

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

Милица Д. Ђулафић

**ЗНАЧАЈ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА
У ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈИ НЕАЛКОХОЛНОГ
СТЕАТОХЕПАТИТИСА
И ПРОЦЕНА ИСХОДА ТЕРАПИЈЕ И АДХЕРЕНЦЕ,
ПРИ ПРИМЕНИ МЕТФОРМИНА И
ПЕНТОКСИФИЛИНА**

докторска дисертација

Београд, 2020.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Milica D. Čulafić

**IMPORTANCE OF BIOCHEMICAL PARAMETERS
IN NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS AND
ASSESSMENT OF THERAPY OUTCOMES AND
ADHERENCE DURING COMBINED TREATMENT
WITH METFORMIN AND PENTOXIFYLLINE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020.

МЕНТОРИ

Др sc. Сандра Везмар Ковачевић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, Србија

Др sc. Ђорђе Пулафић, редовни професор
Универзитет у Београду – Медицински факултет
Клиника за гастроентерологију и хепатологију, Клинички центар Србије,
Србија

Чланови комисије

Др sc. Бранислава Миљковић, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, Србија

Др sc. Виолета Допсај, редовни професор
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, Србија

Др sc. Драган Томић, редовни професор
Универзитет у Београду – Медицински факултет
Ургентни центар, Клинички центар Србије, Србија

Датум одбране: _____

Предговор

Докторска дисертација је урађена на Катедри за фармакокинетичку и клиничку фармацију Универзитета у Београду – Фармацеутског факултета. Истраживање је спроведено на Клиници за гастроентерологију и хепатологију Клиничког центра Србије, под менторством проф. др Ђорђа Тулафића и проф. др Сандре Везмар Ковачевић.

Неизмерно сам захвална проф. др Сандри Везмар Ковачевић, ментору, на помоћи у кључним фазама израде научно-истраживачког рада. Учинила је да се осећам сигурном у превазилажењу изазова током настајања докторске дисертације. Хвала на поверењу, подршци и пријатељству.

Ментору, проф. др Ђорђу Тулафићу, бескрајно сам захвална на вођству у свим фазама израде ове дисертације. Научио ме је уметношћу трагања за хепатолошким тајнама. Хвала на знању, мудрости и људскости, које је несебично даровао.

Најтоплије се захваљујем проф. др Бранислави Миљковић, на разумевању, охрабрењу и визионарској идеји, не само приликом израде ове дисертације, него при сваком кораку развоја клиничке фармације.

Драгој проф. др. Виолети Допсај, бескрајно хвала на свакој сугестији, савету, речи, који су процес истраживања учинили лакшим, а овај рад бољим.

Хвала проф. др Драгану Томићу, на подршци и чланству у Комисији.

Велико хвала проф. др Катарини Вучићевић и доц. др Марији Јовановић на пријатељству, саветима и потпори који су учинили пут израде дисертације лепшим.

Хвала Нени Величковић, лаборанту из Центра за медицинску биохемију Клиничког центра Србије, на помоћи и пријатељству.

Велику захвалност дугујем колегама са Катедре за фармакокинетичку и клиничку фармацију, за стрпљење, осмехе и пријатељство.

Својој породици, језгру сигурности, вере и љубави, бескрајно се захваљујем.

Значај биохемијских параметара у диференцијацији неалкохолног стеатохепатитиса и процена исхода терапије и адхеренце, при примени метформина и пентоксифилина

Сажетак

Циљ докторске дисертације био је да се идентификују параметри који се могу користити у диференцијацији између симплекс стеатоза и *NASH*-а, те да се истражи ефекат и процени безбедност комбиноване терапије метформинем и пентоксифилином у *NASH*-у. Проучаван је степен адхеренце у испитиваној популацији. Укупан број пацијената укључених у студију био је 148.

Креиран је модел који је укључио 4 варијабле идентификоване као статистички значајне (*HOMA-IR*, мокраћну киселину, феритин и *ALT*) назван *HUFA* индекс. Забележена је површина испод оперативне криве 0,94 за предложени модел, сензитивност 70,3%, специфичност 95,1%, позитивна предиктивна вредност 83,1% и негативна предиктивна вредност 90,0%, за детекцију *NASH*-а. Сprovedена је терапија метформинем и пентоксифилином у *NASH* кохорти у трајању од 6 месеци, док је група симплекс стеатоза служила као контролна. Забележено је смањење вредности медијане мокраћне киселине у серуму за 51 $\mu\text{mol/L}$, калцијума за 0,27 mmol/L , повећање магнезијума за 0,11 mmol/L . Побољшана је инсулинска резистенција кроз смањење *HOMA-IR* за 1,3. Уочено је значајно смањење медијане *ALT* за 24,0 IU/L , *AST* за 9,1 IU/L и *GGT* за 10,8 IU/L . Нежељене реакције током примене терапије су описане као благе и пролазне. Процена адхеренце извршена је *Morisky* скалом: у групи симплекс стеатоза било је 58% адхерентних у погледу њихове хроничне терапије, док је у *NASH*-у висок степен адхеренце уочен код 85% пацијената. Применом *SMAQ* скале добијени су нижи проценти адхерентних у обе групе (42,3% vs 76,2%). *HUFA* индекс се показао значајним за рану детекцију некроинфламације у *NAFLD*-у. Комбинована терапија у *NASH*-у је довела до побољшања биохемијских параметара. Детектован проценат неадхерентних пацијената омогућава правовремену интервенцију у сврху постизања бољих исхода лечења.

Кључне речи: неалкохолни стеатохепатитис, стеатоза симплекс, *NASH*, *NAFLD*, болести јетре, неинвазивна процена, метформин, пентоксифилин, адхеренца

Научна област: Фармација

Ужа научна област: Фармакокинетика и клиничка фармација

**Importance of biochemical parameters in non-alcoholic steatohepatitis and
assessment of therapy and adherence during combined treatment
with metformin and pentoxifylline**

Abstract

The aim of doctoral dissertation was to identify parameters important to differentiate simple steatosis from NASH and to explore efficacy and safety of metformin/pentoxifylline combined treatment in NASH. Level of adherence was also evaluated. Total number of patients included in the study was 148. A proposed model named HUFA index included 4 variables (*HOMA-IR*, serum Uric acid, Ferritin and ALT) that were shown to be statistically significant. An area under receiving operating curve of 0.94 was noted for the NASH detection model, with sensitivity of 70.3%, specificity of 95.1%, positive predictive value of 83.1% and negative predictive value of 90.0%. Metformin and pentoxifylline were introduced in NASH cohort for 6 month, while simple steatosis cohort served as control. Decrease in median value of uric acid and calcium was observed (51 μ mol/L and 0.27 mmol/L, respectively). Magnesium increased for 0.11 mmol/L. Insulin resistance improved as *HOMA-IR* reduced for 1.3. Decrease in median value of hepatic enzymes (*ALT*, *AST*, *GGT*) was detected: 24.0 IU/L, 9.1 IU/L and 10.8 IU/L, respectively. Adverse drug reaction that emerged were described as mild and transient. Adherence was evaluated using Morisky scale. In simple steatosis group only 58% of patients were adherent to their chronic treatment, while NASH cohort showed optimal adherence in 85% of cases. When SMAQ scale was used, lower percentage of adherence was detected in both cohorts (42,3% vs 76,2%).

HUFA index is important for early detection of necroinflammation in NAFLD. Studied therapy showed improvement of biochemical parameters. Identification of nonadherent patients is important for timely intervention and consequently better treatment outcomes.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, steatosis simplex, NASH, NAFLD, liver disease, noninvasive assessment, metformin, pentoxifylline, adherence

Scientific field: Pharmacy

Specific scientific field: Pharmacokinetics and Clinical Pharmacy

Садржај

1	УВОД	1
1.1	Неалкохолна масна болест јетре	1
1.2	Преваленца и инциденца	2
1.3	Фактори ризика повезани са настанком и исходом <i>NAFLD</i> -а	4
1.4	Патогенеза	7
1.4.1	Метаболизам липида у јетри	7
1.4.2	Инсулинска резистенција	9
1.4.3	Хепатоцелуларно оштећење	9
1.4.4	Улога гвожђа	10
1.4.5	Антиоксиданси	11
1.4.6	Лептин и адипонектин	11
1.4.7	Жучне киселине	12
1.4.8	Интестинална микробиота	13
1.4.9	Лековима изазван <i>NAFLD</i>	13
1.5	Дијагностика <i>NAFLD</i> -а	15
1.5.1	Значај биопсије јетре	15
1.5.2	Радиолошке методе	17
1.5.3	Скоринг системи	18
1.6	Терапијски приступ <i>NAFLD</i> -у	19
1.6.1	Баријатријска хирургија	20
1.6.2	<i>NASH</i> и трансплантација јетре	20
1.6.3	Лекови у <i>NASH</i> -у	21
1.6.3.1	Метформин	22
1.6.3.2	Пентоксифин	26
1.6.3.3	Витамин Е	29
1.6.3.4	Пиоглитазон	30
1.6.3.5	Статини	30
1.6.3.6	Урсодеокихолна киселина	31
1.6.3.7	Лираглутид	31
1.6.3.8	Орлистат	32
1.6.3.9	Рифаксимин	32

1.6.3.10 Нови агенси	32
1.7 Исходи терапије и адхеренца.....	36
1.8 Стремљења у истраживању	38
2 ЦИЉЕВИ НАУЧНОГ ИСТРАЖИВАЊА	39
3 МЕТОДОЛОГИЈА.....	40
4 РЕЗУЛТАТИ.....	52
5 ДИСКУСИЈА	98
6 ЗАКЉУЧАК.....	115
7 ЛИТЕРАТУРА	116
8 ПРИЛОЗИ.....	148
8.1 Прилог 1: <i>MMAS-4</i> скала за процену адхеренце	148
8.2 Прилог 2: <i>SMAQ</i> упитник за процену адхеренце	149
8.3 Прилог 3: Упитник „Мишљење о лековима“ (<i>BMQ</i>)	150
9 Биографија.....	151
10 Изјаве	152

Листа табела

Табела 1.1 Фактори ризика удружени са *NAFLD*-ом

Табела 1.2 Критеријуми за постављање дијагнозе метаболичког синдрома

Табела 1.3 Лептин и адипонектин у *NAFLD*-у

Табела 1.4 Тип оштећења јетре на основу биохемијских параметара

Табела 1.5 Лекови и друге активне супстанце повезани са састеатозом/стеатохепатитисом

Табела 1.6 Систем за градирање и стадијуме *NASH*-а

Табела 1.7 *EASL-EASD-EASO* препоруке за стил живота у терапији *NAFLD*

Табела 1.8 Пентоксифилин: индикације, режим дозирања, референце

Табела 1.9 Нови лекови/кандидати лекова у развоју за терапију *NAFLD/NASH*-а

Табела 1.10 Класификација и карактеристике НПЛ према *WHO*

Табела 3.1. *NAFLD* скала активности

Табела 3.2 Процена телесне масе на основу *BMI*

Табела 3.3 Део формулара за прикупљање НПЛ

Табела 4.1 Антропометријски и клинички подаци у групи *NAFL* и *NASH*-а

Табела 4.2. Компарација параметара за процену оштећења јетре у испитиваним групама

Табела 4.3 Гликемија и инсулинска резистенција

Табела 4.4 Липидни профил пацијената у *NAFL/NASH* групи

Табела 4.5 *Apo A-1* и *Apo B* у *NAFL/NASH* групи

Табела 4.6 Калијум и фосфат у контролној и испитиваној групи; проценат одступања од референтног опсега

Табела 4.7 Натријум и хлориди у контролној и испитиваној групи

Табела 4.8 Остали мерени/процењени параметри у *NAFL/NASH*: компаративно

Табела 4.9 Преглед карактеристика крвне слике *NAFL/NASH* пацијената

Табела 4.10 Витамин Е у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.11 *IL-6* у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.12 Лептин у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.13. Хомоцистеин у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.14 Витамин *B12* у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.15 Фолна киселина у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.16 *PON1* у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.17 Дескриптивна статистика сулфхидрилних група

Табела 4.18 Липидни хидропероксиди у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.19 *AOPP* у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.20 Хијалуронска киселина у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.21 *AUROC* за одређене параметре

Табела 4.22 Појединачне варијабле у *HUFA* индексу: *AUROC* анализа

Табела 4.23 Комбиновани логистички индекс за предикцију *NASH*-а

Табела 4.24 *AUROC* за комбиновани *HUFA* индекс

Табела 4.25 Корелација између хистолошких карактеристика пацијената и предложених параметара у *NASH* кохорти

Табела 4.26 Базичне карактеристике испитиване популације

Табела 4.27 Карактеристике основних параметара крвне слике у *NAFL/NASH*-у

Табела 4.28 Вредности испитиваних параметара пре започињања терапије

Табела 4.29 Компарација биохемијских параметара након три и 6 месеци терапије у односу на почетне вредности у *NASH*-у

Табела 4.30 Социјална историја пацијената укључених у истраживање адхеренце

Табела 4.31 Најчешће коришћене групе лекова/ лекови у популацији пацијената који су укључени у истраживање адхеренце

Табела 4.32 Утицај издвојених варијабли на степен адхеренце процењен *MMAS-4* скором у стеатози

Табела 4.33 Процент адхерентних пацијената процењен *MMAS-4* скалом (0/1) у односу на радни статус

Табела 4.34 Утицај варијабли на степен адхеренце процењен *SMAQ* скором у *NAFL*-у

Табела 4.35 Резултати анализе *BMQ* општег упитника: прекомерна употреба лекова/ штетност лекова

Табела 4.36 *BMQ* општи упитник и одговори пацијената

Табела 4.37 Повезаност адхеренце процењене *MMAS-4* скалом са општим *BMQ*

Листа слика

Слика 1.1 Дефиниције *NAFLD*, *NAFL* и *NASH*-а

Слика 1.2 Приказ кључних процеса за настанак *NAFLD*-а и развој *NASH*-а

Слика 1.3. Места деловања лекова у *NASH*-у

Слика 4.1 Измерене вредности *Аpo A-1* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.2 Измерене вредности *Аpo B* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са стеатозом (0)

Слика 4.3. Тренд кретања измерених концентрација калијума и неорганског фосфата у серуму пацијената са *NASH*-ом (плава, жута) и пацијената са *NAFL*-ом (црна, сива)

Слика 4.4 Тренд кретања концентрација натријума и хлорида у серуму пацијената са *NASH*-ом (плава, жута) и пацијената са *NAFL*-ом (црна, сива)

Слика 4.5 Измерене вредности еритроцита у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.6 Измерене вредности хемоглобина у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.7 Измерене вредности хематокрита у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.8 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације витамина Е [mg/L] у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.9 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације *IL-6* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.10 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације лептина у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.11 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације хомоцистеина у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.12 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: Концентрације витамина B12 у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.13 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације фолне киселине у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.14 Серумске концентрације *PON1* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.15 Серумске концентрације *SH* група у пацијената са *NASH*-ом (1) и у пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.16 Серумске концентрације *LOOH* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.17 Серумске концентрације *AOPP* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.18 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације хијалуронске киселине у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

Слика 4.19 *ROC* криве за 4 варијабле које чине *HUFA* индекс

Слика 4.20 Крива за предикцију *NASH*-а применом *HUFA* индекса

Слика 4.21 *HUFA* индекс: калкулатор за процену вероватноће *NASH*-а

Слика 4.22 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације мокраћне киселине ($\mu\text{mol/L}$) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.23 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације калцијума (mmol/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.24 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације магнезијума (mmol/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.25 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: Серумске концентрације *ALT* (U/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.26 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: Серумске концентрације *AST* (U/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.27 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: Серумске концентрације *GGT* (U/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.28 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: вредности индекса за процену инсулинске резистенције (*HOMA-IR*) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

Слика 4.29 Демографске карактеристике пацијената у *NAFL* и *NASH* кохорти код којих је учињена процена адхеренце

Слика 4.30 Информације о стилу живота у *NAFL/NASH*-у

Слика 4.31 Додатне информације о адхеренци

Слика 4.32 *MMAS-4* у групи пацијената са симплекс стеатозом процењена да је високог степена (0), средњег степена (1-2) и ниског степена (3-4)

Слика 4.33 Процент пацијената који су били адхерентни по питањима *Morisky* скале у групи стеатоза

Слика 4.34 *MMAS-4* у групи пацијената са *NASH*-ом процењена да је високог степена (0), средњег степена (1-2) и ниског степена (3-4)

Слика 4.35 *SMAQ* у *NAFL/NASH*-у

Слика 4.36 Процент пацијената који су били адхерентни по питањима *SMAQ* скале у групи *NAFL*

Слика 4.37 Забележене НРЛ током терапије метформином и пентоксифилином у *NASH* групи

Листа скраћеница

Скраћеница	Српски	Енглески
AASLD	Америчка асоцијација за проучавање болести јетре	<i>American Association for the Study of Liver Diseases</i>
AIH	Аутоимуни хепатитис	<i>Autoimmune hepatitis</i>
AMPK	Аденозин монофосфат (AMP) – активирани протеин киназа	<i>Adenosine monophosphate-activated protein kinase</i>
AOPP	Завршни оксидативни производи протеина	<i>Advanced oxidation protein products</i>
BMI	Индекс телесне масе	<i>Body mass index</i>
BMQ	Упитник „Мишљење о лековима“	<i>Beliefs about Medicines Questionnaire</i>
cAMP	Циклични аденозин монофосфат	<i>Cyclic adenosine monophosphate</i>
CASH	Стеатохепатитис удружен са хемотерапијом	<i>Chemotherapy-associated steatohepatitis</i>
CK-18	Цитокератин 18	<i>Cytokeratin 18</i>
CRP	Ц реактивни протеин	<i>C-reactive protein</i>
DILI	Лековима изазвана оштећења јетре	<i>Drug-induced liver injury</i>
DILIN	Мрежа за детектовање лековима изазваног оштећења јетре	<i>Drug-induced liver injury Network</i>
DISH	Лековима изазван стеатохепатитис	<i>Drug-induced steatohepatitis</i>
EASL	Европска асоцијација за проучавање јетре	<i>European Association for the Study of the Liver</i>
EDTA	Етилендиамин тетраацетатна киселина	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
ELISA	Ензимски имуносорбент тест	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ESC	Европско удружење кардиолога	<i>European Society of Cardiology</i>
ESH	Европског удружење за хипертензију	<i>European Society of Hypertension</i>
FDA	Агенција за храну и лекове (америчка)	<i>Food and Drug Administration</i>
FLI	Индекс масне јетре	<i>Fatty liver index</i>
FLIP	Инхибиција прогресије масне јетре (алгоритам)	<i>Fatty liver inhibition of progression (algorithm)</i>
HABP	Високо специфичан протеин који везује хијалуронску киселину	<i>Highly specific hyaluronic acid binding protein</i>
HCC	Хепатоцелуларни карцином	<i>Hepatocellular carcinoma</i>
HOMA-IR	Модел за оцену хомеостаза	<i>Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance</i>
HPLC	Високофикасна течна хроматографија	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HSI	Индекс хепатичке стеатозе	<i>Hepatic Steatosis Index</i>
HUFA index	Акроним од 4 параметра: HOMA-IR, мокраћна киселина у серуму, феритин, Аланин аминотрансфераза (ALT)	HOMA-IR, serum uric acid – SUA), Ferritin, ALT
IASL	Међународно удружење за проучавање јетре	<i>International Association for the Study of the Liver</i>

LCFA	Масне киселине дугог ланца	<i>Long chain fatty acids</i>
LOOH	Липидни хидропероксиди	<i>Lipid hydroperoxide</i>
MMAS-4	Morisky упитник за процену адхеренце од 4 питања	<i>Morisky Medication Adherence Scale</i>
MS	Метаболички синдром	<i>Metabolic syndrome</i>
NAFL	Неалкохолна масна јетра	<i>Nonalcoholic Fatty Liver</i>
NAFLD	Неалкохолна масна болест јетре	<i>Nonalcoholic Fatty Liver Disease</i>
NAFLD-LFS	Скор масне јетре	<i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - Liver Fat Score</i>
NAS	Скор активности неалкохолне масне болести јетре	<i>NAFLD Activity Score</i>
NASH	Неалкохолни стеатохепатитис	<i>Nonalcoholic Steatohepatitis</i>
NASH-CRN	Клиничка истраживачка мрежа за неалкохолни стеатохепатитис	<i>Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network</i>
NPV	Негативна предиктивна вредност	<i>Negative predictive value</i>
OCT1	Органски катјон транспортер-1	<i>Organic cation transporter-1</i>
PBC	Примарни билијарни холангитис	<i>Primary Biliary Cholangitis</i>
PON1	Параоксоназа 1	<i>Paraoxonase 1</i>
PPAR α	Агонист рецептора активираних пролифератором пероксизома	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor agonist</i>
PPV	Позитивна предиктивна вредност	<i>Positive predictive value</i>
PSC	Примарни склерозантни холангитис	<i>Primary Sclerosing Cholangitis</i>
ROS	Реактивне кисеоничне врсте	<i>Reactive oxygen species</i>
SAF	Стеатоза, активност и фиброза (систем)	<i>Steatosis, activity, and fibrosis (system)</i>
SH	Сулфхидрилна група	<i>Sulfhydryl group</i>
SMAQ	Поједностављени упитник за процену адхеренце од 6 питања	<i>Simplified Medication Adherence Questionnaire</i>
TASH	Стеатохепатитис удружен са токсикантима	<i>Toxicant-associated steatohepatitis</i>
UDCA	Урсодеоксихолна киселина	<i>Ursodeoxycholic acid</i>
VLCFA	Масне киселине веома дугог ланца	<i>Very long chain fatty acids</i>
WHO	Светска здравствена организација	<i>World Health Organisation</i>
AUROC	Површина испод оперативне криве	<i>Area under receiving operating curve</i>

Скраћенице (ћирилица)	Српски	Енглески
КП	Крвни притисак	<i>Blood pressure</i>
НРЛ	Нежељена реакција на лек	<i>Adverse Drug Reaction</i>
ТМ	Телесна маса	<i>Body mass</i>
ХБИ	Хронична бубрежна инсуфицијенција	<i>Chronic kidney disease</i>
УХ	Угљени хидрати	<i>Carbohydrates</i>

1 УВОД

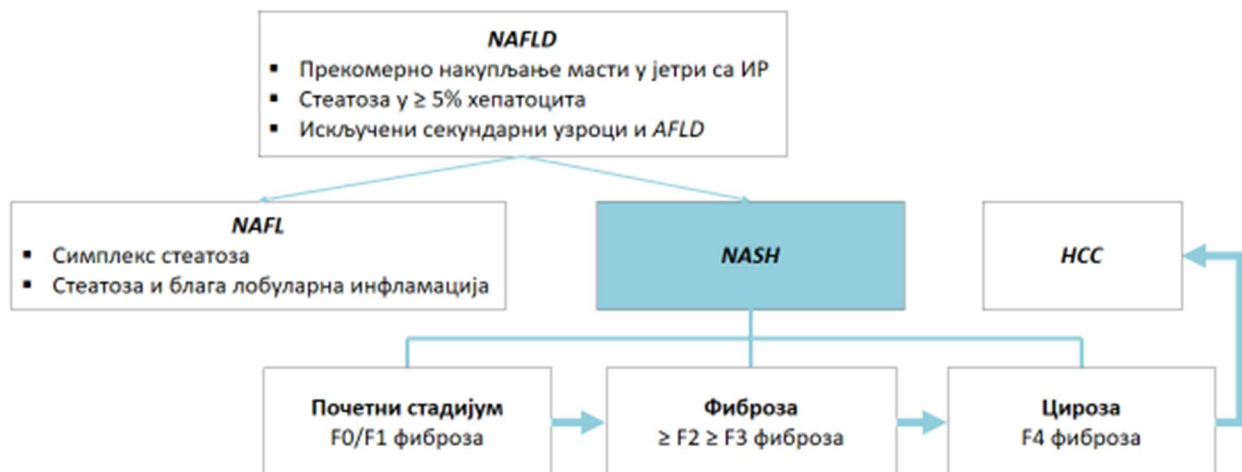
1.1 Неалкохолна масна болест јетре

Под окриљем појма неалкохолна масна болест јетре (*NAFLD - Nonalcoholic Fatty Liver Disease*) крију се два подтипа оштећења: неалкохолна масна јетра (*Nonalcoholic Fatty Liver - NAFL*) и неалкохолни стеатохепатитис (*NASH - Nonalcoholic Steatohepatitis*).

NAFL се дефинише као хепатичка стеатоза $\geq 5\%$ са или без благе инфламације без хистолошких показатеља хепатоцелуларног оштећења, док се *NASH* дефинише као хепатичка стеатоза $\geq 5\%$ и инфламација са оштећењем хепатоцита са или без фиброзе. Код великог броја пацијената *NAFLD* је уобичајено удружен са метаболичким коморбидитетима као што су гојазност, дијабетес мелитус и дислипидемије (Chalasan et al., 2018). Дакле, да би се дефинисала *NAFLD* мора постојати:

1. хепатичка стеатоза, потврђена хистолошки или *имиџинг* методама
2. одсуство секундарних узрока накупљања масти у јетри као што су: значајан унос алкохола, дуготрајна примена лекова који имају стеатогену активност, или моногенска наследна обољења.

Препоруке европског удружења за проучавање јетре (*European Association for the Study of the Liver, EASL*) наглашавају да се дијагноза *NASH*-а поставља биопсијом јетре која показује стеатозу, балониране хепатоците и лобуларну инфламацију (Слика 1.1) (European Association for the Study of the Liver et al., 2016).



Слика 1.1 Дефиниције *NAFLD*, *NAFL* и *NASH*-а; Преузето и прилагођено од (European Association for the Study of the Liver et al., 2016).

ИП – инсулинска резистенција; *NAFLD* – неалкохолна масна болест јетре, *AFLD* – алкохолна масна болест јетре, *NAFL* – неалкохолна масна јетра, *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис, *HCC* – хепатоцелуларни карцином; *F0*, *F1*, *F2*, *F3*, *F4* – стадијуми фиброзе

Сматра се да *NAFL* није прогресивна болест (те се слово *D* уклања из акронима), мада су забележени случајеви када може напредовати до *NASH*-а, фиброзе и цирозе (најчешће када особа добије на тежини или дође до промене метаболичког статуса) (McPherson et al., 2015, Pais et al., 2013). Забележена је ниска стопа прогресије симплекс стеатозе до цирозе код око 4% пацијената (Matteoni et al., 1999).

NASH, прогресивна форма *NAFLD*-а, је први пут описан пре 40 година као специфичан ентитет кога карактерише макровезикуларна стеатоза са лобуларним хепатитисом код пацијената који не конзумирају алкохол (Ludwig et al., 1980). Раније су у употреби били и други термини који су се користили за *NASH* као што су: псеудохепатитис, хепатитис сличан алкохолном, хепатитис масне јетре, стеатонекроза и дијабетични хепатитис. Главна карактеристика *NASH*-а јесте депоновање триглицерида у јетри што узрокује инфламацију и некрозу хепатоцита. *NASH* представља болест која у неким случајевима прогредира до фиброзе и цирозе јетре (9-20%) у току 5-10 година, односно више од 20% пацијената ће развити цирозу у току живота (Matteoni et al., 1999). *NASH* цироза је водећи узрок за трансплантацију јетре код жена (Noureddin et al., 2018), а други узрок за трансплантацију јетре код мушкараца. Објављени су и подаци који указују на чињеницу да је *NASH* идентификован као први узрок обољења јетре код пацијената млађих од 50 година која доводи до трансплантације јетре (Banini and Sanyal, 2016).

1.2 Преваленца и инциденца

Када се посматра учесталост *NAFLD*, у литератури се наилази на хетерогене податке услед разлика које настају при примени дијагностичких метода као и разлика у испитиваним групама у погледу расе, година и пола. У претходној деценији је *NAFLD* описан као најчешћа болест јетре широм света која се јавља код 10-46% популације одраслих (Vernon et al., 2011, Eslam et al., 2018), са преваленцом *NASH*-а од 3 до 5% (Williams et al., 2011, Vernon et al., 2011, Lazo et al., 2013). Глобална епидемиолошка процена говори у прилог тврдњи да је *NAFLD* у сталном порасту, те да је тренутно 25% опште популације захваћено овом болешћу (Younossi, 2019), али и да расте на преко 90% код гојазних који се подвргавају процедурама за смањење телесне масе (ТМ) и баријатријским операцијама (Younossi et al., 2019a).

У складу са претходно цитираним резултатима, потврђена је преваленца *NAFLD* у Сједињеним Америчким Државама 10-46%, а *NASH*-а од 3 до 6% (Sheka et al., 2020). На Блиском истоку *NAFLD* је евидентиран код 31,8% популације, у Јужној Америци описана је нешто нижа преваленца од 30,5%, док је најнижа преваленца *NAFLD* у Африци (13,5%) (Younossi et al., 2016). Осврнувши се на распрострањеност *NASH*-а, исти аутори бележе преваленцу у општој популацији у распону од 1,5% до 6,5%. Занимљиви су и подаци о детекцији *NASH*-а код 59,1% *NAFLD* пацијената који су подвргнути биопсији јетре са јасном клиничком индикацијом, док је *NASH*

дијагностикован код 6,7%-29,9% пацијената подвргнутих биопсији а да нису имали специфичну индикацију за ову процедуру (нпр. потенцијални живи донори) (Younossi et al., 2016).

Посматрајући хепатолошка истраживања у Европи, те имајући на уму повезаност *NAFLD* са гојазношћу и метаболичким синдромом, важан је и податак да је 52% популације одраслих у земљама Европске уније са прекомерном ТМ или гојазно (www.oecd.org/health/obesity-update). Следствено, *EASL* наводи да *NAFLD* утиче на 44% наведене популације Европљана – тачније на око 116 милиона људи, 3% развије *NASH* (око 10 милиона), а код 0,2-0,5% пацијената болест прогредира до хепатоцелуларног карцинома (*hepatocellular carcinoma*, *HCC*) (200,000 – 500,000 људи) (The European Association for the Study of the Liver (*EASL*), 2015).

Верује се да је преваленца овог сложеног стања паралелна са преваленцом метаболичког синдрома, али је присутна и код 7% до 19% пацијената са нормалном ТМ (који су чешће женског пола, млађе животне доби и са нормалним ензимима јетре) и може имати прогресиван ток (Younossi et al., 2012, Fracanzani et al., 2008, Hagstrom et al., 2018). Занимљива су запажања која указују да је преваленца *NASH*-а и фиброзе слична код гојазних и пацијената који имају нормалну ТМ у *NAFLD* популацији (Younossi et al., 2012, Kim and Kim, 2017).

Инциденца за настанак *HCC* код пацијената са *NASH* цирозом на годишњем нивоу износи од 2,6 до 12,8% (White et al., 2017) односно 6,7-15% након 5 и 10 година (Reig et al., 2019). Одређени пацијенти са *NASH*-ом могу развити *HCC* и у одсуству цирозе (Eslam et al., 2019, Guzman et al., 2008) при чему је забележена инциденца *HCC* од 2,7% након 10 година и 23 на 100 000 година живота пацијената (Reig et al., 2019). Сматра се да ће *NASH* постати и водећа индикација за трансплантацију јетре код мушкараца, знајући да је инциденца хепатитиса Ц смањена применом директно-делујућих антивиротика (Noureddin et al., 2018).

Степен фиброзе детерминише прогресију и најважнији је предиктор морталитета *NAFLD*-а. У мета анализи заснованој на корелацији фиброзе јетре и морталитета свих узрока као и морталитета који је последица болести јетре, укључено је 1,495 *NAFLD* пацијената са 17,452 праћених година пацијената. Закључено је да је повећан ризик од морталитета свих узрока код *NAFLD* пацијената са фиброзом, и да ризик расте са повећањем степена фиброзе. Резултати су били још убедљивији када је процењен морталитет као последица болести јетре, при чему је уочен експоненцијални пораст са повећањем степена фиброзе (Dulai et al., 2017). Мултинационална кохортна студија која је укључила 458 пацијената са биопсијом потврђеним *NAFLD*-ом, током праћења од 5,5 година детектовала је морталитет, број трансплантираних, декомпензације, *HCC*, васкуларне компликације и нехаптичке карциноме. Код пацијената са стадијумом F3 фиброзе (која се односи на порталну фиброзу са бројним септама), доминирали су нехепатички карциноми и васкуларне компликације, док су *NAFLD* цирозе претежно имале компликације у виду инсуфицијенције јетре и/или портне хипертензије (Vilar-Gomez and Chalasani, 2018).

1.3 Фактори ризика повезани са настанком и исходом *NAFLD*-а

Последњих десетак година постаје јасно да клиничко оптерећење овом болешћу није искључиво фокусирано на морбидитет и морталитет у вези са јетром, већ постоји све већи број доказа о *NAFLD* као мултисистемској болести која делује на екстрахепатичке органе и регулаторне путеве. Иако примарна патологија *NAFLD* подразумева измењене хепатичке структуре, те јесте узрок морбидитета и морталитета цироза, инсуфицијенција јетре и *HCC*, ипак за смртни исход већине *NAFLD* пацијената одговорне су кардиоваскуларне болести. У два нова прегледна рада која су се бавила управо проценом кардиоваскуларног ризика у присуству стеатозе, *Ismail et al.* описују субклиничку атеросклерозу уз структурне и функционалне срчане абнормалности. Под појмом субклиничке атеросклерозе повезане са масном јетром, подразумева се коронарна артеријска болест уз задебљање комплекса зида артерија (*intima media*) и формирање каротидних плакова. Стеатоза се доводи у везу са следећим структурним променама на срцу: хипертрофији леве коморе, депонавању масти у пределу епикарда, валвуларној калцификацији. Као функционалне срчане абнормалности наводе се срчане аритмије атријалног и вентрикуларног порекла уз поремећаје у спровођењу импулса (*Ismail et al., 2019, Ismail and Dumitrascu, 2019*). Следствено овим чињеницама, не занемарујући повећан ризик од морталитета као последице болести јетре код пацијената са *NAFLD* и фиброзом стадијума F3 или F4, кардиоваскуларне болести су водећи узрок смртности (*Younossi, 2019*).

