyde düşmeyle beraber karaciğerdeki yağlanma ve inflamasyonun azaldığı görülmüştür. Ancak fibroziste iyileşme gözlenmemiştir [153]. Başka bir çalışmada pioglitazon ve vitamin E kombine tedavinin ALT düzeylerini anlamlı ölçüde düşürdüğü görülmüştür [154]. Vitamin E tedavisinin NAYKH'nda faydası olabileceğini gösteren çalışmalar mevcut olsa da uzun süreli E vitamini kullanımının artmış mortalite, hemorajik felç ve prostat kanserine neden olabileceği konusunda endişeler mevcuttur [155].

2.1.7.6 Diğer Tedaviler

2.1.7.6.1 Probiyotikler

Probiyotikler uygun dozlarda alındığında yararlı etkileri olan patojenik olmayan mikroorganizmalardır [129]. Probiyotik kullanımının karaciğer enzimleri, lipit düzeyleri, karaciğer yağlanması ve inflamasyon üzerine olumlu etkileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [156, 157].

2.1.7.6.2 Anti-Fibrotik Ajanlar

Karaciğer ilişkili mortalitenin önemli bir nedeni olması nedeniyle karaciğer fibrozisine yönelik ilaç tedavileri ümit vadetmektedir [129]. Simtizumab, galektin

inhibitörü gibi anti-fibrotik ajanların karaciğer fibrozisine etkisini inceleyen çalışmalar mevcuttur ancak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır [158, 159].

2.1.7.6.3 Demir Yükünün Azaltılması

Karaciğer yağlanması olan kişilerde flebotomi sonrası inflamasyon, aminotransferaz düzeyleri ve İD'nde azalma olur ancak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır [160, 161].

2.1.7.6.4 Karaciğer Nakli

Karaciğer yağlanması nedeniyle gelişen siroz, nakil için önemli endikasyonlardan biridir [109]. NAYKH ilişkili siroz nedeniyle karaciğer nakli yapılan hastalarda sıklıkla obezite ve metabolik risk faktörleri bulunması nedeniyle post-op erken enfeksiyon, uzun hospitalizasyon süresi ve kardiyovasküler komplikasyonlar gelişebilmektedir [162, 163]. Ancak uzun dönem greft sağ kalımı NAYKH dışı kronik karaciğer hastalıklarına göre değişmemiştir [164]. Ayrıca karaciğer nakli sonrası alttan yatan metabolik faktörlerin düzelmeyeceği de unutulmamalıdır [32].

2.2 Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren kimyasal bileşiklerdir [9]. Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron bulundurması nedeniyle oldukça instabil ve son derece reaktiftir; başka maddeler ile tepkimeye girerek kendilerini nötralize etme eğilimindedir ve oksidasyona neden olur [10, 11]. ROT, RNT ve RST vücutta oluşan üç ana oksidan grubudur [11].

2.2.1 Reaktif Oksijen Türevleri (ROT)

Serbest radikal olan O_2^- ve $OH^\cdot$ ve radikal olmayan hidrojen peroksit H_2O_2 ve $HOCl$ ROT' ni oluşturan ana oksidanlardır. Moleküler oksijenin ardışık olarak bir elektron ile redüksiyonu ile son ürün olarak su oluşmadan önce sırasıyla O_2^- , H_2O_2 , $OH^\cdot$ ortaya çıkmaktadır.

ROT fizyolojik ve patofizyolojik mekanizmalarda önemli rol oynamaktadır [12]. Yüksek konsantrasyonlarda ROT proteinlerle, lipitlerle, nükleik asitlerle ve karbonhidratlarla tepkimeye girerek hücrelerde sıklıkla geri dönüşümsüz olan fonksiyonel değişimlere ya da hasara neden olmaktadır [13].

2.2.1.1 Süperoksit Radikalleri (O_2^-)

O_2^- anyonu oksijenin bir elektron ile redüksiyonu sonucu ortaya çıkan primer ROT' dir ve diğer moleküllerle tepkimesi sonucunda daha reaktif olan sekonder ROT oluşumuna neden olur [165, 21]. Normal fizyolojik şartlar altında oksitleyici bir ajandan ziyade hafif bir indirgeyici gibi davranır [21]. O_2^- , demir ve bakır gibi geçiş metalleri ve özellikle nitrojen monoksit ($NO^\cdot$) olmak üzere radikaller ile tepkimeye girer ancak birçok biyolojik moleküle karşı nispeten non-reaktiftir [9]. Nükleik asitler, polipeptitler ve karbonhidratlar ile direkt tepkimeye girmez. SOD enziminin katalizlediği bir dismutasyon reaksiyonu sonucunda O_2^- , H_2O_2 ve oksijene (O_2) dönüşür [20].

Aktive makrofaj ve nötrofiller NADPH oksidaz enzimi ile yüksek oranda süperoksit üretimine ve sonrasında hidrojen peroksit oluşumuna neden olur. Anti-mikrobiyal ve tümörisidal olan ROT, inflamasyon sürecinde masif miktarda oluşarak 'oksidatif patlama' meydana getirir. Ek olarak, fagositlerde NADPH oksidaz ve MPO' ın kombine aktivasyonu sonrasında fizyolojik olarak en güçlü anti-mikrobiyal ve oksidan ajanlardan biri olan $HOCl$ ortaya çıkar [166].

2.2.1.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 aslında bir serbest radikal değildir [167]. O_2^- radikalinin SOD enzimi ile dismutasyon reaksiyonu sonucunda ortaya çıkar [20]. O_2^- anyonunun aksine membranlara penetre olabilmektedir. Daha önemlisi bakır (Cu^{+}) ve demir (Fe^{+2}) gibi geçiş metallerinden elektron alarak çok daha reaktif olan $OH^\cdot$ radikaline dönüşür [9].

2.2.1.3 Hidroksil Radikalleri ($OH^\cdot$)

OH[•] radikali bilinen en reaktif oksijen türüdür [9]. Sulu çözeltilerde yarılanma ömrü 1 ns'den daha azdır [168]. Birçok tepkime sonucunda oluşabilmektedir. OH[•] radikallerinin büyük bir kısmı H₂O₂' in demir, bakır, krom, kobalt ve diğer bazı metallerin katalizlediği tepkimeler ile Fenton reaksiyonu sonucunda açığa çıkar. Suyun iyonize radyasyona maruz kalması ile OH[•] ve hidrojen atomları oluşur. Alkilhidroperoksidin fotolitik ayrışması sonucunda da ortaya çıkabilir [20].

OH[•] radikalleri bir çok organik molekülde oksidasyona neden olur ancak en önemli etkisi DNA üzerindedir [21]. OH[•] radikalleri DNA'nın baz ve deoksiriboksil grupları ile reaksiyona girerek DNA hasarına neden olur. Yüksek oksidatif etkiye sahip olması ve biyolojik moleküler yapılarda radyasyon indüksiyonu ile hasar oluşturması nedeniyle OH[•] radikali, in vivo ortaya çıkan majör toksin olarak kabul edilmektedir [21].

2.2.1.4 Hipokloröz Asit (HOCl)

HOCl MPO enziminin katalizlediği reaksiyon ile aktive nötrofiller tarafından üretilir. Yüksek oranda reaktif olan bir non-radikaldir ve DNA, protein ve birçok molekül ile tepkimeye girerek hücrel hasara neden olur [11].

2.2.2 Reaktif Nitrojen Türevleri (RNT)

Nitrik oksit (NO) en önemli RNT'dir. NO sentaz enzimi aracılığıyla arjinden üretilir. NO, iki atomlu ve membranlardan kolaylıkla geçebilen bir serbest radikaldir. 10 nmol/L altında sinyal yollarında görev alırken daha yüksek konsantrasyonlarda zararlı etkileri bulunmaktadır. Nitrojen dioksit, nitrojen trioksit, nitrat ve birçok RNT'ne dönüşebilir. O₂⁻ ile tepkimeye girerek aktivitesi çok yüksek olan peroksinitrit'e (ONOO) dönüşebilir [11].

2.2.3 Reaktif Sülfür Türevleri (RST)

RST hem radikal hem de radikal olmayan sülfür içeren maddelerden oluşmaktadır. ROT ve RNT aksine hem oksidan hem de redüktan olabilir. Sülfür içeren maddeler

hücrel fonksiyon ve homeostazda önemli roller oynamaktadır. RST nitrojen ve oksijenden farklı olarak hem reaktif ürünler ortaya çıkarır hem de sülfür içeren peptit, protein ve enzim gibi moleküllerle tepkimeye girer [11].

2.2.4 Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

ROT hem endojen hem de eksojen olarak üretilmektedir. Endojen olarak üretimi mitokondride, sitokrom P450 metabolizması sırasında, peroksizomlarda ve inflamatuvar hücre aktivasyonu sırasında olur [169]. ROT'nin önemli bir kısmı mitokondride oksidatif fosforilasyon sırasında üretilir [13, 20]. Mitokondri dışında nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller de endojen ROT oluşumuna neden olan hücrelerdir. Aktive makrofajlar oksijen alımını artırarak O_2^- , NO ve H_2O_2 gibi birçok ROT açığa çıkarır [19].

Diğer endojen ROT üretim kaynaklarından biri olan sitokrom p450 enzim döngüsü sırasında da başta O_2^- ve H_2O_2 olmak üzere bir çok ROT ortaya çıkar [20].

Ek olarak mikrozom ve peroksizomlar da ROT oluşturan kaynaklardır. Mikrozomlar hiperoksik bölgelerde H_2O_2 'in %80'ini oluşturur [170]. Peroksizomlar normal fizyolojik koşullarda H_2O_2 üreten organellerdir. H_2O_2 'nin büyük bir kısmı karaciğerde üretilmesine rağmen peroksizom içeren diğer organlarda da H_2O_2 üretimi olmaktadır. Uzun süreli açlık sonrası yağ asitlerinin peroksizomal oksidasyonu önemli H_2O_2 kaynaklarından bir tanesidir [20].

ROT üretiminin eksojen kaynakları arasında karsinojenler, metal iyonları, radyasyon, sigara, ilaçlar, alkol, güneş ışınları, pestisitler, çözücüler bulunmaktadır [171, 20]. Ağır fiziksel aktivite de oksijen kullanımını artırarak ROT üretimine neden olur [171].

2.2.5 Serbest Radikallerin Etkileri

2.2.5.1 Lipit Oksidasyonu

Hücre ya da organel membranları çoklu doymamış yağ asitleri içermesi nedeniyle oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Serbest radikaller, lipitlerden elektron uzaklaştırarak daha ileri tepkimeleri başlatan reaktif ara ürün oluşumuna neden olur ve bu durum lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır [14]. Serbest radikaller ile reaksiyon sonucu çoklu doymamış yağ asitlerinin kendileri de serbest radikallere dönüşerek lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunu başlatır [172]. Lipit peroksidasyon zincir reaksiyonları sonucunda biyolojik aktiviteleri yüksek ürünler açığa çıkar [15]. Ortaya çıkan bu ürünler DNA, proteinler ve enzimlere zarar vererek hücre ölümünü başlatan sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur [16].

Lipit peroksidasyon enzimatik ya da non-enzimatik yollarla meydana gelir. Non-enzimatik lipit peroksidasyonu demir bağımlıdır ve Fenton reaksiyonu ile üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada fosfolipidin açıl zinciri okside olarak $R\cdot$ (karbon merkezli radikal içeren fosfolipit) oluşturur. İkinci aşamada $R\cdot$ ile moleküler oksijen tepkimeye girerek peroksil ($R-OO\cdot$) radikali açığa çıkar. $R-OO\cdot$ fosfolipitten bir hidrojen alarak lipit hidroperoksili ($R-OOH$) oluşturur. Öte yandan başka bir fosfolipide $R-OO\cdot$ eklenmesiyle $R-OO-R\cdot$ dimerleri oluşur. Son aşamada $R-OOH$ indirgeyici ayrışma ile alkoksil ($RO\cdot$) radikalleri açığa çıkarır. Çoklu doymamış yağ asidi otooksidasyonu ile MDA, izoprostanlar ve HNE gibi elektrofilik ürünler ortaya çıkar. Lipit peroksidasyonu sonucu açığa çıkan bu moleküllerin birçok biyolojik fonksiyonu bulunmaktadır [18].

Enzimatik lipit peroksidasyonu lipoksijenaz (LOX) enzimi aracılığıyla olur [173]. LOX araşidonik ve linoleik asidi substrat olarak kullanarak $R-OOH$ açığa çıkarır [174].

MDA ve HNE lipit peroksidasyonu sonucu oluşan esas aldehytlerdir [17]. MDA, HNE ve isoprostanlar ölçümleri yapılabilen lipit peroksidasyon ürünleridir [18].

Lipit peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler iyon kanalları etkilemekte, membran transport protein ya da enzimleri inaktifleştirmekte, membran lipit çift tabakası daha geçirgen ya da daha rijid hale gelebilmekte, aynı zamanda geri dönüşümsüz membran hasarı olabilmektedir [175, 9].

2.2.5.2 Protein Oksidasyonu

OS, proteinlerde birçok posttranslasyonel değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler içerisinde sülfür içeren yan zincirlerin oksidasyonu, histidin ve triptofanın oksidasyonu, ditirozin oluşumu ve yan zincir aminlerin klorinasyonu bulunur. Sistein ve metiyoninin sülfür içeren yan zincirleri oksidasyona karşı en hassas bölgelerdir. Yan zincirlerde meydana gelen oksidatif değişiklikler proteinlerde oligomerizasyon, fragmentasyon, destabilizasyon ve proteinlerde agregasyon/degradasyona neden olur [176]. Aminoasitlerde meydana gelen değişiklikler aldehit, keton ve hidroperoksit oluşumu, histidin ve triptofan kalıntılarındaki halka bölünme ile sonuçlanmaktadır. Ortaya çıkan tüm bu değişiklikler sinyal yollarını etkileyerek proteinlerin yapısal ve fonksiyonel aktivitelerinde bozulmalara yol açar [9].