Доказан је повећан ризик за развој не само кардиоваскуларних болести и дијабетеса типа 2, него и хроничних болести бубрега (ХБИ) код пацијената са *NAFLD*-ом. Детаљније посматрано, ХБИ је присутна код 20-50% *NAFLD* пацијената, нарочито у групи са биопсијом потврђеним *NASH*-ом (*Musso et al., 2014, European Association for the Study of the Liver et al., 2016*). Ризик од појаве ХБИ код дијабетичара (тип 1) је већи за 1,5-2 пута уколико пацијент има и *NAFLD*, а показана је и учесталија појава синдрома полицистичних јајника, апнеје у сну, хипотироидизма, остеопорозе и колоректалног карцинома (*Byrne and Targher, 2015, Kim et al., 2014, Hazlehurst and Tomlinson, 2013*). Коморбидитети у *NAFLD* представљени су сумарно у Табели 1.1.

Табела 1.1 Фактори ризика удружени са *NAFLD*-ом

Уобичајено присутни коморбидитети
Гојазност
Дијабетес мелитус тип 2
Дислипидемије
Метаболички синдром
Синдром полицистичних јајника
Остала стања која се доводе у везу са <i>NAFLD</i>
Хипотироидизам
Хипопитуитаризам
Хипогонадизам
Опструктивна апнеја у сну
Псоријаза
Панкреато-дуоденална ресекција

Преузето и прилагођено од (Chalasan et al., 2018);

За клиничко постављање дијагнозе метаболичког синдрома морају бити испуњена најмање три критеријума, према најшире прихваћеном консензусу (Alberti et al., 2009), (Табела 1.2).

Табела 1.2 Критеријуми за постављање дијагнозе метаболичког синдрома

Параметри	Граничне вредности
Обим струка	> 102 <i>cm</i> за мушкарце > 88 <i>cm</i> за жене
Триглицериди [†]	> 1,7 <i>mmol/L</i>
<i>HDL</i> [†]	< 1,0 <i>mmol/L</i> код мушкараца < 1,3 <i>mmol/L</i> код жена
Крвни притисак [†]	≥ 135/85 <i>mm Hg</i> стуба
Глукоза наште [‡]	≥ 5,5 <i>mmol/L</i>

Преузето и прилагођено из референце (Alberti et al., 2009); *HDL* – холестерол велике густине; [†] примена лекова за снижавање триглицерида и подизање *HDL*-а (фибрати, никотинска киселина, високе дозе омега-3 масних киселина) су алтернативни индикатори; примена антихипертензива је алтернативни индикатор; [‡] већина пацијената са дијабетесом типа 2 ће испуњавати критеријуме за метаболички синдром.

Уочено је да постоје врло велике варијабилности у преваленци *NAFLD* у различитим етничким групама. Недавно објављена мета анализа показује значајно веће оптерећење у Хиспано популацији у односу на Афроамериканце, док се бела раса налази између ових група. Сматра се да се објашњење крије у међуделовању генетских фактора, приступа здравственој заштити и преваленци хроничних болести (Saab et al., 2016). Не постоји усаглашеност у погледу исхода *NAFLD* (Rich et al., 2018).

Генетски фактори могу допринети развоју ове комплексне болести јетре. Уочена је значајна интеракција између фактора средине и генетске склоности

пацијента на ток болести. Наиме, проспективна студија спроведена на близанцима демонстрирала је снажну наследну компоненту у погледу хепатичке стеатозе и фиброзе – у просеку 50% (Loomba, 2015).

Сведоци смо да су истраживања хуманог генома последњих година омогућила и боље разумевање генетске основе *NAFLD*. Идентификоване су главне генетске детерминанте интериндивидуалних разлика које кодирају метаболизам липида у јетри и склоности ка прогресивном *NASH*-у, *patatin-like phospholipase domain-containing 3 (PNPLA3) I148M* ген и *transmembrane 6 superfamily member 2 (TM6SF2)E167K* ген (укључен у ремоделовање липидних капљица и секрецију *VLDL*). Значајан допринос имају и протеин 7 који садржи мембрану О-ацилтрансферазе у домену (*MBOAT7* ген) и регулаторни протеин глукокиназе (*GCKR* ген) (Dongiovanni and Valenti, 2016, Eslam et al., 2018). Показано је да се масна јетра може развити и у одсуству метаболичког синдрома, нарочито када постоји генски полиморфизам *PNPLA3* (Shen et al., 2014). Занимљиви су и резултати након успешно изведене баријатријске хирургије који су указали на парцијалну реверзибилност метилације гена за инсулин, процеса за који се сматра да има улогу у настанку *NAFLD* (Ahrens et al., 2013, Murphy et al., 2013).

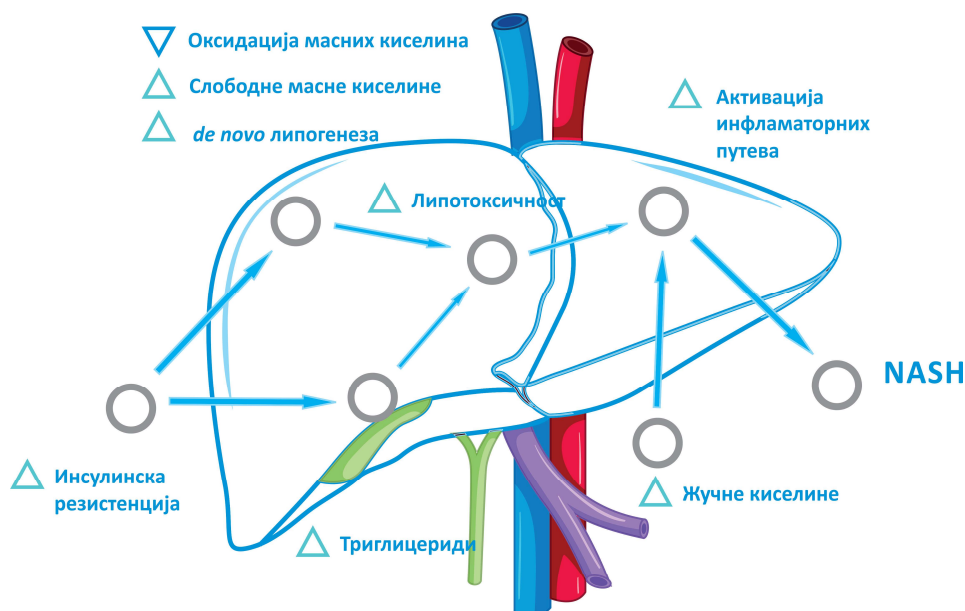
Иако новији докази несумњиво указују на кључну улогу генетске предиспозиције интрахепатоцелуларног метаболизма липида у патогенези и напредовању *NAFLD*, постоје индиције да и друге генетске детерминанте које делују у регулацији инфламаторног одговора могу подстаћи прогресију болести. У том светлу до сада су највише истраживани полиморфизми фактора тумор некрозе алфа (*TNF- α*) и интерлеукина 28Б (*IL28B*) као и оксидативни стрес (Petta et al., 2012, Valenti et al., 2002), и метаболизам гвожђа (Valenti et al., 2014) који је често измењен у *NAFLD* (Dongiovanni et al., 2011). Потенцијал оваквих сазнања лежи у откривању нових дијагностичких и прогностичких биомаркера у клиничкој примени али и у открићу нових терапијских опција за постизање персонализоване терапије.

Систематско тестирање чланова породице ипак се још увек не препоручује, иако су описани докази који иду у прилог генетичкој компоненти *NAFLD* (Abdelmalek et al., 2006, Wagenknecht et al., 2009). У том смеру је спроведена и рестроспективна кохортна студија (Willner et al., 2001) која је показала да прво колена рођака пацијената са *NASH*-ом показује сличну клиничку слику у чак 18% случајева.

Премда су у фокусу истраживања одрасли пацијенти, битно је осврнути се на чињеницу да се *NAFLD* може јавити и у педијатријској популацији, како је забележено још 1983. године (Moran et al., 1983). У дечјем узрасту појава *NAFLD* је последица генетске предиспозиције и појачане осетљивости на спољне стимулусе, односно факторе окружења (Schwimmer et al., 2005). Одрасли пацијенти којима је још у детињству постављена дијагноза *NAFLD* су у значајно већем ризику од ране и агресивне прогресије болести (Feldstein et al., 2009). Описани су случајви деце са *NAFLD*-ом са само две године старости, са цирозом као последицом *NASH*-а већ у узрасту од 8 година. Пре неколико година објављена је мета анализа о преваленци *NAFLD* у дечијој популацији. Наводи се да се чешће јавља код дечака него код девојчица, са опсегом од 7,6% у општој педијатријској популацији до 34,2% у популацији гојазне деце (Anderson et al., 2015).

1.4 Патогенеза

Патогенеза *NAFLD*-а још увек није у потпуности разјашњена. Најшире распрострањена теорија говори у прилог тврдњи да је инсулинска резистенција код већине пацијената примарни патофизиолошки механизам. Управо инсулинска резистенција представља кључни механизам који води ка хепатичкој стеатози потенцирајући липолизу, синтезу триглицерида, повећано преузимање слободних масних киселина од стране хепатоцита и акумулацију триглицерида у јетри. Одређени аутори сматрају да постоји и „други окидач“ или додатно оксидативно оштећење као неопходан фактор да би се манифестовала некроинфламаторна компонента. Додатно, јављају се и наводи да гвожђе депоновано у јетри, антиоксидативна заштита и интестиналне бактерије учествују у патогенези ове болести. Дакле, бројни су покретачи настанка *NAFLD* и развоја *NASH*-а, а поједностављен приказ кључних процеса представљен је на слици 1.2.



Слика 1.2 Приказ кључних процеса за настанак *NAFLD*-а и развој *NASH*-а

1.4.1 Метаболизам липида у јетри

Метаболизам масти у јетри може се сумирати кроз три процеса: у условима нормалне ухрањености, триглицериди из хране и вишак угљених хидрата се претварају у слободне масне киселине (СМК). Током периода поста или гладовања, триглицериди депоновани у масном ткиву хидролизују се до глицерола и СМК које се транспортују у јетру где служе за стварање фосфолипида и естара холестерола или се конвертују у кетонска тела и користе као енергија за екстрахепатичка ткива (Vajro et al., 1994). Акумулација масти у јетри може настати различитим путевима:

- повећан прилив СМК у јетру које потичу из периферних адипоцита или хране

- повећана ендогена хепатичка синтеза СМК
- смањена екскреција СМК у облику липопротеина мале густине (*LDL*) односно у облику липопротеина веома мале густине (*VLDL*), или
- удружени ефекат поменутих процеса

Сигурно је да у метаболизму липида кључну улогу играју хепатоцити. Оксидација масних киселина одвија се у митохондријама, пероксизомима и микрозомима. Детаљније посматрано, оксидација масних киселина кратког, средњег и дугог ланца, врши се на нивоу митохондрија. Пероксизоми су одговорни за оксидацију масних киселина веома дугог ланца (*VLCFA*). Масне киселине дугог ланца (*LCFA*) и *VLCFA* подлежу оксидацији и у микрозомима, где као производ настају дикарбоксилне киселине које се даље деградирају у пероксизомима. Након што се *VLCFA* и *LCFA* скрате оксидацијом у пероксизомима и микрозомима, систем митохондријале оксидације завршава у потпуности оксидативни процес. Управо због ове улоге, често се говори да митохондрије руководе процесом оксидације масних киселина, те се сматрају одговорним за већину поремећаја који настају у метаболизму липида (Satapathy et al., 2015).

Посматрајући иницијални механизам у настанку *NASH*-а, одговоран за хепатоцелуларно оштећење и инфламацију као последице акумулације липида и њихове токсичности, истраживања су донела занимљива сазнања. Наиме, укупна количина липида која се депонује у хепатоцитима није главна детерминанта липотоксичности, већ специфичне врсте липида делују као штетни агенси на хепатоците. Недавно је уочена улога триглицерида, СМК, слободног холестерола и церамида као липотоксичних агенаса (Marra and Svegliati-Baroni, 2018). Овај процес се јавља услед прекомерног преузимања СМК из масног ткива, смањене хепатичке екскреције СМК као последице смањене синтезе или секреције *VLDL*, те због поремећене бета-оксидације СМК. Главни извори триглицерида који доприносе нагомилавању масти у *NAFLD* јесу масне киселине складиштене у масном ткиву и масне киселине створене кроз *de novo* липогенезу (Donnelly et al., 2005). Прекомерни утицај СМК у јетру може настати или због повећаног допремања триглицерида у јетру (као што се дешава код гојазних при наглум губитку ТМ), или због прекомерне конверзије угљених хидрата и протеина у триглицериде (примена тоталне парентералне нутриције). Додатно, поремећена синтеза и секреција *VLDL* може настати као последица абеталипопротеинемije, протеинске малнутриције или дефицијенције холина. Акумулација триглицерида се јавља и као последица дефекта у постпрандијалној секрецији аполипопротеина *B** (*ApoB*), што је примећено код пацијената са *NASH*-ом (Musso et al., 2003).

**ApoB* је велики протеин на површини атерогених липопротеина који обезбеђује структурни интегритет, а служи и као лиганд за *LDL*-рецепторима посредован клиренс (Shapiro and Fazio, 2017). Значајан је за процену липидног поремећаја нарочито код пацијената са мешовитом хиперлипидемијом – обично је повећан у случајевима фамилијарне комбиноване хиперлипидемије а снижен у односу на укупни холестерол код дисбеталипопротеинемije. Представља бољи предиктор кардиоваскуларног ризика и одговора на терапију *LDL* (Bayly, 2002).

1.4.2 Инсулинска резистенција

Доказана је снажна повезаност инсулинске резистенције са хепатичком стеатозом и потенцијално стеатохепатитисом (Chitturi et al., 2002a, Hamaguchi et al., 2005, Pagano et al., 2002, Willner et al., 2001). Гојазност и дијабетес типа 2, често присутни и код пацијената са *NAFLD*, су у директној вези са периферном инсулинском резистенцијом, мада је доказано да се инсулинска резистенција може јавити и код пацијената нормалне ТМ који нису дијабетичари. Наиме, у присуству резистенције на инсулин настају промене у метаболизму липида, као што су појачана периферна липолиза, повећана синтеза триглицерида и повећано преузимање масти од стране хепатоцита (Kral et al., 1977). У овим условима повећане акумулације триглицерида у јетри, долази до фаворизовања бета-оксидације СМК као извора енергије (у односу на угљене хидрате) (Sanyal et al., 2001). Уочен је пораст СМК код пацијената са *NAFLD* и дијабетес мелитуса тип 2 у поређењу са дијабетичарима без *NAFLD* (Kelley et al., 2003).

Генетска основа за настанак инсулинске резистенције није у потпуности разјашњена. Различите студије су идентификовале повезаност са полиморфизмом одређених гена за аполипопротеин С3, интерлеукин-6 (*IL-6*) (Carulli et al., 2009) као и протеина адипонутрина, који се налази у масном ткиву и учествује у метаболизму триглицерида (Petersen et al., 2010, Rotman et al., 2010). Доказан је и повећан ризик од настанка *NAFLD* у случајевима да постоји полиморфизам пероксизом пролифератор-активираниог рецептор-гама коактиватора 1 алфа гена (*PPARGC1A*) (Domenici et al., 2013, Lin et al., 2013).

Висцерално масно ткиво се такође доводи у везу са инфламацијом и фиброзом јетре, вероватно посредовану *IL-6* (van der Poorten et al., 2008). Осим тога, повећан садржај висцералног масног ткива фаворизује глуконеогенезу, повећање СМК и инсулинску резистенцију. Активација ензима који конвертује *TNF- α* корелише са инсулинском резистенцијом, стеатозом и оштећењем хепатоцита (Fiorentino et al., 2010).

Упркос овим тврдњама, установљено је да се *NASH* може развити и код пацијената који немају инсулинску резистенцију (Angulo, 2002). Ова чињеница недвосмислено говори у прилог тврдњи да је *NASH* хетероген синдром, у чијем настајању постоји више узрока.

1.4.3 Хепатоцелуларно оштећење

Фаворизовање бета-оксидације СМК у условима у којима већ постоји оштећење на нивоу митохондрија, доводи до повећаног стварања хепатотоксичних слободних радикала, хепатоцелуларне некрозе и фиброзе (Sanyal et al., 2001). Електронском микроскопијом уочене су структурне абнормалности митохондрија у смислу поремећаја оксидативне фосфорилације код пацијената са *NASH*-ом, у односу на пацијенте са стеатозом (Sanyal et al., 2001). Исти аутори су закључили да ће у одсуству митохондријалних дефеката инсулинска резистенција довести само до симплекс

стеатозе, која неће прогредирати до *NASH*-а. С друге стране, постоје индиције да је митохондријално оштећење последица повећане липидне пероксидације, те да ово оштећење неће постојати пре него што се липидна пероксидација догоди. Производи овог процеса мењају митохондријалну дезоксирибонуклеинску киселину. Следећа хипотеза указује да ће до оштећења хепатоцита доћи у случају да су испуњена два предуслова, инсулинска резистенција и други дефект који је одговоран за нагомилавање различитих врста слободних радикала. Потенцијално хепатотоксични стресори су проинфламаторни и инфламаторни медијатори као што је *TNF- α* , мијелопероксидазе и природне ћелије убице (Rensen et al., 2009, Tajiri et al., 2009). Додатно, издваја се и утицај каптазе-2, протеазе која учествује у ћелијској апоптози, чија је експресија у директној корелацији са тежином *NAFLD*-а (Machado et al., 2015).

1.4.4. Улога гвожђа

Повећан садржај гвожђа у јетри такође може имати улогу у настанку *NASH*-а, јер је инсулинска резистенција удружена са вишим нивоима хепатичког гвожђа (Mendler et al., 1999). Специфичан механизам којим гвожђе доприноси некроинфламацији није у потпуности јасан. Сматра се да поред генетских фактора и инсулинске резистенције, еритрофагоцитоза *Kupffer*-ових ћелија додатно доприноси акумулацији гвожђа (Fujita and Takei, 2011). Могуће је да се у процесу редукције тровалентног у двовалентно гвожђе стварају слободни кисеонични радикали који доводе до оштећења (Woods et al., 1998). Када се успостави боља контрола гликемије, уочава се смањење серумског феритина и концентрације гвожђа у јетри (Vigano et al., 2000). Додатно је показано да ће наступити побољшање у смислу смањења инсулина и вредности аланин аминотрансфераза (*ALT*), уколико дође до смањења концентрације гвожђа чак и при претходно нормалним вредностима овог елемента (Facchini et al., 2002). Већина студија је проучавала утицај хепатичког гвожђа, док су новија сазнања усмерена на адипозно ткиво као циљно место дејства где гвожђе утиче на инсулинску резистенцију (Britton et al., 2016).

У популацији *NASH* пацијената уочена је повећана преваленца хетерозигота за мутацију гена одговорног за хемохроматозу, праћена вишим концентрацијама гвожђа и већим вредностима *ALT* (Bonkovsky et al., 1999). Високе вредности феритина и повећана сатурација гвожђем могу бити индикација за биопсију јетре, нарочито код пацијената са хомозиготном или хетерозиготном формом за *C282Y HFE* мутацију гена (Амерички водичу за дијагностиковање и терапију *NAFLD*-ом) (Chalasanani et al., 2012). У европском водичу (*EASL*) се наводи да је флеботомија погодна за смањење депоа гвожђа до доње границе референтног опсега како би наступило побољшање скорa неалкохолне масне болсети јетре (*NAS* скорa), нарочито код пацијената са високим нивоом феритина независно од генског полиморфизма за хемохроматозу, позивајући се на студију *Valenti et al.* (Valenti et al., 2014).

1.4.5 Антиоксиданси

Оксидативни стрес игра важну улогу у патофизиолошком механизму настанка *NASH-a*. Наиме, показано је да повећан оксидативни стрес у масној јетри доводи до апоптозе Т-регулаторних ћелија редукујући њихов број, изазивајући смањену супресију инфламаторних одговора. Ово је једно од могућих објашњења патогенетског механизма трансформације стеатозе ка стеатохепатитису (Ma et al., 2007). Липидна пероксидација и слободни кисеонични радикали смањују једињења одговорна за антиоксидативну заштиту (глутатион, витамин Е, витамин Ц и бета каротен (Sastre et al., 1989), те тако повећавају осетљивост јетре ка оксидативном оштећењу (Strauss et al., 2000). Показано је да пацијенти са *NASH-ом* (у односу на контролну групу) имају више нивое ксантин оксидазе у серуму која се сматра генератором реактивних кисеоничних једињења, уз забележено ниже нивое антиоксидантних ензима (Baskol et al., 2007). Такође је документовано да је дијетарни унос антиоксидантних витамина значајно нижи код пацијената са *NASH-ом*, у поређењу са контролном групом здравих добровољаца (Musso et al., 2003).

Постоје индикације које сведоче да и антиоксиданси могу умањити оксидативно оштећење јетре. *Harrison et al.* проучавали су терапију витамином Е у дози од 1000 Пј и витамином Ц у дози од 1000 mg и, у односу на плацебо, показавши побољшање фиброза скора код *NASH* пацијената. Није било утицаја на некроинфламацију и активност *ALT* (Harrison et al., 2003).

1.4.6 Лептин и адипонектин

Када је откривено да је *NAFLD* патологија често праћена гојазношћу и одређеним степеном инфламације, про- и анти-инфламаторни цитокини који се стварају у адипозном ткиву све више добијају на значају (Adolph et al., 2017). Наиме, адипонектин је анти-инфламаторни медијатор (Shetty et al., 2009), док се насупрот њему налази лептин који испољава про-инфламаторну функцију (Lord et al., 1998).

Лептин је пептид кога примарно продукују адипоцити (и неки други органи као што је плацента) (Gambino et al, 2010), регулише унос хране и енергетску потрошњу организма. Добро је позната директна веза нивоа лептина у серуму са процентом депоа масног ткива (Uygun et al., 2000). Рецептори преко којих делује лептин су распрострањени у целом организму и одговорни за његов плејотропни ефекат који се испољава на енергетску хомеостазу, имуну, неуроендокрину и репродуктивну функцију (Procaccini et al, 2012). Лептин индукује дефосфорилацију супстрата 1 инсулинског рецептора чинећи хепатоците резистентним на инсулин (Cohen et al., 1996). На анималним студијама је показано да примена лептина у централни нервни систем мишева којима је индукована масна јетра, довела до кориговања инсулинске резистенције и стеатозе, док периферна примена није имала овакав ефекат (Asilmaz et al., 2004). Открића базирана на резултатима ове студије сугеришу да се у патогенези *NASH-a* јавља резистенција на лептин у централном нервном систему а не на нивоу јетре. Међутим, у хуманој *NAFLD* популацији, није

пронађена повезаност између нивоа лептина и стадијума фиброзе (Angulo et al., 2004, Chitturi et al., 2002b).

Адипонектин је хормон који испољава позитиван ефекат на метаболизам липида (поспешује клиренс липида и бета-оксидацију СМК у мишићима) и антинфламаторни ефекат (супримира стварање *TNF- α* у јетри) (Xu et al., 2003). Снижен адипонектина доводи се у везу са *NAFLD*, хепатичком фиброзом и прогресијом метаболичког синдрома (Savvidou et al., 2009). Штавише, показана је удруженост сниженог нивоа адипонектина са хистолошким оштећењем јетре у *NASH*-у (Musso et al., 2005). *Gastaldelli et al.* су детектовали редукован ниво адипонектина код пацијентата са *NASH*-ом без обзира на индекс телесне масе (*Body mass index, BMI*), и показали да примена пиоглитазона подиже ниво адипонектина (*Gastaldelli et al.*, 2010).

Сумарни ефекат лептина и адипонектина у *NAFLD* представљен је у табели 1.3.

Табела 1.3 Лептин и адипонектин у *NAFLD*-у

<i>NAFLD/NASH</i>	
Лептин	Пораст корелише са тежином стеатозе у <i>NAFLD</i>
	Гојазност: немогућност нормализације хипергликемије – „резистенција на лептин“
	Стабилна експресија у ткиву јетре након редукације ТМ
	Након баријатријске хирургије смањење нивоа лептина
	Медијатор у комуникацији између масног ткива и мозга
Адипонектин	Смањен циркулишући адипонектин код пацијента са <i>NAFLD</i> који нису гојазни
	Смањени нивои у крви и ткиву јетре у <i>NASH</i> -у
	Смањен код гојазних и пацијената са инсулинском резистенцијом
	Пораст хепатичке експресије након губитка телесне масе
	Протективни метаболички медијатор

Преузето и прилагођено од (Adolph et al., 2017). *NAFLD*: неалкохолна масна болест јетре; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис; ТМ: телесна маса.

1.4.7 Жучне киселине

Жучне киселине, ендогени су лиганди који активирају комплексну мрежу нуклеарних рецептора, помажу ресорпцију нутријената у танком цреву и секрецију холестерола, у циљу одржавања њихове хомеостазе као кључног процеса који штити јетру и друга ткива од токсичних ефеката. Метаболизам жучних киселина регулисан је синтезом у јетри и биотрансформацијом у танком цреву (Chiang and Ferrell, 2018). Новија сазнања у погледу карактеризације рецептора жучних киселина, као што су фарнесоид X рецептор и трансмембрански G протеин-спрегнут рецептор, омогућила су детаљније разумевање патофизиологије *NASH*-а и развој потенцијалних терапијских опција – аналога жучних киселина (обетихолна киселина). Осим тога што поменути рецептори одржавају метаболизам жучних соли

и регулишу метаболизам липида, одржавају хомеостазу глукозе, повећавају потрошњу енергије, и ублажавају хепатичку инфламацију (Yuan and Bambha, 2015). Додатно, жучне соли утичу и на пролиферацију интестиналних бактерија (Kurdi et al., 2006).

1.4.8 Интестинална микробиота

Показано је да промене у микробиоти имају одређену улогу у патогенези *NAFLD*. Сматра се да потенцијални извор хепатотоксичности могу бити и бактерије цревне микрофлоре. *Wigg* и сарадници су још пре две деценије скренули пажњу да утицај прекомерног раста бактерија у танком цреву може допринети настанку *NASH-a*, вероватно као последица повећане интестиналне пропустљивости и ресорпције ендотоксина (*Wigg et al., 2001*). Студије новијег датума откривају да је управо састав цревне микрофлоре одговоран за инфламаторне па и фибротичне промене у *NAFLD*, односно да цревна дисбиоза корелише са стадијумом *NAFLD-a* (*Boursier et al., 2016, Caussy et al., 2018*). Један од хипотетичких механизма којим се објашњава овај утицај односи се на продукцију ендогеног алкохола и ацеталдехида, који се лако ресорбује у портални крвоток и изазива промене у паренхиму јетре (*Cope et al., 2000*). Остали механизми говоре о продукцији ендотоксина од стране интестиналних бактерија који делују хепатотоксично (*Kirsch et al., 2006*) или пак декоњугацији жучних соли и инактивацији хепатичких липотропа (*Urdaneta and Casadesus, 2017*).

1.4.9 Лековима изазван *NAFLD*

Лековима изазвана оштећења јетре (*Drug-induced liver injury - DILI*) су често непрепознат узрок болести јетре. Бројни лекови и други ксенобиотици могу изазвати различите клиничко-патолошке поремећаје јетре. Не само да *DILI* представља примарни узрок акутног отказивања јетре, него је битан у диференцијално-дијагностичком алгоритму код пацијената без значајних симптома који имају поремећен хепатограм (*Watkins and Seeff, 2006*).

Постоји неколико начина за класификацију *DILI*, али је у клиничкој пракси најприхватљивија подела на хепатоцелуларни, холестатски или мешовити тип оштећења, установљен од стране Већа за међународну организацију медицинских наука (*Council for International Organisation of Medical Sciences*) (*Danan and Benichou, 1993*). Диференцијација типа оштећења јетре могућа је када се израчуна однос аланин аминотрансферазе и алкалне фосфатазе (Табела 1.4).

Табела 1.4 Тип оштећења јетре на основу биохемијских параметара

Врста оштећења	Биохемијска слика
Хепатоцелуларно	Изолован пораст <i>ALT</i> ($\geq 2 \times \text{ГГН}$) или $ALT/ALP > 5$
Холестатско	Изолован пораст <i>ALP</i> ($\geq 2 \times \text{ГГН}$) или $ALT/ALP < 2$
Мешовито	Пораст <i>ALT</i> и пораст <i>ALP</i> и $2 < ALT/ALP < 5$

ALT - аланин аминотрансфераза; *ALP* – алкална фосфатаза; ГГН - горња граница од нормалне вредности параметра.

Издвајају се лекови као што су амјодарон, тамоксифен, метотрексат, валпроинска киселина и глукокортикоиди, који се доводе у везу са хепатотоксичношћу испољеном у виду стеатозе и стеатохепатитиса (Табела 1.5). Механизми којима се објашњава настанак овог вида оштећења јетре као последице дејства лекова су у великој мери слични процесу развоја саме болести, те подразумевају инхибицију бета-оксидације у митохондријама, смањену секрецију *VLDL*, индукцију инсулинске резистенције, повећану *de novo* синтезу СМК или повећано преузимање СМК од стране јетре (Miele et al., 2017). Према подацима које је представила мрежа за детектовање лековима изазваног оштећења јетре (*Drug-induced liver injury Network – DILIN*) (Kleiner et al., 2014), стеатоза (минимум 5%) је била веома честа у групи пацијената који су подвргнути биопсији јетре под сумњом на *DILI* и износила је 26,2%. Ипак овај податак треба прихватити са резервом, јер не постоје информације о евентуално претходно присутној стеатози (пре увођења лекова). Детаљније посматрано, уочавају се три врсте оштећења која се карактеришу лековима индукованом масном јетром:

- микровезикуларна стеатоза
- макровезикуларна стеатоза и
- лековима индукован стеатохепатитис (*Drug-induced steatohepatitis – DISH*) (Rabinowich and Shibolet, 2015).

Табела 1.5 Лекови и друге активне супстанце повезани са састеатозом/стеатохепатитисом

Микровезикуларна стеатоза
Ацетилсалицилна киселина
Глукокортикоиди
Нуклеозидни инхибитори реверзне транскриптазе
НСАИЛ: ибупрофен и напроксен
Кокаин
Тетрациклини (<i>IV</i> примена високих доза)
Валпроинска киселина
Макровезикуларна стеатоза
Амјодарон
Цитостатици (цисплатин, иринотекан, тамоксифен, 5-флуороурацил)
Глукокортикоиди
Метотрексат
Тотална парентерална исхрана
Стеатохепатитис
Амјодарон
Иринотекан
Метотрексат
Тамоксифен

Преузето и прилагођено од (Rabinowich and Shibolet, 2015); НСАИЛ – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Сложеност механизма за настанак *DISH*-а намеће детаљну преклиничку евалуацију лекова, у окружењу где се разматра физиолошки и метаболички аспект примене. У литератури се наводи више приступа за класификацију *DISH*-а (на основу фенотипа оштећења, механизма настанка, карактеристика лекова). Последице таквих категоризација доводе до увођења нових термина базираних на генези оштећења и групи лекова које их изазивају, као што су *TASH* (*toxicant-associated steatohepatitis*) стеатохепатитис као последица дејства токсиканата, и *CASH* (*chemotherapy-associated steatohepatitis*) стеатохепатитис у вези са применом хемотерапије (Dash et al., 2017).

1.5 Дијагностика *NAFLD*-а

1.5.1 Значај биопсије јетре

Биопсија јетре је неопходна за постављање дијагнозе *NASH*-а и још увек представља златни стандард. Хистопатолошки преглед узорка ткива јетре пружа информације које се не могу добити другим процедурама. Клинички, биохемијски или други мање инвазивни прегледи често нису довољни за разликовање *NASH*-а од стеатозе, односно њихова осетљивост је нижа, нарочито у случају благе стеатозе.

Процена биоптираних узорака у сврху градирања активности и степена оштећења јетре код пацијената са *NAFLD*-ом врши се различитим патолошким системима од којих су у клиничкој употреби најчешће коришћени следећи:

- Систем према *Brunt-y* (Brunt et al., 1999) (Табела 1.6)
- Систем креиран и валидиран од стране Клиничке истраживачке мреже за неалкохолни стеатохепатитис (*Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network - NASH-CRN*) – *NAFLD activity score (NAS)*) – подразумева процену стеатозе, лобуларне инфламације и хепатоцелуларног оштећења (Angulo et al., 2007).
- *SAF* систем (стеатоза, активност и фиброза); предложен на основу анализе гојазних пацијената који су били на програму за баријатријску операцију, а сума скорова за лобуларну инфламацију и балонирање дефинисала је активност од 0-4. Дијагноза *NASH*-а поставља се ако је скор ≥ 2
- Алгоритам „Инхибиција прогресије масне јетре“ (*The fatty liver inhibition of progression (FLIP)*), креиран од стране конзорцијума патолога да би се ограничиле варијације у тумачењу. (Bedossa and Consortium, 2014)

Табела 1.6 Систем за градирање и стадијуме *NASH*-а

Степен	Опис
Благи (степен 1)	Стеатоза (предоминантно макровезикуларна) која покрива до 66% биопсије; могу се уочити повремени балонирани хепатоцити (зона 3); расуте интра-ацинарне полиморфонуклеарне ћелије, интра-ацинарни лимфоцити; одсуство или блага портална хронична инфламација
Умерени (степен 2)	Стеатоза било ког степена; балонирани хепатоцити (предоминантно зона 3); интра-ацинарне полиморфонуклеарне ћелије, могу бити удружене са перичелуларном фиброзом у зони 3; присутна портална и интра-ацинарна хронична инфламација (блага до умерена)
Тешки (степен 3)	Панацинарна стеатоза; очигледно балонирање, предоминантно у зони 3; интра-ацинарна инфламација и расуте полиморфонуклеарне ћелије, балонирани хепатоцити, блага хронична инфламација; портална хронична инфламација (блага до умерена)
Стадијум*	Опис
Стадијум фиброзе 1 (F1)	У зони 3 перисинусоидална фиброза; фокално или екстензивно присутна
Стадијум фиброзе 2 (F2)	У зони 3 перисинусоидална фиброза са порталном фиброзом
Стадијум фиброзе 3 (F3)	У зони 3 перисинусоидална фиброза и портална фиброза са „брицинг“ фиброзом
Стадијум фиброзе 4 (F4)	Цироза

*Стадијум F0 подразумева одсуство фиброзе. Преузето и прилагођено од (Brunt et al., 1999).

Поред тога што биопсија служи за постављање дијагнозе, примењује се и за процену стадијума и степена оштећења јетре, односно одговора на терапију.

Негативне стране биопсије јетре такође не смемо занемарити. Знајући за ограничења не би је требало сматрати „савршеном“ процедуром (Brunt, 2016) нити се може препоручити свим пацијентима, имајући на уму високу преваленцу *NAFLD* широм света (Castera et al., 2013). Компликације које могу настати при извођењу процедуре крећу се од благих као што је пнеумоторакс до озбиљног крварења, руптуре јетре и оштећења билијарног система (Campbell and Reddy, 2004). Могуће је да настану грешке при узорковању (Ratziu et al., 2005) које се манифестују различитим налазом у погледу стадијума и степена оштећења од стране истог патолога. Још један разлог који чини биопсију јетре мање поузданом јесте промер игле који се примењује за узорковање, а затим и избор места у смислу потенцијалних разлика десног и левог лобуса јетре, нарочито у условима када радиолози изводе

процедуру (Larson et al., 2007). *Sumida et al.* износе следеће аспекте (поред грешке при узорковању) који биопсију јетре чине процедуром која се не може применити на широку *NAFLD* популацију: варијабилност у тумачењу налаза, анксиозност пацијента, као и морбидитет и морталитет у вези са процедуром (*Sumida et al.*, 2014). Коначно, остаје питање о довољном броју обучених лекара који могу изводити ову процедуру за све потенцијалне *NAFLD* пацијенте (*Bataller and Brenner*, 2005).

1.5.2 Радиолошке методе

Према званичним препорукама *EASL*-а, златни стандард за дијагнозу *NASH*-а јесте биопсија јетре. У свакодневной клиничкој пракси, не постоји једногласан став стручне јавности валидности неинвазивних дијагностичких метода (*EASL-ALEH guidelines*, 2015).

Услед дифузне инфилтрације масти у јетри, на ултразвуку се уочавају хиперехогене ехоструктуре „светла јетра (енг. *bright liver*)“ (*Lonardo et al.*, 1995). *Hernaez et al.* су објавили мета анализу која је укључила 49 студија, закључивши да су сензитивност и специфичност ултразвучне дијагностике у поређењу са биопсијом 85% односно 94%, редом. Овакав резултат значајно опада у популацији морбидно гојазних пацијената (*Mottin et al.*, 2004). Компјутерска томографија и магнетна резонанца могу детектовати стеатозу али не и инфламацију или фиброзу (*Rofsky and Fleishaker*, 1995).

Поред конвенционалне ултразвучне технике, компјутерске томографије и магнетне резонанце, радиолошке методе подразумевају и новије као што су ултразвучна еластографија, технике квантитативног ултразвука, магнетна еластографија и методе за квантификацију масти базиране на магнетној резонанци (*Li et al.*, 2018).

Савремене визуелизационе методе су још увек ограничене у погледу детекције инфламације која је важнија од стеатозе због потенцијалне прогресије ка фибрози, цирози и *HCC*-у (*Li et al.*, 2018).

Недавно објављена студија јапанских научника говори о могућности коришћења отпора (импеданце) слободних масних киселина у јетри у сврху диференцијације здраве јетре, стеатотичне јетре и *NASH*-а. Нижа акустична импеданца као последица слободних масних киселина може бити карактеристика пацијената са *NASH*-ом. Иако је студија изведена у *in vitro* условима, оставља простор за даља истраживања постављене хипотезе (*Maquyama et al.*, 2020).

1.5.3 Скоринг системи

Постоје бројни скорови предложени за процену стеатозе. Издвајају се три валидирана скорва који су до сада показали добар предиктивни значај за метаболичке, хепатичке и кардиоваскуларне исходе:

- Индекс масне јетре (*Fatty liver index - FLI*)
- Индекс хепатичке стеатозе (*Hepatic steatosis index - HSI*)
- *NAFLD* скор масне јетре (*NAFLD-LFS*)

FLI је постављен од стране *Bedogni et al.* са циљем детекције стеатозе у општој популацији помоћу једноставног алгоритма, са тачношћу од 0,84 (95% CI 0.81-0.87) (*Bedogni et al.*, 2006). Садржи 4 варијабле: *BMI*, обим струка, триглицериде и гама глутамилтрансферазу. *FLI* се креће у опсегу од 0-100, при чему се резултати интерпретирају на следећи начин:

- *FLI* скор < 30 искључује стеатозу
- *FLI* скор ≥ 60 указује на стеатозу
- *FLI* скор између 30 и 60 остаје неубедљив

Овај индекс није укључен у званичне *EASL* препоруке јер је базиран на обиму струка, параметру који се не налази у стандардним медицинским извештајима.

За разлику од *FLI* скорва, *HSI* је подржан од стране *EASL*-а. Наиме, спроведена студија пресека је уврстила 10,724 испитаника међу којима је 5,362 имало дијагнозу *NAFLD* (*Lee et al.*, 2010a). Израчунавање *HSI* скорва заснива се на следећим подацима: *BMI*, дијабетес тип 2 (да/не), пол, вредности *AST* и *ALT*. Интерпретација добијених резултата подразумева 2 граничне вредности скорва:

- *HSI* < 30 искључује *NAFLD*
- *HSI* ≥ 36 позитивна дијагноза *NAFLD*

Следећи тест који се може применити за предикцију стеатозе (*NAFLD-LFS*) је предложен од стране *Kotronen et al.* и осим вредности *AST* и *ALT* обухвата и следеће варијабле: метаболички синдром (да/не), дијабетес тип 2 (да/не) и серумски инсулин (*Kotronen et al.*, 2009). Гранична вредност је постављена на -0.640 (86% сензитивност и 71% специфичност), са следећом идејом:

- *NAFLD-LFS* < -0.640, искључује *NAFLD*
- *NAFLD-LFS* > -0.640, вероватно се ради о *NAFLD* (пацијента би требало упутити на ултразвук и друге дијагностичке процедуре)

Наведени скорови предвиђају присуство/одсуство стеатозе али не дају информацију о степену/озбиљности стеатозе (*Fedchuk et al.* 2014.)

У литератури се помиње и *TyG* индекс као скрининг метод за детекцију инсулинске резистенције предложен од стране *Salazar et al.* који користи само два биохемијска параметра – триглицериде и глукозу (*Salazar et al.*, 2017). Потом су *Zhang et al.* испитивали каква је предиктивна улога овог индекса за *NAFLD* у односу на *ALT* у кохорти од 10,761 пацијента код којих је *NAFLD* потврђен ултразвуком. Закључак је да је преваленца *NAFLD* повећана заједно са повећаним вредностима *TyG* и *ALT*, али се *TyG* показао бољим предиктором за искључивање *NAFLD*. ROC анализа указује да је оптимална *cut-off* вредност *TyG* за *NAFLD* 8,5 (*Zhang et al.*, 2017).

1.6 Терапијски приступ *NAFLD*-у

Тренутни стандард у брзи о пацијентима са *NAFLD* подразумева модификацију животног стила фокусирану на смањење ТМ и континуирану физичку активност, предтсваљено детаљније у Табели 1.7. (European Association for the Study of the Liver et al., 2016). Наиме, показано је да редукција ТМ од најмање 3-5% може поништити стеатозу, али већи губитак ТМ (8-10%) је неопходан да клинички побољша *NASH* и фиброзу (Romero-Gomez et al., 2017). Ипак већина пацијената тешко постиже смањење ТМ и што је још важније тешко одржава постигнуто, чиме се наглашава неопходност фармакотерапије (Sumida et al, 2018).

Табела 1.7 *EASL-EASD-EASO* препоруке за стил живота у терапији *NAFLD*

Област	Интервенција
Смањење енергетског уноса	500-1000 kcal дневно да се започне смањење ТМ од 0,5-1 kg недељно Циљ је смањење укупне ТМ за 7-10% код пацијената са прекомерном ТМ Дугорочно одржавање уз физичку активност
Састав макронутријената	Низак унос масти и низак до средњи унос УХ (Медитеранска дијета) Низак унос УХ и висок унос протеина (кетогена дијета)
Фруктоза	Избегавати намирнице које садрже фруктозу
Алкохол	Ограничити унос алкохола (30 g/дневно за мушкарце, 20 g/дневно за жене); умерен унос има позитивно дејство (вино); Апстиненција у случају <i>NASH</i> цирозе
Кафа	Без ограничења; протективна улога
Физика активност	150-200 мин/недељно умерене/интензивне физичке активности у 3-5 наврата (аеробна активност и вежбе отпора); индивидуално прилагодити

ТМ – телесна маса; УХ – угљени хидрати. (European Association for the Study of the Liver et al., 2016).

Осим придржавања здравом животном стилу и регулисања телесне масе (*EASL-EASD-EASO guide*, Табела 1.7) као приступа који су показали несумњиву корист код *NAFLD/NASH* пацијената, до данашњег дана не постоји званично одобрена терапија ове болести.

Успешна терапија *NASH*-а требало би да побољша исход у смислу смањења морталитета, односно да успори прогресију болести до цирозе или хепатоцелуларног карцинома. Методе у лечењу *NASH*-а обухватају баријатријску хирургију, трансплантацију јетре и примену лекова.

1.6.1 Баријатријска хирургија

Метода лечења која представља опцију за дуготрајније решење у циљу редукције ТМ и смањења метаболичких компликација, код пацијената код којих промене у стилу живота и фармакотерапија нису донеле жељени циљ, јесте баријатријска хирургија (Schauer et al., 2014). Постоје докази који говоре о ефикасности ове процедуре код оштећења јетре изазваних стеатозом, у смислу побољшања некроинфламације и фиброзе (Caiazzo et al., 2014). У проспективној студији *Lassailly et al.* пацијенти са биопсијом потврђеним *NASH*-ом у тренутку баријатријске процедуре а затим годину дана након операције поново је извршена биопсија јетре. Код већине пацијената (85%) забележено је одсуство *NASH*-а (Lassailly et al., 2015). Иако је ова студија детектовала побољшање фиброзе код трећине пацијената, постоје индиције да се након 5 година од операције иако не клинички значајно, повећава фиброза скор (Mathurin et al., 2009). Европски водич наводи да ће деловањем на гојазност и дијабетес, баријатријска хирургија успорити прогресију *NASH*-а (*PEF*). Амерички водич наглашава да безбедност и ефикасност ове процедуре остаје да се докаже код пацијената са *NASH* цирозом (Chalasanani et al., 2018).

1.6.2 *NASH* и трансплантација јетре

Главни разлог за трансплантацију јетре до 2016. године била је алкохолна болест јетре, *NASH* се налазио на другом месту, затим су следели *HCC* као последица хроничне инфекције вирусом хепатитиса Ц и сама хронична инфекција вирусом хепатитиса Ц на трећем, односно четвртном месту. Подсећања ради, у популацији жена *NASH* је данас водећи узрок за стављање на листу за трансплантацију, а стручна јавност предвиђа да ће управо *NASH* постати најчешћа индикација за трансплантацију јетре и у мушкој популацији (Noureddin et al., 2018). У периоду од 2004. до 2016. године забележен је фрапантан пораст кандидата на листи за трансплантацију јетре због *NASH*-а који представља експанзију од 114% у мушкој популацији, односно 80% у женској популацији (Noureddin et al., 2018). Додатно, цироза јетре као последица *NASH*-а постаје најчешћа индикација за трансплантацију јетре код пацијената старијих од 65 година (Tsochatzis et al., 2019).

NASH се јавља и након трансплантације јетре, али утицај на преживљавање графта и исходи за пацијента још увек нису довољно документовани. *Haldar et al.* анализирајући податке Европског регистра за трансплантацију јетре истичу значајан пораст трансплантације јетре као последице *NASH*-а у Европи у периоду од 2002. до 2016. године (са 1,2% на 8,4%). У групи трансплантираних *NASH* пацијената много чешће је био присутан *HCC* (39,1%), у поређењу са пацијентима без *NASH*-а (28,9%). Преживљавање графта и пацијената није се разликовало у односу на друге индикације (Haldar et al., 2019).

Важно је имати на уму и чињеницу да је у Америци код потенцијалних донора јетре забележена стетоза >30% код 20% кандидата, чинећи их неподобним (Marcos et al., 2000). Још већа преваленца *NAFLD* од чак 51% регистрована је у Кореји

код живих потенцијалних донора јетре, наводећи године, гојазност и хипертриглицеридемију као факторе ризика за стеатозу (Lee et al., 2007)

Стога су 2019. године, стручњаци који учествују у мултидисциплинарном приступу код трансплантираних пацијената објавили консензус са намером да се нагласе специфичности ове популације и усвоји оптимална стратегија за евалуацију пре трансплантације (Tsochatzis et al., 2019). Такође, донете су смернице у погледу руковођења рекуренса и *de novo* NAFLD/NASH након трансплантације јетре (Germani et al., 2019).

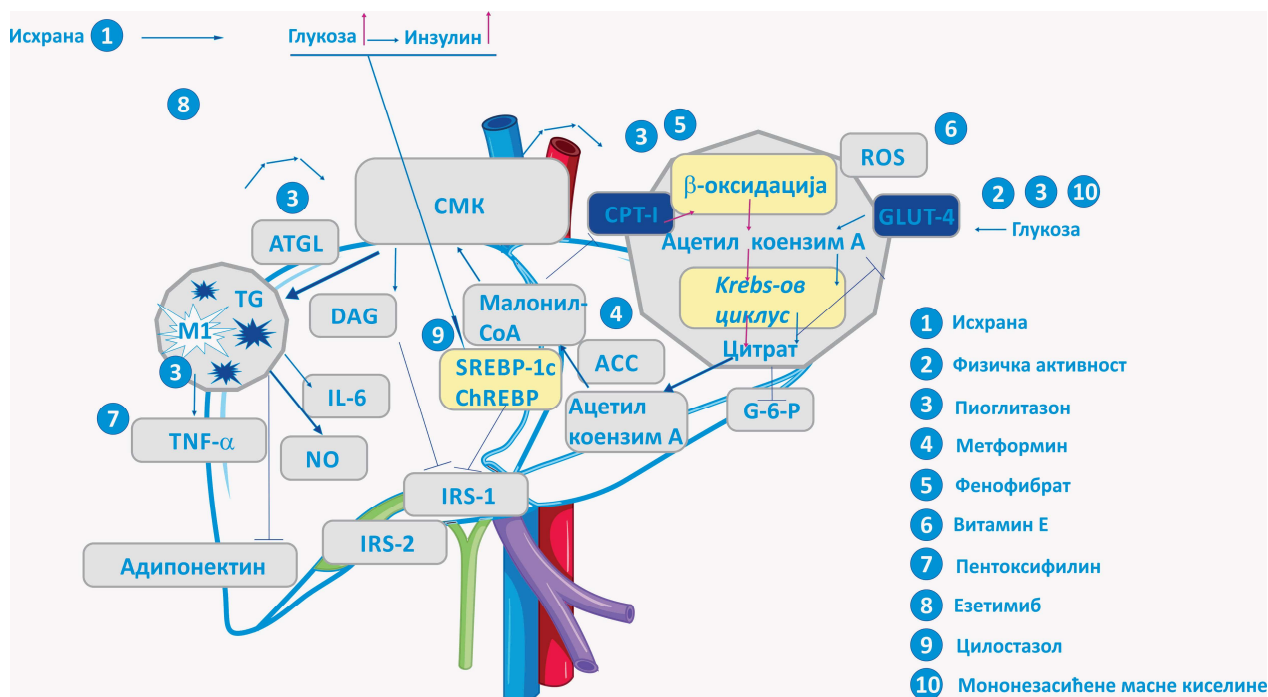
1.6.3 Лекови у NASH-у

Лекови су индиковани у следећим случајевима:

- присуство NASH-а када је стадијум фиброзе \geq F2
- у раној фази када је повећан ризик од прогресије ка фибрози
- код пацијената код којих се приступ редукције ТМ покаже неуспешним, а постоји један или више фактора ризика: старији од 50 година, дијабетес мелитус, метаболички синдром, константно повећан ALT

(Adams et al., 2005, European Association for the Study of the Liver et al., 2016, Roeb and Geier, 2019).

До овог тренутка, не постоји специфична терапија за NASH одобрена од стране званичних регулаторних тела. Не изненађује чињеница да се испитивање лекова и потенцијалних кандидата лекова налази у експанзији, те се до 2018. године преко 300 агенаса нашло у различитим фазама испитивања (Drew, 2017). Процењено је да ће тржиште за одобрену терапију NASH-а вредети 20-35 милиона америчких долара годишње до 2025. године (Eslam et al., 2019). Претпоставља се да ће се први одобрен лек за NASH на тржишту појавити најраније 2021. године (Sumida et al., 2019). Стога, сви лекови који се користе у терапији су без одобрене индикације (*eng. off-label*). Безбедност и толерабилност јесу предуслов за примену лекова, имајући на уму коморбидитете удружене са NASH-ом, те следствено полифармацији и ризик од лек-лек интеракција. Оптимална дужина трајања терапије није позната (European Association for the Study of the Liver et al., 2016). Кључна места деловања лекова у NASH-у приказана су на слици 1.3.



Слика 1.3. Места деловања лекова у NASH-у
(Преузето и прилагођено од (Yoon and Cha, 2014))

1.6.3.1 Метформин

Историјат

Метформин или 1,1-диметил бигванид је орални антидијабетик који данас представља прву линију терапије дијабетес мелитуса типа 2 (Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, 2012). Откриће овог лека датира из 1922. године од стране физичара *Adolph Strecker-a* који је изоловао активно једињење гванидин из биљке *Galega officinalis, Fabaceae* (ждраљевина), мада пронађени писани трагови о употреби ове биљке још у средњем веку као део народне медицине за лечење учесталог мокрења (симптома за који се данас зна да прати дијабетес мелитус).

Метформин бива потиснут и заборављен све до 1940. године када се изнова открива у потрази за антималяриком (са којим има сличну структуру) као лек за третирање инфлуенце (Pasik, 1997).

Крајем 50-их година прошлог века овај лек је први пут примењен као орални антидијабетик на анималном моделу, захваљујући истраживањима француског научника *Jean Sterne*. Заједно са својим колегом, фармацеутом *Denis Duval-ом* испитивао је више једињења са структуром гванидина, доказавши хипогликемијски ефекат метформина на неколико животињских модела, наводећи да се лек добро подноси чак и при дуготрајној употреби. Занимљив је и податак да је сам *Sterne* предложио име '*glucophage*' (у преводу: који једе глукозу), што је касније и прихваћено у току регистрационог процеса. Тада је метформин сматран слабије потентим леком за регулацију гликемије у поређењу са другим бигванидима,

фенформином и буформином. Међутим, ова два лека се повлаче са тржишта крајем 70-их година прошлог века због високог ризика од лактичке ацидозе, те остављају простор за даља истраживања метформина. Почине да се генерише велики број доказа који потврђују ефикасност метформина у хипергликемији, без повећања ГМ. Одобрен је за примену на америчком континенту 1995. године (Bailey, 2017, Pasik, 1997), а три године касније у *Lancet-у* је објављена проспективна студија из Велике Британије која показује метаболички ефекат метформина и смањење кардиоваскуларног ризика, те аутори предлажу метформин као могућу прву терапијску опцију за пацијенте са дијабетесом типа 2 (UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group, 1998). Међународна федерација за дијабетес 2005. године стаје званично иза ових препорука у оквиру првог глобалног водича за дијабетес типа 2 (Force, 2012). Коначно, 2011. године метформин бива уврштен на листу есенцијалних лекова од стране Светске здравствене организације (*WHO - World Health Organisation*) (World Health Organization, 2015).

Механизам дејства

У последњој деценији постаје јасно да механизам дејства метформина превазилази једноставно објашњење у коме овај лек смањује синтезу глукозе у јетри кроз супресију глуконеогенезе, инхибира липолизу те последично смањује ослобађање СМК из масног ткива, поспешује преузимање глукозе од стране мишићних ћелија и смањује интестиналну ресорпцију глукозе активирањем аденозин монофосфат (AMP) – активирани протеин киназе (AMPK) сигналног пута (Foretz et al., 2014). Данас се зна да метформин осим дејства преко AMPK ензимског пута, делује и AMPK независним механизмима вероватно инхибицијом митохондријалне респирације и инхибицијом митохондријалне глицерофосфат дехидрогеназе као и механизмима који укључују лизозоме (Rena et al., 2017)

AMPK је главни сензор ћелијског енергетског статуса, заправо ензим AMP-активирана протеин киназа (AMPK) који регулише енергетску хомеостазу на ћелијском и физиолошком нивоу. Активира се у одговору на енергетски стрес реагујући на промене у смањењу нивоа АТФ-а а порасту ниво AMP-а. Управо промена односа AMP:АТФ представља индикатор енергетског дефицита. AMPK заправо представља централни чвор који ћелије користе за координацију свог метаболизма у зависности од енергетских потреба. Доводи до поновног успостављања енергетског баланса инхибирајући анаболичке процесе који троше АТФ, а промовише катаболичке процесе који ослобађају АТФ. (Garcia and Shaw, 2017).

Детаљније посматрано, сматра се да је хипогликемијски ефекат метформина последица утицаја на сигналне процесе у хепатоцитима који доводе до смањења глуконеогенезе у јетри (Sun et al., 2018). Његов молекуларни механизам дејства одговоран за хомеостазу глукозе је описан активирањем AMPK сигналног пута када долази до супримирања проинфламаторног одговора, те се поларизација макрофага усмерава ка антиинфламаторном фенотипу (Sag et al., 2008). У складу са овим објашњењем, Vasamsetti и сарадници неколико година касније потврђују да антиинфламаторно дејство метформина потиче управо од модулирања диференцијације и поларизације макрофага (Vasamsetti et al., 2015). Ови

истраживачи сугеришу да метформин испољава ефекат инхибиције моноцита као макрофагима, смањењем активности *STAT3* услед повећане активности *AMPK* сигналног пута. На овај начин не само да је спречена диференцијација моноцита као макрофагима, него и смањена продукција проинфламаторних цитокина (као што је *TNF- α*). Како је данас позната кључна улога макрофага не само у процесу инсулинске резистенције него и у настанку васкуларних оштећења, атеросклерозе и карцинома, ово спознаја баца нову светлост на примену метформина.

Управо сазнањима о кардиопротективном и антиканцерском деловању, као и повољном дејству метформина на микробиоту, превазилази се улога овог лека као хипогликемика, те ефекат приписује његовом плејотропном деловању (Forouzandeh et al., 2014, Hattori et al., 2015).

Активација *AMPK* под утицајем метформина испољава користан ефекат и у погледу метаболизма липида, јер *AMPK* инактивира ацетил коензим А карбоксилазу и 3-хидрокси-3-метил коензим А редуктазу, смањује експресију синтазе масних киселина и активира малонил коензим А карбоксилазу. Последично долази до смањене синтезе масних киселина и холестерола. Додатно, *sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c)* бива инхибиран под утицајем *AMPK*, који је транскрипциони фактор за ген укључен у синтезу масних киселина, значајно повишен код *NAFLD* пацијената (Kohjima et al., 2008, Mazza et al., 2012). Постоје назнаке да метформин модулира синтезу или секрецију адипокина, те тако испољава дејство на масно ткиво (Huypens et al., 2005). Наиме, адипонектин који се тада ослобађа спречава акумулацију липида у јетри стимулишући оксидацију слободних масних киселина односно инхибирајући *de novo* синтезу (Mazza et al., 2012).

Поред доступних сазнања о деловању метформина на нивоу цревне флоре, антитуморској активности и кардиопротективном деловању, занимљива је студија објављена 2018. године која обрађује епидемиолошке податке где се метформин разматра као „молекула који одлаже старење“, односно успорава настанак болести детерминисаних старењем. Уочено је да пацијенти који су на терапији метформиним имају мању инциденцу коморбидитета специфичних за старију популацију, да имају различит састав микробиоте од пацијената на терапији другим хипогликемичким лековима, те да се управо реобликовањем састава цревне микрофлоре може објаснити не само антихипергликемијски ефекат него и успоравање процеса старења (Prattichizzo et al., 2018).

Фармакокинетика метформина

За наступање дејства овог лека потребно је неколико дана, односно две недеље за испољавање максималног ефекта. Ресорпција је сатурабилна и непотпуна. Сматра се да је фармакокинетика нелинеарна. Волумен дистрибуције износи 654 ± 358 L; расподељује се у еритроцитима, јетри, бубрезима и гастроинтестиналном тракту. У јетри се не метаболише. Полувреме елиминације у плазми је од 4h до 9h (у крви 17,6 h). Излучује се урином у непромењеном облику (90% активна секреција) Сматра се да примена метформина код дијабетичара са оштећењима јетре (укључујући и цирозу) има користан ефекат на преживљавање (уз подразумеван опрез код пацијента са лактичком ацидозом) (Brackett 2010; Crowley 2017; Zhang 2014)

У присуству бубрежне инсуфицијенције системска изложеност леку је повећана, орални и ренални клиренс су смањени, те је неопходно имати на уму препоруке за прилагођавање дозе:

- eGFR >45 mL/min/1.73 m²: Без прилагођавања дозе
 - мониторинг бар 1x годишње
- eGFR >45 до <60 mL/min/1.73 m²
 - чешће праћење на 3-6 месеци уз максималну дневну дозу од 2 грама (Inzucchi et al., 2014, Lipska et al., 2011).
- eGFR 30 до 45 mL/min/1.73 m²: не препоручује се започињање терапије према новим смерницама (AACE [Garber 2019]; ADA 2019). Међутим, када не постоји активна болест бубрега као и у одсуству стања која доводе до хипоперфузије и хипоксемије може се увести у иницијалној дневној дози од 250 mg (макс. 1 грам)
 - стално праћење уз титрацију дозе
- ако је eGFR 30 до 45 mL/min/1.73 m² током терапије: размотрити корист/ризик примене. Ако се настави са терапијом дозу је потребно смањити за 50% не прелазећи 1 грам (ADA [Lipska 2011]; Inzucchi 2014).
- када је eGFR <30 mL/min/1.73 m²: метформин је контраиндикуван (LexiComp, 2020).

Метформин у *NASH*-у

Велики број студија проучавао је утицај метформина у *NASH*-у кроз ефекат на аминотрансферазе, показавши смањење ензима и инсулинске резистенције. Утицај метформина на хистолошку слику *NASH*-а је недовољно доказан. Наиме, објављене су две мета анализе које говоре да метформин нема утицаја на патохистолошке промене јетре у *NASH*-у (Li et al., 2013, Musso et al., 2010). Као последица ових закључака Америчка асоцијација за проучавање болести јетре (*AASLD*) формира став у Водичу за дијагностиковање и руковођење *NAFLD*-ом да метформин није специфична терапија за *NASH* (Chalasanani et al., 2018). Такође, према европском водичу *EASL* из 2016. нема довољно података за примену метформина у овој популацији пацијената, док су препоруке немачког удружења гастроентеролога (*Guideline of the German Society of Gastroenterology - DGVS*) да остаје лек избора у случају присуства дијабетеса тип 2.

Већ је у неколико наврата истакнуто да је *NASH* мултифакторијална и мултисистемска болест. Сходно овој чињеници, дејство метформина на инсулинску резистенцију иако важно и јасно доказано остаје у сенци, бива потиснуто његовим плејотропним ефектима. Бројне студије указују на антитуморску активност метформина и његову улогу у смањењу ризика од *HCC*-а (Cunha et al., 2019, Tseng, 2018). Недавно је објављен прегледни рад који говори о ефекту метформина у превенцији различитих врста карцинома, осим на *HCC* наводи се превентивни ефекат код карцинома простате, дојке, колона, ректума, панкреаса (Saraei et al., 2019).

Интересантна су открића која указују на позитивно дејство метформина у *NAFLD* кроз ефекат на интестиналну микробиоту и интестиналну заштитну

функцију (Wu et al., 2017, Zhou et al., 2016). Показан је утицај овог лека на смањену преваленцу *Bacteroides fragilis* (која се доводи у везу са озбиљном интолеранцијом глукозе) а повећање глукоурсодеоксихолне киселине у цревима (за коју је установљено да побољшава различите метаболичке исходе јер се сматра антагонистом интестиналног фарнесоид X рецептора) (Sun et al., 2018). У студији објављеној 2019. године на анималном моделу, метформин је умањио ризик од развоја *NAFLD*-а у експерименталној групи где је *NAFLD* индукован исхраном богатом мастима, фруктозом и холестеролом, те довео параметре инфламације и липидне пероксидације готово на ниво контролне групе, уз редукацију бактеријских ендотоксина у порталној плазми (Brandt et al., 2019).

Осим што се примењује у *NASH*-у који је неодобрена индикација, забележена је и његова *off-label* примена за превенцију дијабетеса нарочито код пацијената са $BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$ код којих промена животног стила није дала резултате (ADA 2019; McCulloch 2018a), као и за смањење ТМ узроковане применом антипсихотика (de Silva 2016; Zheng 2015).

1.6.3.2 Пентоксифилин

Историјат

Тридесетих година прошлог века теобромин је кориштен као периферни вазодилататор, али је његов ефекат врло брзо доведен у питање објављивањем истраживања 1935. године (McGovern et al., 1935), те је лек повучен са тржишта. Немци су наставили истраживања синтетских деривата теобромина (*Hoechst AG*), када се издвојио пентоксифилин, први пут примењен као вазоактивни агент 1972. године у Немачкој. У том периоду тестиран је од стране америчких и европских стручњака који објављују ефекат на еритроците у смислу повећања флексибилности, и доказују његову ефикасност и безбедност (Aviado and Porter, 1984). Исте године бива регистрован од стране америчке Агенције за храну и лекове (*FDA*).

Припада групи метилксантина, где се поред њега налазе кофеин и теофилин. Ова једињења су биљног порекла и испољавају сличан профил фармаколошке активности: релаксирају глатке мишиће (нарочито бронхија), делују као стимуланси централног нервног система и на нивоу бубрега промовишу диурезу (Zhang et al., 2015b). Издвајају се и три главна ефекта метилксантина: блокада рецептора аденозина, транслокација интрацелуларног калцијума, накупљање цикличних нуклеотида (Rall, 1990).

Пентоксифилин је неселективни инхибитор фосфодиестеразе који испољава вазодилататорни ефекат (Genoves et al., 2014). Лек се иницијано користио у терапији интермитентне клаудикације, а затим се индикационо подручје проширило на остале периферне васкуларне болести, исхемијска оштећења, алкохолни стетаохепатитис (Табела 1.8). Постојале су индикације за примену више једињења ксантина укључујући и пентоксифилин у терапији астме, базиране на процени њиховог имуномодулаторног ефекта. У закључку остаје да је пентоксифилин чак два пута ефикаснији у инхибицији стварања слободних радикала и инхибицији

ослобађања *TNF-α* од теофилина, након 14-одневне терапије (Entzian et al., 1998). Дејство пентоксифилина је истражено и на анималном моделу хроничне астме, показавши побољшање као последицу инхибиције Т помоћних ћелија типа 2 (*Th-2*) цитокина *IL-13* и фактора раста тумора- бета 1 (*TGF-beta 1*), смањење хиперплазије перибронхијалних глатких мишића и депозиције колагена типа I и III (Kim et al., 2009).

У претходне две деценије се истражује и његов ефекат у неалкохолном стеатохепатитису (Du et al., 2014).

Пентоксифилин се категорише као лек који редукује вискозитет крви (побољшава флексибилност мембране еритроцита). Његова употреба подразумева следеће индикације (LexiComp, 2020):

Табела 1.8 Пентоксифилин: индикације, режим дозирања, референце

Индикација	Доза	Референца
Алкохолни хепатитис (тежи облик)	400 mg 3x дневно, 4 недеље	(AASLD [O'Shea 2010], ACG [Singal 2018]) и
Интермитентне клаудикације	400 mg 3x дневно; за максималан терапијски ефекат потребно је 2-4 недеље; препорука је да терапија траје бар 8 недеља	(Guyatt et al., 2012)
Венски улкус ногу	400 mg 3x дневно (уз компресиону терапију)	(Jull 2012; Robson 2006).

Механизам дејства пентоксифилина

Пентоксифилин инхибира стварање инфламаторних цитокина (Dhôte-Burger, 1995) па тиме смањује адхезивност неутрофила за ћелије ендотела, поспешује хемотаксу те смањује продукцију слободних радикала (Horton, 1993). Појачава продукцију простаглицина који инхибирају агрегацију тромбоцита и делује као потентни вазодилататор. Познато је да делује као инхибитор фосфодиестеразе, ензима који разлаже циклични аденозин монофосфат (*cAMP*), па се повећавају нивои интрацелуларног *cAMP* у еритроцитима, ендотелу и околним ткивима, што води ка вазодилатацији, повећаној флексибилности еритроцита и побољшању протока крви.

Додатно, повећани нивои *cAMP* у тромбоцитима инхибирају агрегацију тромбоцита чиме изазива редукацију вискозитета крви. Лек такође инхибира стварање *TNF-α* и интерферона гама, истовремено индукујући настанак цитокина сличних *Th-2*. На овај начин пентоксифилин спречава инфламаторне и аутоимуне одговоре посредоване *Th-1*. Иако још у потпуности нису разјашњени сви путеви

деловања познато је да побољшава оксигенацију исхемијом захваћених ткива (LexiComp, 2020).

Фармакокинетика пентоксифилина

Након оралне примене готово у потпуности се ресорбује (полувреме ресорпције је 4-6 h). Унос хране непосредно пре примене лека одлаже ресорпцију (код препарата који се тренутно ослобађају), али не утиче на смањење укупне ресорпције. Екстензивно се метаболише претежно путем јетре, делом и у еритроцитима. Подлеже ефекту првог пролаза и 7 различитих метаболита се јављају у плазми врло брзо по примени. Главни активни метаболити (са хемореолошким ефектима) су метаболит I (1-[5-хидроксихексил]-3,7-диметилксантин) и метаболит V (1-[3-карбоксипропил]-3,7-диметилксантин), а њихове плазма концентрације су 5 односно 8 пута веће него концентрације пентоксифилина. Екскретује се готово у потпуности путем урина, а мање од 4% путем фецеса. Полувреме елиминације креће се од 0,4-0,8 h (1,0-1,6 h за активне метаболите).

Дозу је неопходно кориговати код пацијената са оштећеном бубрежном функцијом; када је клиренс креатинина < 30mL/min смањити за 30-50% према индивидуалној толеранцији (1-2 таблете дневно како би се избегла акумулација).

Лек је контраиндикован у случају преосетљивости на активну компоненту (односно метилксантине) или помоћне материје, код церебралне хеморагије, ретиналне хеморагије, акутног инфаркта миокарда и тешких срчаних аритмија (LexiComp, 2020).