2.2.5.3 DNA ve RNA Oksidasyonu

ROT direkt olarak DNA baz ve şekerlerinde değişikliklere neden olur. DNA'nın onarım süreci yetersiz kalırsa DNA hasarı, mutasyonlar ve transkripsiyon bozuklukları ortaya çıkar. Radikallerin DNA ile etkileşimi sonucu bazı genlerin bütünlüğü ve düzenlenmesi etkilenecek hücreler için hem zararlı hem de yararlı değişiklikler oluşur [9].

DNA gibi ribonükleik asidin (RNA) oksidasyonu da gen regülasyonunu etkiler. RNA bazlarının oksidasyonu iplik kopmasına ve baz değişimlerine neden olur. Protein sentezinde rol alması nedeniyle RNA'nın oksidatif hasara maruz kalması sonucunda anormal protein üretimi meydana gelir [9].

2.2.5.4 Karbonhidratlara Etkisi

Hücrelerde serbest radikal saldırısına duyarlı çok sayıda karbonhidrat bulunmaktadır. DNA, RNA ve proteinler üzerindeki şekerler, mono ve polisakkaritler bu karbonhidratlara örnek verilebilir. Serbest glikozun oksidasyonu sonucunda ileri glikasyon son ürünleri açığa çıkar. Glikoz, proteinleri modifiye ederek Schiff bazlarının oluşumuna neden olabilir ya da sorbitole indirgenerek ileri

oksidasyona uğrayabilir. Karbonhidrat oksidasyonu sonucu ortaya çıkan bazı ürünler enolize olarak geçiş metallerinin varlığında proteinlerle tepkimeye girebilecek ketoaldehitlerin oluşumuna yol açar. Ortaya çıkan bu ürünler ROT oluşumunu tetikler [9].

2.2.6 Antioksidan Savunma

Hücre ve dokuları normal metabolik süreçler sırasında açığa çıkan oksidanlara karşı koruyan enzimatik ve enzimatik olmayan anti-oksidanlar mevcuttur [19].

2.2.6.1 Enzimatik Anti-oksidanlar

2.2.6.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, intrasellüler olarak bulunan en etkili enzimatik anti-oksidanlardan biridir. O_2^- radikalinin dismutasyon reaksiyonlarında görev alır. Dismutasyon reaksiyonu sonucunda oksijen ve daha az reaktif H_2O_2 ortaya çıkar. İnsanlarda Cu, çinko-SOD (Zn-SOD), mitokondriyal SOD (Mn-SOD) ve ekstrasellüler SOD (Ek-SOD) olmak üzere üç tip SOD bulunmaktadır. Mn-SOD anti-tümör etkinliğe sahip olan en etkili anti-oksidan enzimlerden biridir [20]. Mn-SOD aşırı ekspresyonunun tümör büyümesinde gecikme sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur [177].

2.2.6.1.2 Katalaz (KAT)

KAT H_2O_2 'yi su ve moleküler oksijene dönüştürerek hücreleri H_2O_2 'den korur. KAT peroksizomlarda bulunmaktadır. Bir çok tümör çeşidinde KAT aktivitesinin azalması sonucunda H_2O_2 düzeyleri artar [20].

2.2.6.1.3 Glutasyon Peroksidaz (GSH-PX)

GSH-PX selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız olmak üzere iki formda bulunur. GSH-PX glutasyonu kullanarak H_2O_2 'nin redüksiyonunu sağlar. GSH metabolizması en önemli anti-oksidan savunma mekanizmalarından biridir. GSH-

PX aynı zamanda lipid ve diğer hidroperoksitlerle tepkimeye girerek oksidanlara karşı koruma sağlar [178].

2.2.6.1.4 Miyeloperoksidaz (MPO)

MPO fagositik vakuollerin azurofil granüllerinde bulunmaktadır [21]. MPO, H_2O_2 ve klor iyonlarını kuvvetli bir antimikrobiyal olan HOCl'e çevirir [179].

2.2.6.2 Enzimatik Olmayan Anti-oksidanlar

2.2.6.2.1 Vitamin C (Askorbik Asit)

Vitamin C suda çözünen çok önemli ve kuvvetli bir antioksidandır [20].

Vitamin C elektron donörü yani bir redüktan olarak görev yapar [180]. Kolaylıkla elektronlarını verebilmesi nedeniyle protein, lipid, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi önemli biyomolekülleri oksidan maddelere karşı korur [181].

2.2.6.2.2 Vitamin E

E vitamini yağda çözünen ve sekiz farklı formda bulunan bir vitamindir. E vitamininin en aktif formu olan α -tokoferol membran bağımlı güçlü bir antioksidandır [182]. Esas antioksidan fonksiyonu lipid peroksidasyonu üzerinedir [183]. α -tokoferol lipid ya da lipid peroksil radikaline bir hidrojen vererek α -tokoferol radikaline dönüşür. C vitamini α -tokoferol radikalini indirgeyerek orijinal α -tokoferol formuna dönüşmesini sağlar [184].

2.2.6.2.3 Glutasyon (GSH)

GSH majör tiyol grubu bir antioksidandır. Sitozol, nükleus ve mitokondride bol miktarda bulunur. Hücrenin esas tiyol-disülfid tamponu olarak kabul edilir. Nükleusta bulunan GSH DNA onarımı ve ekspresyonunda gerekli olan protein sülfidrillerinin redoks durumunun sürdürülmesi için gereklidir [20].

2.2.6.2.4 Karotenoidler

Karotenoidler bitki ve mikroorganizmalarda bulunan pigmentlerdir. Doğada 600'den fazla karotenoid bulunur [20]. Konjuge çift bağ yapısına sahip olması nedeniyle eşleşmemiş elektronları uzaklaştırarak antioksidan görevi görür [185]. Yeterli konsantrasyonlarda lipitleri oksidatif hasara karşı korur [20].

2.2.6.2.5 Selenyum

Selenyum hücrelerin malign transformasyonunu engelleyerek anti-mutajenik etki gösterir. DNA ve diğer hücresel elemanları oksidatif hasara karşı koruyan GSH-PX ve tiyoredoksin redüktazda bulunmaktadır. Selenyum içeren enzimler hücre metabolizmasında, oksijen metabolizmasında, detoksifikasyon işleminde, immün sistemde ve kanser hücrelerinin apoptozisinde ve onkojen inaktivasyonunda rol oynar [20].

2.2.6.2.6 Diğer Antioksidanlar[22]

Albümin

Seruloplazmin

Laktoferrin

Transferrin

Adenozin

Lipoik asit

Haptoglobülin

Ferritin

Mannitol

Sistein

Asetilsistein

Histidin

Yüksek dansiteli lipoprotein

Ürik Asit

Bilirubin

Ubikinon

Polifenoller

Melatonin

Allopürinol

Hemopeksin

Sitokinler

2.2.7 Total Oksidan Status (TOS) ve Total Antioksidan Status (TAS)

Serbest radikaller ve ROT, tüm aerobik organizmalarda bulunmaktadır. Serbest radikaller ve ROT arttığında vücutta oksidatif hasara neden olur. Normal fizyolojik koşullarda oksidan-antioksidan sistem arasında denge bulunmaktadır [186]. Bu dengenin antioksidan aleyhine bozulması sonucunda OS ortaya çıkar [187].

Tek bir ölçüm indeksi ile OS düzeyi serumda etkili bir şekilde gösterilemez. Bu nedenle ana bileşenler olan hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksit ile vücuttaki tüm oksidan durumu gösteren total oksidan status (TOS) ve bilirubin, ürik asit, vitamin C, polifenoller, proteinler ve tüm antioksidanların aktivitelerini gösteren Total antioksidan status (TAS) kullanılmaktadır [188, 189].

2.2.8 Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

TOS'un TAS'a bölünmesiyle elde edilen bir indekstir. OSİ'nin yüksek olması OS'in arttığını gösterir [190].

$OSİ = TAS/TOS$

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Protokolü

3.1.1 Hasta Alım ve Dışlama Kriterleri

Çalışma tek merkezli, prospektif olarak tasarlandı. 6 Aralık 2021 ile 30 Nisan 2022 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı polikliniklerine başvuran, NAYKH tanısı koyulan 49, NASH tanısı koyulan 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

1. 18 yaş altı hastalar
2. Alkol kullanımı 20 gram/gün üzerinde olan hastalar
3. Viral hepatitler
4. Otoimmün hepatitler
5. Primer Biliyer Siroz
6. Primer Sklerozan Kolanjit
7. Wilson Hastalığı
8. Hemokromatozis
9. Gebelik
10. Otoimmün tiroiditler
11. Aktif solid ve hematolojik malignite
12. NAYKH tedavisinde kullanılan ilaçların son 6 ayda kullanımı (metformin, tiazolidinedionlar, gemfibrozil, ursadeoksikolik asit, vitamin E, beta karoten, N-asetil-sistein ve selenyum)
13. Mide ve bağırsak cerrahisi (gastropleksi, geniş ince bağırsak rezeksiyonu (%40), jejunioileal bypass, biliopankreatik diversiyon)
14. Edinsel immün yetmezlik sendromu (EIYS)
15. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları
16. Ciddi anemi
17. Glikojen depo hastalıkları

18. Koroner arter hastalığı
19. Romatolojik hastalıklar
20. Kronik böbrek hastalığı

3.2 Yöntem

3.2.1 NAYKH ve NASH tanısı

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Radyoloji Kliniği'nde batın USG'si yapılan ve karaciğer yağlanması saptanan hastalar aşağıdaki kriterlere göre belirlenmiştir.

USG'de karaciğer yağlanması diffüz ekojenite artışı ve parlak karaciğer görüntüsü olarak karşımıza çıkmaktadır. Sağ böbreğe göre ekojenite artışının yanı sıra vasküler yapılar ve diyaframda değişen oranlarda silikleşme olmaktadır. Karaciğer yağlanmasının evresi USG'ye göre 3 gruba ayrılır:

1. Grade 1 (hafif) yağlanma: Karaciğer ekojenitesinde hafif bir artış mevcuttur ve intrahepatik vasküler yapılar ve diyafram normal görünür.
2. Grade 2 (orta) yağlanma: Karaciğer ekojenitesinde orta düzeyde bir artış mevcuttur ve intrahepatik vasküler yapılar ve diyafram daha az seçilir.
3. Grade 3 (ağır) yağlanma: Karaciğer ekojenitesinde belirgin bir artış söz konusudur ve vasküler yapılar ve diyafram seçilemez.

Karaciğer enzimleri normal olan hastalar NAYKH, ALT düzeyi 40 ve üzerinde olan hastalar NASH olarak değerlendirildi.

3.2.2 Antropometrik Ölçümler

Tüm hastaların boy ve kilo ölçümleri yapıldı. Vücut ağırlığı aç karna ölçüldü. Boy ölçümü ayakta dik dururken ve çıplak ayakla ölçüldü. VKİ vücut ağırlığının kilogram cinsinden, boyun metre cinsinden karesine bölünerek elde edildi (kg/m²).

3.2.3 Biyokimyasal Ölçümler

Tüm hastaların AST, ALT, GGT, ALP, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin, Direkt LDL, HDL, trigliserit, albümin, vitamin D, açlık kan şekeri, Hba1c ve tam kan sayımı retrospektif olarak incelendi. AST, ALT, GGT, ALP, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin, Direkt LDL, Trigliserit, HDL, açlık kan şekeri, albümin düzeyleri spektrofotometrik yöntemle, vitamin D düzeyleri kemilimünesans yöntemle Roche Cobas cihazında ölçüldü. Hba1c düzeyleri Bio-Rad Variant II cihazında HPLC yöntemi ile; tam kan sayımı ölçümleri Sysmex-XN 1500 cihazında flowsitometrik yöntemle ölçüldü. Son 3 ay içerisinde bu biyokimyasal parametreleri olmayan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

TAS düzeyleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü (Relassay, Türkiye). TAS düzeyi test prensibi numunedeki antioksidanların koyu mavi-yeşil renkteki ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-sulfonik asit) bileşiğini renksiz hale dönüştürme mantığına dayanır. Ölçümler nmol Trolox ekivalan/L cinsinden ifade edildi.

TOS düzeyleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü (Relassay, Türkiye). TOS test prensibi numunedeki oksidanların ferröz-o-dianizidin kompleksini ferrik iyonla oksitleme mantığına dayanır. Reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol oksidasyon reaksiyonunu artırır. Asidik ortamda ferrik iyonu ksilenol portakalı ile renkli bir bileşik üretir. Ortaya çıkan bileşiğin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunede bulunan oksidan moleküllerin artışı ile bileşikteki renk yoğunluğu artar. Örnekler H₂O₂ ile kalibre edilerek µmol H₂O₂ ekivalan/ L cinsinden ifade edildi.

MDA düzeyi ölçümü tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyon mantığına dayanır. MDA ya da MDA benzeri maddeler TBA ile reaksiyonu girerek maksimum 532 nm absorbansla pembe bir pigment üretir. Reaksiyon 90°C ve ph: 2-3 olan ortamda 15 dakika boyunca uygulandı. Proteinin çökertilmesi için numune %10 soğuk trikloroasetik asit ile karıştırıldı. Çökelti santrifüj edilerek ayrıştırıldı. Çökeltinin bir kısmı eşit hacimde %0,67 TBA ile kaynar suda 10 dakika boyunca reaksiyona sokuldu. Soğutma sonrası absorbans 532 nm’de okundu.

OSİ TOS’un TAS’a oranlaması ile elde edildi. Hesaplama için TAS µmol/L’ye çevrildi. $OSİ = \frac{TOS (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ ekivalan/ L})}{TAS (\mu\text{mol Trolox ekivalan/L})}$ formülü kullanıldı.

3.3 İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışma verilerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 20.0 programı kullanıldı. Kategorik verilerin gruplar arası dağılımını incelemek amacıyla ise Ki-kare testi kullanıldı. Numerik verilerin normalite ve homojenite analizleri Kolmogorov-Smirnov ve Levene's testleri ile yapıldı. Numerik verilerin gruplar arası karşılaştırılması Mann Whitney U ve bağımsız örneklemede T testi kullanılarak yapıldı. Ayrıca iki numerik değişkenin korelasyonunu incelemek amacıyla Pearson ve Spearman's korelasyon testleri kullanıldı. Tüm verilerin değerlendirilmesinde %95 güven aralığı ($p=0,05$) uygulandı.



4.BULGULAR

Çalışmaya yaşları 20 ile 68 arasında değişmekte olan; 52'si erkek (%52,5) ve 47'si kadın (%47,4) olmak üzere toplam 99 kişi dahil edildi. NAYKH grubunda olan bireyler 23 kadın (%46,9), 26 erkek (%53) olmak üzere 49 kişi ve ortalama yaş $47,92 \pm 13,06$ olarak saptandı. NASH grubunda olan bireyler 24 kadın (%48), 26 erkek (%52) olmak üzere 50 kişi ve ortalama yaş $43,54 \pm 11,94$ olarak saptandı.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda NASH grubu olan hastalarda kilo ve VKİ NAYKH grubunda olan hastalara göre daha yüksek saptandı ancak istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0,099$, $p=0,058$). NAYKH ve NASH grubunun demografik ve klinik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. NAYKH ve NASH gruplarının demografik verileri

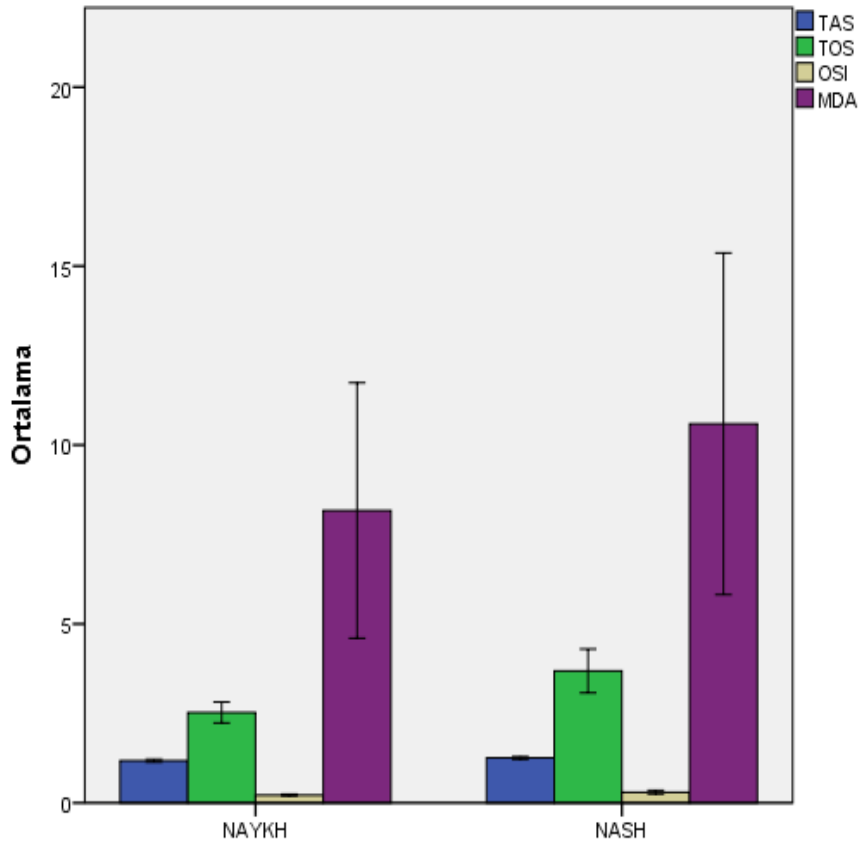
	NAYKH (N:49)	NASH (N:50)	P değeri
YAŞ (yıl)	$47,92 \pm 13,06$	$43,54 \pm 11,94$	0,085
CİNSİYET (K/E)	23/26	24/26	0,916
BOY (cm)	$167,71 \pm 9,53$	$168,38 \pm 10,34$	0,740
KİLO (kg)	$86,06 \pm 20,33$	$92,08 \pm 15,33$	0,099
VKİ (kg/m²)	$30,47 \pm 5,93$	$32,45 \pm 4,22$	0,058

NASH grubunda olan hastalarda NAYKH grubunda olan hastalara göre AST, ALT, GGT, ALP, trigliserit ve açlık kan şekeri düzeylerinde anlamlı derecede yükseklik mevcuttu ($p<0,05$). NAYKH ve NASH grubunun biyokimyasal verileri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2 NAYKH ve NASH gruplarının biyokimyasal verileri

	NAYKH (N:49)	NASH (N:50)	P değeri
ALT	21,37±8,06	62,9±26,48	0,000
AST	19,43±5,11	36,76±18,88	0,000
GGT	31,1±35,54	58,88±37,97	0,000
ALP	80,12±21,3	90,76±23,05	0,019
TOTAL BİLİRÜBİN	0,63±0,36	0,52±0,25	0,077
DİREKT BİLİRÜBİN	0,22±0,1	0,19±0,08	0,148
DİREKT LDL	138,89±36,38	138,02±43,13	0,913
TRİGLİSERİT	149,49±66,48	216,1±160,97	0,009
HDL	47,17±11,21	44,57±11,86	0,265
VİTAMİN D	19,94±8,02	20,25±10,19	0,865
HBA1C	5,8±0,51	6,13±1,06	0,051
AÇLIK KAN ŞEKERİ	93,96±12,46	110,12±34,41	0,003
ALBÜMİN	46,85±2,79	46,41±4,54	0,563
TROMBOSİT	270081±66417	245220±48481	0,036

NASH grubunda TOS, TAS ve OSİ NAYKH grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). MDA düzeyi NASH grubunda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p= 0,418$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 NAYKH ve NASH gruplarının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri

TAS düzeyi NAYKH grubunda $1,18 \pm 0,13$ NASH grubunda $1,25 \pm 0,13$ ($p < 0,05$) saptandı. TOS düzeyi NAYKH grubunda $2,52 \pm 1,02$ NASH grubunda $3,69 \pm 2,15$ ($p < 0,05$) saptandı. MDA düzeyi NAYKH grubunda $8,17 \pm 12,41$ NASH grubunda $10,59 \pm 16,79$ ($p = 0,418$) saptandı. OSİ NAYKH grubunda $0,22 \pm 0,09$ NASH grubunda $0,29 \pm 0,18$ ($p < 0,05$) saptandı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 NAYKH ve NASH gruplarının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri

	NAYKH (N:49)	NASH (N:50)	P değeri
TAS	1,18±0,13	1,25±0,13	0,005
TOS	2,52±1,02	3,69±2,15	0,001
MDA	8,17±12,41	10,59±16,79	0,418
OSİ	0,22±0,09	0,29±0,18	0,005

Tüm hastalar karaciğer yağlanma durumuna göre sınıflandırıldığında 34 hastada Grade 1 yağlanma, 46 hastada Grade 2 yağlanma, 19 hastada Grade 3 yağlanma mevcuttu.

Karaciğer yağlanma şiddetine göre hastalar incelendiğinde demografik verilerde her üç grupta da anlamlı fark saptanmadı. Hastaların kilo ve VKİ artışı ile karaciğer yağlanma şiddetinin arttığı saptandı. Hastalar kilo düzeylerine göre incelendiğinde Grade 1 ve Grade 3 karaciğer yağlanması olanlarda istatistiksel olarak anlamlı fark elde edildi ($p<0,05$) ancak Grade 2 yağlanması olan grupta diğer gruplara göre istatistiksel anlamlı fark yoktu. Hastalar VKİ düzeylerine göre incelendiğinde Grade 1 ve Grade 3 karaciğer yağlanması olanlar ile Grade 2 ve Grade 3 karaciğer yağlanması olanlar arasında istatistiksel anlamlı fark elde edildi ($p<0,05$) ancak Grade 1 ve Grade 2 karaciğer yağlanması olanlar arasında istatistik olarak anlamlı fark elde edilmedi.

Tablo 4.4 Karaciğer yağlanma derecesine göre demografik veriler

	Grade 1(N:34)	Grade 2(N:46)	Grade 3(N:19)	P değeri
YAŞ	45,56±13,87	46,61±11,61	43,79±13,18	0,717
CİNSİYET (K/E)	17/17	21/25	9/10	0,929
BOY (cm)	167,79±9,8	168,44±10,27	167,58±9,69	0,936
KİLO (kg)	82,86 ^a ±15,05	89,32 ^{ab} ±17,06	99,74 ^b ±21,35	0,004
VKİ (kg/m²)	29,33 ^a ±3,91	31,43 ^a ±4,79	35,39 ^b ±6,09	0,000

Aynı üst karakter harfe sahip değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

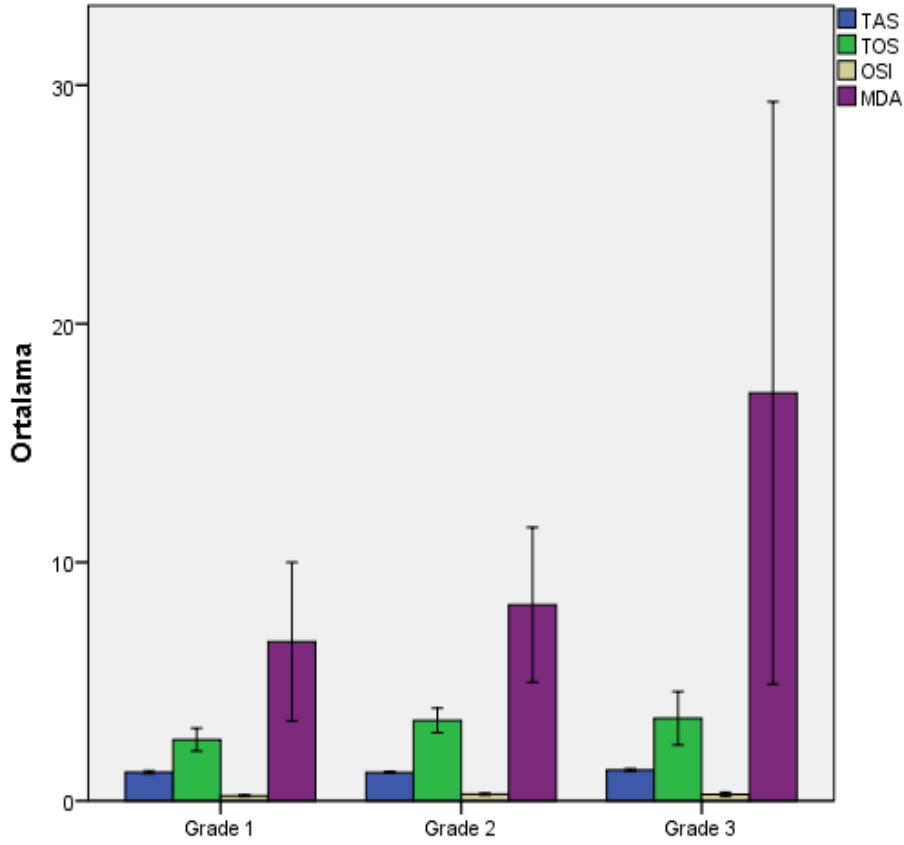
Karaciğer yağlanması derecesine göre gruplar ayrı ayrı incelendiğinde karaciğer yağlanma şiddeti arttıkça trigliserit ve ALT düzeylerinde artış mevcuttu. ALT düzeyleri incelendiğinde Grade 1 ve Grade 2 ile Grade 1 ve Grade 3 grupları arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) ancak Grade 2 ve Grade 3 grupları arasında anlamlı fark yoktu. Trigliserit düzeyleri incelendiğinde Grade 1 ve Grade 3 ile Grade 2 ve Grade 3 grupları arasında anlamlı fark mevcuttu ($p<0,05$) ancak Grade 1 ve Grade 2 grupları arasında anlamlı fark saptanmadı. Karaciğer yağlanma şiddeti arttıkça GGT, HbA1c ve açlık kan şekerinde de artış mevcuttu ancak istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Karaciğer yağlanma derecesine göre biyokimyasal veriler Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Karaciğer yağlanma derecesine göre biyokimyasal veriler

	Grade 1	Grade 2	Grade 3	P değeri
ALT	27,97 ^a ±17,97	49,63 ^b ±31,76	50,42 ^b ±27,28	0,001
AST	23,85±16,01	31±17,26	29,11±13,51	0,149
GGT	41,91±47,36	46,54±38,08	47,47±24,26	0,839
ALP	82,59±22,67	88,48±24,83	83,47±16,93	0,477
TOTAL BİLİRÜBİN	0,63±0,35	0,56±0,31	0,49±0,21	0,283
DİREKT BİLİRÜBİN	0,22±0,09	0,21±0,1	0,18±0,06	0,382
DİREKT LDL	137,97±32,06	137,85±41,21	140,79±49,58	0,961
TRİGLİSERİT	153,77 ^a ±76,52	173,17 ^a ±87,53	259,79 ^b ±224,61	0,010
HDL	47,74±12,27	45,74±11,15	42,77±11,12	0,325
VİTAMİN D	18,82±8,24	22,1±9,4	17,52±9,56	0,112
HBA1C	5,78±0,86	6,01±0,74	6,17±1,03	0,241
AÇLIK KAN ŞEKERİ	95,21±25,51	102,74±23,45	113±36,11	0,069
ALBÜMİN	47,15±2,53	47±3,75	44,81±5,08	0,061
TROMBOSİT	264441±69458	258043±56813	243894±42546	0,482

Aynı üst karakter harfe sahip değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Karaciğer yağlanma şiddeti arttıkça MDA düzeyleri artmış olarak bulundu. MDA düzeyleri incelendiğinde Grade 1 ve Grade 3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,05$) ancak Grade 2 ve diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. TAS düzeyi Grade 3 grubunda Grade 2 grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$) ancak Grade 1 ve diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. Karaciğer yağlanma şiddeti arttıkça TOS düzeylerinin arttığı gözlemlendi ancak istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (Şekil 4.2).