Пентоксифилин у NASH-у

Употреба овог лека за терапију NASH-а је препоручена од стране јапанског Удружења гастроентеролога у водичу из 2015. године (Watanabe et al., 2015) који свој став објашњавају чињеницама да инфламаторни цитокини и оксидативни стрес играју кључну улогу у патогенези NASH-а, док пентоксифилин делује на оба процеса - као антиоксиданс и као анти-TNF-а агенс (Sterling and Sanyal, 2011, Van Wagner et al., 2011). Zein et al. представља доказе да пентоксифилин доводи до побољшања NASH-а (Zein et al., 2011). Оправданост примене пентоксифилина за ову популацију пацијената може се објаснити његовим механизмом дејства.

Пентоксифилин, као анти-TNF-а, делује директно на инфламаторни процес. Он је неселективни инхибитор фосфодиестеразе који смањује транскрипцију TNF-а гена али и утиче на више корака цитокин/хемокин пута, директном или индиректном инхибицијом TNF-а (који ј проинфламаторни цитокин) (25-27). Има способност да инхибира TNF-ом и еикозаноидом индуковане инфламаторне одговоре (Stickel and Hellerbrand, 2010). У рандомизованој двоструко слепој плацебо контролисаној студији забележено је да је терапија пентоксифилином у трајању од 12 месеци побољшала хистолошке карактеристике NASH-а (Zein et al., 2011). Исти аутори годину дана касније документују и потенцијални нови пут којим пентоксифилин испољава користан ефекат у NASH-у, показавши значајну редукцију продуката липидне оксидације при примени лека у дози од 400 mg три пута дневно, 12 месеци у поређењу са плацебом. Статистички значајна разлика је

уочена између смањења оксидационих продуката линолеинске киселине (хидрокси-октадекадиеноичне киселине и оксо-октадекадиеноичне киселине) и побољшања хистолошке слике фиброзе, односно између смањења оксидационих продуката арахидонске киселине (хидрокси-еикозатетраеноичне киселине) и смањења лобуларне инфламације (Zein et al., 2012). Неколико година касније постаје доступна и студија на анималном моделу која сугерише да пентоксифилин доводи до усходне регулације β -оксидације масних киселина те значајног смањења нивоа метаболита глукозе који настају гликолизом (Ye et al., 2016).

У више пилот студија проучавана је као могућа терапијска опција у *NASH*-у (Sterling and Sanyal, 2011, Van Wagner et al., 2011). Објављена мета анализа 2014. године о ефекту пентоксифилина у *NAFLD* у закључку наводи да је пентоксифилин утицао на смањење ТМ и јетрених ензима (*ALT*, *AST*), глукозе и *TNF- α* , те побољшао хистолошку слику што је резултирало смањењем *NAFLD* скорa и лобуларне инфламације (Du et al., 2014).

Пацијенти са *NASH*-ом углавном имају значајно веће вредности серумског *TNF- α* у поређењу са пацијентима којима је постављена дијагноза симплекс стеатозе, *TNF- α* припада проинфламаторним молекулима као кључна карика која повезује гојазност и инсулинску резистенцију, те игра и важну улогу у развоју стеатозе и стеатохепатитиса. Постоје докази који говоре да је осетљивост хепатоцита према *TNF*-посредованој апоптози повећана у случају настанка хепатичке стеатозе (Yang et al., 1997). У *Sterling*-овом чланку објављеном 2011. године (Sterling and Sanyal, 2011) који поставља питање да ли је управо пентоксифилин “чаробни лек за *NASH*”, наводи се да податке из мањих студија о делотворности пентоксифилина треба прихватити са резервом (Adams et al., 2004, Satapathy et al., 2007). Ипак, требало би имати на уму студију спроведену од стране *Zein* и сарадника у којој су приказани импресивни резултати у побољшању стеатозе и инфламације (Zein et al., 2011).

Иако до сада објављене студије указују на позитивне ефекте пентоксифилина код пацијената са *NASH*-ом, оставља се простор за додатна истраживања.

1.6.3.3 Витамин Е

Витамин Е се проучава у терапији *NASH*-а ради својих антиоксидантних карактеристика. У чувеној *PIVENS* студији примењен у дози од 800 ИЈ дневно у трајању од 96 недеља, евидентирано је значајно побољшање хистолошког профила у поређењу са плацебом (36% резолуција *NASH*-а у интервентној групи у поређењу са 21% у плацебо групи), без утицаја на фиброзу (Sanyal et al., 2010). Смањење *ALT* је корелисала са побољшањем хистолошке слике код 48% пацијената, док код пацијената код којих није било хистолошког одговора на терапију витамином Е није било ни утицаја на *ALT* (Hoofnagle et al., 2013). Посматрајући безбедност примене витамина Е, требало би размотрити следећа саопштења: мета анализу где је показан повећан укупан морталитет при дози већој од 400 ИЈ (Vjelakovic et al., 2012); мета анализа у којој је детектован повећан ризик од хеморагијског можданог удара (Schurks et al., 2010) и присутан је повећан ризик од карцинома простате код старијих од 50 година (Klein et al., 2011).

Према америчким препорукама, витамин Е може бити разматран као терапијска опција за *NASH* у дози од 800 IJ дневно. Међутим, још увек се не препоручује код пацијената са дијабетесом, као и у случајевима без хистолошке потврде *NASH*-а, *NASH* цирозе или криптогене цирозе (Chalasan et al., 2018). У европским смерницама (*EASL*) стоји да се може применити код пацијената без дијабетеса и без цирозе, у очекивању нових студија које би учврстиле ову препоруку.

1.6.3.4 Пиоглитазон

Бројне студије сведоче о ефикасности тиазолидиндиона, пре свих пиоглитазона у терапији *NASH*-а (Chalasan et al., 2018), сугеришући ефикасност овог потентног инсулинског сензитизера на хистолошку слику *NASH*-а (Mahady et al., 2011). Пиоглитазон се налази у европским (*EASL*) и америчким (*AASLD*) препорукама као лек који се може применити у терапији *NASH*-а, када постоји хистолошки потврђена дијагноза (Chalasan et al., 2018). Интересантна је и студија *Bril et al.* у којој је поређена ефикасност *NASH* терапије пиоглитазоном у групи са и без дијабетеса. Доказана је већа ефикасност медикамента у присуству дијабетеса (Bril et al., 2018).

Ипак, ову терапијску опцију би требало размотрити за сваког пацијента појединачно, имајући на уму профил нежељених реакција код дуготрајне примене. Примена пиоглитазона доводи до повећања ТМ и до преоптерећења волуменом са конгестивном срчаном инсуфицијенцијом, као и повећаног ризика од остеопорозе (Mahady et al., 2011, Sanyal et al., 2010). *FDA* је у децембру 2016. године издала саопштење да се примена пиоглитазона у трајању дуже од годину дана доводи у везу са повећаним ризиком од карцинома бешике, те је сходно томе ово упозорење додато сажетку карактеристика лека. Ова препорука је превасходно донета на основу резултата ретроспективне кохортне студије која је показала статистички значајан тренд у повећању ризика од карцинома мокраћне бешике са кумулативном применом и кумулативним дозама пиоглитазона (Tuccori et al., 2016). Стога је у Француској забрањена употреба овог лека, а у Немачкој се не препоручује започињање терапије код новооткривених пацијената (Mazza et al., 2012). Међу клиничарима влада мишљење да се процена врши на основу индивидуалних карактеристика пацијента, не чекајући потврду *NASH*-а биопсијом.

1.6.3.5 Статини

Статини се могу користити за терапију дислипидемија у овој популацији пацијената, чак и код оних са цирозом као последицом *NASH*-а. Требало би их избегавати у случају декомпензоване цирозе. Став стручне и научне јавности је да пацијенти са *NAFLD/NASH* нису у повећаном ризику од хепатотоксичности под дејством статинске терапије (Chalasan et al., 2018).

Ефикасност статина у *NAFLD/NASH*-у код пацијената са хиперлипидемијом је проучавана у прегледном раду (Doumas et al., 2018) који је сумирао резултате три велике проспективне рандомизоване контролисане студије, укључивши преко 11,000

пацијената. Наводи се да је аторвастатин побољшао слику болести јетре и умањио ризик од кардиоваскуларних догађаја у овој популацији чак двоструко више у односу на пацијенте са нормалном функцијом јетре. Росувастатин се такође издвојио као лек који доводи до значајног хистолошког побољшања *NASH*-а (Doumas et al., 2018).

1.6.3.6 Урсодеоксихолна киселина

Ефикасност урсодеоксихолне киселине (*UDCA*) у *NASH*-у је испитивана у преко 1,500 рандомизованих контролисаних студија у периоду од 2004-2018. године на популацији од готово 15,000 пацијената. Резултати ових студија сагледани су у систематском прегледном раду (Maralla, 2019) уз закључак да је 85% студија показало користан ефекат *UDCA* у *NASH*-у у смислу смањења трансминаза и побољшања хистологије јетре. Механизам дејства објашњава се активацијом фарнесоид X рецептора који регулише транспорт жучних киселина и хомеостазу холестерола (Hu et al., 2018). Интересантна је студија кинеских научника која је проучавала молекуларни механизам *UDCA*. Иако базирана на малом броју гојазних пацијената са нарушеном функцијом јетре, поредила је ефекат *UDCA* са витамином Е. Доказан је хепатопротективни ефекат *UDCA* (израженији него витамин Е) након 4 недеље терапије у дози од 300 mg два пута дневно кроз регулацију фенилаланин/тирозин пута са утицајем на микробиоту (Kim et al., 2018).

Ипак, не постоје званичне препоруке о примени *UDCA* код пацијената са *NASH*-ом (Chalasanani et al., 2018). Додатно, у ограниченим условима трошкова лечења, мора се узети у обзир доступност ове терапије.

1.6.3.7 Лираглутид

Лираглутид у *NASH*-у је испитиван од стране *Armstrong et al.* у погледу резолуције стеатохепатитиса и превенције погоршања фиброзе. Показано је побољшање стеатохепатитиса у 39% пацијената без напредовања фиброзе, што је било статистички значајно у поређењу са плацебо контролном групом (*Armstrong et al.*, 2016). Важно је нагласити да су пацијенти са *NASH*-ом у овој студији имали и дијабетес и прекомерну ТМ. Новија студија на анималном моделу посветила се изучавању утицаја лираглутида у *NASH*-у без гојазности, и доказала позитиван ефекат на хепатичку инфламацију у узнапредовалом стадијуму *NASH*-а (*Ipsen et al.*, 2018).

1.6.3.8 Орлистат

Мета анализа која је разматрала ефикасност и безбедност орлистата у *NAFLD/NASH* укључила је 7 студија, а резултат је демонстрирао да орлистат може бити терапијска опција у смислу побољшања биохемијских индикатора оштећења јетре, али свакако није лек избора за терапију (Wang et al., 2018).

1.6.3.9 Рифаксимин

У новије време изучавана је ефикасност и безбедност рифаксимиона у различитим дозама код пацијената са *NASH*-ом који је потврђен биопсијом. Објављени су контрадикторни резултати. Рандомизована, дупло-слепа и плацебо контролисана студија у којој је примењиван рифаксимин у дози од 1,100 mg/дневно спроведена је у више центара. Резултати су указали на побољшање *NAFLD* скорa, смањење серумских ендотоксина, инфламације и инсулинске резистенције (Abdel-Razik et al., 2018). Друга студија у којој је испитивано дејство рифаксимиона у дози од 800 mg/дневно, није идентификовала корист овог лека у *NASH* популацији показавши чак пораст *ALT* и погоршање инсулинске резистенције након 12 недеља терапије (Cobbald et al., 2018).

1.6.3.10 Нови агенси

Неколицина агенаса од којих се много очекује, налази се у последњим фазама клиничких испитивања, у смислу тестирања антиинфламаторних својстава, затим са карактеристикама антифибротика повећане осетљивости на инсулин (дуални агонисти рецептора активираних пролифератором пероксизома (*PPARα*), дуалхемокин рецептор *CCR2/CCR5* антагонисти и коњугати масне киселине/жучне киселине и антифибротских карактеристика (анти-лизил оксидаза-слични (анти-*LOXL2*) моноклонска антители). Нови лекови/кандидати лекова за терапију *NAFLD/NASH* који су у фокусу истраживања наведени су у наставку текста и Табели 1.10.

Обетихолна киселина

Потентни агонист фарнесоид X рецептора, обетихолна киселина, у трећој је фази клиничких испитивања. У великом мултицентричном, рандомизованом и плацебо контролисаном истраживању, показано је да утиче на побољшање стеатохепатитиса и фиброзе током примене од 72 недеље (Neuschwander-Tetri et al., 2015). *Younossi et al.* су потврдили ефикасност обетихолне киселине у односу на плацебо, у недавно објављеној студији, примењујући две дозе од 10 mg и 25 mg, код пацијената са фиброзом стадијума F2-F3. Од нежељених реакција регистрован је пруритус и повећање *LDL* холестерола. Уочено је и да су пацијенти који су третирани обетихолном киселином чешће користили статинску терапију, чиме се намеће питање о деловању статина на побољшање исхода фиброзе (Younossi et al., 2019b). Пријављен је и смртни исход 19 пацијената који су овај лек користили у терапији

примарног билијарног холангитиса (индикација за коју је лек и одобрен), мада се морталитет приписује примени неадекватне дозе лека (US Food and Drug Administration, 2018). Безбедност примене обетихолне киселине остаје да се установи, пре него што се достигне званично одобрење за терапију, водећи рачуна о повећаном ризику од смртности услед кардиоваскуларних болести у овој популацији (Eslam et al., 2019). Амерички водич стога још увек не препоручује примену овог лека за терапију *NASH-a* (Chalasanani et al., 2018).

Елафибранор

Дуални агонист *PPAR α/δ* , елафибранор, испољио је ефикасност у погледу *NASH-a* без погоршања фиброзе током испитиваног периода терапије од годину дана. Иако овај лек побољшава кардиометаболичке карактеристике пацијената, забележен је пораст серумског креатинина (Ratziu et al., 2016).

Селонсертиб

Према недавно објављеној студији *Harrison et al.* износи се процена две рандомизоване душло следе, плацебо контролисане студије, на тему безбедности и ефикасности селективног инхибитора киназе 1 сигналом-регулисана апоптозе, селонсертиба у *NASH-у*. Показан је изостанак антифибротичког дејства код пацијената са стадијумом 3 фиброзе или компензоване цирозе као последица *NASH-a* за обе испитиване дозе (Harrison et al., 2020b).

Ресметиром

У 25 центара у Америци, спроведена је рандомизована, душло слепа, плацебо контролисана студија са намером да се испита безбедност и ефикасност ресметироме – агонисте селективних β -рецептора тироидног хормона. У интерпретацији резултата говори се о значајној редукцији хепатичке масти већ након 12 недеља код пацијената са *NASH-ом* (F1-F3). Од нежељених реакција на лек (НРЛ) су забележене блага дијареја и наузеја (Harrison et al., 2019). Очекују се студије на већем броју пацијената које ће испитати утицај на хистолошку слику и неинвазивне маркере, те потврдити наведене тврдње.

Сеникривирок

Орално примењив, потентни антагониста хемокин 2 и 5 рецептора, сеникривирок, тренутно је у фази развоја за терапију фиброзе (F2/F3) јетре код *NASH* пацијената. Примарне крајње тачке студије би требало да одговоре на питање да ли овај лек побољшава фиброзу и да ли (не) погоршава стеатохепатитис. Прати се и безбедносни профил лека, а први резултати се очекују током 2020. године (Anstee et al., 2019).

У табели 1.9 приказан је преглед лекова/ кандидата лекова који се налазе у различитим фазама клиничких испитивања.

Табела 1.9 Нови лекови/ кандидати лекова у развоју за терапију *NAFLD/NASH-a*

Лек	Механизам	Референца
Воликсibat (A4250, SHP626, ¹)	Селективни инхибитор апикалних натријум-зависних транспортера жучних киселина	(Tiessen et al., 2018)
Сеникривирок ¹	Антагонист <i>CCR2/CCR5</i> рецептора	(Gawrieh and Chalasani, 2018)
Арамхол ⁰	Коњугат масне киселине и жучне киселине 3 β -арахидил-амидо, 7 α -12 α -дихидрокси, 5 β -холан-24-оинска киселина	clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02279524
Елафибранор ¹	<i>PPAR</i> - α и - δ агонист	(Gawrieh and Chalasani, 2018)
Ланифибранор ⁰	<i>pan-PPAR</i> агонист	https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03008070?term=lanifibranor%2C+native&rank=1
Емрикасан ¹	орал каспаза инхибитор	(Harrison et al., 2020a)
Ексенатид	агониста <i>GLP-1</i>	(Kenny et al., 2010)
Езетимиб ¹	инхибитор ресорпције холестерола	(Loomba et al., 2015)
Форалумаб ^{1,0}	орал анти- <i>CD3</i> антитела	(Kuhn and Weiner, 2016)
Семаглутид ¹	<i>GLP-1RA</i>	https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02970942
Нор-урсодеоксихолна киселина ⁰	Агонист фарнесоид X рецептора	(Steinacher et al., 2017)
Сароглитазар ¹	<i>PPAR</i> - α и - γ агонист	(Hassan et al., 2019)
Селонсертиб ¹	<i>ASK1</i> инхибитор	(Gawrieh and Chalasani, 2018)
Тропифексор ¹	Агонист фарнесоид X рецептора који није из жучних киселина	(Tully et al., 2017)
Ресметиром	Агонист селективних β -рецептора тироидног хормона	(Harrison et al., 2019)
Лосартан	Блокатор ангиотензинских рецептор - антифибротски агент	(McPherson et al., 2017)
Инсулин, орални ⁰		(Amer et al., 2018)

GR-MD-02	Инхибитор галектина-3	(Chalasanani et al., 2020)
BMS-986036	Пегировани FGF21 аналог	(Verzijl et al., 2020)
ARI-3037MO	Синтетски аналог никотинске киселине	NCT02574325; <i>Arisaph, Boston, MA, USA</i>
Витамин Д3 ¹	Антиинфламаторно дејство	(Hariri and Zohdi, 2019)
Омега-3 масне киселине, рибља уља ^{0,1}	Антиинфламаторно дејство	(Argo et al., 2015)
Трансплантација фекалне микробиоте	/	(Mohammadi et al., 2020)

Прилагођено од (Roeb and Geier, 2019, Lombardi et al., 2017).

¹*NASH*; ⁰*NAFLD*; *CCR2/CCR5* - хемокин 2 и 5 рецептори; *GLP-1* - глукагону сличан пептид-1; *GLP-1RA* - глукагону сличан пептид-1 рецептор агонист.

Интересантна је проспективна студија недавно објављена у престижном медицинском часопису у којој аутори по први пут наводе протективну улогу свакодневне примене ацетилсалицилне киселине на фиброзу јетре код *NAFLD* пацијената (Simon et al., 2019). Имајући на уму све већи број доказа који говоре у прилог повезаности кардиоваскуларних болести и масне болести јетре, примена овог добро познатог лека звучи у великој мери оправдана. Ипак, у времену које долази, очекују се убедљивији докази који би учврстили ово запажање.

1.7 Исходи терапије и адхеренца

Традиционални приступ за процену користи фармакотерапије подразумевао је праћење клиничких исхода као што су промене у стадијуму и активности болести. Савремени поглед на исходе ставља пацијента у центар одлуке о терапији, препознајући значај квалитета живота као релевантну меру исхода терапије.

Праћење исхода терапије пацијента представља интервенцију фармацеута која доводи до континуираног пружања фармацеутске здравствене заштите. У сврху процене ефикасности терапије подразумева се провера лабораторијских и клиничких параметара, уз обавезну процену степена адхеренце. Да би терапија била ефикасна потребно је да је пацијент примењује на правилан начин. Правилна примена зависи од уверења пацијента о користи и ризицима терапије. Стога је за процену ефикасности терапије коју су пацијенти примењивали ван болничких услова неопходно уверити се да су терапију примењивали на правилан начин и да нису имали НРЛ које би утицале на уверење о користи примене лекова. У идеалним условима разматра се и профил НРЛ пре започињања терапије, како би се пацијент упознао са могућим нежељеним дејствима, умео да их препозна и реагује адекватно (Vezmar Kovacevic and Miljkovic, 2018).

Адхеренца ка лековима се дефинише као „Степен у којем је понашање пацијента у складу са договореним препорукама датим од стране здравственог професионалца“ (World Health Organization, 2003). Адхеренца је примарна детерминанта успеха лечења.

Теорија о перцепцији и практичности поставља прагматичан оквир у којем се адхеренца/неадхеренца препознају као есенцијалан производ индивидуалне мотивације и способности. Стога би интервенције у циљу побољшања адхеренце требало прилагодити перцепцији појединца, како би испољиле што већу ефикасност (Horne et al., 2019).

Савремена фармакотерапија тежи постизању не само ефикасне, него и безбедне терапије. Према дефиницији *WHO* под појмом НРЛ подразумева се „Сваки штетан и ненамеран одговор који се јавља при примени уобичајених доза лека за профилаксу, дијагнозу или терапију, или модификацију физиолошке функције“. НРЛ се може класификовати у 6 група, чије су карактеристике приказане у Табели 1.10, а означене су словима А, Б, Ц, Д, Е, Ф (мнемоника). Такође, разматрају се питања да ли их је могуће избећи или не, на предвидиве и непредвидиве.

Табела 1.10 Класификација и карактеристике НРЛ према WHO

Тип	Ефекат	Карактеристике
А	Појачање (eng. <i>Augmentation</i>)	Дозно-зависне, могу се предвидети на основу фармаколошких карактеристика лека
Б	Бизаран (eng. <i>Bizarre</i>)	Дозно-независне, непредвидиве, ретке, могу бити фаталне
Ц	Хронични (од енг. <i>Chronic</i>)	Дозно и временски зависне, Продужен ефекат (континуиран)
Д	Одложен (од енг. <i>Delayed</i>)	Временски зависне
Е	Обустава (од енг. <i>End of use</i>)	Повлачење
Ф	Неуспех (од енг. <i>Failure</i>)	Неуспех терапије

Праћење безбедносног профила и толерабилности метформина, али и пентоксифилина су и даље у фокусу истраживања, како би се употпуниле информације о овим лековима (Li et al., 2013, Zein et al., 2011).

Низак степен адхеренце који се односи на придржавање прописаној терапији представља један од највећих проблема у вези са леком. WHO је неадхеренцу препознала као растући проблем светских размера. Више прегледних радова са строгим критеријума су показали да је степен адхеренце у високо развијеним земљама око 50% међу пацијентима који пате од хроничних болести. Претпоставља се даље, у извештају WHO да је тај проценат сигурно нижи у мање развијеним земљама имајући на уму ограничене ресурсе здравственог система и неједнакост у приступу здравственој нези (World Health Organization, 2003). Низак степен адхеренце има за последицу негативан здравствени исход који се огледа у погоршању болести или чак смртном исходу, а доказано је и да утиче на повећање трошкова здравственог система (Tan et al., 2013). Степен адхеренце код пацијената са хроничним болестима јетре је још увек недовољно обрађен у литератури. Објављена је пилот студија код пацијената са цирозом јетре која бележи да више од половине пацијената има бар једну разлику између прописане и терапије коју су пацијенти пријавили да узимају (Hayward et al., 2016). Битно је размотрити и емоционално стање пацијента, јер је показано да су депресија и стрес у вези са болешћу директно повезани са нижим степеном адхеренце ка терапији и променама у стилу живота (DiMatteo et al., 2000). Додатно, недостатак адхеренце је приметан не само у погледу правилног узимања лекова, него је и кључни проблем када је у питању редукција ТМ као јединим доказаним приступом (до овог тренутка) за терапију NAFLD-а. Велики проценат пацијената не успева да смањи прекомерну ТМ или пак не успева да одржи постигнуту ТМ (Bril et al., 2016).

Јасно је показано да уверења пацијената о прописаној терапији у многоме утичу на степен адхеренце, а тиме и на исход лечења. Општи ставови о неопходности узимања лекова као и уверења о нежељеним последицама примене лекова директно су повезани са степеном у коме се придржавају прописане терапије (Horne et al., 2013).

1.8 Стремљења у истраживању

Иако *NAFLD* и *NASH* представљају и велики економски терет и смањују квалитет живота, тек почињемо да схватамо механизам патогенезе као и утицај различитих фактора средине и генетских фактора који воде ка прогресивном току ове болести (Younossi, 2019). Научна истраживања су и даље усмерена ка идентификацији неинвазивних метода и ефикасне, безбедне и фармакоекономски оправдане терапије. *EASL (The European Association for the Study of the Liver (EASL), 2015)* је у складу са овим стремљењима предложио да се следеће теме нађу у истраживачком фокусу (у периоду од 2014-2020, када је истраживање описано у наставку докторске дисертације и спроведено):

- Прецизније одређивање преваленце *NAFLD* и *NASH*-а и степена прогресије болести
- Идентификовање чиниоца морбидитета/морталитета
- Идентификовање састава цревне микрофлоре или метаболичког профила као предиспонирајућих фактора за развој болести
- Установљење неинвазивних метода за разликовање *NASH*-а (и алкохолног стеатохепатитиса - *ASH*-а) од симплекс стеатозе
- Развој ефикасног приступа у погледу промене животног стила ради смањења прогресије ка *NASH*-у
- Откривање биомаркера и развој клиничких скорова који помажу у дистинкцији стеатозе од *NASH*-а и/или предвиђају ризик од прогресије фиброзе

Имајући на уму стални пораст *NAFLD*-а и *NASH*-а глобално посматрано, генерише се све већи број доказа из лонгитудиналних студија које сведоче да су пацијенти са умереном и напредовалом фиброзом а без других хистолошких карактеристика *NASH*-а у највећем ризику од укупног морталитета специфичног за ову болест (Vilar-Gomez et al., 2018).

2 ЦИЉЕВИ НАУЧНОГ ИСТРАЖИВАЊА

1. Идентификација једног или групе параметара који се могу користити као индекс у диференцијацији *NAFLD*-а, између пацијената са симплекс стеатозом и пацијената са *NASH*-ом
2. Процена ефикасности комбиноване терапије метформином и пентоксифилином у *NASH*-у, праћењем биохемијских параметара
3. Процена безбедности терапије праћењем нежељених реакција на лекове
4. Процена степена адхеренце применом валидираних упитника

3 МЕТОДОЛОГИЈА

Студија је изведена проспективно, укључивши две групе пацијената:

- Пацијенти са *NAFL*-ом
- Пацијенти са новооткривеним *NASH*-ом (биопсијом потврђен)

Истраживање је спроведено у складу са принципима Добре клиничке праксе, поштујући Хелсиншку декларацију и националне законе и прописе. Протокол студије је одобрен од стране заједничког комитета за Истраживање и Етику Клиничког Центра Србије, у Београду, заведен под бројем 262/2. Прибављена је и сагласност за спровођење истраживања од стране Етичког комитета за биомедицинска истраживања Универзитета у Београду - Фармацеутског факултета, заведена под бројем 1007/2.

Пристанак пацијента за учествовање у истраживању добијен је у писаном облику. Формулар под називом „Информисани пристанак“ укључује све битне информације о истраживању предочене пацијентима. Потписивањем овог документа пацијент потврђује да је упознат са протоколом истраживања, вољан да да крв за анализу, дозвољава увид у медицинску документацију члановима истраживачког тима. Додатно, пре започињања истраживања, документи о очувању поверљивости података су потписани од стране истраживача обе институције чији су запослени били укључени у овај истраживачки процес.

Пре започињања терапије прикупљени су узорци крви и одређивани сви битни параметри (приказани у наставку). Анализе крви вршене су базично, затим периодично на свака три месеца. *NASH* групи пацијената уведена је комбинована терапија пентоксифилином у дози од 400 mg три пута дневно и метформинем 500 mg три пута дневно, у трајању од шест месеци. Идентификоване групе пацијената су даље испитиване са два аспекта који подразумевају неинвазивну диференцијацију стеатоза од *NASH*-а и ефикасност/безбедност комбиноване терапије у *NASH*-у, на основу биохемијских параметара.

У оквиру првог дела истраживања спроведена је студија пресека која је укључила *NAFLD* пацијенте, регрутоване у амбулантним условима Клинике за гастроентерологију и хепатологију, Клиничког Центра Србије, Београд, Србија. Подаци су прикупљени у периоду од октобра 2014. до октобра 2017. године. Ова кохорта је разматрана у смислу детекције неинвазивног приступа за диференцијацију *NAFLD*.

У другом делу истраживачког процеса, уврштени су пацијенти са *NASH* дијагнозом који су чинили интервентну групу и пацијенти са дијагнозом симплекс стеатозе који су служили као контролна група, а одговарали по годинама и полу интервентној групи. У обе кохорте дијагноза је била потврђена биопсијом јетре. Лабораторијске анализе извршене су у 3 наврата за *NASH* кохорту: базично, након 3 месеца и након 6 месеци, односно у 2 наврата за контролну *NAFLD* кохорту, на почетку и на крају истраживачког периода.

Критеријуми за укључивање

Подобност за укључивање у студију разматрана је на основу медицинске историје, клиничког прегледа, биохемијских параметара и ултразвучног налаза, током првог доласка пацијента у амбуланту.

Критеријуми за укључивање у студију подразумевали су:

- старост пацијента изнад 18 година
- присуство стеатозе потврђене ултразвучним прегледом абдомена (биопсијом јетре када је била клинички индикована)
- присуство стеатохепатитиса потврђено биопсијом јетре
- писани пристанак за учествовање у студији

Критеријуми за искључивање

Пацијенти који су испуњавали бар један од следећих критеријума, били су искључени из даљег истраживања:

- конзумација алкохола >20 g/дневно за жене; >30 g/дневно за мушкарце
- друге болести јетре – цироза, вирусни хепатитис, аутоимуни хепатитис (*AIH*), примарни склерозирајући холангитис (*PSC*), примарни билијарни холангитис (*PBC*, раније називан примарна билијарна цироза), преклапање *AIH-PBC*, као и *AIH-PSC (Overlap syndrome)*; хемокроматоза, *Wilson*-ова болест, дефицијенција алфа-1 антитрипсина, лековима индукована болест јетре
- примена једног или више лекова, до годину дана пре укључивања у студију – хормонска терапија (естрогени, прогестагени), глукокортикоиди, тиазолидиндиони, орлистат, спиронолактон, витамини Е, Ц и Б, фолати и суплементи гвожђа, урсодеоксихолна киселина, тамоксифен, амјодарон, статини и биолошки лекови
- коморбидитети – дијабетес тип 2, хипертиреозидизам, хипотиреозидизам, адренална инсуфицијенција, отказивање бубрега, малигне болести

Поред примене критеријума за искључивање у студију такође нису били уврштени пацијенти са коморбидитетима који би могли значајније утицати на исход лечења:

- конгестивна срчана инсуфицијенција
- коронарна артеријска болест
- цереброваскуларна болест
- болест плућа са хипоксемијом
- ХБИ
- трансплантиран орган

Након примене постављених критеријума за укључивање/искључивање, пацијенти су подељени у две групе: група I – симплекс стеатоза и група II – *NASH*.

Ултразвучни преглед абдомена

Сви пацијенти су подвргнути абдоминалном ултразвучном прегледу пре биопсије, који је изведен апаратом *Toshiba core vision* са *Doppler duplex convex probe 3.5 MHz*.

У складу са претходно објављеним студијама, примењени су следећи критеријуми:

- дифузна хиперехогена ехотекстура
- хепаторенални ехо контраст у односу на кортекс десног бубрега
- васкуларно замућење и
- дубока ехо-атенуација

Биопсија јетре

Све биопсије јетре учињене су након детаљне неинвазивне клиничке евалуације пацијента. Изведене су у дијагностичке сврхе током редовног праћења, на Клиници за гастроентерологију и хепатологију, Клиничког центра Србије. Током стандардне перкутане биопсије добијен је узорак који чини врло мали део јетре (1/50.000 део) (Sumida et al., 2014)(Сумида, Накајима, WJG, 2014, limitations of liver biopsy). За узорковање је коришћена *Menghini* игла промера 1,4 mm. Узорци су затим послати на патохистолошку анализу, без додатних информација о пацијентима дељење за хистопатолога. Узорци добијени биопсијом јетре су оцењени на основу *NAFLD* скале активности (*NAS*) према *Kleiner*-у (Kleiner et al., 2005). Поменута скала подразумева процену стеатозе, лобуларне инфламације и хепатоцелуларног оштећења, према бодовању наведеном у Табели 3.1.

Табела 3.1 *NAFLD* скала активности

NAFLD скала активности – NAS		
Стеатоза	< 5%	0
	5-33%	+1
	34-66%	+2
	> 66%	+3
Лобуларна инфламација	Без фокалних промена	0
	1 фокална промена по 200x пољу	+1
	2-4 фокалне промене по 200x пољу	+2
	> 4 фокалне промене по 200x пољу	+3
Хепатоцелуларно оштећење	Без	0
	Неколико балонираних хепатоцита	+1
	Много ћелија / проминентно балониране	+2

NAFLD скала активности: *NAS* – *NAFLD Activity Score*

Интерпретација резулата скорa:

- 0: без активности
- 1-2: блага активност
- 3-5: умерена активност
- 6-8: значајна активност

Стадијуми фиброзе посматрани су применом *Metavir* лествице (Foucher, 2006):

- Стадијум 0: без фиброзе
- Стадијум 1: блага фиброза (без септи)
- Стадијум 2: умерена фиброза (са неколико септи)
- Стадијум 3: тешка фиброза (са бројним септама без цирозе)
- Стадијум 4: цироза

Антропометријска мерења

Спроведена су и забележена антропометријска мерења: ТМ (изражена у *kg*), висина (*cm*), обим струка и обим кука (*cm*) (World Health Organisation, 2008).

ТМ је мерена на ваги калибрисаној према локалном протоколу, а висина помоћу скале на зиду просторије. Пацијенти су били без обуће, у лаганој одећи. *BMI* је израчунат као количник телесне масе и квадрата висине, изражен у *kg/m²*. Категоризација *BMI* је учињена према препорукама *Gadzik et al.* (Gadzik, 2006) и *WHO* (World Health Organization, 2006) (Табела 3.2):

Табела 3.2 Процена телесне масе на основу *BMI*

<i>BMI</i> (<i>kg/m²</i>)	Телесна маса (<i>ТМ</i>)	
< 18,5	Потхрањеност	
18,5 – 24,9	Нормална <i>ТМ</i>	
25,0 – 29,9	Прекомерна <i>ТМ</i>	
30,0 – 34,9	Гојазност	Класа 1
35,0 – 39,9		Класа 2
≥ 40,0		Класа 3

BMI: индекс телесне масе.

При мерењу обима струка и кука, пацијент је постављен у стојећи положај са рукама поред тела, стопалима постављеним једно поред другог, тежине равномерно распоређене на обе ноге, опуштеног става, у тренутку када је крај нормалне експирације. Коришћена је трака која није еластична, паралелна у односу на под. Обим кука је измерен у најширем делу бокова, а обим струка у средњем делу тела између доње границе најмање палпабилног ребра и горње границе карличне кости. Свако мерење је спроведено два пута. Уколико је разлика била до 1 *cm*, забележена је средња вредност, односно ако је разлика у измереном обиму била већа од већа од 1 *cm*, мерење је поновљено и трећи пут. Измерен обим струка > 88 *cm* код жена, односно > 102 *cm* код мушкараца, сматра се да повећава од обољевања, чак и у случају да се *BMI* налази у референтном опсегу (World Health Organisation, 2008).

Клинички параметри

Крвни притисак (КП) је мерен дигиталним аутоматским монитором крвног притиска (OMRON), калибрисаним у односу на сфигмоманометар једном недељно. Коришћена је стандардна манжетна за надлактицу дужине 35 cm, ширине 12 cm, постављена око руке у висини срца, са ослоњеним задњим делом руке како би се избегла мишићна контракција. Пацијент је био у седећем положају, у тихом окружењу 5 минута пре него што се приступило мерењу. Извршена су три мерења са паузама од 1-2 минута. Вредност крвног притиска је прихваћена као средњи износ два последња мерења. Резултати су сматрани повишеним када је у амбулантним условима измерен КП $\geq 140/90$ mmHg, према препорукама европског удружења кардиолога (ESC - *European Society of Cardiology*) и европског удружења за хипертензију (ESH - *European Society of Hypertension*) (Williams et al., 2018).

Остали подаци

Социо-демографске карактеристике, информације о стилу живота, као и подаци о коморбидитетима су добијени путем стандардизованог упитника кроз директан разговор са пацијентом и увидом у претходну медицинску документацију.

Забележени су:

- пол
- старост пацијента
- пушачки статус (број цигарета/дневно)
- унос алкохола (количина у последње 2-3 године, учесталост конзумирања и врста алкохола)
- начин исхране
- степен и врста физичке активности
- ниво образовања/занимање
- историја терапије (лекови и суплементи које пацијент узима)

Уверења пацијената о лековима

На крају првог прегледа пацијенти су попуњавали општи упитник – „Мишљење о лековима“ – *Beliefs about Medicines (BMQ) general* (Horne and Weinman, 1999), како би се испитала потенцијална повезаност ставова које пацијенти имају о лековима са степеном адхеренце (прилог 3). Коришћена је српска верзија упитника претходно валидирана у истраживању Ilic et al. (Ilic et al., 2018). Формулар садржи 8 тврдњи груписаних у две целине:

- Прве четири изјаве описују став пацијента о прекомерној употреби лекова
- Остале четири тврдње се односе на став пацијента о штетности лекова

Одговори су бодовани тако да дају скор од 4-20. Висок скор у првој групи тврдњи указује на мишљење пацијента да се лекови генерално прекомерно користе, док висок скор у другој групи говори о ставу пацијента да су лекови генерално

штетни. Коначно, истражена је и корелација ставова пацијента о лековима са степеном адхеренце.

Адхеренца и нежељене реакције на лекове

Током трајања истраживања, на контролним прегледима, извршена је процена степена адхеренце и безбедности прописане терапије. Адхеренца је праћена применом *Morisky* упитника (краћа верзија) кроз разговор са пацијентом, током контролних прегледа. *Morisky* упитник се састоји од 4 питања (*MMAS-4* скор), одговори се бодују са 0 или 1 (*Morisky et al.*, 1986) (прилог 1). Предлаже се подела степена адхеренце на три нивоа у зависности од постигнутог резултата: 0 (висок), 1-2 (средњи), 3-4 (низак) (*Koschack et al.*, 2010). Могуће је посматрање резултата *MMAS-4* скорa као дихотомних где се 0 поена сматра одличним степеном адхеренце, а 1+ неадхеренцом (*Voils et al.*, 2011). Примењен је и поједностављени упитник за процену адхеренце који се састоји од 6 питања – *Simplified Medication Adherence Questionnaire (SMAQ)* (прилог 2). У прва четири питања 1 поен се додељује за одговоре “Не, Да, Да, Да” редом. У петом питању ове скале само одговор “ниједном” сматра се адхерентним, док у случају одговора „≥ од једног дана“ у шестом питању пацијент се класификује као неадхерентан; пацијенти се класификују као неадхерентни уколико је укупан скор ≥1 (*Knobel et al.*, 2002).

Српска верзија коришћених упитника (*MMAS-4* и *SMAQ*) преведена је са енглеског језика према стандардима примењеним у другим земљама. Превод је ревидиран од стране два фармацеута и једног лекара са изврсним разумевањем енглеског језика. Све предложене корекције су прихваћене и уврштене у завршну верзију упитника. Затим је српска верзија преведена на енглески језик. Превод је процењен од стране три фармацеута који су се сложили да није било значајне разлике у односу на изворне верзије упитника. Пре примене у истраживању, упитници су употребљени у два студентска рада (пилот пројекат) како би се проверило разумевање од стране пацијената. Није идентификован ниједан проблем у схватању постављених питања/изјава.

Процена адхеренце је извршена не само у интервенционој, него и у контролној групи (пацијенти са стеатозом који су на хроничној терапији за нека друга стања), ради поређења степена адхеренце међу групама.

- У тренутку укључивања у интервентну групу, сви пацијенти су упознати о могућим НРЛ. Евидентирани су нежељене реакције и догађаји који су се јавили током примене лекова прописаних за терапију *NASH*-а, приликом сваког контролног прегледа и/или телефонским путем, у току трајања истраживања. Део формулара за прикупљање ових података је садржао списак НРЛ на испитиване лекове са градацијом учесталости (веома често, често, повремено, ретко, никад) и озбиљности (Табела 3.3). Такође је било нотирано да ли је примећена НРЛ захтевала додатну терапију, корекцију дозе лекова или обуставу примене.

Табела 3.3 Део формулара за прикупљање НРЛ

Нежељене реакције на лекове		
1. Бол у стомаку	13. Замагљен вид	25. Отицање лица, усана, језика, грла
2. Дијареја	14. Несвестица	26. Отицање ногу, руку
3. Опстипација	15. Тешкоће са дисањем	27. Опадање косе
4. Мучнина	16. Губитак даха	28. Тамно обојен урин
5. Повраћање	17. Кашаљ	29. Потешкоће с мокрењем
6. Губитак апетита	18. Симптоми слични грипу	30. Осип по кожи
7. Метални укус	19. Бол у мишићима	31. Свраб
8. Умор	20. Грозница	32. Црвенило коже
9. Малаксалост	21. Хладноћа	33. Бол у леђима
10. Конфузија	22. Плава/хладна кожа	34. Цурење из носа
11. Вртоглавица	23. Успорен/убрзан рад срца	35. Повишена температура
12. Главобоља	24. Бол у грудима	

Додатно је истражено да ли коваријате: пол, старост, ко брине о терапији, евидентиран проблем адхеренце претпостављен од стране истраживача, вредност КП, пушачки статус, степен образовања, радни статус, становање (сам/са партнером/са породицом), број дијагноза, број лекова, присуство појединих лекова/група лекова, имају значајан утицај на степен адхеренце.

Лабораторијске анализе

Узорци за анализу прикупљени су од сваког пацијента на почетку истраживања. Пацијентима са постављеном дијагнозом *NASH*-а додатно је узоркована крв за лабораторијско испитивање пре сваког контролног прегледа. *NAFLD* пацијентима који су укључени у други део истраживања узоркована је крв за анализу након 3 и 6 месеци од укључивања у студију.

Узимање узорака крви и поступање са узорцима

За предвиђене лабораторијске анализе узорци венске крви узимани су ујутру, под стандардним условима, након периода ноћног гладовања од 12 сати. За узорковање су коришћени вакутајнери без антикоагуланса, са активатором коагулације и вакутајнери са К2ЕДТА за одређивање крвне слике (*BD Vacutainer, Beckton Dickinson*). Серум добијен центрифугирањем узорака крви без антикоагуланса је одмах коришћен за основне биохемијске анализе. Серум за остале анализе одвојен је у одговарајуће пластичне епрувете, а затим замрзнут и чуван на -80°C , до извођења анализа. Лабораторијске анализе урађене су у лабораторији

Службе за поликлиничку лабораторијску дијагностику Центра за медицинску биохемију Клиничког центра Србије. Детаљнији опис спроведених мерења/процене параметара у истраживању дат је у наставку текста.

Биохемијски и хематолошки параметри

Комплетна крвна слика

- Број еритроцита и еритроцитни индекси (*MCV, MCH, MCHC, RDW*), Концентрација хемоглобина, хематокрит
- Број леукоцита и леукоцитарна формула (неутрофили, лимфоцити, моноцити, лимфоцити, базофили)
- Број тромбоцита и тромбоцитни индекси (*MPV, PDW, PDW*)
- Комплетна крвна слика је одређивана на хематолошком анализатору *Coulter LH 750 (Beckman Coulter, Inc., USA)*.

Основни биохемијски параметри

У узорцима су мерени: глукоза, укупан и директан билирубин, укупни протеини, албумин, уреа, креатинин, мокраћна киселина, натријум, калијум, калцијум, магнезијум и фосфати.

- **Ензимски профил јетре** је подразумевао: аланин аминотрансфераза (*ALT*), аспартат аминотрансфераза (*AST*), гама-глутамил трансфераза (*GGT*), алкална фосфатаза (*ALP*)
- **Клиренс креатинина (*CLCr*)** израчунат је применом *Cocroft-Gault* формуле ($\text{mL/min} = (140 - \text{године}) \times (\text{TM, kg}) \times (0.85 \text{ за жене}) / (72 \times \text{Cr})$).
- Сви биохемијски параметри одређивани су комерцијалним тестовима на биохемијском анализатору *Olympus analyser AU 2700 (Hamburg, Germany)*.
- **Резистенција на инсулин** процењена је на основу концентрације глукозе и инсулина у крви применом модела за процену хомеостазе – *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance - HOMA-IR* (доступан преко линка: <https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/> .инсулин). Концентрација инсулина у серуму одређена је на анализатору *COBAS e601 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)*.
- **Статус гвожђа (*Fe, TIBC, феритин*), фолна киселина, витамин Б12**
За одређивање серумског гвожђа и *TIBC* коришћени су комерцијални тестови на биохемијском анализатору *Olympus analyser AU 2700 (Hamburg, Germany)*, док је феритин одређиван комерцијалним тестом, нефелометријски, на анализатору *BN-II (Siemens Healthineers)*.
- За одређивање **фолата и витамина Б12** коришћени су комерцијални тестови по принципу електрохемилуминисцентног имуноодређивања (*ECLIA*), на анализатору *COBAS e601 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)*.

Маркери инфламације

У испитиваним узорцима одређени су следећи маркери инфламације:

- Седиментација еритроцита (*ESR*): одређивана модификованом Westergrenovom методом, коришћењем *Seditainer* епрувета (*BD Vacutainer, Becton Dickinson*)
- Високо осетљиви Ц реактивни протеин (*high-sensitivity C reactive protein - (hs) CRP*) је одређиван комерцијалним тестом, нефелометријски, на анализатору *BN-II (Siemens Healthineers)*.
- Интерлеукин 6 (*IL-6*)

Липидни статус је обухватио следеће параметре:

- Укупни холестерол (*TC*)
- Липопротеини велике густине (*HDL*)
- Липопротеини мале густине (*LDL*)
- Триглицериди (*TG*)
- Аполипопротеин А1 (*Apo A1*)
- Аполипопротеин Б (*Apo B*)

За одређивање *TC, HDL, LDL, TG* коришћени су комерцијални тестови на биохемијском анализатору *Olympus analyser AU 2700 (Hamburg, Germany)*, док су *Apo-A1* и *Apo-B* одређивани комерцијалним тестовима, нефелометријски, на анализатору *BN-II (Siemens)*.

Остали параметри

Витамин Е, хомоцистеин, хијалуронска киселина, лептин

- Витамин Е (алфа токоферол) и хомоцистеин одређивани су високоефикасном течном хроматографијом (*HPLC*) након депротеинизације серума. Коришћени су реагенси за одређивање витамина А и Е, и хомоцистеина (*Bio-Rad*) на изократској *HPLC* линији. У саставу ове линије налазила се *HPLC* пумпа (*Bio-Rad 1350T*), аутоматски узоркивач (*Bio-Rad AS-100*) и спектрофотометријски детектор (*Waters-Lambda 481*).
- Хијалуронска киселина је одређивана имунотурбидиметријском методом, тестом који је намењен за истраживачке сврхе (*Corgenix, Inc. for research only*) на биохемијском анализатору *Olympus analyser AU 2700 (Hamburg, Germany)*.
- Лептин је одређиван *ELISA* тестом (*Human Leptin Quantikine Elisa Kit, R&D Systems*).

Параметри оксидативног стреса укључили су одређивање:

- Параоксоназе 1 (*PON1*)
- Липидни хидропероксида (*LOOH*)
- Садржај сулфхидрилних група (*-SH*)
- Продуката узнапредовале оксидације протеина (*AOPP*)

Одређивање параоксоназне активности

За одређивање *PON1* статуса примењена је метода по *Richter-у* и *Furlong-у* (*Richter and Furlong, 1999*). Реакција на којој се заснива ова метода подразумева дејство *PON1* ензима из серума на супстрат параоксон, при чему се параоксон конвертује у *p*-нитрофенол. Брзина конверзије прати се на 405 nm где је апсорбанција *p*-нитрофенола максимална. У базној средини ово једињење се налази у облику *p*-нитро феноксидног јона.

Одређивање укупног садржаја сулфхидрилних група

Ellman-ова метода (*Ellman, 1959*) заснована на реакцији 2,2'-динитро-5,5'-дитио-бензојеве киселине са алифатичним тиолним једињењима у базној средини, је коришћена за одређивање укупног садржаја сулфхидрилних група. При овој реакцији настаје један мол *p*-нитрофенол анјона по молу тиола, те се апсорбанција мери на 412 nm. На основу стандардне криве која се конструише из воденог раствора редукованог глутатиона, рачуна се концентрација укупног садржаја сулфхидрилних група. Опсег вредности износи од 0,1 mmol/L до 1 mmol/L.

Одређивање липидних хидропероксида

Примарни производи липидне пероксидације *LOOH*, одређивани су методом коју је описао *Gay* (*Gay and Gebicki, 2003*), заснованој на оксидацији Fe^{2+} у Fe^{3+} у киселој средини у присуству *LOOH* из узорка. Створени Fe^{3+} формира комплекс са бојом ксиленол-оранж. Интензитет боје се мери на таласној дужини од 540 nm где апсорбанција потиче од узорка и интерферирајућих супстанци, затим на 670 nm када апсорбанција потиче само од интерферирајућих супстанци чиме се елиминише њихов утицај. Анализа се изводи уз процес депротеинизације са перхлорном киселином.

Одређивање производа узнапредовале оксидације протеина

Witko-Sarsat метода (*Witko-Sarsat et al., 1996*) је примењена за испитивање производа узнапредовале оксидације протеина *AOPP*, при чему се узорак серума разблаживао фосфатним пуфером. Уследило је додавање сирћетне киселине и раствора калијум-јодида (1,16 M), када долази до промене апсорбанције која се мери на 340 nm. За израду стандардне криве користио се хлорамин Т у концентрацијама 10-100 $\mu\text{mol/L}$, док се концентрација *AOPP* изражавала преко еквивалената овог једињења.

Исхрана

Индијално, свим пацијентима је саветовано да следе специфичну дијету, на основу препорука Британског фонда за проучавање јетре, са циљем усвајања принципа оптимално балансиране исхране и одговарајућег животног стила (редовна физичка активност). Регулисање ТМ јесте приоритет за гојазне пацијенте у смислу постепене редукције (не више од 1 kg недељно), а за пацијенте нормалне ТМ, циљ је одржавање исте.

Пацијенти су саветовани да уведу промене животног стила које подразумевају разноврсну исхрану, редовне оброке и умереност, на следећи начин:

- Повећан унос воћа, поврћа и житарица пуног зрна (интегралних житарица)
- Смањен унос масти
- Смањен унос соли
- Избегавање грицкалица, конзервисане и брзе хране
- Редовна физичка активност

Додатно, пацијентима је предочено 10 кључних корака за здрав начин исхране:

- Три главна obroka дневно
- Унос сложених угљених хидрата
- Ограничен унос засићених масти
- Више воћа и поврћа
- Више легуминоза
- Риба
- Ограничен унос шећера
- Ограничен унос соли
- Довољна количина течности
- Ограничен унос алкохола

Писани материјал са детаљнијим препорукама о исхрани био је уручен сваком пацијенту током иницијалног сусрета.

Статистичка анализа

На Катедри за фармакокинетику и клиничку фармацију, Фармацеутског факултета у Београду, извршена је обрада података применом *SPSS®17.0 for Windows* (*SPSS Inc., Chicago, IL*). Површине испод оперативне криве (*Area under the receiver-operating curve AUROC*) за процену одређених параметара, осетљивости, специфичности, позитивне и негативне предиктивне вредности за предвиђање NASH-a.

Категоричке варијабле су представљене као бројеви/проценти, док су континуиране варијабле дате као средње вредности \pm стандардна девијација или медијана са интерквартилним опсегом. *Kolmogorov-Smirnov* тест је примењен како би се установило да ли су подаци нормално дистрибуирани.

У делу истраживања који се бавио идентификацијом NASH-a на основу рутински спроведених крвних тестова, статистичка анализа је учињена кроз три корака. Први корак подразумевао је једноставно поређење између посматраних кохорти применом *Chi-square* теста за категоричке варијабле, односно Т-теста или

Mann-Whitney теста за континуиране варијабле. Други korak укључио је анализу коваријата (*ANCOVA*) како би се испитало да ли се параметри разликују између посматраних група. *Spearman*-ов коефицијент корелације примењен је да укаже на степен зависности између *NAS* бодовне табеле и фиброзе са предложеним параметрима који су укључени у резултате. Коначно, трећи korak је укључио мултиваријабилну логистичку регресиону анализу независних варијабли које су идентификоване као значајне кроз претходне тестове. *AUROC* примењена је ради процене сензитивности, специфичности, позитивне предиктивне вредности (*PPV*) и негативне предиктивне вредности (*NPV*) предложеног модела за предвиђање *NASH*-а.

У анализи података у другом делу истраживања, након испитивања применом *Kolmogorov-Smirnov*-ог теста, уследило је тестирање података на основу *T*-теста или *Mann-Whitney* теста како би се упоредили параметри између кохорти. Даља анализа података извршена је кроз *Wilcoxon Signed Ranks* тест у циљу детектовања потенцијалних разлика у параметрима пре и после примењене терапије.

У циљу процене степена адхеренце и уверења пацијената о лековима примењена је дескриптивна статистика, а затим је процењен утицај коваријата на степен адхеренце линеарном односно бинарном регресионом анализом. Континуирани подаци су анализирани студентовим *T*-тестом, а категоријски *Chi-square* тестом. *Pearson*-ов тест је служио за испитивање корелације *MMAS-4* и *BMQ* (*SMAQ*) скале.

У статистичком тестирању хипотеза вредност вероватноће (*p*-вредност) забележена је и сматрана статистички значајном када је била мања од 0,05.

4 РЕЗУЛТАТИ

У овом поглављу представљени су резултати спроведеног истраживања. У фокусу првог дела истраживања налази се неинвазивни модел за диференцијацију *NASH*-а од *NAFL* који се састоји од четири параметра чинећи акроним HUA (НОМА-IR (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid – SUA*), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (*ALT*))(Culafic et al., 2019a), док је тежња другог дела истраживања била процена ефикасности и безбедности комбиноване терапије пентоксифилином и метформином у *NASH* кохорти (Culafic et al., 2019b). Из резултата доктората до сада су публикована два рада.

У студију је укључен укупан број од 148 пацијената. Од тог броја *NAFL* кохорту је чинило 115 пацијената (82 са стеатозом симплекс без биопсије и 33 пацијента са биопсијом потврђеном стеатозом). *NASH* кохорту су чинила 33 пацијента са дијагнозом биопсијом потврђеном.

У другом делу студије 30 стеатоза које су одговарале по карактеристикама за поређење са *NASH* кохортом су ушле у даљу анализу као контролна група без специфичне хепатолошке терапије.

Резултати првог дела истраживања

У сврху проналажења предиктивних фактора за развој *NASH*-а, упоређене су варијабле између посматраних кохорти. Антропометријске и клиничке карактеристике пацијената уврштених у истраживање, представљене су у Табели 4.1. Није уочена статистички значајна разлика у погледу индекса ТМ као ни обима струка и кука.

Табела 4.1 Антропометријски и клинички подаци у групи *NAFL* и *NASH*-а

Карактеристике	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност
Мушкарци/Жене	55/27	18/11	0,001
Старост (године)	58 ± 12	49 ± 11	0,527
Тежина (kg)	91,7 ± 16,4	96,7 ± 21,3	0,334
Висина (m)	176,4 ± 10,3	175,6 ± 9,7	0,775
<i>BMI</i> (kg/m ²)	29,3 ± 4,7	27,7 ± 10,9	0,883
Обим струка (cm)	102,0 ± 11,9	105,9 ± 16,4	0,497
Обим кука (cm)	106,6 ± 10,2	111,0 ± 15,0	0,794
Однос струк/кук	0,96 ± 0,02	0,95 ± 0,02	0,965
Систолни КП (mmHg)	125 ± 5	130 ± 5	0,576
Дијастолни КП (mmHg)	85 ± 5	85 ± 5	0,988
Пулс (откуцаји/min)	73 ± 3	75 ± 3	0,878

NAFL – неалкохолна масна јетра; *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *BMI* – индекс телесне масе; КП – крвни притисак.

Компарација параметара измерених у серуму и процењених у обе групе, дата је у табелама у наставку. У табели 4.2 налазе се параметри којима се процењује функција јетре, при чему су уочене значајно више вредности *ALT* и *AST* међу посматраним групама. Такође, примећена је разлика у вредностима укупних протеина и албумина у серуму код пацијената са стеатозом у поређењу са *NASH* пацијентима.

Табела 4.2. Компарација параметара за процену оштећења јетре у испитиваним групама

Параметар	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност	Референтне вредности
<i>ALT</i>	38,5 ± 17,7	78,2 ± 35,1	0,001	0–41 (U/L)
<i>AST</i>	26,5 ± 14,3	40,4 ± 18,2	0,001	0–37 (U/L)
<i>AST/ALT</i> однос	0,7 ± 0,26	0,5 ± 0,16	0,001	/
<i>GGT</i> , медијана[IQR]	33,5 [21,2-60,5]	32 [20,0-68,5]	0,903	0–55 (U/L)
<i>ALP</i>	75,4 ± 20,1	68,9 ± 14,0	0,088	30-120 (U/L)
Билирубин, укупни	13,7 ± 11,3	15 ± 7.2	0,222	0–20,5 (μmol/L)
Протеини, укупни	71,3 ± 14,6	73,4 ± 16.3	0,009	62–81 (g/L)
Албумин	44,7 ± 9,3	46,6 ± 9,9	0,001	34–55 (g/L)

Подаци су представљени као средња вредност ± стандардна девијација или као медијана са интерквartilним распоном (назначено у табели); Разлике између група детектоване применом *Mann-Whitney* или Т-теста; *ALT*: аланин аминотрансфераза; *AST*: аспартат аминотрансфераза; *GGT*: гама глутамил трансфераза; *ALP*: алкална фосфатаза; *IQR*: интерквartilни опсег.

Табела 4.3 садржи податке о серумским нивоима глукозе и инсулина, а затим и процену инсулинске резистенције. Идентификоване су приметне разлике између нивоа инсулина и израчунатог *HOMA* индекса у посматраним групама.

Табела 4.3 Гликемија и инсулинска резистенција

Параметар	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност	Референтне вредности
Глукоза	6,0 ± 2,00	6,0 ± 1,04	0,602	3,9–6,1 (mmol/L)
HbA1c, медијана[IQR]	5,4 [5,1-5,7]	5,5 [5,1-5,9]± 1,3	0,503	3,9–6,1 (%)
Инсулин	99,27 ± 39,00	191,65 ± 110,95	0,001	43–195 (pmol/L)
<i>HOMA-IR</i>	1,94 ± 0,85	3,40 ± 1,06	0,001	<2,5

Подаци су представљени као средња вредност ± стандардна девијација или као медијана са интерквartilним распоном (назначено у табели); Разлике између група детектоване применом *Mann-Whitney* или Т-теста; HbA1c: гликозилирани хемоглобин; *HOMA-IR*: хомеостатски модел за процену инсулинске резистенције; *IQR*: интерквartilни опсег.

Посматрајући детаљније липидни профил у обе групе пацијената, *HDL* и триглицериди се нису значајно разликовали, док су за укупни холестерол и *LDL* детектоване статистички значајне разлике између *NAFL* и *NASH* кохорти (Табела 4.4).

Табела 4.4 Липидни профил пацијената у *NAFL/NASH* групи

Параметар	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност	Референтне вредности
Холестерол, укупни	5,80 ± 1,43	5,20 ± 1,40	0,011	0–5,2 (mmol/L)
<i>HDL</i>	1,07 ± 0,42	1,01 ± 0,47	0,602	≥1 (mmol/L)
<i>LDL</i>	3,65 ± 1,35	3,20 ± 1,16	0,039	0–3,4 (mmol/L)
<i>TG</i>	1,86 ± 1,02	1,95 ± 1,19	0,944	0–1,7 (mmol/L)

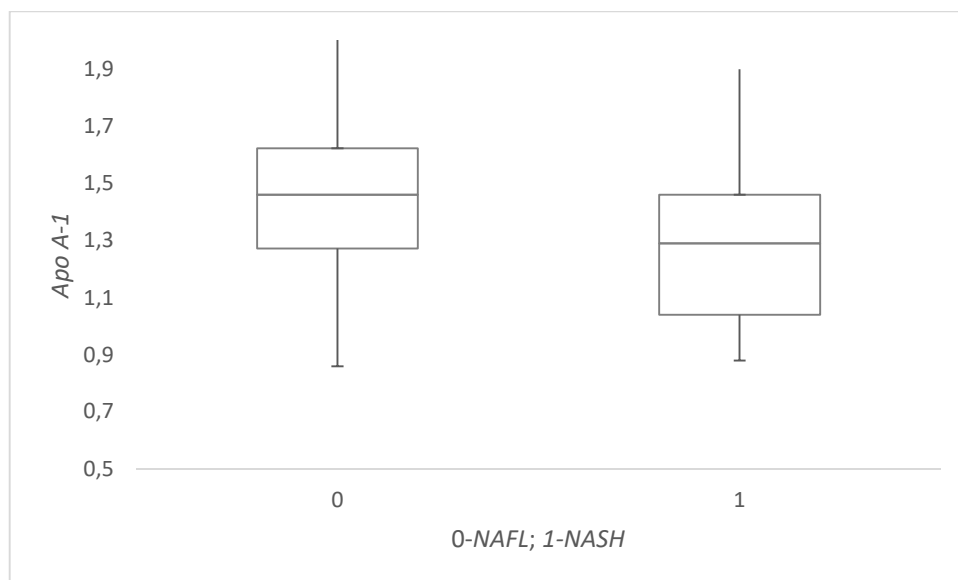
Подаци су представљени као средња вредност ± стандардна девијација; Разлике између група детектоване применом *Mann-Whitney* или Т-теста; *HDL*: липопротеини високе густине; *LDL*: липопротеини ниске густине; *TG*: триглицериди.

Додатно, извршена је анализа вредности Аро А-1 и Аро В у сврху одређивања ризика од кардиоваскуларних болести. Резултати су приказани у Табели 4.5 и на сликама 4.1 и 4.2.

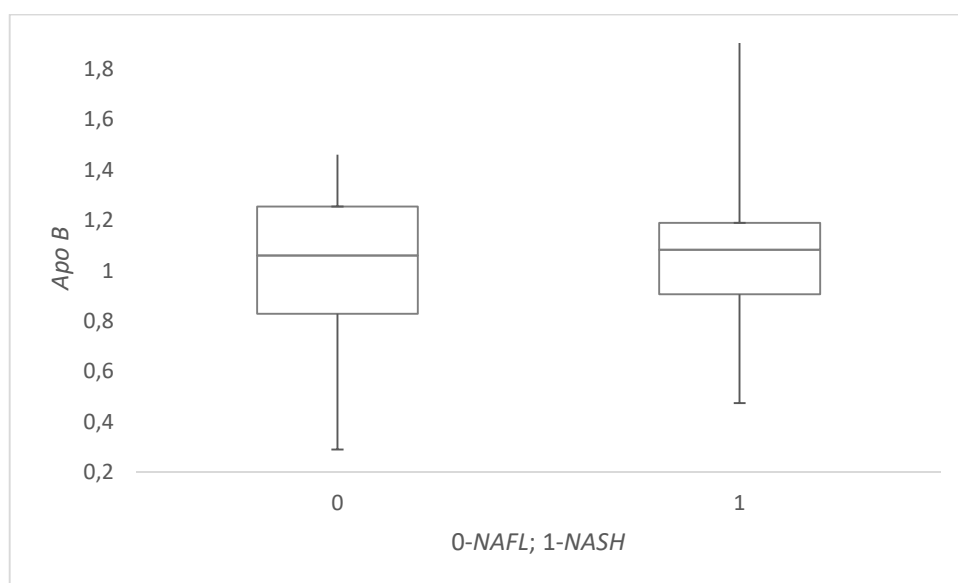
Табела 4.5 Аро А-1 и Аро В у *NAFL/NASH* групи

Липопротеин	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	Референтна вредност	<i>p</i> вредност	Аро А-1:
Аро А-1 [g/L]	1,53 ± 0,45	1,30 ± 0,29	> 1,30	0,076	
Аро В [g/L]	1,04 ± 0,29	1,08 ± 0,31	< 1,30	0,640	

аполипопротеин А-1; Аро В: аполипопротеин В; *NAFL*: нелакохолна масна јетра; *NASH*: нелакохолни стеатохепатитис.



Слика 4.1 Измерене вредности *Apo A-1* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра



Слика 4.2 Измерене вредности *Apo B* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са стеатозом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.

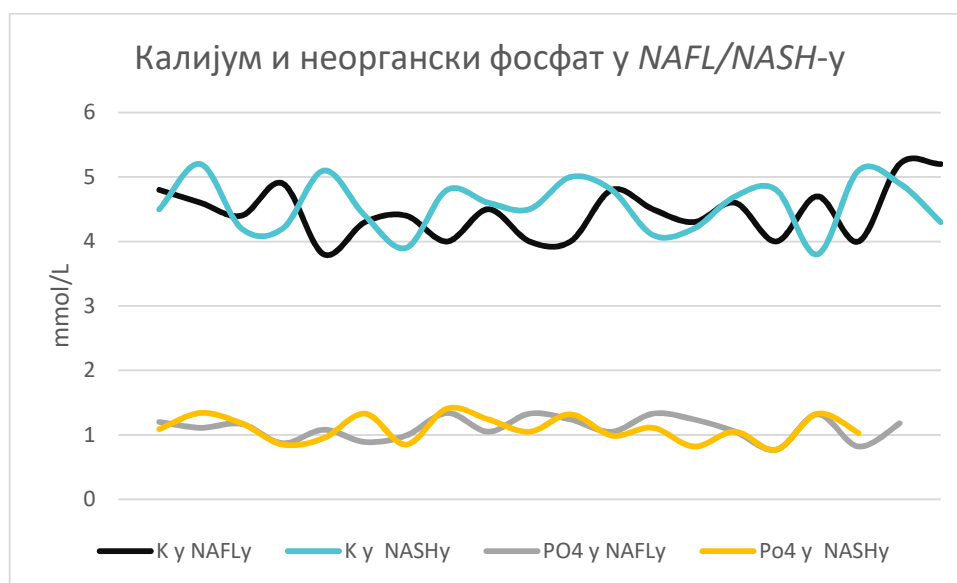
У наставку смо анализирали концентрације јона (натријума, калијума, хлорида и фосфата) у серуму пацијената са *NAFL*-ом и *NASH*-ом. Концентрација калијума је била нешто виша у *NASH* групи са граничном вредношћу статистичке значајности. Одступања од референтног опсега калијума/фосфата забележена су

код малог броја пацијената, при чему се издваја само 1% са хипокалемијом односно 1,5% са хипофосфатемијом у групи *NAFL* (остала одступања односила су се на хиперкалемију/хиперфосфатемију). Резултати су представљени у Табели 4.6. На слици 4.3 може се видети тренд кретања концентрација калијума и фосфата у обе кохорте.

Табела 4.6 Калијум и фосфат у контролној и испитиваној групи; проценат одступања од референтног опсега

Јони	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност	% одступања у <i>NAFL/NASH</i>
Калијум (K ⁺) [mmol/L]	4,39 ± 0,40	4,57 ± 0,43	0,052	7,8/8,8
Фосфат (PO ₄ ³⁻) [mmol/L]	1,10 ± 0,18	1,09 ± 0,10	0,851	5,3/5,6

Вредности су представљене као средње вредности ± стандарна девијација, односно као проценти (за одступање од референтног опсега). Референтни опсег за K⁺: 3,50-5,10 mmol/L; референтни опсег за PO₄³⁻: 0,80-1,55 mmol/L. Разлика између група анализирана је Т-тестом. *NAFL*: неалкохолна масна јетра; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис.



Слика 4.3 Тренд кретања измерених концентрација калијума и неорганског фосфата у серуму пацијената са *NASH*-ом (плава, жута) и пацијената са *NAFL*-ом (црна, сива)

NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.