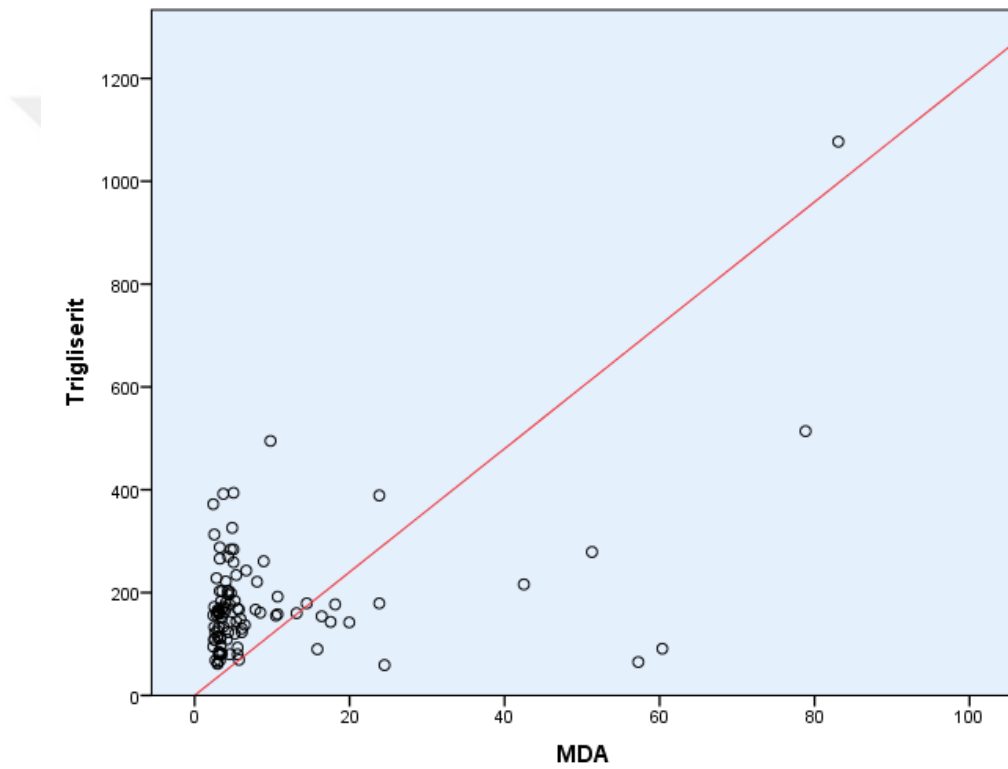
Şekil 4.2 Karaciğer yağlanma derecelerine göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri

TAS düzeyi Grade 1 grubunda $1,2 \pm 0,17$, Grade 2 grubunda $1,2 \pm 0,11$, Grade 3 grubunda $1,3 \pm 0,12$ bulundu ($p=0,024$). TOS düzeyi Grade 1 grubunda $2,56 \pm 1,37$, Grade 2 grubunda $3,37 \pm 1,73$ Grade 3 grubunda $3,46 \pm 2,32$ bulundu ($p=0,083$). MDA düzeyi Grade 1 grubunda $6,68 \pm 9,53$ Grade 2 grubunda $8,22 \pm 10,92$ Grade 3 grubunda $17,1 \pm 25,32$ bulundu ($p=0,035$). OSİ düzeyi Grade 1 grubunda $0,22 \pm 0,11$, Grade 2 grubunda $0,28 \pm 0,14$, Grade 3 grubunda $0,27 \pm 0,19$ bulundu ($p=0,109$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Karaciğer yağlanma derecesine göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri

	Grade 1	Grade 2	Grade 3	P değeri
TAS	1,2 ^{ab} ±0,17	1,2 ^a ±0,11	1,3 ^b ±0,12	0,024
TOS	2,56±1,37	3,37±1,73	3,46±2,32	0,083
MDA	6,68 ^a ±9,53	8,22 ^{ab} ±10,92	17,1 ^b ±25,32	0,035
OSİ	0,22±0,11	0,28±0,14	0,27±0,19	0,109

MDA ve trigliserit düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı (Şekil 4.3) (Tablo 4.7)

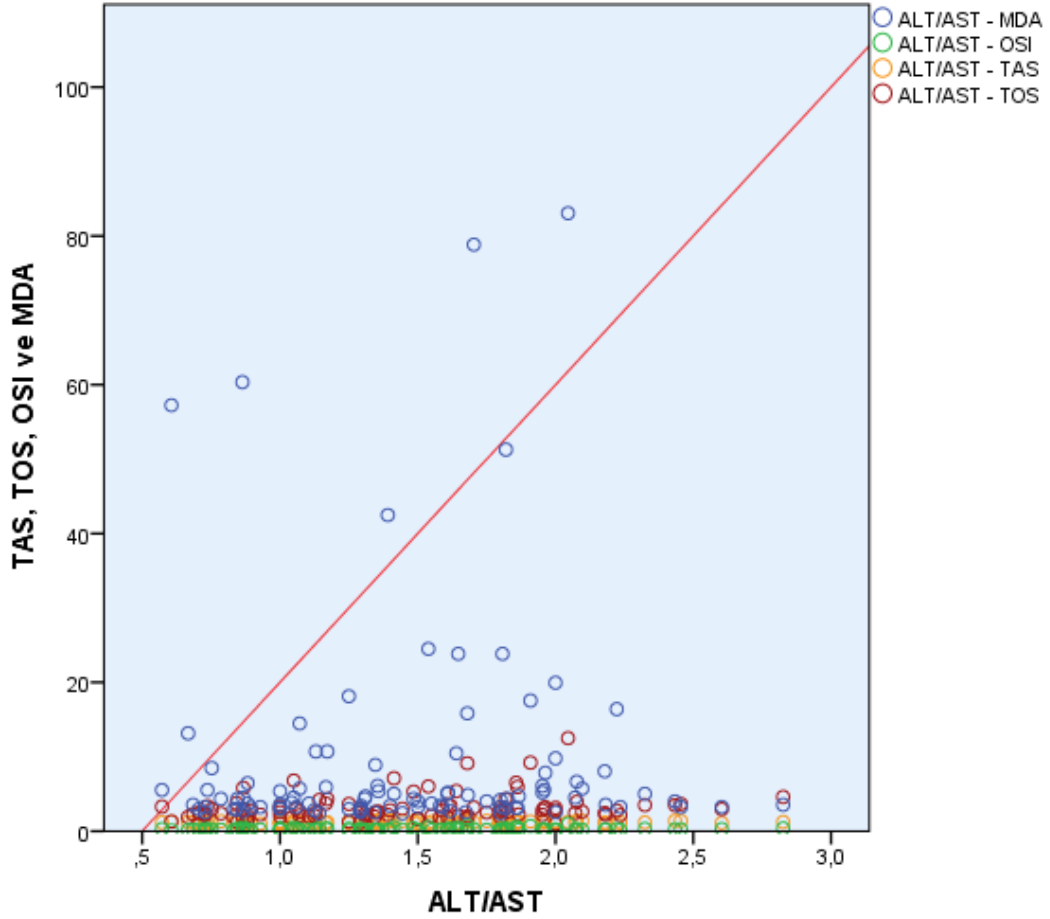


Şekil 4.3. MDA'nın trigliserit düzeyi ile korelasyonu

Tablo 4.7 MDA'nın trigliserit düzeyi ile korelasyonu

	TRİGLİSERİT	
	Korelasyon katsayısı	P değeri
MDA	0,493	0,000

ALT/AST oranına göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri incelendiğinde ALT/AST oranı ile TAS ve TOS düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ve istatistiksel anlamlı bulundu. ALT/AST oranı ile MDA ve OSİ arasında da pozitif korelasyon mevcuttu ancak istatistiksel anlamlı fark yoktu (Şekil 4.4) (Tablo 4.8).



Şekil 4.4 ALT/AST oranının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri ile korelasyonu

Tablo 4.8 ALT/AST oranının TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri ile korelasyonu

	ALT/AST	
	Korelasyon katsayısı	P değeri
TAS	0,231	0,021
TOS	0,219	0,029
MDA	0,041	0,685
OSİ	0,175	0,083

Tüm hastalar içerisinde DM olan 21 hasta, DM olmayan 79 hasta mevcuttu. Hastaların DM durumlarına göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri incelendiğinde DM olan hastalarda DM olmayan hastalara göre TOS, MDA ve OSİ düzeyleri daha yüksek saptandı ancak istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p=0,134$) ($p=0,128$) ($p=0,104$). TAS düzeyleri arasında da istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0,619$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9 Diyabetes Mellitus durumuna göre TAS, TOS, MDA ve OSİ düzeyleri

	DM (-) (N:78)	DM (+) (N:21)	P değeri
TAS	1,22±0,15	1,2±0,11	0,619
TOS	2,97±1,44	3,62±2,67	0,134
MDA	8,22±11,58	13,76±22,95	0,128
OSİ	0,25±0,12	0,3±0,22	0,104

5.TARTIŞMA

NAYKH aşırı alkol tüketimi olmadan özellikle Tip2DM ve obezite ile ilişkili olarak karaciğerde yağ birikimini ifade eder. NAYKH basit steatozdan, hafif inflamasyon ya da karaciğer nekrozu gibi çok çeşitli patolojik bulguları kapsayan bir tanımlamadır [1]. NASH ise hepatositlerde aşırı trigliserit birikimi (steatoz), inflamasyon, hasarlanma ve apopitozisin görüldüğü, NAYKH'nın ilerlemiş ciddi olan formudur [2]. Basit yağlanmanın prognozu iyi olmasına karşın NASH siroza ilerleyebilmekte ve HSK gelişebilmektedir. Ayrıca NASH görülen hastalarda kardiyovasküler mortalite oranı artmıştır [3].

NAYKH'na neden olan mekanizmalar halen net değildir [4]. 'Çoklu paralel darbe' modeline göre NAYKH'nın patofizyolojisi ve gelişiminde birçok neden rol oynamaktadır ve bu modele göre çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi söz konusudur. Bu faktörler; genetik polimorfizm, epigenetik değişimler, İD, diyet, fiziksel aktivite azlığı, obezite, adipokin disregülasyonu, lipotoksisite, OS, bağırsak florasının bozulması ve endokrin bozuklardan meydana gelmektedir [5].

NASH gelişiminde sıklıkla yağ birikimine dışında ek etiyolojik faktörler bulunmaktadır [6]. Yapılan birçok çalışma NAYKH'nın NASH'e ilerlemesinde OS'in önemli olduğunu göstermiştir [7]. Aşırı miktarda ROT üretimi ve oluşan OS lipit peroksidasyonu, azalmış mitokondriyal ve peroksizomal lipit oksidasyonu ve sitokin salınımına neden olarak inflamasyona, satelit hücrelerinin aktivasyonuna ve fibrozise neden olmaktadır [8]. Bu çalışmamızda basit yağlanma ve NASH'te oksidan ve antioksidan düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Basit yağlanmadan steatohepatite geçiş sürecinde OS'in majör faktörlerden biri olduğuna dair birçok kanıt mevcuttur [7]. Swiderska ve ark. [191] NAYKH ve kontrol grubu ile yaptığı çalışmada TOS düzeyini anlamlı düzeyde daha yüksek bulmuş. Swiderska ve ark. çalışmasında NAYKH olan hastaları iki gruba ayırmış, fibrozisi olmayan ve ALT düzeyleri normal olan hastaları erken NAYKH, fibrozisi olan ve ALT yüksekliği olan grubu ilerlemiş NAYKH olarak değerlendirmiş. TOS düzeyi kontrol grubunda en düşük, ilerlemiş NAYKH grubunda en yüksek bulunmuş. Çalışmamızda TOS düzeylerini NAYKH ve NASH grubunda sırasıyla

2,52±1,02 ve 3,69±2,15 bulduk. TOS düzeyi NASH grubunda NAYKH grubuna göre anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0,05$).

Seki ve ark. [192] NAYKH, NASH ve kontrol gruplarında lipit peroksidasyon belirteci olarak HNE ve oksidatif DNA hasarı belirteci olarak 8-hidroksideoksiguanozin'e (8-OHdG) karşı oluşan antikor düzeylerini incelemiş; NASH grubunda basit yağlanma ve kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde HNE ve 8-OHdG ekspresyonu yüksek bulunmuş.

Çalışmamızda yukarıda bahsedilen çalışmalara benzer olarak NASH hastalarında oksidatif stres belirteçleri daha yüksek saptanmış; TOS ve OSI düzeylerindeki yükseklik anlamlı bulunmuştur. Bulgularımız literatüre katkı sağlamıştır.

Swiderska ve ark. [191] MDA düzeyini NAYKH olan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuş. Kontrol grubu, erken NAYKH ve ilerlemiş NAYKH grupları arasında serum MDA düzeyi en düşük kontrol grubunda, en yüksek ilerlemiş NAYKH grubunda saptanmış. Hardwick ve ark. [193] hastalık progresyonu ile MDA düzeyinin anlamlı derecede yükseldiğini bulmuş. Moreto ve ark. [194] serum trigliserit düzeyi ve MDA arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiş. Nacitarhan ve ark. [195] hiperlipidemik diyabetik hastalarda serum MDA düzeyini non-diyabetik olan hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulmuş ($p<0,02$). Biz çalışmamızda MDA düzeylerini NAYKH ve NASH grubunda sırasıyla 8,17±12,41 ve 10,59±16,79 bulduk. Trigliserit düzeyi ve MDA arasında pozitif korelasyon mevcuttu ($R=0,493$) ($p<0,05$). MDA düzeyi NASH grubunda NAYKH grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen anlamlı fark mevcut değildi ($p=0,478$). MDA ve trigliserit düzeyi arasındaki korelasyon bahsedilen çalışmalarla uyumlu bulunmuştur ve literatüre katkı sağlamıştır.

Swiderska ve ark. [191] NAYKH' nda ALT aktivitesi ve TAS arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmiş ancak kontrol grubu, erken NAYKH ve ileri NAYKH grupları arasında TAS düzeyleri arasında anlamlı fark saptamamış. Park ve ark. [196] NASH ve kontrol grupları ile yaptığı çalışmada TAS düzeyini NASH hastalarında daha yüksek bulmuş. Hardwick ve ark. [193] yaptığı çalışmada karaciğer yağlanmasından steatohepatite geçiş sürecinde antioksidan cevabı incelemiş; hastalık progresyonu ile NADPH quinon-oksidaredüktaz (NQO1) ve

GSH bazı izoformlarının arttığını ancak bazı GSH izoformlarının azaldığını göstermiş. Videla ve ark. [197] enzimatik antioksidanlar olan KAT, SOD, GSH aktivitelerini NASH grubunda, steatoz grubuna göre daha düşük bulmuş, kontrol gruplarında ise en yüksek düzeyde bulmuş. Çalışmamızda ALT yüksekliği olan hastalar NASH grubu olarak incelendi ve NASH grubunda TAS anlamlı derecede yüksek saptandı. NAYKH ve NASH hastalarında TAS düzeyi sırasıyla $1,18 \pm 0,13$ ve $1,25 \pm 0,13$ bulundu ($p < 0,05$). Literatürde NASH'te antioksidanların hem arttığını hem de azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu durum karaciğer yağlanması başlangıç aşamasında yükselen oksidanlara karşı antioksidan savunma mekanizmaların artması, hastalığın ilerleyen evrelerinde ise antioksidan savunma mekanizmalarının tüketilmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu konuda daha ileri ve daha geniş çapta araştırmaların gerekli olduğunu düşünüyoruz.

Torun ve ark. [198] karaciğer yağlanma derecesi ve TAS arasında pozitif korelasyon olduğunu bulmuş. Çalışmamızda TAS düzeyi ve karaciğer yağlanma derecesi arasında pozitif korelasyon mevcuttu. TAS düzeyini Grade 1, Grade 2 ve Grade 3 gruplarında sırasıyla $1,2 \pm 0,17$, $1,2 \pm 0,11$, $1,3 \pm 0,12$ bulduk. Grade 2 ve Grade 3 grupları arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu ($p < 0,05$). Torun ve ark. [198] karaciğer yağlanma derecesi ile ALT arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiş. Torun ve ark. çocuklarda yaptığı çalışmada hastaları obez olmayan kontrol grubu, obez non-NAYKH grubu, obez Grade 1 NAYKH ve Grade 2-3 NAYKH olmak üzere 4 grup olarak incelemiş; Grade 2-3 yağlanmaya sahip grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede ALT yüksekliği olduğunu ($p < 0,01$), ayrıca Grade 1 yağlanması olan grupta da kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ALT yüksekliği olduğunu bulmuş ($p < 0,05$). Benzer şekilde Ghamar ve ark. [199] ALT yüksekliği olan hastalarda karaciğer yağlanma evresinde anlamlı yükseklik saptamış. Biz de çalışmamızda ALT düzeyi ve karaciğer yağlanma derecesi ile pozitif korelasyon olduğunu saptadık. ALT düzeyini Grade 1, Grade 2 ve Grade 3 gruplarında sırasıyla $27,97 \pm 17,97$, $49,63 \pm 31,76$, $50,42 \pm 27,28$ bulduk. Grade 1 ve Grade 2 ile Grade 1 ve Grade 3 arasında anlamlı derecede yükseklik mevcuttu ($p < 0,05$). Torun ve ark. [198] trigliserit düzeyi ve karaciğer yağlanma derecesi arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiş. Trigliserit düzeyi karaciğer yağlanması olan grupta, karaciğer yağlanması olmayan kontrol grubuna göre

anlamli düzeyde yu'kse'k bulunmu's (p<0,05). Total kolesterol du'zeyleri tu'm gruplarda benzer olarak saptanmi's (p=0,431). Çalışmamızda trigliserit du'zeyi ve karaciğer yağlanma derecesi ile pozitif korelasyon vardı. Trigliserit du'zeyini Grade 1, Grade 2 ve Grade 3 gruplarında sırasıyla 153,77±76,52, 173,17±87,53, 259,79±224,61 bulduk. Grade 1 ve Grade 3 ile Grade 2 ve Grade 3 arasında anlamli derecede yu'kse'klik mevcuttu (p<0,05). Foroughi ve ark. [200] VKİ artışı ile karaciğer yağlanma derecesinin anlamli düzeyde arttığını bulmu's. Benzer şekilde Saki ve Karamizadeh [201] ocuklarda yaptığı çalışmada VKİ artışı ile karaciğer yağlanma evresinde artış olduğunu göstermi's. Çalışmamızda kilo ve VKİ artışıyla beraber karaciğer yağlanma evresinde anlamli artış olduğunu bulduk (p<0,05). Karaciğer yağlanma derecesinin artışıyla VKİ'nin ve TAS, ALT ve trigliserit du'zeylerinin yu'kselmesi bahsedilen çalışmalarla uyumludur ve literatüre katkı sağlamıştır.

Swiderska ve ark. [191] yağlanma ve hastalık evresi artışı ile MDA du'zeyinin arttığını bulmu's. Nobili ve ark. [202] karaciğer yağlanması olan hastalarda hastalık evresinin artmasıyla MDA du'zeyinin arttığını göstermi's ancak karaciğer yağlanma derecesinin artışı ile anlamli MDA yu'kse'kliği bulmamı's. Çalışmamızda karaciğer yağlanmasının artışı ile MDA du'zeyinin arttığını saptadık. MDA du'zeylerini Grade 1, Grade 2, Grade 3 gruplarında sırasıyla 6,68±9,53, 8,22±10,92, 17,1±25,32 bulduk. Grade 1 ve Grade 3 grupları arasında MDA du'zeylerinde anlamli farklılık mevcuttu (p<0,05). MDA ve karaciğer yağlanma derecesi arasında bulduğumuz pozitif korelasyon literatürde yapılan bazı çalışmalara benzer bulunmakla beraber bazı çalışmalarda karaciğer yağlanma evresi ve MDA arasında anlamli farklılık bulunmaması nedeniyle bu konuda daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Riviere ve ark. [203] NASH hastalarında basit yağlanması olan hastalara göre anlamli trigliserit, açlık kan şekeri, AST, ALT, GGT yu'kse'kliği bulmu's. Riviere ve ark. alışmasında NASH ve basit yağlanması olan hastaları karaciğer biyopsisine göre ayırmı's. Çalışmamızda NASH grubundaki hastalarda basit yağlanması olan hastalara göre anlamli ALT, AST, GGT, açlık kan şekeri ve trigliserit yu'kse'kliği mevcuttu (p<0,05). Çalışmamızda NASH ve basit yağlanma ayrımı ALT cut-off değeri belirlenerek yapılmasından ötürü anlamli ALT yu'kse'kliği beklenen bir

durumdur. Ancak, NASH hastalarında basit yağlanması olan hastalara göre anlamlı AST, GGT, açlık kan şekeri ve trigliserit yüksekliği bahsedilen çalışma ile uyumludur ve literatüre katkı sağlamıştır.

Videla ve ark. [197] NASH, basit yağlanması olanlar ve kontrol grupları ile yaptığı çalışmada VKİ'ni en yüksek NASH grubunda en düşük kontrol grubunda saptamış. Çalışmada VKİ NASH ve basit yağlanması olan grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş ancak NASH ve basit yağlanması olan gruplar arasında anlamlı fark elde edilmemiş. Çalışmamızda VKİ, NASH grubunda NAYKH grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen anlamlı fark elde etmedik ($p=0,058$). Az sayıda hasta olması nedeniyle anlamlı fark elde edememiş olabiliriz.

ALT/AST oranı karaciğer yağlanma derecesini göstermede kullanılabilir. Bir çalışmada ALT/AST oranının karaciğerdeki yağlanma düzeyini tek başına ALT ya da AST düzeyinden daha kesin olarak tespit ettiği gösterilmiştir. Ancak, ALT/AST oranının NAYKH riskini saptamada kullanılabileceğini gösteren kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur [204]. Çalışmamızda ALT/AST oranının artışı ile TAS ve TOS düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptadık. Çalışmamızda aynı zamanda karaciğer yağlanma derecesi artışı ile TAS ve TOS düzeylerinin arttığını da saptadık. Bu anlamda her iki sonuç birbirleriyle paralel bulunmuştur. ALT/AST oranının NAYKH yağlanma derecesi ve OS ile ilişkisini gösteren kısıtlı sayıda çalışma olması nedeniyle daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

OS'in DM'nin patogenezi ve progresyonunda önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar artmaktadır [205]. Picu ve ark. [206] diyabetik hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre TOS düzeyini daha yüksek bulmuş ($p<0,05$). Bunun aksine TAS düzeyi diyabetik hastalarda diyabet olmayanlara göre daha düşük bulunmuş. Pan ve ark. [207] antioksidan enzimlerin diyabetik hastalarda düştüğünü, bunun tersine oksidanların yükseldiğini göstermiş. Serum MDA düzeyleri diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş ($p<0,05$). Çalışmamızda diyabetik olan ve olmayan hastalarda TAS düzeyini sırasıyla $1,20\pm0,11$ ve $1,22\pm0,15$ bulduk. TAS düzeyleri arasında her iki grupta benzerdi. TOS düzeyini diyabetik olan ve olmayan hastalarda sırasıyla $3,62\pm2,67$ ve $2,94\pm1,44$ bulduk. TOS düzeyi diyabetik grupta daha yüksek olmasına rağmen

anlamalı fark elde etmedik ($p=0,124$). MDA düzeyini diyabetik hastalarda $13,76\pm22,95$ ve diyabetik olmayan hastalarda $8,22\pm11,58$ bulduk. MDA ve OSİ düzeyleri diyabetik hastalarda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamalı değildi ($p=0,128$), ($p=0,104$). Çalışmamızda az sayıda diyabetik hasta olması nedeniyle TOS, TAS, OSİ ve MDA düzeylerinde anlamalı farklılık elde etmemiş olabiliriz.

Çalışmamızda NAYKH/NASH ayrımının biyopsi ile doğrulanmamış olması ve az sayıda hasta olması nedeniyle kısıtlılık bulunmaktadır. NAYKH ve NASH hastaları arasında TAS, TOS, OSİ, MDA ve çalışılan biyokimyasal parametrelerin beraber incelenmesi çalışmamızın üstünlüğüdür. Ayrıca literatürde NAYKH'ndan NASH'e geçişte oksidatif stres ilişkisini inceleyen çalışmalar olmakla beraber ulusal kaynaklarda daha önce yapılmış benzer tek bir çalışma olması nedeniyle de ulusal literatüre katkıda bulunduğumuzu düşünüyoruz.

6.SONUÇ

Sonuç olarak bulgularımız NAYKH'nın NASH'e progresyonunda OS'in arttığını göstermektedir. NASH hastalarında TAS, TOS, MDA ve OSİ artışı saptadık. TAS, TOS ve OSİ düzeylerindeki artışı istatistiksel anlamlı bulduk. Karaciğer yağlanma derecesinin artmasıyla TAS ve MDA düzeyinde anlamlı yükseklik saptadık. Karaciğer yağlanma derecesinin artışıyla aynı zamanda anlamlı ALT ve trigliserit yüksekliği mevcuttu. MDA ve trigliserit düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardı.

Karaciğer yağlanma derecesinin artması ve steatohepatite geçiş evresinde OS'in artması, karaciğer yağlanmasında OS'i azaltmaya yönelik tedavilerin geliştirilmesinde bir neden olabilir.

7.ÖZET

GİRİŞ: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) aşırı alkol tüketimi olmadan özellikle Tip 2 Diyabetes Mellitus (Tip2DM) ve obezite ile ilişkili olarak karaciğerde yağ birikimini ifade eder. Non-alkolik steatohepatit (NASH) ise hepatositlerde aşırı trigliserit birikimi (steatoz), inflamasyon, hasarlanma ve apopitozisin görüldüğü, NAYKH'nın ilerlemiş ciddi olan formudur. Basit yağlanmanın prognozu iyi olmasına karşın NASH siroza ilerleyebilmekte ve hepatosellüler kanser gelişebilmektedir. NAYKH'na neden olan mekanizmalar halen net değildir. 'Çoklu paralel darbe' modeline göre NAYKH'nın patofizyolojisi ve gelişiminde birçok neden rol oynamaktadır ve bu nedenler; genetik polimorfizm, epigenetik değişimler, insülin direnci, diyet, fiziksel aktivite azlığı, obezite, adipokin disregülasyonu, lipotoksisite, oksidatif stres, bağırsak florasının bozulması ve endokrin bozuklardan meydana gelmektedir. NASH gelişiminde sıklıkla yağ birikimine dışında ek etiyolojik faktörler bulunmaktadır. Yapılan birçok çalışma NAYKH'nın NASH'e ilerlemesinde oksidatif stresin önemli olduğunu göstermiştir. Bu çalışmamızda basit yağlanma ve NASH' te oksidan ve antioksidan düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Böylelikle basit yağlanmadan NASH'e geçişte oksidatif stresin rolü değerlendirilecektir.