Уочене средње вредности концентрација натријума и хлорида као и детектована одступања од референтног опсега доступне су у Табели 4.7. Одступања од референтних вредности натријума није било, док је забележено одступање

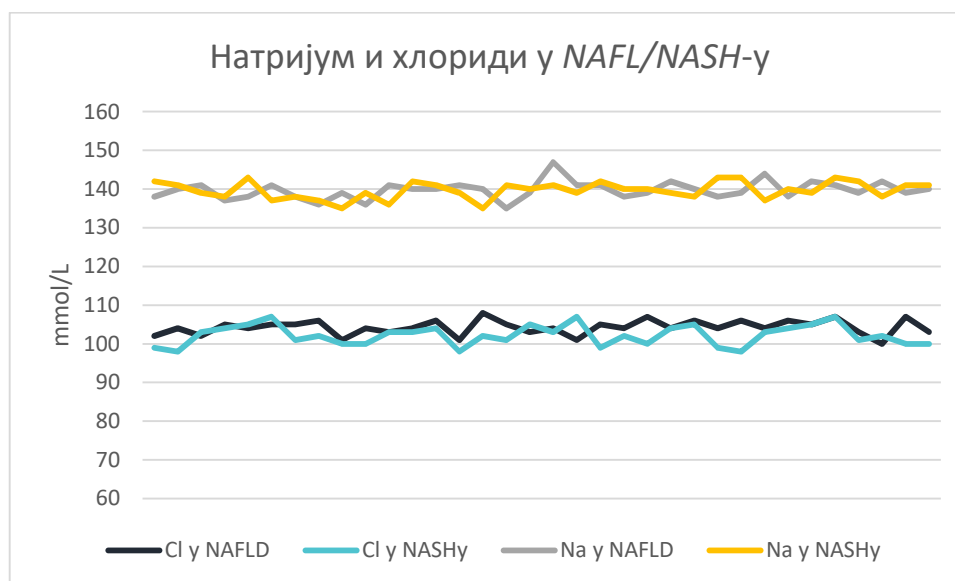
хлорида од референтних вредности у смеру хиперхлоремиие (Табела 4.7). Тренд кретања вредности натријума и хлорида може се видети на слици 4.4.

Табела 4.7 Натријум и хлориди у контролној и испитиваној групи

Јони	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност	% одступања у <i>NAFL/NASH</i>
Натријум (Na ⁺) [mmol/L]	139,71 ± 2,10	139,67 ± 2,27	0,936	0/0
Хлориди (Cl ⁻) [mmol/L]	104,13 ± 2,14	102,29 ± 2,59	0,005	6,4/0

%; проценат одступања од референтног опсега; Референтни опсег за Na⁺: 135-148 mmol/L; референтни опсег за Cl⁻: 98-107 mmol/L *NAFL*: неалкохолна масна јетра; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис.

Уочава се да је потврђена статистички значајна разлика између група у концентрацијама хлорида, међутим одређивања овог јона поред *NASH* кохорте извршена су само у трећини *NAFL* кохорте. Последишно, овај податак није узет у даља разматрања. Није било одступања од референтних вредности у измереним концентрацијама натријума.



Слика 4.4 Тренд кретања концентрација натријума и хлорида у серуму пацијената са *NASH*-ом (плава, жута) и пацијената са *NAFL*-ом (црна, сива) *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.

Концентрације осталих јона који су праћени у серуму у обе испитиване кохорте (калцијум и магнезијум) дате су у наставку рада.

Даљом анализом измерених и израчунатих параметара у пацијената са *NAFL* и *NASH*-ом, издвајају се серумске концентрације мокраћне киселине и феритина, а затим и параметри инфламације, показујући *p* вредност мању од 0,05 (Табела 4.8).

Табела 4.8 Остали мерени/процењени параметри у *NAFL/NASH*-у: компаративно

Параметар	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност	Референтне вредности
Мокраћна киселина ($\mu\text{mol/L}$)	346,2 \pm 84,7	423,5 \pm 83,1	0,001	210–460
Уреа (mmol/L)	5,2 \pm 2,0	5,1 \pm 1,5	0,815	2,5–7,5
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	71,7 \pm 23,8	75,34 \pm 24,6	0,212	59–104
<i>CrCl</i> (М/Ж) (mL/min)	111,0 \pm 12,5/95,0 \pm 15,0	106,0 \pm 12,4/95,0 \pm 11,2	0,350	М/Ф: 97-137/88- 128
Гвожђе ($\mu\text{mol/L}$)	17,4 \pm 6,8	18,9 \pm 7,6	0,328	11–30
Феритин ($\mu\text{g/L}$)	92,4 \pm 66,6	135,0 \pm 85,4	0,003	20–250
Витамин <i>B12</i> (ng/L)	463,6 \pm 245,8	486,5 \pm 388,6	0,602	211–946
Фолат ($\mu\text{g/L}$)	10,5 \pm 4,86	12,3 \pm 6,3	0,303	3,8–16
Хомоцистеин ($\mu\text{mol/L}$)	14,8 \pm 5,3	15,4 \pm 3,3	0,392	5–15
<i>IL-6</i> (pg/mL)	3,3 \pm 1,50	6,6 \pm 1,9	0,890	0,0–7,0
Лептин (ng/mL)	14,7 \pm 13,9	10,8 \pm 12,6	0,157	0,35–28,0
<i>ESR</i> , median [<i>IQR</i>] mm/h	6 [2-8]	10 [6-18]	0,002	/
<i>CRP</i> , медијана [<i>IQR</i>] (mg/L)	1,2 [0,5-1,4]	1,7 [0,8-3,6]	0,031	0–3

Подаци су представљени као средња вредност \pm стандардна девијација или као медијана са интерквartilним распоном (назначено у табели); Разлике између група детектоване применом *Mann-Whitney* или Т-теста; *CrCl*: клиренс креатинина на основу *Cockcroft-Gault* једначине (прилагођен на телесну масу), М: мушкарци, Ж: жене; *IL-6*: интерлеукин 6; *ESR*: брзина седиментације еритроцита; *CRP*: Ц-реактивни протеин; *IQR*: интерквartilни опсег.

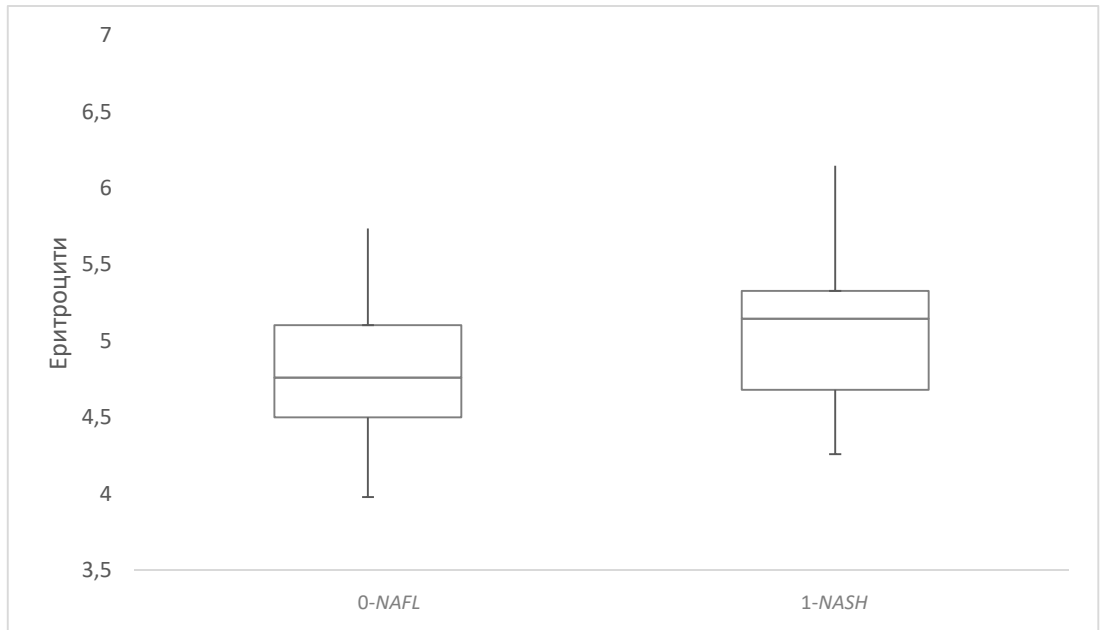
Анализа крвне слике у *NAFL/NASH*-у

Анализирајући детаљније комплетну крвну слику пацијената у групи *NAFL* и у групи *NASH-a*, није детектована статистички значајна разлика за већину параметара. Ипак, примећено је да се еритроцити, хемоглобин и хематокрит значајно разликују у посматраним групама (Табела 4.9). Измерене вредности ова три параметра представљене су на сликама 4.5-4.7.

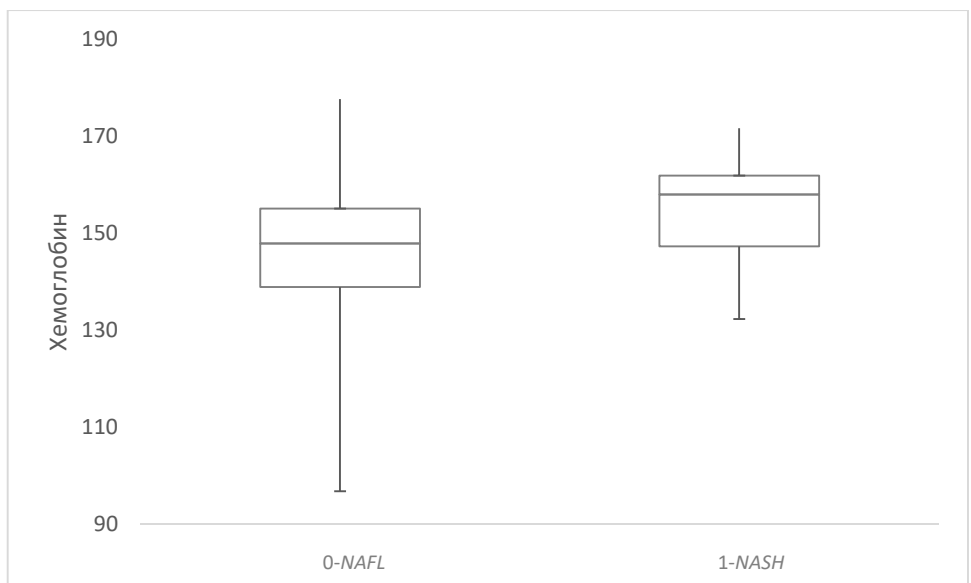
Табела 4.9 Преглед карактеристика крвне слике *NAFL/NASH* пацијената

Параметар	<i>NAFL</i>		<i>NASH</i>		<i>p</i> вреднос т
	С. вред. ± Sd	Медијана (опсег)	С. вред. ± Sd	Медијана (опсег)	
Леукоцити 10 ⁹ /L	6,97 ± 2,17	6,55 (3,32-16,15)	9,67 ± 2,25	6,40 (3,80-13,72)	0,934
Неутрофили [%]	55,13 ± 8,80	54,72 (35,46-73,54)	53,83 ± 9,09	54,54 (39,10- 79,38)	0,554
Лимфоцити [%]	33,33 ± 7,84	32,21 (17,08-55,41)	34,13 ± 7,76	34,39 (10,66- 46,15)	0,641
Моноцити [%]	8,02 ± 1,83	7,95 (4,35-14,85)	8,41 ± 1,80	7,98 (6,36-13,93)	0,299
Еозинофили [%]	2,74 ± 1,33	2,63 (0,29-7,96)	3,11 ± 2,02	2,48 (0,46-8,43)	0,343
Базофили [%]	0,70 ± 0,94	0,58 (0,09-8,71)	0,51 ± 0,19	0,48 (0,20-0,97)	0,205
Еритроцити 10 ¹² /L	4,79 ± 0,38	4,75 (3,98-5,74)	5,03 ± 0,46	5,05 (4,26-6,15)	0,009
Хемоглобин g/L	147,09 ± 12,88	147,70 (96,80-177,70)	154,76 ±10,30	158,00 (132,30- 171,70)	0,009
Хематокрит L/L	0,43 ± 0,04	0,43 (0,32-0,53)	0,46 ± 0,03	0,47 (0,39-0,52)	0,011
<i>MCV</i> <i>fL</i>	90,74 ± 4,43	90,99 (67,19-101,20)	90,87 ± 4,05	90,73 (82,07- 97,22)	0,850
<i>MCH</i> <i>pg</i>	30,73 ± 1,77	30,94 (20,28-34,34)	30,84 ± 1,50	30,48 (27,94- 33,56)	0,675
<i>MCHC</i> g/L	338,46 ± 6,72	338,40 (301,80- 350,20)	339,33 ± 6,08	339,40 (327,30- 351,00)	0,530
<i>RDW</i> [%]	13,17 ± 2,34	12,92 (2,77-27,13)	13,07 ± 0,71	12,94 (11,56- 14,69)	0,877
Тромбоцити 10 ⁹ /L	222,98 ± 58,04	218,40 (110,8-447,40)	214,18 ± 55,98	205,50 (127,90- 335,40)	0,510
<i>MPV</i> <i>fL</i>	8,72 ± 0,99	8,66 (6,97-11,17)	8,74 ± 0,99	8,60 (6,38-10,30)	0,770
<i>PCT</i> [%]	0,19 ± 0,05	0,18 (0,10-0,42)	0,18 ± 0,04	0,18 (0,13-0,30)	0,494
<i>PDW</i> [%]	16,62 ± 0,47	16,64 (15,66-18,16)	16,69 ± 0,51	16,73 (15,45- 17,53)	0,305

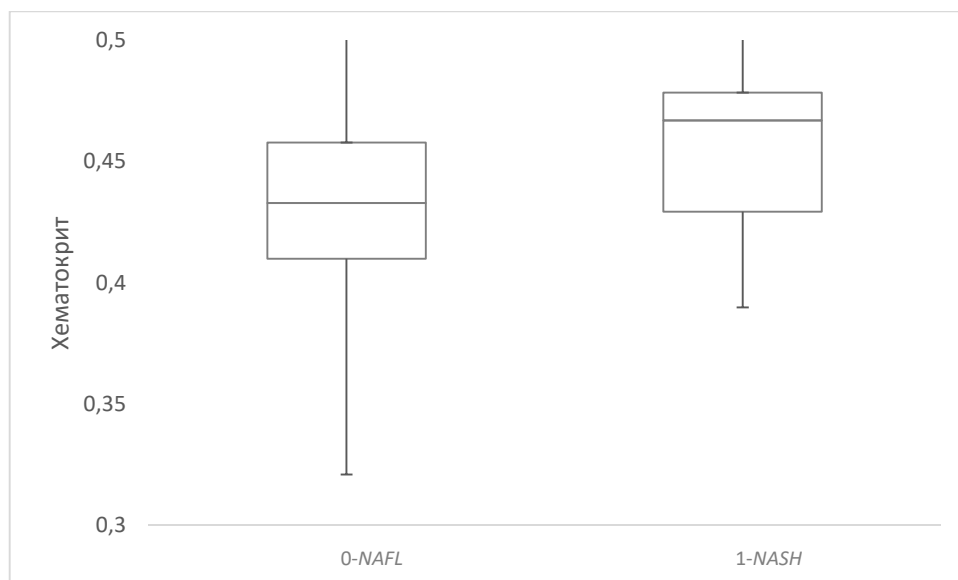
С. вред. ± Sd: средња вредност ± стандардна девијација; *MCV*: *MCH*: *MCHC*: *RDW*:
MVP: *PCT*: *PDW*:



Слика 4.5 Измерене вредности еритроцита у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.



Слика 4.6 Измерене вредности хемоглобина у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.



Слика 4.7 Измерене вредности хематокрита у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

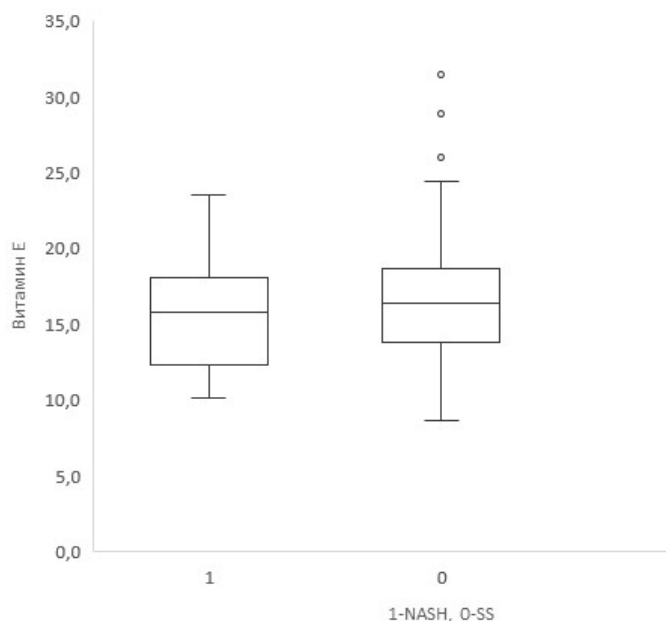
Витамин Е

Иако се може приметити да су пацијенти са дијагнозом *NASH*-а имали нешто ниже вредности витамина Е, није уочена статистички значајна разлика између посматраних група (Табела 4.10). Измерене серумске концентрације витамина Е представљене су на слици 4.8, испод.

Табела 4.10 Витамин Е у *NAFL/NASH*-у

Вредности	Витамин Е [mg/L] у <i>NAFL</i> -у	Витамин Е [mg/L] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± Sd	18,3 ± 5,7	15,5 ± 3,7
Медијана	17,2	15,7
Опсег	10,6 - 31,4	10,1 - 23,5
<i>p</i> вредност	0,267	
Референтна вредност	5,0 - 20,0	

Sd: стандардна девијација; *NAFL*: неалкохолна масна јетра; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис. Разлика међу групама добијена Т тестом.



Слика 4.8 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације витамина Е [mg/L] у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

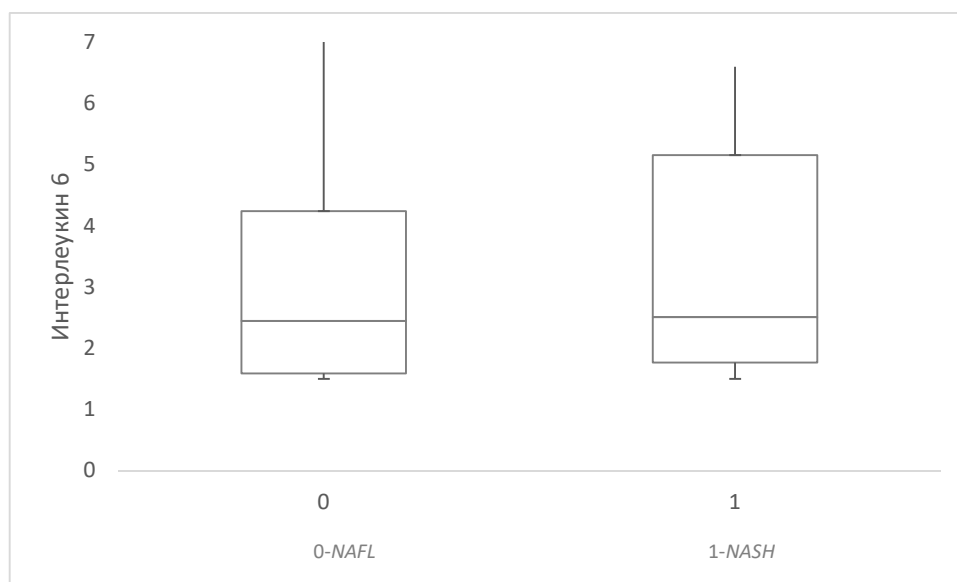
NASH - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Интерлеукин 6

Измерене су вредности *IL-6*, приказане у Табели 4.11 и на слици 4.9

Табела 4.11 *IL-6* у *NAFL/NASH*-у

Вредности	<i>IL-6</i> [pg/mL] у <i>NAFL</i>	<i>IL-6</i> [pg/mL] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± Sd	3,1 ± 1,7	3,3 ± 1,9
Медијана	2,4	2,5
Опсег	1,5 - 6,7	1,5 - 6,6
<i>p</i> вредност	0,611	
Референтна вредност	0,0 - 7,0	



Слика 4.9 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације *IL-6* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

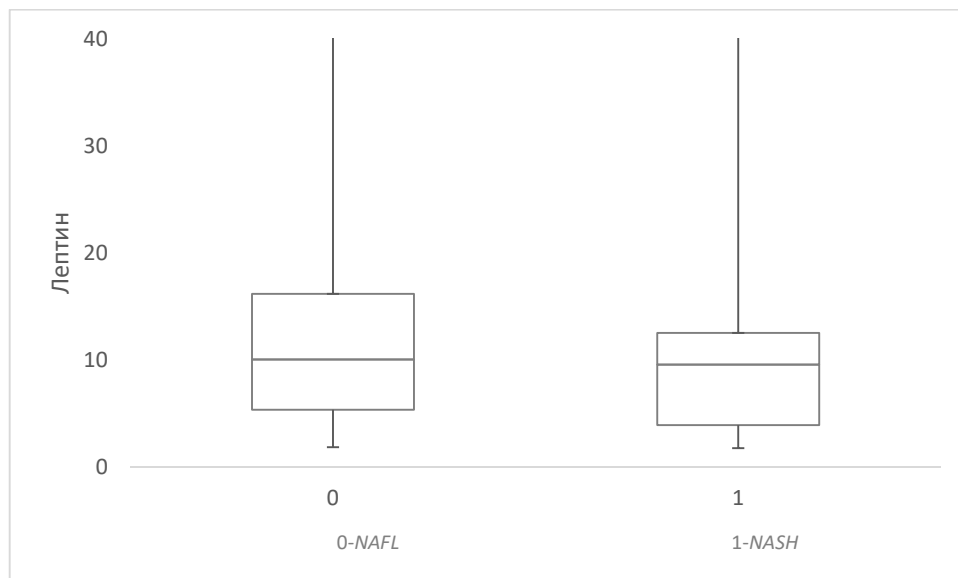
IL-6 – интерлеукин 6; *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.

Лептин

У Табели 4.12 и на слици 4.10 приказане су измерене вредности лептина у обе кохорте.

Табела 4.12 Лептин у *NAFL/NASH*-у

Вредности	Лептин [ng/mL] у <i>NAFL</i> -у	Лептин [ng/mL] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± Sd	14,7 ± 13,9	10,9 ± 11,3
Медијана	10,08	9,6
Опсег	1,9 - 55,4	1,8 - 50,8
<i>p</i> вредност	0,291	
Референтна вредност	0,35 - 28,0	



Слика 4.10 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације лептина у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

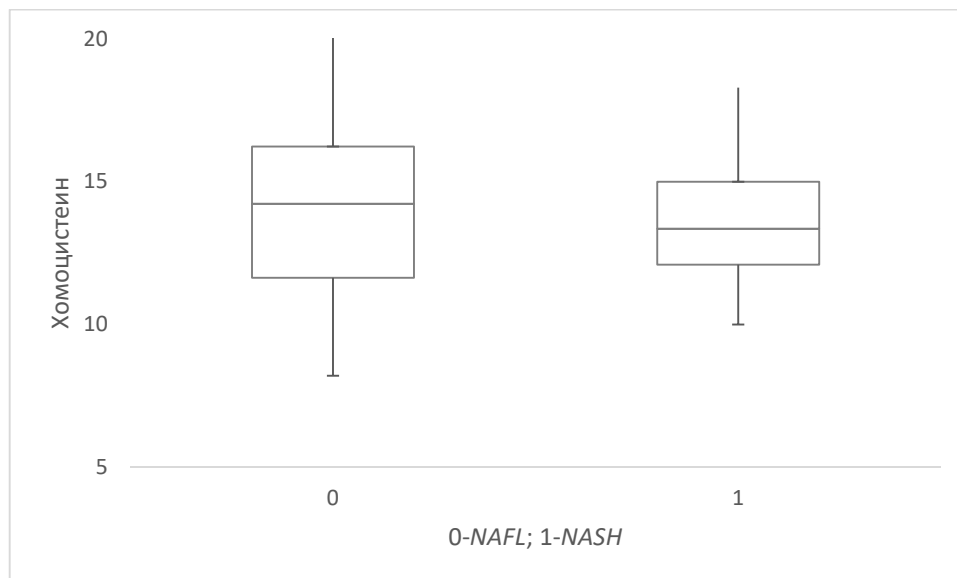
NASH - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Хомоцистеин

Хомоцистеин је мерен у обе групе. Резултати су дати у Табели 4.13 и на слици 4.11, испод.

Табела 4.13. Хомоцистеин у *NAFL/NASH*-у

Вредности	Хомоцистеин [$\mu\text{mol/L}$] у <i>NAFL</i> -у	Хомоцистеин [$\mu\text{mol/L}$] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност \pm Sd	14,8 \pm 5,2	13,7 \pm 2,2
Медијана	14,2	13,3
Опсег	8,3 – 33,0	10,0 – 18,3
<i>p</i> вредност	0,339	
Референтна вредност	5,0 – 15,0	



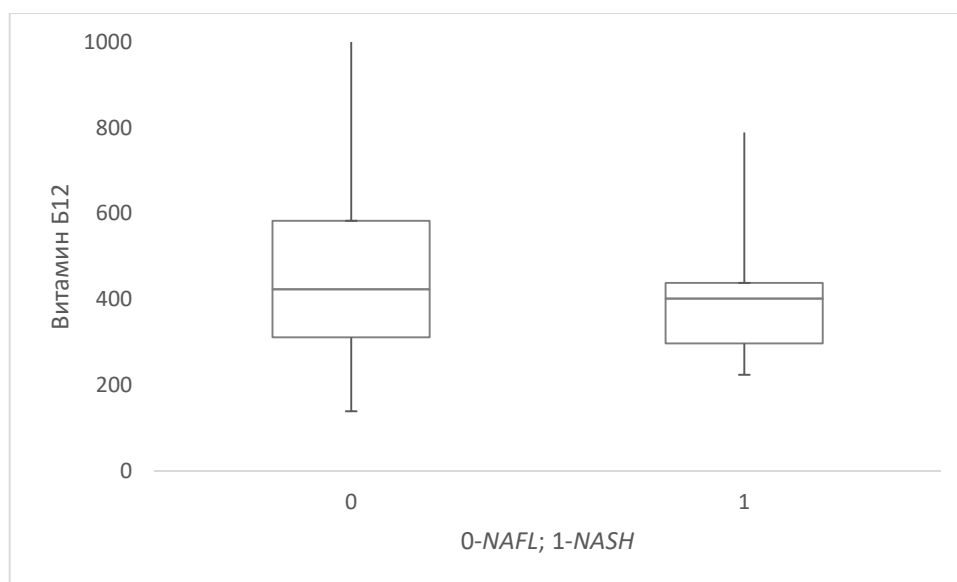
Слика 4.11 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације хомоцистеина у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Витамин B12

Детаљнији приказ измерених концентрација витамина B12 представљен је у Табели 4.14/ на слици 4.12.

Табела 4.14 Витамин B12 у *NAFL/NASH*-у

Вредности	Витамин B12 [ng/L] у <i>NAFL</i>	Витамин B12 [ng/L] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± Sd	466,3 ± 226,3	402,7 ± 124,8
Медијана	424,0	402,3
Опсег	239,0 – 733,6	224,1 – 789,7
<i>p</i> вредност	0,084	
Референтна вредност	211,0 – 946,0	



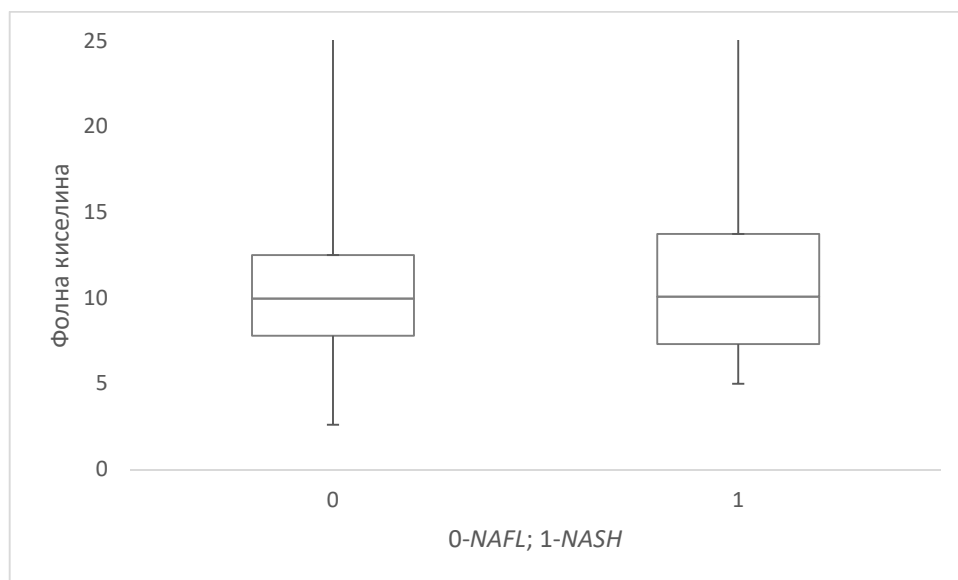
Слика 4.12 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације витамина B12 у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Фолна киселина

Табела 4.15 даје увид у резултате вредности фолне киселине у испитиваним узорцима. Слика 4.13 представља измерене минималне и максималне концентрације фолне киселине са медијаном, првим и трећим квартилом.

Табела 4.15 Фолна киселина у *NAFL/NASH*-у

Вредности	Фолна киселина [µg/L] у <i>NAFL</i> -у	Фолна киселина [µg/L] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± Sd	10,9 ± 5,0	11,6 ± 5,9
Медијана	9,9	10,1
Опсег	2,6 – 35,5	5 – 31,5
<i>p</i> вредност	0,559	
Референтна вредност	3,8 – 16,0	



Слика 4.13 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације фолне киселине у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Параметри оксидативног стреса

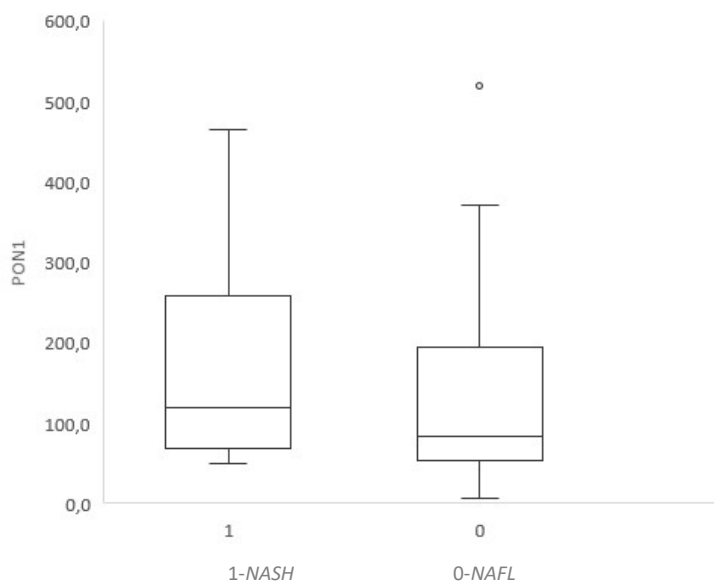
Параоксоназа 1

У Табели 4.16 представљене су средње вредности и медијане *PON1*. Разлика у измереном параметру оксидативног стреса није била значајна између посматраних кохорти. На слици 4.14, дат је приказ нивоа овог ензима у обе групе.

Табела 4.16 *PON1* у *NAFL/NASH*-у

Вредности	<i>PON1</i> у <i>NAFL</i> -у	<i>PON1</i> у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± <i>Sd</i>	124,3 ± 106,5	170,4 ± 121,4
Медијана	83,5	119,0
Опсег	6,7 - 520	50 - 465
<i>p</i> вредност	0,153	
Референтна вредност	/	

PON1: параоксоназа 1; *NAFL*: неалкохолна масна јетра; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис.



Слика 4.14 Серумске концентрације *PON1* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

PON1- параоксоназа 1; *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

(Разлика међу групама добијена применом *Mann-Whitney* теста)

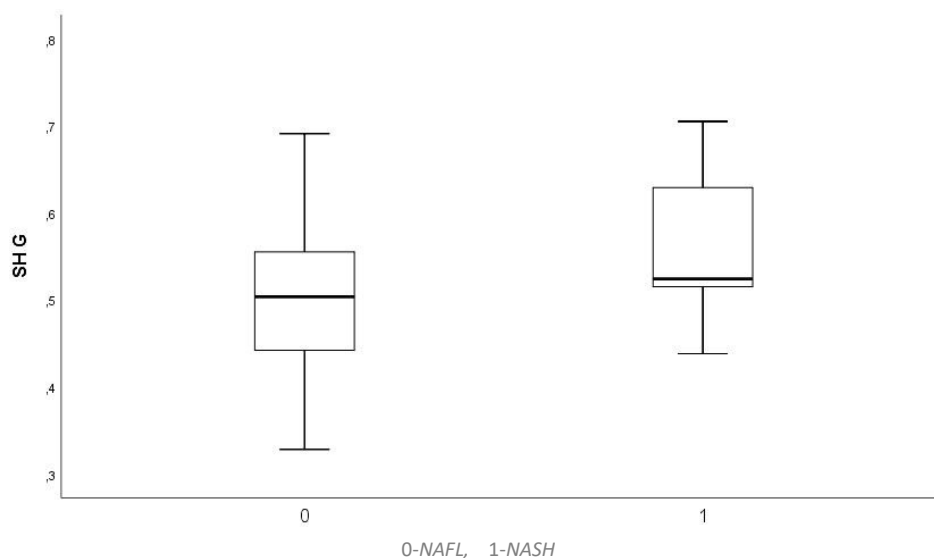
Сулфхидрилне групе

Увидом у дескриптивне карактеристике које описују вредности сулфхидрилних група (Табела 4.17.), уочава се статистички значајна разлика између *NAFL* и *NASH* кохорти. Измерене вредности детаљније су представљене на слици 4.15.

Табела 4.17 Дескриптивна статистика сулфхидрилних група

Вредности	<i>SH</i> у <i>NAFL</i> -у	<i>SH</i> у <i>NASH</i> -у
Средња вредност ± <i>Sd</i>	0,50 ± 0,09	0,55 ± 0,07
Медијана	0,50	0,52
Опсег	0,33 - 0,69	0,44 - 0,70
<i>p</i> вредност	0,037	
Референтна вредност	0,40–0,50 mM	

SH: сулфхидрилна група; *NAFL*: неалкохолна масна јетра; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис. (Разлика међу групама добијена применом *Mann-Whitney* теста).