MATERYAL-METOD: Çalışmaya ultrasonografi ile karaciğer yağlanması saptanan 99 hasta dahil edildi. ALT düzeyi normal olan 49 hasta basit yağlanma (NAYKH) grubunda, ALT yüksekliği bulunan 50 hasta steatohepatit (NASH) grubunda değerlendirildi. Hastalar ultrasonografide ekojenite artışına göre Grade 1, Grade 2, Grade 3 olarak 3 gruba ayrıldı. Tüm hastaların rutin biyokimyasal parametreleri ve Total Antioksidan Status (TAS), Total Oksidan Status (TOS), Malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü. Tüm hastaların boy ve kilo ölçümleri yapıldı ve kilo/boyun metrekaresi formülü ile vücut kitle indeksi (VKİ) hesaplandı. Tüm hastalarda TOS/TAS formülü ile oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı. Çalışma verilerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 20.0 programı kullanıldı. Kategorik verilerin gruplar arası dağılımını incelemek amacıyla ise Ki-kare testi kullanıldı. Numerik verilerin normalite ve homojenite analizleri Kolmogorov-Simirnov ve Levene's testleri ile yapıldı. Numerik verilerin gruplar

arası karşılaştırılması Mann Whitney U ve bağımsız örneklemede T testi kullanılarak yapıldı. Ayrıca iki numerik değişkenin korelasyonunu incelemek amacıyla Pearson ve Spearman's korelasyon testleri kullanıldı. Tüm verilerin değerlendirilmesinde %95 güven aralığı ($p= 0,05$) uygulandı. $p<0,05$ değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi.

BULGULAR: Yapılan istatistik verilerine göre NASH grubunda NAYKH grubuna göre anlamlı TAS, TOS ve OSİ yüksekliği mevcuttu ($p<0,05$). MDA düzeyi NASH grubunda NAYKH grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlı değildi ($p=0,418$). Karaciğer yağlanma derecesinin artışı ile TAS ve MDA düzeyinde anlamlı artış elde ettik ($p<0,05$). Karaciğer yağlanma derecesinin artmasıyla TOS düzeyinde artış olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark elde etmedik ($p=0,083$). VKİ'nin artışı ile karaciğer yağlanma evresinde anlamlı artış mevcuttu ($p<0,05$). Triglicerit ve ALT düzeyleri karaciğer yağlanma evresinin artışıyla anlamlı düzeyde yükselmekteydi ($p<0,05$). MDA düzeyi ve triglicerit arasında pozitif korelasyon mevcuttu ($r=0,493$) ($p<0,05$). NASH grubunda NAYKH grubuna göre anlamlı AST, ALT, GGT, ALP, triglicerit, açlık kan şekeri yüksekliği mevcuttu ($p<0,05$).

SONUÇ: NASH gelişiminde oksidatif stresin anahtar rol oynaması nedeniyle, oksidatif stresi azaltmaya yönelik tedaviler basit yağlanmanın steatohepatite ilerlemesini engellemede faydalı olabilir.

8.SUMMARY

INTRODUCTION: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by fat accumulation in the liver without excessive alcohol intake in association with Type-2 Diabetes and obesity. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is the advanced and severe form of NAFLD and defined by the presence of inflammation, injury and apoptosis in hepatocytes. While the prognosis of simple steatosis is favorable, NASH may progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The mechanisms that cause NAFLD are still unclear. In a multiple- parallel-hit model, various factors play a role in the pathophysiology of NAFLD and these include; genetic polymorphism, epigenetic alterations, insulin resistance, diet, lack of physical activity, obesity, dysregulation of adipokines, lipotoxicity, oxidative stress, disruption of the intestinal flora and endocrine disorders. Additional etiological factors except that fat accumulation are usually present in the development of NASH. Many studies have shown that oxidative stress is pivotal in the progression of NAFLD to NASH. This study aimed to evaluate oxidants and antioxidants in simple steatosis and NASH and the role of oxidative stress in the progression of NAFLD to NASH.

MATERIALS AND METHODS: A total of 99 patients diagnosed steatosis with ultrasonography were enrolled in the study. The patients were divided into two groups; 49 patients with normal serum ALT were in NAFLD group and 50 patients with high serum ALT were in NASH group. According the level of increase in echogenicity in ultrasonography, patients were classified into three groups as Grade 1, Grade 2 and Grade 3. The biochemical parameters and Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS), Malondialdehyde (MDA) were measured. Height and weight measurements of all patients were done and body mass index (BMI) was calculated using the formula weight/square meters. Oxidative Stress Index (OSI) was calculated using the formula TOS/TAS. The study data was statistically analyzed using SPSS 20.0 programme. Chi-square test was used to evaluate the distribution of categorical data between groups. Normality and

homogeneity of numerical data were analyzed using Kolmogorov-Smirnov and Levene's tests. Mann Whitney U test was used in comparison of numerical data between groups and T test was used in independent sampling. In addition, Pearson and Spearman's tests were used to analyze the correlation of two variables. The 95% level of confidence interval ($p=0,05$) was applied to evaluate all data. A value of $p<0,05$ was considered statistically significant.

RESULTS: In statistical analyses TAS, TOS levels and OSI were significantly higher in the NASH group compared to the NAFLD group ($p<0,05$). MDA levels were higher in the NASH group than the NAFLD group, but there was no significant difference between groups ($p=0,418$). TAS and MDA levels increased as the severity of liver fat increased and were statistically significant ($p<0,05$). Although TOS levels increased as the severity of liver fat increased, there was no significant difference ($p=0,083$). As the triglyceride and ALT levels and BMI measures increased, the degree of liver fat increased and were statistically significant ($p<0,05$). Positive correlation was found between MDA and triglyceride levels ($r=0,493$) ($p<0,05$). The patients in the NASH group had significant higher levels of AST, ALT, GGT, ALP, triglyceride and fasting blood glucose compared to the NAFLD group ($p<0,05$).

CONCLUSIONS: Because oxidative stress has a key role in the development of NASH, treatments aimed to reduce oxidative stress may contribute to prevent or slowdown the progression of NAFLD to NASH.

9. KAYNAKLAR

1. Powell EE, Wong VW, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet*. 2021;397(10290):2212-24. doi:10.1016/s0140-6736(20)32511-3.
2. Raza S, Rajak S, Upadhyay A, Tewari A, Anthony Sinha R. Current treatment paradigms and emerging therapies for NAFLD/NASH. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2021;26:206-37. doi:10.2741/4892.
3. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274-85. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x.
4. Cobbina E, Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) - pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metab Rev*. 2017;49(2):197-211. doi:10.1080/03602532.2017.1293683.
5. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism*. 2019;92:82-97. doi:10.1016/j.metabol.2018.11.014.
6. Dornas W, Schuppan D. Mitochondrial oxidative injury: a key player in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020;319(3):G400-g11. doi:10.1152/ajpgi.00121.2020.
7. Borrelli A, Bonelli P, Tuccillo FM, Goldfine ID, Evans JL, Buonaguro FM et al. Role of gut microbiota and oxidative stress in the progression of non-alcoholic fatty liver disease to hepatocarcinoma: Current and innovative therapeutic approaches. *Redox Biol*. 2018;15:467-79. doi:10.1016/j.redox.2018.01.009.
8. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimipoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci*. 2019;19(7):994-1003. doi:10.1080/17461391.2019.1571114.

9. Kehrer JP, Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. *Crit Rev Toxicol*. 2015;45(9):765-98. doi:10.3109/10408444.2015.1074159.
10. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism*. 2000;49(2 Suppl 1):3-8. doi:10.1016/s0026-0495(00)80077-3.
11. Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *J Food Biochem*. 2020;44(3):e13145. doi:10.1111/jfbc.13145.
12. D'Autréaux B, Toledano MB. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(10):813-24. doi:10.1038/nrm2256.
13. Brieger K, Schiavone S, Miller FJ, Jr., Krause KH. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly*. 2012;142:w13659. doi:10.4414/smw.2012.13659.
14. Que X, Hung MY, Yeang C, Gonen A, Prohaska TA, Sun X et al. Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolaemic mice. *Nature*. 2018;558(7709):301-6. doi:10.1038/s41586-018-0198-8.
15. Zarkovic K, Jakovcevic A, Zarkovic N. Contribution of the HNE-immunohistochemistry to modern pathological concepts of major human diseases. *Free Radic Biol Med*. 2017;111:110-26. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.009.
16. Łuczaj W, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radic Biol Med*. 2017;111:87-101. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.033.
17. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438. doi:10.1155/2014/360438.
18. Su LJ, Zhang JH, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D et al. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:5080843. doi:10.1155/2019/5080843.
19. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*. 1996;12(4):274-7. doi:10.1016/s0899-9007(96)00000-8.

20. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40. doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009.
21. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:9829176. doi:10.1155/2020/9829176.
22. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991;91(3c):14s-22s. doi:10.1016/0002-9343(91)90279-7.
23. Tian T, Wang Z, Zhang J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:4535194. doi:10.1155/2017/4535194.
24. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003;17(1):24-38. doi:10.1002/jbt.10058.
25. Cataldo I, Sarcognato S, Sacchi D, Cacciatore M, Bacciorri F, Mangia A et al. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Pathologica.* 2021;113(3):194-202. doi:10.32074/1591-951x-242.
26. Li W, Alazawi W. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Med (Lond).* 2020;20(5):509-12. doi:10.7861/clinmed.2020-0696.
27. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol.* 2015;62(1 Suppl):S47-64. doi:10.1016/j.jhep.2014.12.012.
28. Juanola O, Martínez-López S, Francés R, Gómez-Hurtado I. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Metabolic, Genetic, Epigenetic and Environmental Risk Factors. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(10). doi:10.3390/ijerph18105227.
29. Papatheodoridi M, Cholongitas E. Diagnosis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Current Concepts. *Curr Pharm Des.* 2018;24(38):4574-86. doi:10.2174/1381612825666190117102111.
30. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *J Hepatol.* 2019;70(3):531-44. doi:10.1016/j.jhep.2018.10.033.

31. Campos-Murguía A, Ruiz-Margáin A, González-Regueiro JA, Macías-Rodríguez RU. Clinical assessment and management of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2020;26(39):5919-43. doi:10.3748/wjg.v26.i39.5919.
32. Huang TD, Behary J, Zekry A. Non-alcoholic fatty liver disease: a review of epidemiology, risk factors, diagnosis and management. *Intern Med J*. 2020;50(9):1038-47. doi:10.1111/imj.14709.
33. Maurice J, Manousou P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Med (Lond)*. 2018;18(3):245-50. doi:10.7861/clinmedicine.18-3-245.
34. Bertot LC, Adams LA. Trends in hepatocellular carcinoma due to non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;13(2):179-87. doi:10.1080/17474124.2019.1549989.
35. Liu K, McCaughan GW. Epidemiology and Etiologic Associations of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Associated HCC. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1061:3-18. doi:10.1007/978-981-10-8684-7_2.
36. Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol*. 2018;68(2):268-79. doi:10.1016/j.jhep.2017.09.003.
37. Lu FB, Hu ED, Xu LM, Chen L, Wu JL, Li H et al. The relationship between obesity and the severity of non-alcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;12(5):491-502. doi:10.1080/17474124.2018.1460202.
38. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol*. 2014;20(28):9330-7. doi:10.3748/wjg.v20.i28.9330.
39. Al-Dayyat HM, Rayyan YM, Tayyem RF. Non-alcoholic fatty liver disease and associated dietary and lifestyle risk factors. *Diabetes Metab Syndr*. 2018;12(4):569-75. doi:10.1016/j.dsx.2018.03.016.
40. Calzadilla Bertot L, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5). doi:10.3390/ijms17050774.
41. Ter Horst KW, Serlie MJ. Fructose Consumption, Lipogenesis, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*. 2017;9(9). doi:10.3390/nu9090981.

42. Katsiki N, Mikhailidis DP, Mantzoros CS. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism*. 2016;65(8):1109-23. doi:10.1016/j.metabol.2016.05.003.
43. Geng Y, Faber KN, de Meijer VE, Blokzijl H, Moshage H. How does hepatic lipid accumulation lead to lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease? *Hepatol Int*. 2021;15(1):21-35. doi:10.1007/s12072-020-10121-2.
44. Mato JM, Alonso C, Nouredin M, Lu SC. Biomarkers and subtypes of deranged lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2019;25(24):3009-20. doi:10.3748/wjg.v25.i24.3009.
45. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016;65(8):1038-48. doi:10.1016/j.metabol.2015.12.012.
46. Scapaticci S, D'Adamo E, Mohn A, Chiarelli F, Giannini C. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obese Youth With Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:639548. doi:10.3389/fendo.2021.639548.
47. Mantovani A, Byrne CD, Bonora E, Targher G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Risk of Incident Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. *Diabetes Care*. 2018;41(2):372-82. doi:10.2337/dc17-1902.
48. Khan RS, Bril F, Cusi K, Newsome PN. Modulation of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2019;70(2):711-24. doi:10.1002/hep.30429.
49. Zhang J, Zhao Y, Xu C, Hong Y, Lu H, Wu J et al. Association between serum free fatty acid levels and nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *Sci Rep*. 2014;4:5832. doi:10.1038/srep05832.
50. Li R, Toan S, Zhou H. Role of mitochondrial quality control in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(7):6467-85. doi:10.18632/aging.102972.
51. Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, Petrosillo G. Oxidative stress, cardiolipin and mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(39):14205-18. doi:10.3748/wjg.v20.i39.14205.

52. Begriche K, Massart J, Robin MA, Bonnet F, Fromenty B. Mitochondrial adaptations and dysfunctions in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2013;58(4):1497-507. doi:10.1002/hep.26226.
53. Chen Z, Tian R, She Z, Cai J, Li H. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med*. 2020;152:116-41. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025.
54. Ore A, Akinloye OA. Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Clinical and Experimental Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(2). doi:10.3390/medicina55020026.
55. Leghi GE, Domenici FA, Vannucchi H. INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS AND OBESITY IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS. *Arq Gastroenterol*. 2015;52(3):228-33. doi:10.1590/s0004-28032015000300014.
56. Irie M, Sohda T, Anan A, Fukunaga A, Takata K, Tanaka T et al. Reduced Glutathione suppresses Oxidative Stress in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2016;6(1):13-8. doi:10.5005/jp-journals-10018-1159.
57. Kumar A, Sharma A, Duseja A, Das A, Dhiman RK, Chawla YK et al. Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) have Higher Oxidative Stress in Comparison to Chronic Viral Hepatitis. *J Clin Exp Hepatol*. 2013;3(1):12-8. doi:10.1016/j.jceh.2012.10.009.
58. Fang YL, Chen H, Wang CL, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From "two hit theory" to "multiple hit model". *World J Gastroenterol*. 2018;24(27):2974-83. doi:10.3748/wjg.v24.i27.2974.
59. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49(6):1877-87. doi:10.1002/hep.22848.
60. Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A et al. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr*. 2008;138(8):1452-5. doi:10.1093/jn/138.8.1452.

61. Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci.* 2007;32(5):453-68. doi:10.2131/jts.32.453.
62. Suk KT, Kim DJ. Gut microbiota: novel therapeutic target for nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13(3):193-204. doi:10.1080/17474124.2019.1569513.
63. Chassaing B, Etienne-Mesmin L, Gewirtz AT. Microbiota-liver axis in hepatic disease. *Hepatology.* 2014;59(1):328-39. doi:10.1002/hep.26494.
64. Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology.* 2016;63(3):764-75. doi:10.1002/hep.28356.
65. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012;486(7402):222-7. doi:10.1038/nature11053.
66. Machado M, Cortez-Pinto H. Nash, insulin resistance and iron. *Liver Int.* 2006;26(10):1159-62. doi:10.1111/j.1478-3231.2006.01394.x.
67. Wrede CE, Buettner R, Bollheimer LC, Schölmerich J, Palitzsch KD, Hellerbrand C. Association between serum ferritin and the insulin resistance syndrome in a representative population. *Eur J Endocrinol.* 2006;154(2):333-40. doi:10.1530/eje.1.02083.
68. Fargion S, Mattioli M, Fracanzani AL, Sampietro M, Tavazzi D, Fociani P et al. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(8):2448-55. doi:10.1111/j.1572-0241.2001.04052.x.
69. Buzzetti E, Petta S, Manuguerra R, Luong TV, Cabibi D, Corradini E et al. Evaluating the association of serum ferritin and hepatic iron with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2019;39(7):1325-34. doi:10.1111/liv.14096.
70. Britton LJ, Subramaniam VN, Crawford DH. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2016;22(36):8112-22. doi:10.3748/wjg.v22.i36.8112.

71. Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, Vanni E, Longo F, Leone N et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology*. 2004;39(1):179-87. doi:10.1002/hep.20023.
72. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N et al. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012;55(1):77-85. doi:10.1002/hep.24706.
73. Fujita N, Miyachi H, Tanaka H, Takeo M, Nakagawa N, Kobayashi Y et al. Iron overload is associated with hepatic oxidative damage to DNA in nonalcoholic steatohepatitis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(2):424-32. doi:10.1158/1055-9965.Epi-08-0725.
74. Berná G, Romero-Gomez M. The role of nutrition in non-alcoholic fatty liver disease: Pathophysiology and management. *Liver Int*. 2020;40 Suppl 1:102-8. doi:10.1111/liv.14360.
75. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003;37(4):909-16. doi:10.1053/jhep.2003.50132.
76. Perdomo CM, Frühbeck G, Escalada J. Impact of Nutritional Changes on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*. 2019;11(3). doi:10.3390/nu11030677.
77. Pickett-Blakely O, Young K, Carr RM. Micronutrients in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Pathogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2018;6(4):451-62. doi:10.1016/j.jcmgh.2018.07.004.
78. Eslam M, George J. Genetic and epigenetic mechanisms of NASH. *Hepatol Int*. 2016;10(3):394-406. doi:10.1007/s12072-015-9689-y.
79. Schwimmer JB, Celedon MA, Lavine JE, Salem R, Campbell N, Schork NJ et al. Heritability of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2009;136(5):1585-92. doi:10.1053/j.gastro.2009.01.050.
80. Guerrero R, Vega GL, Grundy SM, Browning JD. Ethnic differences in hepatic steatosis: an insulin resistance paradox? *Hepatology*. 2009;49(3):791-801. doi:10.1002/hep.22726.

81. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40(6):1387-95. doi:10.1002/hep.20466.
82. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84. doi:10.1002/hep.28431.
83. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40(12):1461-5. doi:10.1038/ng.257.
84. Petta S, Grimaudo S, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, Licata G et al. IL28B and PNPLA3 polymorphisms affect histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2012;56(6):1356-62. doi:10.1016/j.jhep.2012.01.007.
85. Eslam M, Hashem AM, Leung R, Romero-Gomez M, Berg T, Dore GJ et al. Interferon- λ rs12979860 genotype and liver fibrosis in viral and non-viral chronic liver disease. *Nat Commun*. 2015;6:6422. doi:10.1038/ncomms7422.
86. Donati B, Dongiovanni P, Romeo S, Meroni M, McCain M, Miele L et al. MBOAT7 rs641738 variant and hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic individuals. *Sci Rep*. 2017;7(1):4492. doi:10.1038/s41598-017-04991-0.
87. Mavilia MG, Wu GY. Liver and serum adiponectin levels in non-alcoholic fatty liver disease. *J Dig Dis*. 2021;22(4):214-21. doi:10.1111/1751-2980.12980.
88. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2011;17(23):2801-11. doi:10.3748/wjg.v17.i23.2801.
89. Polyzos SA, Toulis KA, Goulis DG, Zavos C, Kountouras J. Serum total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2011;60(3):313-26. doi:10.1016/j.metabol.2010.09.003.
90. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1062-79. doi:10.1016/j.metabol.2015.11.006.

91. Zhang H, Niu Y, Gu H, Lu S, Zhang W, Li X et al. Low serum adiponectin is a predictor of progressing to nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Lab Anal*. 2019;33(3):e22709. doi:10.1002/jcla.22709.
92. Baltieri L, Chaim EA, Chaim FDM, Utrini MP, Gestic MA, Cazzo E. CORRELATION BETWEEN NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE FEATURES AND LEVELS OF ADIPOKINES AND INFLAMMATORY CYTOKINES AMONG MORBIDLY OBESE INDIVIDUALS. *Arq Gastroenterol*. 2018;55(3):247-51. doi:10.1590/s0004-2803.201800000-62.
93. Jamali R, Razavizade M, Arj A, Aarabi MH. Serum adipokines might predict liver histology findings in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22(21):5096-103. doi:10.3748/wjg.v22.i21.5096.
94. Musso G, Gambino R, Biroli G, Carello M, Fagà E, Pacini G et al. Hypoadiponectinemia predicts the severity of hepatic fibrosis and pancreatic Beta-cell dysfunction in nondiabetic nonobese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(11):2438-46. doi:10.1111/j.1572-0241.2005.00297.x.
95. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de Iasio R et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(6):3498-504. doi:10.1210/jc.2004-2240.
96. Gao X, Fan JG. Diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease and related metabolic disorders: consensus statement from the Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. *J Diabetes*. 2013;5(4):406-15. doi:10.1111/1753-0407.12056.
97. Newton JL. Systemic symptoms in non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis*. 2010;28(1):214-9. doi:10.1159/000282089.
98. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol*. 2006;45(4):600-6. doi:10.1016/j.jhep.2006.06.013.
99. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;363(14):1341-50. doi:10.1056/NEJMra0912063.

100. Attar BM, Van Thiel DH. Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:481893. doi:10.1155/2013/481893.
101. Kotronen A, Westerbacka J, Bergholm R, Pietiläinen KH, Yki-Järvinen H. Liver fat in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(9):3490-7. doi:10.1210/jc.2007-0482.
102. Jennison E, Patel J, Scorletti E, Byrne CD. Diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease. *Postgrad Med J*. 2019;95(1124):314-22. doi:10.1136/postgradmedj-2018-136316.
103. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 1999;30(6):1356-62. doi:10.1002/hep.510300604.
104. Joka D, Wahl K, Moeller S, Schlue J, Vaske B, Bahr MJ et al. Prospective biopsy-controlled evaluation of cell death biomarkers for prediction of liver fibrosis and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2012;55(2):455-64. doi:10.1002/hep.24734.
105. Qi S, Xu D, Li Q, Xie N, Xia J, Huo Q et al. Metabonomics screening of serum identifies pyroglutamate as a diagnostic biomarker for nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta*. 2017;473:89-95. doi:10.1016/j.cca.2017.08.022.
106. Shen J, Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chan HY et al. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers. *J Hepatol*. 2012;56(6):1363-70. doi:10.1016/j.jhep.2011.12.025.
107. Ajmera V, Perito ER, Bass NM, Terrault NA, Yates KP, Gill R et al. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2017;65(1):65-77. doi:10.1002/hep.28776.
108. Araújo AR, Rosso N, Bedogni G, Tiribelli C, Bellentani S. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. *Liver Int*. 2018;38 Suppl 1:47-51. doi:10.1111/liv.13643.

109. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64(6):1388-402. doi:10.1016/j.jhep.2015.11.004.
110. Lee DH. Imaging evaluation of non-alcoholic fatty liver disease: focused on quantification. *Clin Mol Hepatol.* 2017;23(4):290-301. doi:10.3350/cmh.2017.0042.
111. Miele L, Zocco MA, Pizzolante F, De Matthaeis N, Ainora ME, Liguori A et al. Use of imaging techniques for non-invasive assessment in the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2020;112:154355. doi:10.1016/j.metabol.2020.154355.
112. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2019;156(5):1264-81.e4. doi:10.1053/j.gastro.2018.12.036.
113. Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol.* 2011;21(1):87-97. doi:10.1007/s00330-010-1905-5.
114. Lee SS, Park SH, Kim HJ, Kim SY, Kim MY, Kim DY et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatol.* 2010;52(4):579-85. doi:10.1016/j.jhep.2010.01.008.
115. Lin SC, Heba E, Wolfson T, Ang B, Gamst A, Han A et al. Noninvasive Diagnosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Quantification of Liver Fat Using a New Quantitative Ultrasound Technique. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(7):1337-45.e6. doi:10.1016/j.cgh.2014.11.027.
116. Muthupillai R, Lomas DJ, Rossman PJ, Greenleaf JF, Manduca A, Ehman RL. Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating acoustic strain waves. *Science.* 1995;269(5232):1854-7. doi:10.1126/science.7569924.
117. 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. doi:10.1053/j.gastro.2016.10.026.

118. Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *J Magn Reson Imaging*. 2011;34(4):729-49. doi:10.1002/jmri.22775.
119. Dulai PS, Sirlin CB, Loomba R. MRI and MRE for non-invasive quantitative assessment of hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD and NASH: Clinical trials to clinical practice. *J Hepatol*. 2016;65(5):1006-16. doi:10.1016/j.jhep.2016.06.005.
120. Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol*. 2009;51(3):433-45. doi:10.1016/j.jhep.2009.05.023.
121. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123(3):745-50. doi:10.1053/gast.2002.35354.
122. Nascimbeni F, Loria P, Ratzliff V. Non-alcoholic fatty liver disease: diagnosis and investigation. *Dig Dis*. 2014;32(5):586-96. doi:10.1159/000360510.
123. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001;344(7):495-500. doi:10.1056/nejm200102153440706.
124. Boyd A, Cain O, Chauhan A, Webb GJ. Medical liver biopsy: background, indications, procedure and histopathology. *Frontline Gastroenterol*. 2020;11(1):40-7. doi:10.1136/flgastro-2018-101139.
125. Harrison SA, Day CP. Benefits of lifestyle modification in NAFLD. *Gut*. 2007;56(12):1760-9. doi:10.1136/gut.2006.112094.
126. Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World J Gastroenterol*. 2017;23(36):6549-70. doi:10.3748/wjg.v23.i36.6549.
127. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, Shulman GI. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(3):603-8. doi:10.2337/diabetes.54.3.603.
128. Simopoulos AP. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and high fructose intake in the development of metabolic syndrome, brain metabolic abnormalities,

- and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*. 2013;5(8):2901-23. doi:10.3390/nu5082901.
129. Elhence A, Shalimar. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease - Current perspectives. *Indian J Gastroenterol*. 2020;39(1):22-31. doi:10.1007/s12664-020-01021-2.
 130. Oh S, Shida T, Yamagishi K, Tanaka K, So R, Tsujimoto T et al. Moderate to vigorous physical activity volume is an important factor for managing nonalcoholic fatty liver disease: a retrospective study. *Hepatology*. 2015;61(4):1205-15. doi:10.1002/hep.27544.
 131. Zelber-Sagi S, Kessler A, Brazowsky E, Webb M, Lurie Y, Santo M et al. A double-blind randomized placebo-controlled trial of orlistat for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(5):639-44. doi:10.1016/j.cgh.2006.02.004.
 132. Sabuncu T, Nazligul Y, Karaoglanoglu M, Ucar E, Kilic FB. The effects of sibutramine and orlistat on the ultrasonographic findings, insulin resistance and liver enzyme levels in obese patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Rom J Gastroenterol*. 2003;12(3):189-92.
 133. Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med*. 2004;351(11):1106-18. doi:10.1056/NEJMr041001.
 134. Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, Glass L, Cersosimo E et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(1):200-6. doi:10.1210/jc.2003-031315.
 135. Caldwell SH, Hespenheide EE, Redick JA, Iezzoni JC, Battle EH, Sheppard BL. A pilot study of a thiazolidinedione, troglitazone, in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(2):519-25. doi:10.1111/j.1572-0241.2001.03553.x.
 136. Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, Lawson A, Ryder SD, Spendlove I et al. Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1176-84. doi:10.1053/j.gastro.2008.06.047.