Слика 4.15 Серумске концентрације *SH* група у пацијената са *NASH*-ом (1) и у пацијената са *NAFL*-ом (0)

SH: липидни хидропероксиди; *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

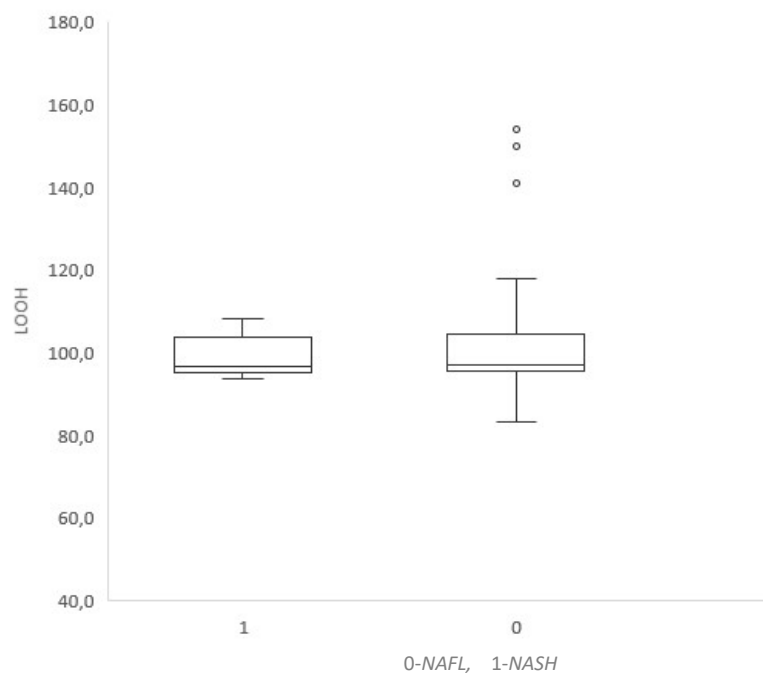
Липидни хидропероксиди

За липидне хидропероксиде није примећена статистички значајна разлика у посматраним групама (Табела 4.18). Измерене серумске концентрације *LOOH* у групи пацијената са *NASH*-ом и у групи пацијената са *NAFL*-ом приказане су на слици 4.16.

Табела 4.18 Липидни хидропероксиди у *NAFL/NASH*-у

Вредности	<i>LOOH</i> [$\mu\text{mol/L}$] у <i>NAFL</i> -у	<i>LOOH</i> [$\mu\text{mol/L}$] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност \pm Sd	103,4 \pm 16,7	98,6 \pm 5,0
Медијана	96,8	96,4
Опсег	83,2 - 154,6	93,4 - 108,0
<i>p</i> вредност	0,248	
Референтна вредност	/	

LOOH: липидни хидропероксиди; *NAFL*: неалкохолна масна јетра; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис.



Слика 4.16 Серумске концентрације *LOOH* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

LOOH: липидни хидропероксиди; *NASH* - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

(Разлика међу групама добијена применом *Mann-Whitney* теста)

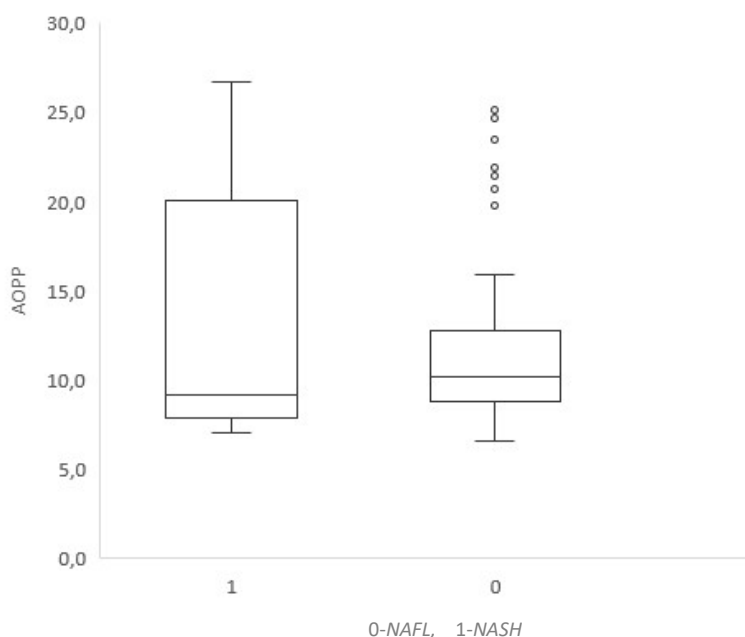
Узнапредовали оксидативни продукти протеина

Биомаркери оксидативног стреса *AOPP* мерени су обе групе и добијене вредности дате у Табели 4.19. Серумске концентрације овог параметра оксидативног стреса могу се видети на слици 4.17.

Табела 4.19 *AOPP* у *NAFL/NASH*-у

Вредности	<i>AOPP</i> у <i>NAFL</i> -у	<i>AOPP</i> у <i>NASH</i> -у
Средња вредност \pm <i>Sd</i>	12,0 \pm 5,1	12,7 \pm 6,5
Медијана	10,1	9,1
Опсег	6,5 - 25,1	7,0 - 26,7
<i>p</i> вредност	0,644	
Референтна вредност	/	

AOPP: продукти узнапредовале оксидације протеина; *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL*: неалкохолна масна јетра.



Слика 4.17 Серумске концентрације *AOPP* у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

AOPP: продукти узнапредовале оксидације протеина; *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

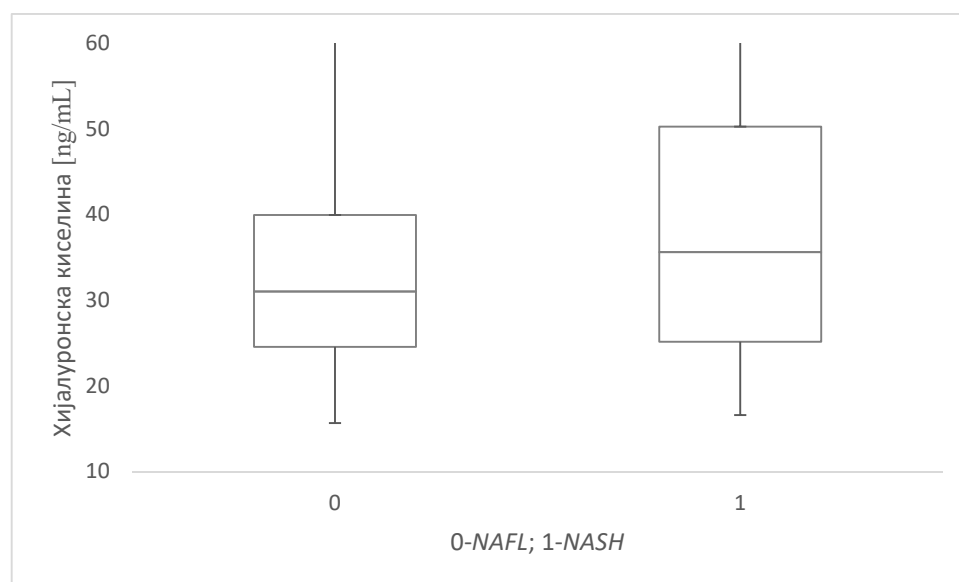
(Разлика међу групама добијена применом *Mann-Whitney* теста)

Хијалуронска киселина

Нису забележене статистички значајне разлике у вредностима измерених концентрација хијалуронске киселине у испитиваним кохортама (Табела 4.20). Детаљнији преглед измерених концентрација хијалуронске киселине приказан је на слици 4.18 .

Табела 4.20 Хијалуронска киселина у *NAFL/NASH*-у

Вредности	ХА [ng/mL] у <i>NAFL</i> -у	ХА [ng/mL] у <i>NASH</i> -у
Средња вредност \pm Sd	34,6 \pm 13,4	39,0 \pm 16,5
Медијана	29,8	35,6
Опсег	15,7 - 71,7	16,6 - 88,7
<i>p</i> вредност	0,283	
Референтна вредност	25,0 - 304,0	



Слика 4.18 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: концентрације хијалуронске киселине у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0)

NASH - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Параметри које су показали статистичку значајност између група укључених у истраживање, *NAFL vs. NASH* ($p < 0,05$), анализирани су даље помоћу ANCOVA теста како би се елиминисали фактори утицаја (године, пол и индекс ТМ). Добијени резултати су показали статистички значајну разлику на нивоу $p < 0,05$ за *CRP*, брзину седиментације еритроцита, феритин, мокраћну киселину, еритроците, хемоглобин, хематокрит и сулфхидрилне групе док је статистичка значајност између група била још више изражена ($p < 0,001$) за *ALT*, *AST/ALT* однос и *HOMA-IR*.

Уследила је процена *AUROC* анализом, те установљено да су вредности површина испод оперативне криве за издвојене параметре $< 0,7$ (Табела 4.21).

Табела 4.21 *AUROC* за одређене параметре

Параметар	<i>AUROC</i>
Сулфхидрилне групе	0,624
<i>CRP</i>	0,332
<i>ESR</i>	0,277
<i>AST/ALT</i> однос	0,524
Еритроцити	0,666
Хемоглобин	0,623
Хематокрит	0,455

AUROC: површина испод оперативне криве; *CRP*: Ц реактивни протеин; *ESR*: брзина седиментације еритроцита; *AST*: аспартат аминотрансфераза; *ALT*: аланин аминотрансфераза.

Имајући на уму чињеницу да се $AUROC < 0,7$ сматра индикатором ниске перформансе (Cantor and Kattan, 2000), горе наведени параметри су искључени из финалног модела.

Коначно, финални модел је креиран тако да укључи четири преостале варијабле идентификоване као статистички значајне: *HOMA-IR*, мокраћну киселину, феритин и *ALT*. Вероватноћа да се ради о *NASH*-у била је највећа када су постигнуте следеће граничне вредности издвојених параметара:

- *HOMA-IR* $> 2,5$
- мокраћна киселина $> 380 \mu\text{mol/L}$
- феритин $> 100 \mu\text{g/L}$
- *ALT* $> 45 \text{ U/L}$

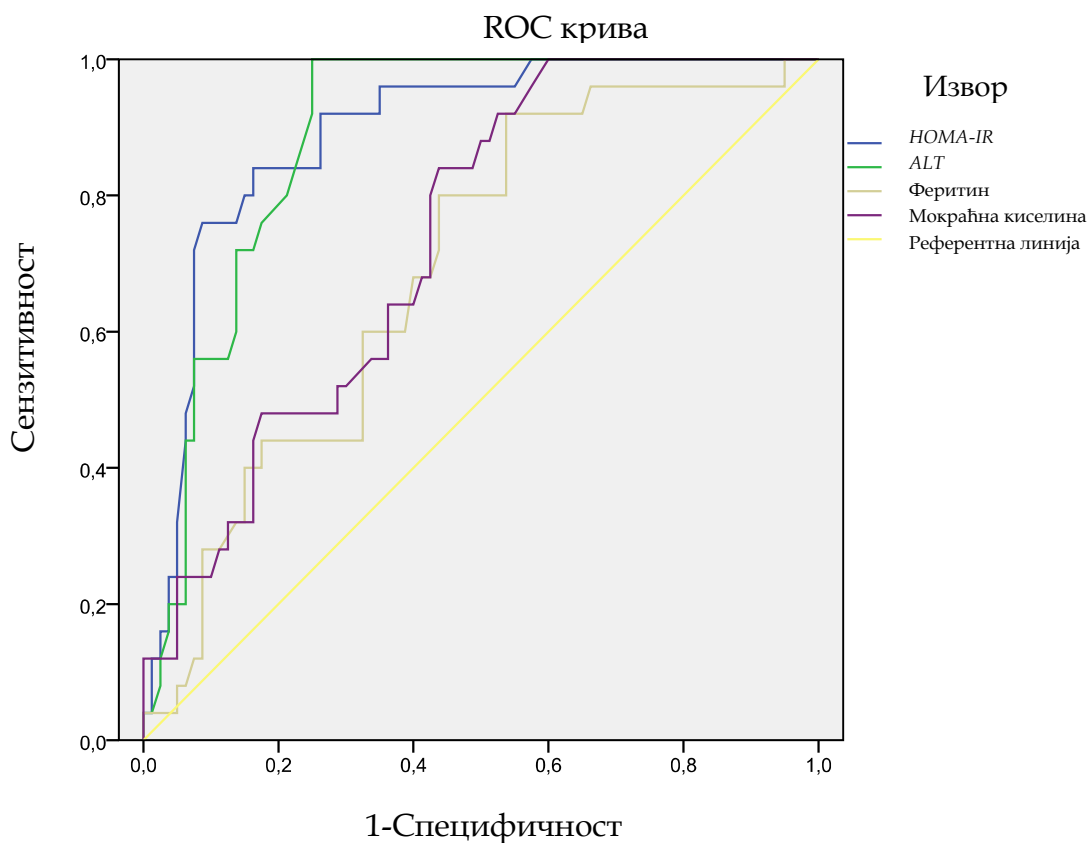
Финални модел назван *HUFA* индексом као акроним од параметара који су у њега укључени (**HOMA-IR** (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid – SUA*), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (*ALT*)), приказан је у Табели 4.22 и на слици 4.19.

Табела 4.22 Појединачне варијабле у *HUFA* индексу: *AUROC* анализа

Варијабла	Површина	Ст. грешка	<i>p</i> - вредност	Интервал поузданости 95%	
				Доња граница	Горња граница
НОМА-IR	0,891	0,034	0,000	0,824	0,958
мокраћна киселина	0,734	0,051	0,000	0,635	0,833
феритин	0,693	0,056	0,004	0,582	0,803
<i>ALT</i>	0,887	0,031	0,000	0,827	0,948

HUFA индекс – акроним од 4 параметра: **НОМА-IR** (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid – SUA*), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (*ALT*). *AUROC*: површина испод оперативне криве; Ст. грешка: стандардна грешка; **НОМА-IR**: хомеостатски модел за процену инсулинске резистенције; *ALT*: аланин аминотрансфераза.

На слици 6 (испод) графички су представљене *ROC* криве за 4 издвојена параметра.



Слика 4.19 *ROC* криве за 4 варијабле које чине *HUFA* индекс (*ROC* криве – оперативне криве; *HUFA* индекс – акроним од 4 параметра: **НОМА-IR** (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid – SUA*), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (*ALT*))

Комбиновани модел који је укључио 4 идентификоване варијабле резултирао је већом површином испод оперативне криве (0,94) него свака варијабла посматрана самостално, потврђујући сензитивност (70,3%), специфичност (95,1%), позитивну предиктивну вредност (83,1%) и негативну предиктивну вредност (90,0%) за детекцију *NASH*-а (Табеле 4.23 и 4.24, слика 4.20).

Табела 4.23 Комбиновани логистички индекс за предикцију *NASH*-а

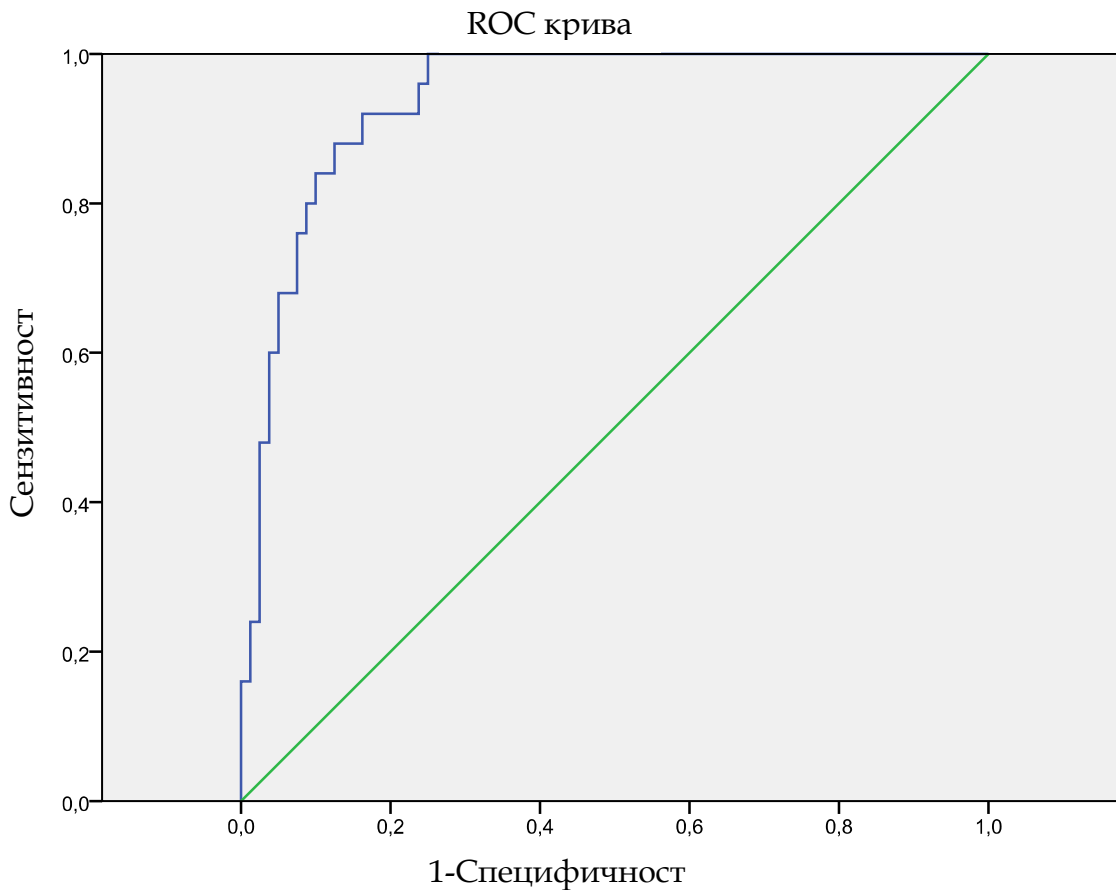
Варијабле	B	S.E.	Wald	df	p вредност	Exp(B)	CI (95%)
Мокраћна киселина	0,010	0,005	4,997	1	0,025	1,010	1,001-1,019
Феритин	0,015	0,006	5,852	1	0,016	1,015	1,003-1,028
<i>ALT</i>	0,023	0,009	6,894	1	0,009	1,023	1,006-1,041
<i>HOMA-IR</i>	0,233	0,388	5,029	1	0,000	1,263	1,001-1,525

CI: интервал поузданости.

Табела 4.24 *AUROC* за комбиновани *HUFA* индекс

Варијабла	Површина	Ст. грешка	p - вредност	Интервал поузданости 95%	
				Доња граница	Горња граница
<i>HUFA</i>	0,940	0,022	0,000	0,897	0,983

HUFA индекс – акроним од 4 параметра: *HOMA-IR* (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid* – *SUA*), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (*ALT*).



Слика 4.20 Крива за предикцију *NASH*-а применом *HUFA* индекса

У наставку текста представљена је једначина (4.1) за процену вероватноће *NASH*-а (енг. *probability* (*p*)) на основу вредности коефицијената издвојених параметара добијених бинарном логистичком регресијом.

$$\ln \frac{p}{1-p} = 0.233 \cdot \mathit{HOMA} - \mathit{IR} + 0.010 \cdot \mathit{SUA}[\mu\text{mol/L}] + 0.015 \cdot \mathit{Ferritin}[\mu\text{g/L}] + 0.023 \cdot \mathit{ALT}[\text{U/L}] - 3.487$$

(4.1-1)

Предложени *HUFA* индекс за процену вероватноће *NASH*-а инкорпориран је у калкулатор, лако доступан и једноставан за коришћење. Изглед креираног калкулатора дат је на слици 4.21.

[%] **HUFA Index**
calculator

HOMA-IR [-]
normal <2.5

Serum Uric Acid [$\mu\text{mol/L}$]
normal 210-460

Ferritin [$\mu\text{g/L}$]
normal 20-250

ALT [U/L]
normal 0-41

Слика 4.21 HUFA индекс: калкулатор за процену вероватноће NASH-а (HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid* – SUA), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (ALT))

Хистолошке карактеристике пацијената са *NASH* дијагнозом на основу *NAS* скорa су даље поређене са изабраним варијаблама из финалног модела (Табела 4.25).

Табела 4.25 Корелација између хистолошких карактеристика пацијената и предложених параметара у *NASH* кохорти

Хистолошка слика	<i>NASH</i> (n=29) медијана[IQR]	HUFA индекс			
		HOMA-IR	SUA	Ferritin	ALT
NAS скор (0-8)	4 [4-5]	$r_s = 0,381^*$	$r_s = 0,411^*$	$r_s = 0,403^*$	$r_s = 0,393^*$
NAFL (1-3)	2 [2-2]	$r_s = 0,184$	$r_s = 0,219$	$r_s = 0,061$	$r_s = 0,219$
Инфламација (0-3)	1 [1-2]	$r_s = 0,173$	$r_s = 0,359^*$	$r_s = 0,215$	$r_s = 0,353^*$
Балонирање (0-2)	1 [1-1]	$r_s = 0,338$	$r_s = 0,345$	$r_s = 0,325$	$r_s = 0,332$
Фиброза (0-4)	1 [1-1]	$r_s = 0,160$	$r_s = 0,187$	$r_s = 0,177$	$r_s = 0,192$

*Корелације се сматра значајном када је $p < 0.05$; r_s – Spearman-ов коефицијент корелације; HUFA индекс – акроним од 4 параметра: HOMA-IR – хомеостатски модел за процену инсулинске резистенције (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), мокраћна киселина у серуму (*serum uric acid – SUA*), феритин – *Ferritin*, Аланин аминотрансфераза (*ALT*). NAFL – неалкохолна масна јетра; NAS скор – NAFLD скала активности.

Испитивање ефикасности терапије метформинем и пентоксифилином

У другу фазу истраживања укључена су 63 пацијента којима је дијагноза потврђена биопсијом јетре. Испитаници у обе кохорте су били слични по антропометријским карактеристикама (Табела 4.26), али су детектоване разлике у одређеним биохемијским параметрима (Табеле 4.27 и 4.28).

Табела 4.26 Базичне карактеристике испитиване популације

Карактеристике	NAFL	NASH	p вредност
Број пацијената	30	33	/
Старост (године)	$38,7 \pm 8,1$	$40,8 \pm 12,10$	0,546
Пол (мушки)	20	20	/
BMI (kg/m^2)	$27,3 \pm 4,3$	$26,9 \pm 3,5$	0,844
Обим струка (cm)	$99,1 \pm 11,9$	$103,1 \pm 16,4$	0,497
Однос струк/кук	$0,9 \pm 0,02$	$0,9 \pm 0,02$	0,965

Подаци су представљени као средње вредности \pm стандардна девијација; BMI: индекс телесне масе (kg/m^2).

Табела 4.27 Карактеристике основних параметара крвне слике у *NAFL/NASH*-у

Карактеристике	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност
Леукоцити ($10^9/L$)	$7,7 \pm 2,3$	$8,7 \pm 2,3$	0,566
Hgb (g/L)	$136,0 \pm 29,1$	$133,0 \pm 21,2$	0,307
<i>MCH</i> (pg)	$28,8 \pm 2,4$	$28,1 \pm 2,0$	0,778
<i>MCHC</i> (g/L)	$358,0 \pm 10,0$	$366 \pm 3,9$	0,452
Еритроцити ($10^{12}/L$)	$4,9 \pm 1,9$	$4,8 \pm 0,9$	0,664
Тромбоцити ($10^9/L$)	$275,9 \pm 55,9$	$288,9 \pm 43,9$	0,778

Подаци су представљени као средње вредности \pm стандардна девијација; *Hgb*: хемоглобин; *MCH*: средњи корпускуларни хемоглобин; *MCHC*: средња концентрација хемоглобина у еритроцитима.

Табела 4.28 Вредности испитиваних параметара пре започињања терапије

Карактеристике	<i>NAFL</i>	<i>NASH</i>	<i>p</i> вредност
<i>CLCr*</i> (mL/min)	$98,3 \pm 21,8$	$101,3 \pm 25,6$	0,405
<i>TC</i> (mmol/L)	$5,9 \pm 1,4$	$5,8 \pm 1,4$	0,011
<i>HDL-C</i> (mmol/L)	$1,1 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,5$	0,602
<i>LDL-C</i> (mmol/L)	$3,1 \pm 1,3$	$3,2 \pm 1,2$	0,839
<i>TG</i> (mmol/L)	$1,7 \pm 1,0$	$1,8 \pm 1,2$	0,944
Калцијум (mmol/L)	$2,2 \pm 0,15$	$2,5 \pm 0,09$	0,054
Магнезијум (mmol/L)	$0,85 \pm 0,15$	$0,67 \pm 0,09$	0,050
<i>ALT</i> (U/L)	$38,5 \pm 13,7$	$70,2 \pm 35,1$	0,001
<i>AST</i> (U/L)	$25,5 \pm 14,3$	$39,4 \pm 18,2$	0,001
<i>GGT</i> (U/L)	$47,2 \pm 24,8$	$54,8 \pm 34,3$	0,214
<i>CRP</i> (mg/L)	$3,1 \pm 2,4$	$3,2 \pm 2,8$	0,713
<i>SUA</i> ($\mu\text{mol/L}$)	$346,3 \pm 84,7$	$398,0 \pm 108,5$	0,041
<i>HbA1c</i> (%)	$5,5 \pm 1,9$	$5,6 \pm 1,3$	0,338
<i>HOMA-IR</i>	$4,7 \pm 0,9$	$5,2 \pm 1,7$	0,010

Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна девијација. *CLCr**: клиренс креатинина израчунат на основу *Cocroft-Gault* формуле; *TC*: укупни холестерол; *HDL-C* - липопротеини велике густине; *LDL-C*: липопротеини мале густине; *TG*: триглицериди; *ALT* - аланин аминотрансфераза; *AST* - аспартат аминотрансфераза; *GGT* - гамаглутамил трансфераза; *CRP* - Ц-реактивни протеин; *SUA* - мокраћна киселина у серуму; *HbA1c* - гликозилирани хемоглобин; *HOMA-IR* - хомеостатски модел за процену инсулинске резистенције.

Пре и после терапије

Свих 33 пацијента су завршили 24 недеље терапије. Детектоване су значајно различите вредности посматраних параметара након три и 6 месеци лечења у поређењу са базичном сликом пре увођења терапије. У *NASH* кохорти следеће варијабле су показале побољшање: *ALT*, *AST*, *GGT*, мокраћна киселина, *HOMA-IR*, калцијум и магнезијум (Табела 4.29). Наиме, након 6 месеци терапије метформинем и пентоксифилином, дошло је до смањења вредности медијане мокраћне киселине у серуму за 51 $\mu\text{mol/L}$, серумски калцијум је снижен за 0,27 mmol/L , концентрација магнезијума је показала пораст за 0,11 mmol/L . Побољшана је инсулинска резистенција констатована кроз смањење *HOMA-IR* за 1,3. Када се посматрају ензими јетре, забележено је значајно смањење медијане *ALT* за 24,0 IU/L , *AST* за 9,1 IU/L и *GGT* за 10,8 IU/L . Остали параметри који су праћени (витамин Б12, хомоцистеин, фолат) нису показали статистички значајније промене ($p = 0,106; 0,405; 0,203$, редом).

Табела 4.29 Компарација биохемијских параметара након три и 6 месеци терапије у односу на почетне вредности у *NASH*-у

Параметри	<i>NASH</i> пре	<i>NASH</i> после 3 месеца	<i>p</i> -вредност	<i>NASH</i> после 6 месеци	<i>p</i> -вредност
Мокраћна киселина ($\mu\text{mol/L}$)	391,2 (339,0-48,3)	366,0 (327,9-416,1)	0,050	340,2 (291,2-390,2)	0,002
Калцијум (mmol/L)	2,50 (2,43-2,60)	2,35 (2,15-2,45)	0,040	2,23 (2,11-2,39)	0,002
Магнезијум (mmol/L)	0,66 (0,63-0,71)	0,72 (0,67-0,76)	0,030	0,77 (0,73-0,79)	0,004
<i>ALT</i> (U/L)	71,0 (46,1-92,0)	57,8 (39,0-63,2)	0,050	47,0 (39,0-59,9)	0,001
<i>AST</i> (U/L)	36,4 (25,9-55,5)	29,3 (19,0-47,0)	0,002	27,1 (17,0-41,0)	0,002
<i>GGT</i> (U/L)	49,80 (26,6-75,3)	45,6 (25,2-65,9)	0,050	39,0 (26,1-56,1)	0,005
<i>HOMA-IR</i>	5,0 (4,1-6,1)	4,20 (3,2-5,0)	0,009	3,7 (2,9-4,8)	0,001

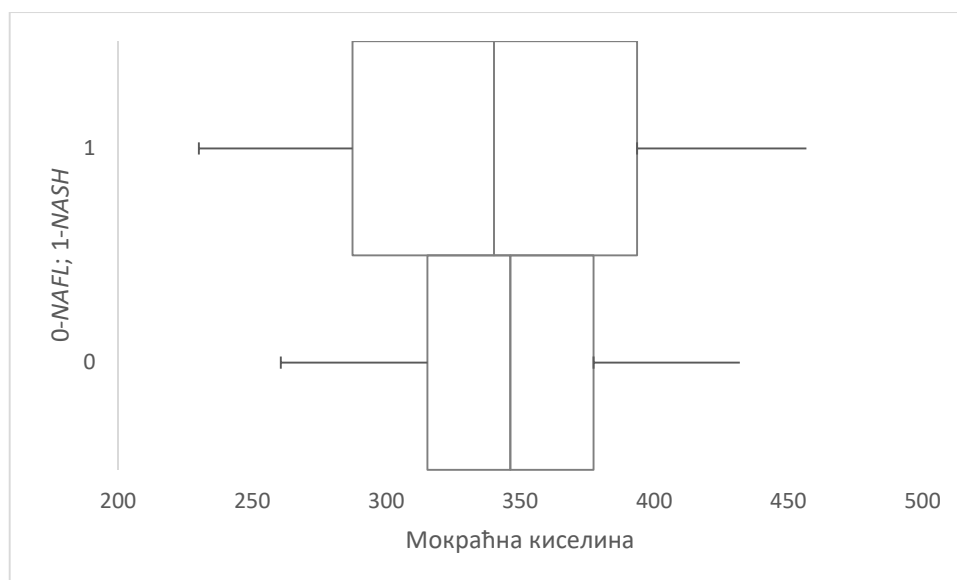
Подаци су престављени као медијана са интерквартилним опсегом. *NASH*: неалкохолни стеатохепатитис; *ALT* – аланин аминотрансфераза, *AST* – аспартат аминотрансфераза, *GGT* – гамаглутамил трансфераза, *HOMA-IR* – хомеостатски модел за процену инсулинске резистенције.

После истраживачког периода

Следећи корак подразумевао је поређење биохемијских параметара између *NASH* групе која је била подвргнута терапији и *NAFL* групе која је имала улогу контроле, по окончању истраживачког периода од 6 месеци. Примећено је да се мокраћна киселина, калцијум, *AST* и *GGT* више нису значајно разликовали међу групама. Међутим, магнезијум, *ALT* и *HOMA-IR* су и даље били значајно различити. Детаљнији резултати су приказани на странама које следе.

Мокраћна киселина

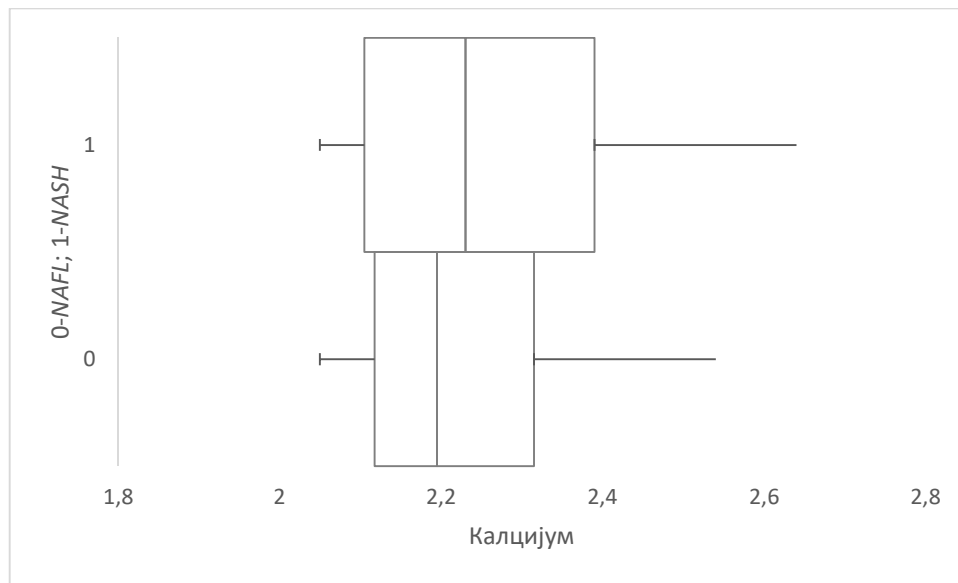
Разлике у серумским вредностима мокраћне киселине након истраживачког периода у обе посматране кохорте представљене су на слици 4.22. Није уочена статистички значајна разлика у вредностима овог параметра након 6 месеци када се пореде пацијенти са *NAFL*-ом и *NASH*-ом ($p=0,704$).



Слика 4.22 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације мокраћне киселине ($\mu\text{mol/L}$) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци
NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна јетра.

Калцијум

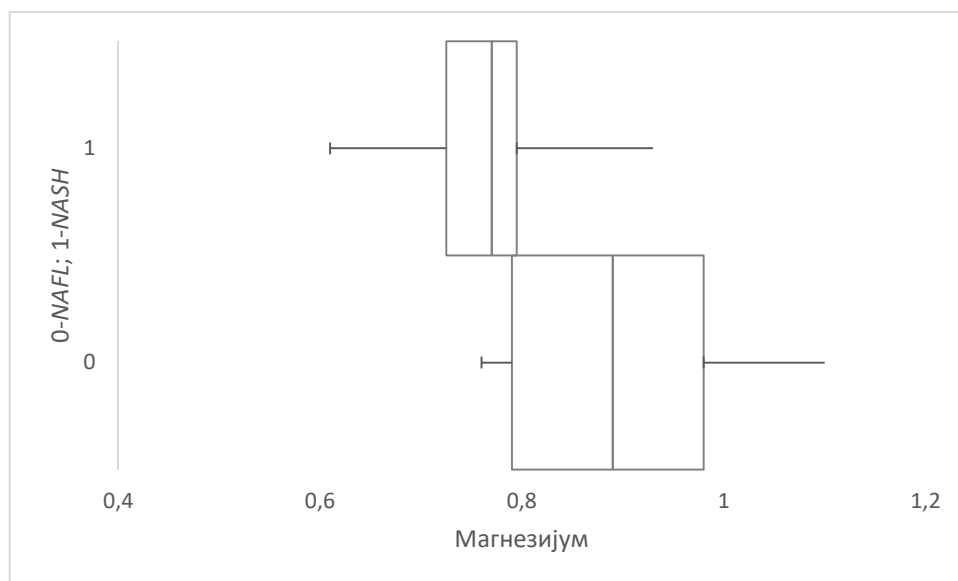
Серумске концентрације калцијума измерене су обе групе после терапије *NASH*-а, представљене на слици 4.23. Разлика у вредностима овог параметра након 6 месеци када смо поредили пацијенте са *NAFL*-ом и *NASH*-ом након терапије није била статистички значајна ($p=0,604$).