137. Ratziu V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hartemann-Heurtier A, Serfaty L et al. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology*. 2008;135(1):100-10. doi:10.1053/j.gastro.2008.03.078.
138. Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, Promrat K, Heller T, Ghany M et al. The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2007;46(2):424-9. doi:10.1002/hep.21661.
139. Juurlink DN, Gomes T, Lipscombe LL, Austin PC, Hux JE, Mamdani MM. Adverse cardiovascular events during treatment with pioglitazone and rosiglitazone: population based cohort study. *Bmj*. 2009;339:b2942. doi:10.1136/bmj.b2942.
140. Loomba R, Lutchman G, Kleiner DE, Ricks M, Feld JJ, Borg BB et al. Clinical trial: pilot study of metformin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(2):172-82. doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03869.x.
141. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet*. 2016;387(10019):679-90. doi:10.1016/s0140-6736(15)00803-x.
142. Patel SS, Siddiqui MS. Current and Emerging Therapies for Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Drugs*. 2019;79(1):75-84. doi:10.1007/s40265-018-1040-1.
143. Patel SS, Guzman LA, Lin FP, Pence T, Reichman T, John B et al. Utilization of aspirin and statin in management of coronary artery disease in patients with cirrhosis undergoing liver transplant evaluation. *Liver Transpl*. 2018;24(7):872-80. doi:10.1002/lt.25067.
144. Kamal S, Khan MA, Seth A, Cholankeril G, Gupta D, Singh U et al. Beneficial Effects of Statins on the Rates of Hepatic Fibrosis, Hepatic Decompensation, and Mortality in Chronic Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*. 2017;112(10):1495-505. doi:10.1038/ajg.2017.170.
145. Hyogo H, Tazuma S, Arihiro K, Iwamoto K, Nabeshima Y, Inoue M et al. Efficacy of atorvastatin for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis with

- dyslipidemia. Metabolism. 2008;57(12):1711-8. doi:10.1016/j.metabol.2008.07.030.
146. Kargiotis K, Athyros VG, Gioulema O, Katsiki N, Katsiki E, Anagnostis P et al. Resolution of non-alcoholic steatohepatitis by rosuvastatin monotherapy in patients with metabolic syndrome. *World J Gastroenterol*. 2015;21(25):7860-8. doi:10.3748/wjg.v21.i25.7860.
147. Nelson A, Torres DM, Morgan AE, Fincke C, Harrison SA. A pilot study using simvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: A randomized placebo-controlled trial. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43(10):990-4. doi:10.1097/MCG.0b013e31819c392e.
148. Assy N, Grozovski M, Bersudsky I, Szvalb S, Hussein O. Effect of insulin-sensitizing agents in combination with ezetimibe, and valsartan in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2006;12(27):4369-76. doi:10.3748/wjg.v12.i27.4369.
149. Zheng S, Hoos L, Cook J, Tetzloff G, Davis H, Jr., van Heek M et al. Ezetimibe improves high fat and cholesterol diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Eur J Pharmacol*. 2008;584(1):118-24. doi:10.1016/j.ejphar.2008.01.045.
150. Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, Gossard A, Gores GJ, Ludwig J et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology*. 1996;23(6):1464-7. doi:10.1002/hep.510230624.
151. Basaranoglu M, Acbay O, Sonsuz A. A controlled trial of gemfibrozil in the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 1999;31(2):384. doi:10.1016/s0168-8278(99)80243-8.
152. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology*. 2004;39(3):770-8. doi:10.1002/hep.20092.
153. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010;362(18):1675-85. doi:10.1056/NEJMoa0907929.
154. Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK et al. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of

- nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(12):1107-15. doi:10.1016/s1542-3565(04)00457-4.
155. Lassailly G, Caiazzo R, Pattou F, Mathurin P. Perspectives on Treatment for Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2016;150(8):1835-48. doi:10.1053/j.gastro.2016.03.004.
156. Liu L, Li P, Liu Y, Zhang Y. Efficacy of Probiotics and Synbiotics in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis. *Dig Dis Sci*. 2019;64(12):3402-12. doi:10.1007/s10620-019-05699-z.
157. Duseja A, Acharya SK, Mehta M, Chhabra S, Rana S, Das A et al. High potency multistrain probiotic improves liver histology in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a randomised, double-blind, proof of concept study. *BMJ Open Gastroenterol*. 2019;6(1):e000315. doi:10.1136/bmjgast-2019-000315.
158. Harrison SA, Abdelmalek MF, Caldwell S, Shiffman ML, Diehl AM, Ghalib R et al. Simtuzumab Is Ineffective for Patients With Bridging Fibrosis or Compensated Cirrhosis Caused by Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2018;155(4):1140-53. doi:10.1053/j.gastro.2018.07.006.
159. Harrison SA, Dennis A, Fiore MM, Kelly MD, Kelly CJ, Paredes AH et al. Utility and variability of three non-invasive liver fibrosis imaging modalities to evaluate efficacy of GR-MD-02 in subjects with NASH and bridging fibrosis during a phase-2 randomized clinical trial. *PLoS One*. 2018;13(9):e0203054. doi:10.1371/journal.pone.0203054.
160. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Rovida S, Rametta R, Fatta E et al. A randomized trial of iron depletion in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia. *World J Gastroenterol*. 2014;20(11):3002-10. doi:10.3748/wjg.v20.i11.3002.
161. Guillygomarc'h A, Mendler MH, Moirand R, Lainé F, Quentin V, David V et al. Venesection therapy of insulin resistance-associated hepatic iron overload. *J Hepatol*. 2001;35(3):344-9. doi:10.1016/s0168-8278(01)00147-7.
162. Dare AJ, Plank LD, Phillips AR, Gane EJ, Harrison B, Orr D et al. Additive effect of pretransplant obesity, diabetes, and cardiovascular risk factors on outcomes after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2014;20(3):281-90. doi:10.1002/lt.23818.

163. Stine JG, Shah NL, Argo CK, Pelletier SJ, Caldwell SH, Northup PG. Increased risk of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis due to nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Transpl.* 2015;21(8):1016-21. doi:10.1002/lt.24134.
164. Vanwagner LB, Bhawe M, Te HS, Feinglass J, Alvarez L, Rinella ME. Patients transplanted for nonalcoholic steatohepatitis are at increased risk for postoperative cardiovascular events. *Hepatology.* 2012;56(5):1741-50. doi:10.1002/hep.25855.
165. Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys.* 1986;247(1):1-11. doi:10.1016/0003-9861(86)90526-6.
166. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82(1):47-95. doi:10.1152/physrev.00018.2001.
167. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc.* 1988;63(4):381-9. doi:10.1016/s0025-6196(12)64861-7.
168. Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *J Mol Biol.* 2000;304(1):55-68. doi:10.1006/jmbi.2000.4173.
169. Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Kira Y, Imada I et al. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr Med Chem.* 2003;10(23):2495-505. doi:10.2174/0929867033456477.
170. Gupta M, Dobashi K, Greene EL, Orak JK, Singh I. Studies on hepatic injury and antioxidant enzyme activities in rat subcellular organelles following in vivo ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem.* 1997;176(1-2):337-47.
171. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit.* 2004;10(6):Ra141-7.
172. Spiteller G, Afzal M. The action of peroxy radicals, powerful deleterious reagents, explains why neither cholesterol nor saturated fatty acids cause atherogenesis and age-related diseases. *Chemistry.* 2014;20(46):14928-45. doi:10.1002/chem.201404383.

173. Kagan VE, Mao G, Qu F, Angeli JP, Doll S, Croix CS et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol.* 2017;13(1):81-90. doi:10.1038/nchembio.2238.
174. Kuhn H, Banthiya S, van Leyen K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1851(4):308-30. doi:10.1016/j.bbalip.2014.10.002.
175. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(2 Pt 1):341-57. doi:10.1164/ajrccm.156.2.9611013.
176. Dahl JU, Gray MJ, Jakob U. Protein quality control under oxidative stress conditions. *J Mol Biol.* 2015;427(7):1549-63. doi:10.1016/j.jmb.2015.02.014.
177. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(Pt 6):1441-4. doi:10.1042/bst0311441.
178. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999;32(8):595-603. doi:10.1016/s0009-9120(99)00075-2.
179. Mauch L, Lun A, O'Gorman MR, Harris JS, Schulze I, Zychlinsky A et al. Chronic granulomatous disease (CGD) and complete myeloperoxidase deficiency both yield strongly reduced dihydrorhodamine 123 test signals but can be easily discerned in routine testing for CGD. *Clin Chem.* 2007;53(5):890-6. doi:10.1373/clinchem.2006.083444.
180. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003;22(1):18-35. doi:10.1080/07315724.2003.10719272.
181. Carr AC, Maggini S. Vitamin C and Immune Function. *Nutrients.* 2017;9(11). doi:10.3390/nu9111211.
182. Burton GW, Ingold KU. Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann N Y Acad Sci.* 1989;570:7-22. doi:10.1111/j.1749-6632.1989.tb14904.x.
183. Pryor WA. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(1):141-64. doi:10.1016/s0891-5849(99)00224-5.

184. Kojo S. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2004;11(8):1041-64. doi:10.2174/0929867043455567.
185. Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG. The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys*. 2001;385(1):13-9. doi:10.1006/abbi.2000.2172.
186. Xiang M, Feng J, Geng L, Yang Y, Dai C, Li J et al. Sera total oxidant/antioxidant status in lung cancer patients. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(37):e17179. doi:10.1097/md.00000000000017179.
187. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004;37(2):112-9. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.10.014.
188. Cumurcu BE, Ozyurt H, Etikan I, Demir S, Karlidag R. Total antioxidant capacity and total oxidant status in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009;63(5):639-45. doi:10.1111/j.1440-1819.2009.02004.x.
189. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004;37(4):277-85. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015.
190. Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192(2):656-7; author reply 7. doi:10.1016/j.ajog.2004.07.094.
191. Świdarska M, Maciejczyk M, Zalewska A, Pogorzelska J, Flisiak R, Chabowski A. Oxidative stress biomarkers in the serum and plasma of patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Can plasma AGE be a marker of NAFLD? Oxidative stress biomarkers in NAFLD patients. *Free radical research*. 2019;53(8):841-50.
192. Seki S, Kitada T, Sakaguchi H. Clinicopathological significance of oxidative cellular damage in non-alcoholic fatty liver diseases. *Hepatol Res*. 2005;33(2):132-4. doi:10.1016/j.hepres.2005.09.020.
193. Hardwick RN, Fisher CD, Canet MJ, Lake AD, Cherrington NJ. Diversity in antioxidant response enzymes in progressive stages of human nonalcoholic fatty

- liver disease. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(12):2293-301. doi:10.1124/dmd.110.035006.
194. Moreto F, de Oliveira EP, Manda RM, Burini RC. The higher plasma malondialdehyde concentrations are determined by metabolic syndrome-related glucolipotoxicity. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:505368. doi:10.1155/2014/505368.
 195. Nacitarhan S, Ozben T, Tuncer N. Serum and urine malondialdehyde levels in NIDDM patients with and without hyperlipidemia. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(6):893-6. doi:10.1016/0891-5849(95)00096-g.
 196. Park KS, Jang BK, Kwon KM, Chung WJ, Cho KB, Hwang JS et al. [Antioxidant status in nonalcoholic steatohepatitis]. *Korean J Hepatol.* 2005;11(2):135-43.
 197. Videla LA, Rodrigo R, Orellana M, Fernandez V, Tapia G, Quiñones L et al. Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci (Lond).* 2004;106(3):261-8. doi:10.1042/cs20030285.
 198. Torun E, Gökçe S, Aydın S, Cesur Y. Serum paraoxonase activity and oxidative stress and their relationship with obesity-related metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents. *Journal of pediatric endocrinology and metabolism.* 2014;27(7-8):667-75.
 199. Ghamar-Chehreh ME, Amini M, Khedmat H, Moayed Alavian S, Daraei F, Mohtashami R et al. Elevated alanine aminotransferase activity is not associated with dyslipidemias, but related to insulin resistance and higher disease grades in non-diabetic non-alcoholic fatty liver disease. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2(9):702-6. doi:10.1016/s2221-1691(12)60213-5.
 200. Foroughi M, Maghsoudi Z, Khayyatzadeh S, Ghiasvand R, Askari G, Iraj B. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease and inflammation in patients with non-alcoholic fatty liver. *Adv Biomed Res.* 2016;5:28. doi:10.4103/2277-9175.176368.
 201. Saki F, Karamizadeh Z. Metabolic syndrome, insulin resistance and Fatty liver in obese Iranian children. *Iran Red Crescent Med J.* 2014;16(5):e6656. doi:10.5812/ircmj.6656.

202. Nobili V, Parola M, Alisi A, Marra F, Piemonte F, Mombello C et al. Oxidative stress parameters in paediatric non-alcoholic fatty liver disease. *International journal of molecular medicine*. 2010;26(4):471-6.
203. Rivi re B, Jausent A, Macioce V, Faure S, Builles N, Lefebvre P et al. The triglycerides and glucose (TyG) index: A new marker associated with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in obese patients. *Diabetes & Metabolism*. 2022;48(4):101345.
204. Zou Y, Zhong L, Hu C, Sheng G. Association between the alanine aminotransferase/aspartate aminotransferase ratio and new-onset non-alcoholic fatty liver disease in a nonobese Chinese population: a population-based longitudinal study. *Lipids Health Dis*. 2020;19(1):245. doi:10.1186/s12944-020-01419-z.
205. Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med*. 2020;14(5):583-600. doi:10.1007/s11684-019-0729-1.
206. Picu A, Petcu L,  tefan S, Mitu M, Lixandru D, Ionescu-T rgovi te C et al. Markers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Romanian Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity. *Molecules*. 2017;22(5). doi:10.3390/molecules22050714.
207. Pan HZ, Zhang L, Guo MY, Sui H, Li H, Wu WH et al. The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Acta Diabetol*. 2010;47 Suppl 1:71-6. doi:10.1007/s00592-009-0128-1.