Слика 4.23 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације калцијума (mmol/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци *NASH* – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна болест јетре.

Магнезијум

Посматрајући вредности концентрација магнезијума у серуму код пацијената са *NASH*-ом након терапије и код пацијената са *NAFL*-ом који су служили као контролна група, уочили смо да је магнезијум ушао у референтни опсег у *NASH* групи, али ипак остао нижи у односу на концентрације у *NAFL* групи (0,77 mmol/L наспрам 0,90 mmol/L; $p < 0,05$). Минималне и максималне концентрације, као и вредности првог, другог и трећег квартила могу се видети на слици 4.24.

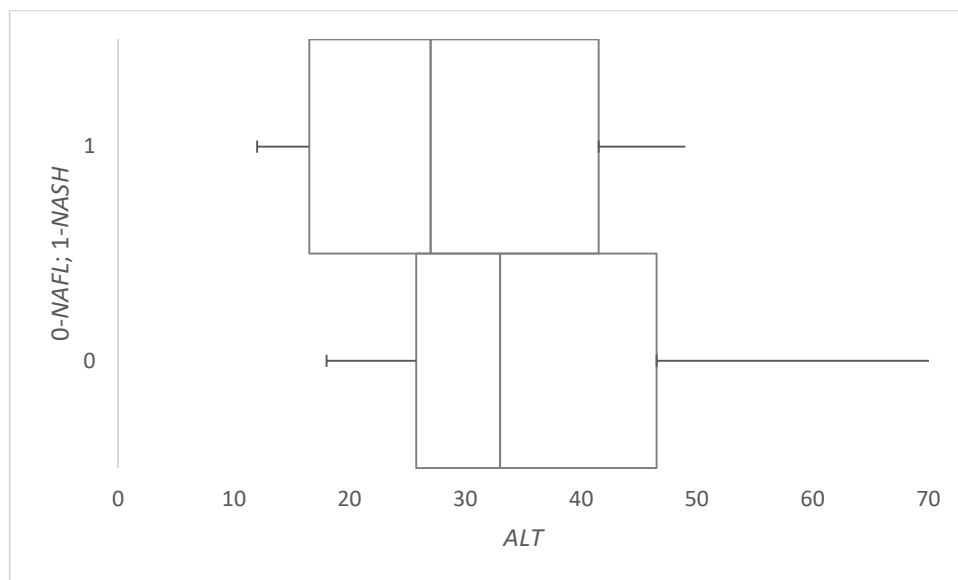


Слика 4.24 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: серумске концентрације магнезијума (mmol/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

NASH – неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* – неалкохолна масна болест јетре.

Аланин аминотрансфераза

На слици 4.25 представљене су минималне и максималне вредности *ALT*, као и вредности првог, другог и трећег квартила након 6 месеци. Уочено је да је *ALT* и даље био повишен у *NASH*-у односу на *NAFL* кохорту (47,9 U/L наспрам 37,7 U/L; $p = 0,02$).

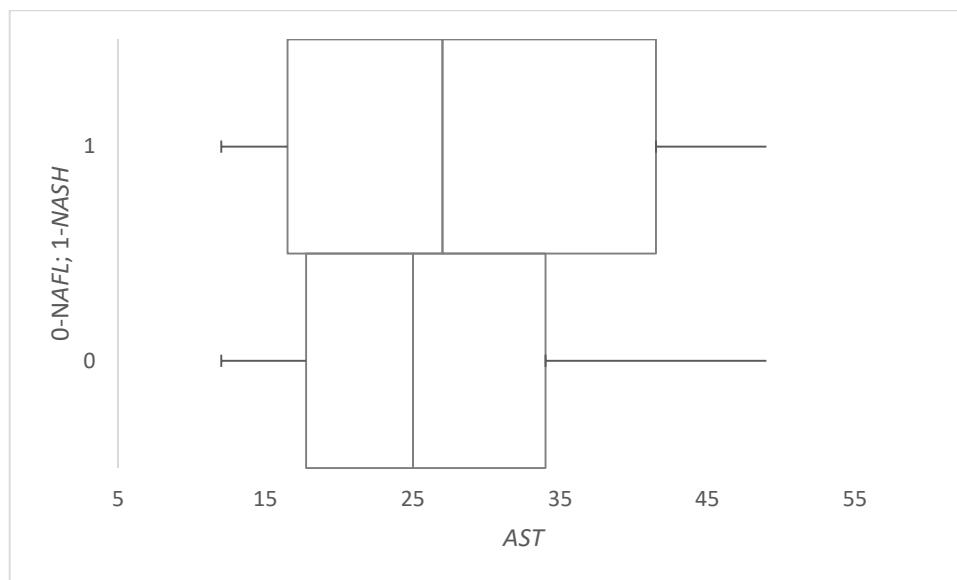


Слика 4.25 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: Серумске концентрације *ALT* (U/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

ALT - Аланин аминотрансфераза; *NASH* - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Аспартат аминотрансфераза

После истека периода од 6 месеци, у посматраним групама нису забележене статистички значајне разлике у вредностима *AST* ($p = 0,341$). Детаљнија анализа минималних, максималних вредности, медијане као и првог и трећег квантила *AST* може се видети на слици 4.26.

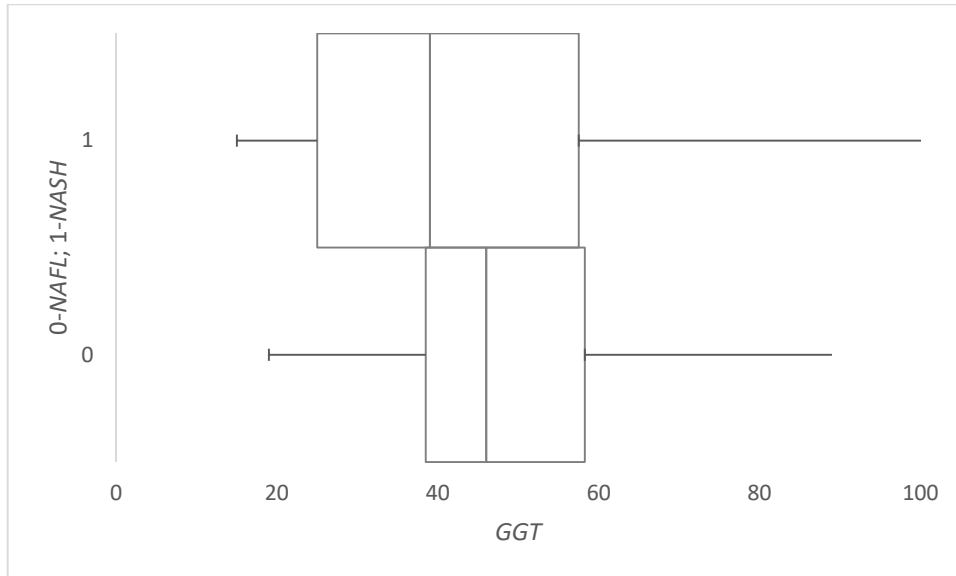


Слика 4.26 Бокс плот показује минимум, први квантил, медијану, трећи квантил и максимум: Серумске концентрације *AST* (U/L) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

AST - Аспартат аминотрансфераза; *NASH* - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Гама-глутамил трансфераза

Када су GGT вредности поново процењене у интервентној групи уочена је сличност са вредностима GGT у контролној групи $p = 0,502$). Слика 4.27 даје детаљнији приказ израчунатих варијабли на основу мерених концентрација овог ензима.

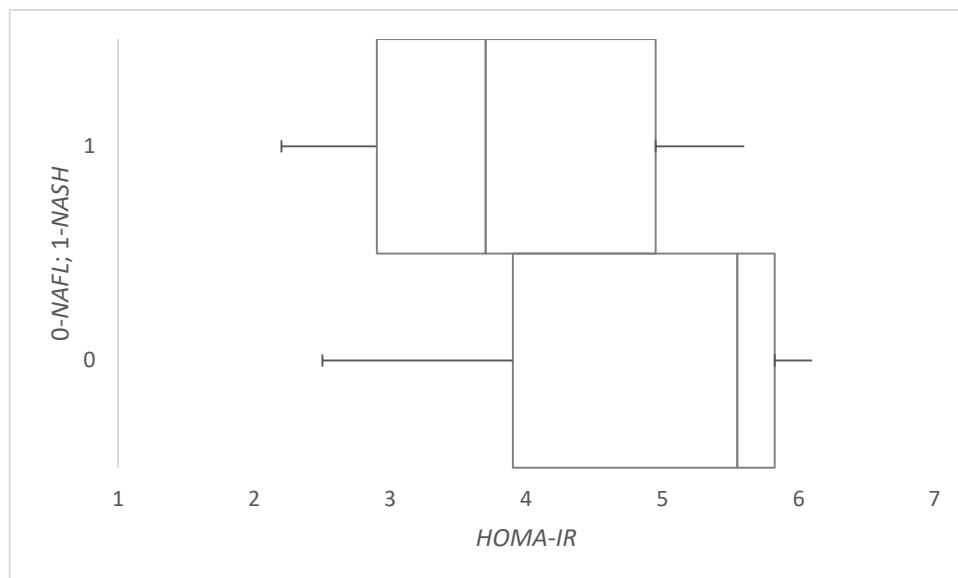


Слика 4.27 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: Серумске концентрације GGT (U/L) у групи пацијената са $NASH$ -ом (1) и у групи пацијената са $NAFL$ -ом (0) након 6 месеци

GGT - Гамаглутамил трансфераза; $NASH$ - неалкохолни стеатохепатитис; $NAFL$ - неалкохолна масна јетра.

HOMA-IR

Процењујући поново инсулинску резистенцију за *NASH* групу пацијената након периода примене испитиване терапије, детектовано је смањење *HOMA-IR* у *NASH*-у за 1,1 када се поређење врши у односу на контролну *NAFL* групу. Промена се сматра статистички значајном ($p < 0,05$), а минималне и максималне вредности уз медијану и квартиле 1 и 3 приказане су на слици 4.28.

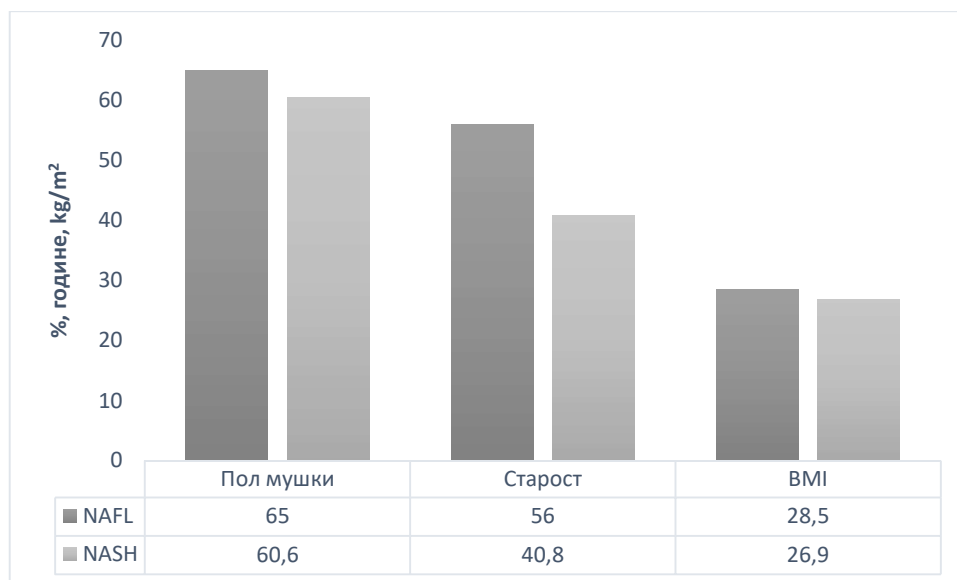


Слика 4.28 Бокс плот показује минимум, први квартил, медијану, трећи квартил и максимум: вредности индекса за процену инсулинске резистенције (*HOMA-IR*) у групи пацијената са *NASH*-ом (1) и у групи пацијената са *NAFL*-ом (0) након 6 месеци

HOMA-IR - хомеостатски модел за процену инсулинске резистенције; *NASH* - неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL* - неалкохолна масна јетра.

Испитивање адхеренце, уверења о лековима и нежељених реакција на лек

Процењена је адхеренца свих пацијената укључених у интервентну групу ($n=33$), као и пацијената са *NAFL*-ом који су у терапији имали два или више лекова за терапију коморбидитета ($n=69$). Карактеристике пацијената представљене су на слици 4.29.



Слика 4.29 Демографске карактеристике пацијената у *NAFL* и *NASH* кохорти код којих је учињена процена адхеренце пол изражен у %, старост у годинама (средња вредност), *BMI*: индекс телесне масе (kg/m^2) (средња вредност)

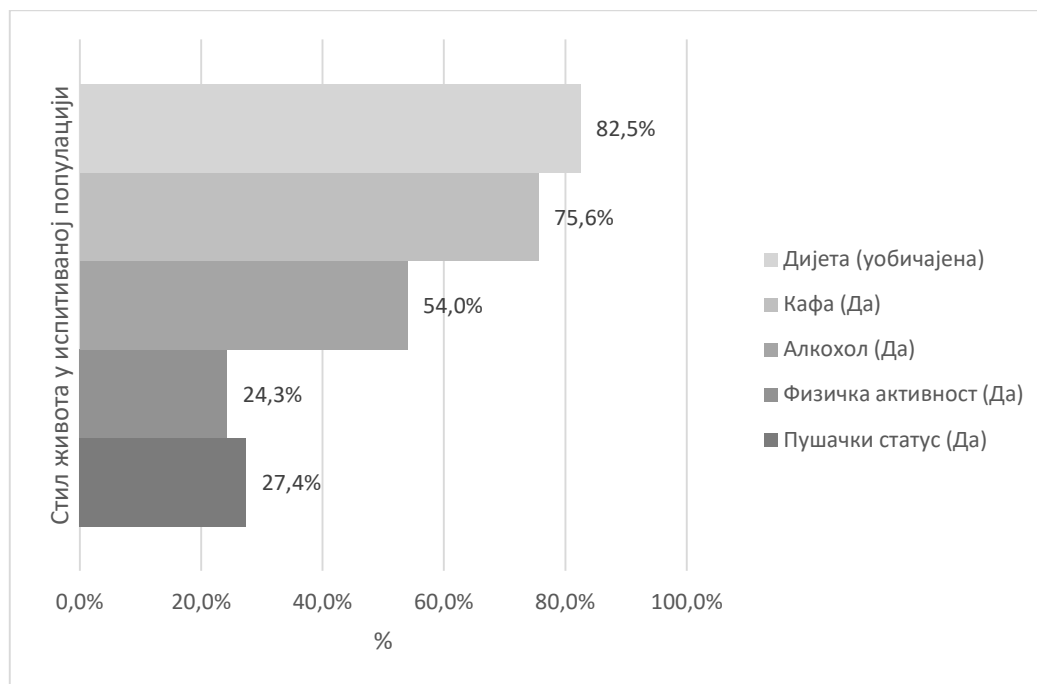
Када се разматрала социјална историја забележени су следећи подаци (Табела 4.30):

Табела 4.30 Социјална историја пацијената укључених у истраживање адхеренце

Ниво образовања	%	Становање	%
Факултет	12	Сам/а	15,6
Средња школа	66	Са породицом	61,1
Основна школа	3	Са партнером	12
Без школе	/	У дому	/

Информације о стилу живота

Информације о стилу живота прикупљене су у тренутку укључивања у студију. Процењена је физичка активност, дијета, конзумација алкохола/кафе и пушачки статус код свих пацијената укључених у истраживање адхеренце а резултати се могу видети на слици 4.30.

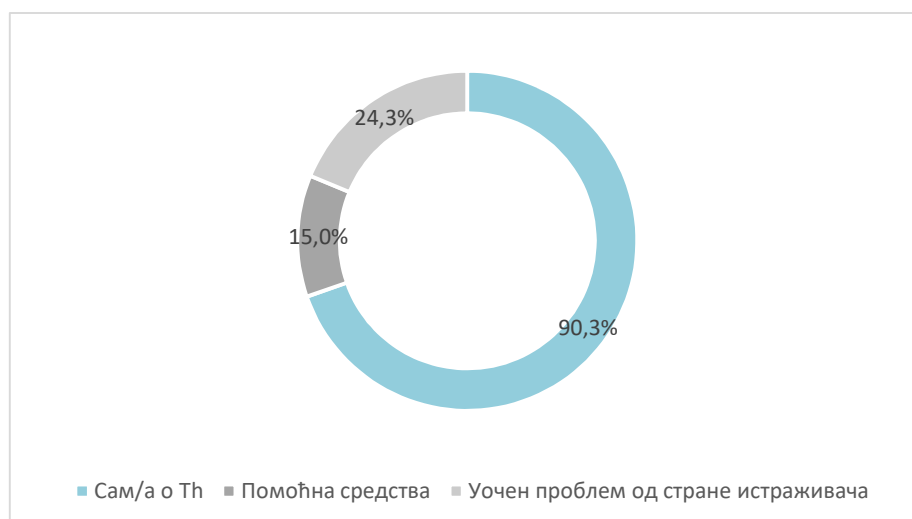


Слика 4.30 Информације о стилу живота у *NAFL/NASH*-у (n = 102)

Детаљнијом анализом прикупљених података утврђено је да је осим уобичајене исхране мањи број пацијената примењивао редуktivну дијету у претходних месец дана (7,9%), односно избегавање намирница богатим мастима (8,4%), а 1,2% је пријавило интолеранцију на глутен. Пацијенти су потврдили да конзумирају алкохол повремено - у просеку се односило на две до три чаше алкохолног пића недељно (вино, ракија или пиво). Просечна конзумација кафе износила је $2,6 \pm 1,3$ кафе/дневно.

Анализирајући четвртину пацијената који су пријавили бављење физичком активношћу, најчешће су под тим подразумевали шетњу 2-3 пута недељно (10,3%), вежбе снаге (5,6%), трчање (4,8%) и пливање (3,6%). Ниједан пацијент није био физички активан више од 3 пута недељно. Број цигарета у групи пушача износио је у просеку 20 ± 12 дневно.

Већина пацијената се сама бринула о својим лековима, а забележено је да је тек сваки шести пацијент користио помоћно средство/алатку за побољшање адхеренце: дозатор (5%) или аларм на телефону (12,0%). Истраживач је оценио да постоји проблем са адхеренцом кроз разговор са пацијентом код четвртине пацијената (слика 4.31)



Слика 4.31 Додатне информације о адхеренци (Th: терапија)

Подаци о коморбидитетима и терапији

Од присутних коморбидитета у обе групе евидентирани су хипертензија, аритмије, хиперлипидемија, анксиозност и депресија.

Просечан број лекова у групи симплекс стеатоза износио је $3,0 \pm 1,4$. У *NASH* кохорти пацијенти су осим ново уведене комбиноване терапије (пентоксифилин и метформин) примењивали у просеку $2,8 \pm 1,6$ лекова (Табела 4.31):

Табела 4.31 Најчешће коришћене групе лекова/лекови у популацији пацијената који су укључени у истраживање адхеренце (n = 102)

Група лекова	Лек	% пацијената
АСЕ - инхибитори	Рамиприл	28,3
	Фосиноприл	14,0
	Еналаприл	34,9
β - блокатори	Бисопролол	33,3
	Метопролол	12,8
Блокатори калцијумових канала	Амлодипин	30,2
	Дилтиазем	8,7
Блокатори ангиотензинских рецептора	Кандесартан	3,3
	Лосартан	12,0
Антиаритмици	Дигоксин	5,5
	Пропафенон	3,0
Диуретици	Хидрохлортиазид	15,3
Антитромбоцитни лекови	Ацетилсалицилна киселина	22,6

Анксиолитици	Алпразолам	12,2
	Лоразепам	18,4
	Бромазепам	30,9
Антидепресиви	Циталопрам	12,9
	Флуоксетин	10,5

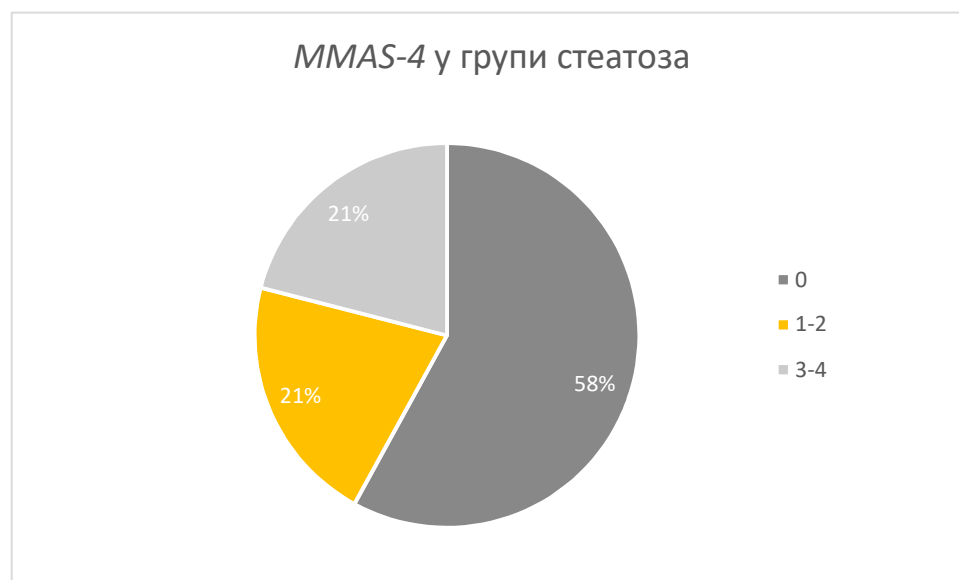
АСЕ – ангиотензин конвертујући ензим.

Од статина који су примењивани само у групи симплекс стеатоза, налазе се росувастатин (12,3%) и аторвастатин (9,9%). Такође, пацијенти су пријавили и повремену употреба аналгетика, где су издвојили примену комбинованог четворокомпонентног препарата (парацетамол, кофеин, кодеин, пропифеназон 250 mg/50 mg/10 mg/210 mg) 12,0%, затим метамизол натријума 9,9% и диклофенака 10,5%.

Прикупљени су и подаци о примени дијететских суплемената које су пацијенти навели као самомедикацију: препарат који садржи комбинацију есенцијалних фосфолипида и витамина користило је 6,0% а препарате витамина Д 8,4% испитаника.

Адхеренца процена *MMAS-4* скалом – *NAFL*

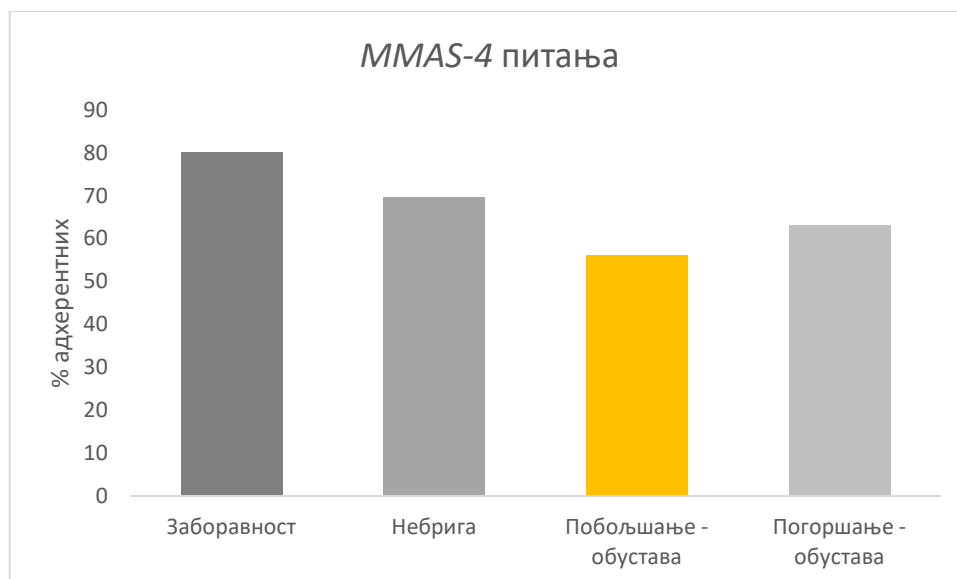
Степен адхеренце пацијената у групи симплекс стеатоза који је процењен на основу *MMAS-4* скале, дат је на слици 4.32.



Слика 4.32 *MMAS-4* у групи пацијената са симплекс стеатозом процењена да је високог степена (0), средњег степена (1-2) и ниског степена (3-4)

Ако се примени дихотомни опис степена адхеренце *Morisky* скалом, тада се сматра да је сваки други пацијент адхерентан (58%).

Детаљнијим увидом у питања *Morisky* скара код пацијената са симплекс стеатозом, може се видети проценат пацијената који су били адхерентни по сваком питању (слика 4.33).



Слика 4.33 Процент пацијената који су били адхерентни по питањима *Morisky* скале у групи стеатоза

У сврху дефинисања предиктора степена адхеренце испитан је утицај различитих варијабли на *MMAS-4* скор. Добијени резултати представљени су у Табели 4.32.

Табела 4.32 Утицај издвојених варијабли на степен адхеренце процењен *MMAS-4* скором у стеатози

Модел	Нестандардизовани коефицијенти		Стандардизовани коефицијенти	Т	p вредност
	B	Std. greška	Beta		
Константа	5,900	1,237	0,498	4,769	0,000
Проблем	1,585	0,413	0,375	3,838	0,000
Број лекова	-1,928	0,731	-0,241	-2,638	0,011

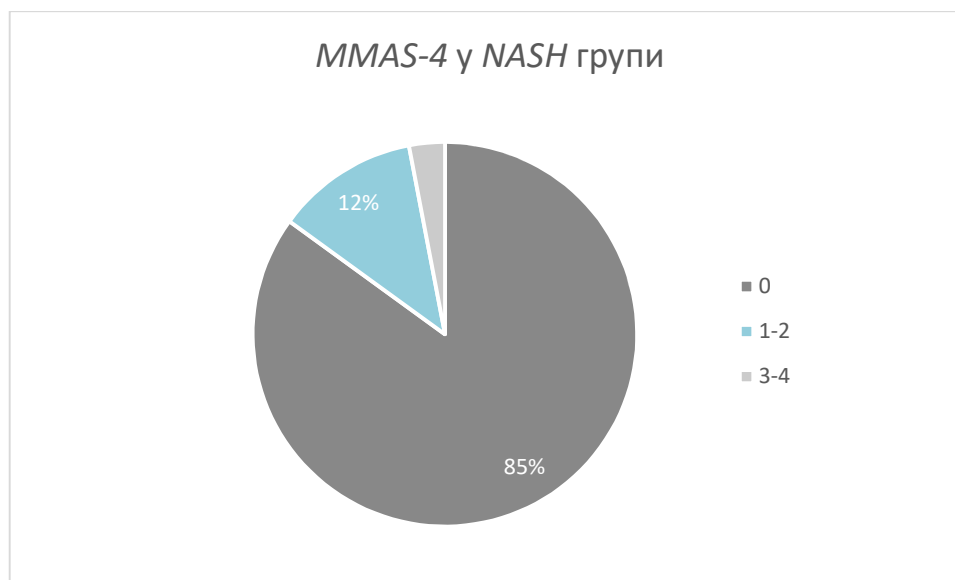
Испитана је адхерентност на основу *Morisky* упитника у групи симплекс стеатоза у односу на радни статус (Табела 4.33).

Табела 4.33 Процент адхерентних пацијената процењен *MMAS-4* скалом (0/1) у односу на радни статус

Радни статус	% Адхерентних пацијената SS
Запослен/а	35,8
Незапослен/а	45,0
Домаћица	15,0
Пензија инвалидска	/
Пензија старосна	59,9

NASH: неалкохолни стеатохепатитис; *NAFL*: неалкохолна масна јетра

Адхеренца у *NASH*-у процењена *MMAS-4* скалом

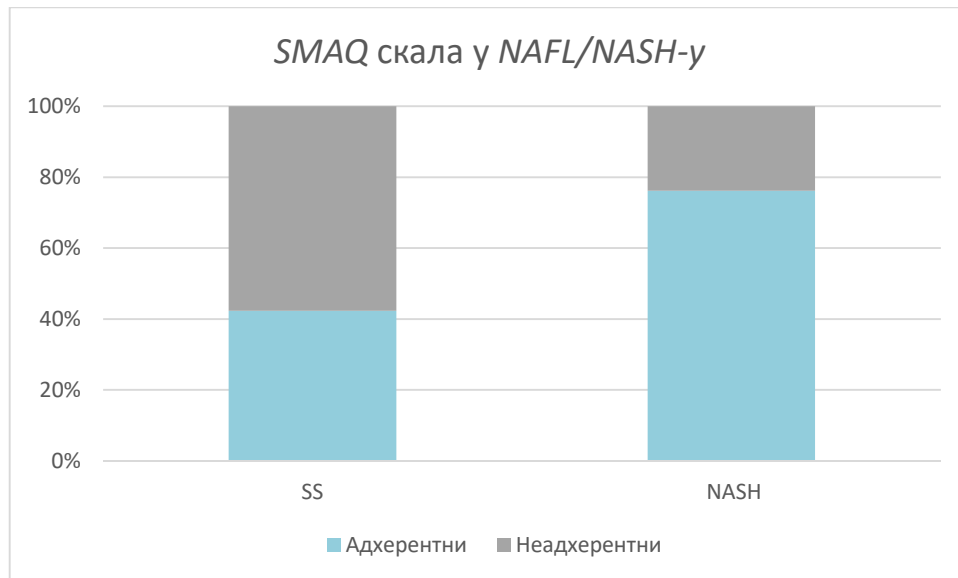


Слика 4.34 *MMAS-4* у групи пацијената са *NASH*-ом процењена да је високог степена (0), средњег степена (1-2) и ниског степена (3-4)

Степен адхеренце у групи пацијената са *NASH*-ом процењен *MMAS-4* скалом може се видети на слици 4.34. Само један пацијент је је имао низак степен адхеренце у интервентној *NASH* кохорти. Међутим, примењујући дихотомно тумачење *MMAS-4* скале уочен је низак степен адхеренце код 15% пацијената са дијагнозом *NASH*-а.

Процена адхеренце SMAQ упитником у NAFL/NASH-у

Када је процењивана адхеренца кроз питања SMAQ скале (прилог 2) у контролној и интервентној групи, идентификован је нижи степен адхеренце у поређењу са MMAS-4 скалом (Слика 4.35):

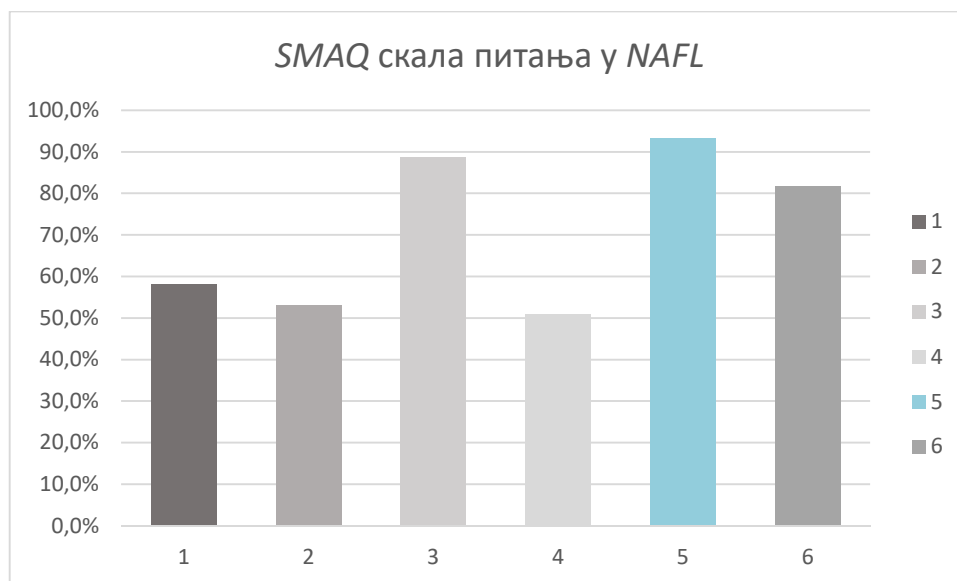


Слика 4.35 SMAQ у NAFL/NASH-у

SMAQ – поједостављен упитник за процену адхеренце; NAFL - неалкохолна масна јетра; NASH - неалкохолни стеатохепатитис.

Даљом анализом *Chi-square* тестом, утврђена је значајна статистичка разлика између броја идентификованих адхерентних пацијената применом MMAS-4 и SMAQ скала у групи пацијената са NAFL ($\chi^2 = 5,12$, $df = 1$, $p = 0,02$), док разлика у броју адхерентних није била значајна у групи пацијената са NASH-ом, применом две поменуте скале ($\chi^2 = 2,58$, $df = 1$, $p = 0,108$).

Истраживањем степена адхеренце у односу на појединачна питања SMAQ скале у NAFL добијени су следећи подаци (Слика 4.36).



Слика 4.36 Процент пацијената који су били адхерентни по питањима SMAQ скале у групи NAFL

SMAQ – поједостављен упитник за процену адхеренце; NAFL – неалкохолна масна јетра.

Највећи утицај на степен адхеренце процењен SMAQ скалом у групи пацијената са неалкохолном масном јетром показали су број лекова и проблем у адхеренци уочен од стране истраживача (Табела 4.34).

Табела 4.34 Утицај варијабли на степен адхеренце процењен SMAQ скалом у NAFL-у

Модел	Нестандардизовани коефицијенти		Стандардизовани коефицијенти	Т	p вредност
	B	Ст.грешка	Beta		
Константа	5,600	1,337	0,511	4,469	0,001
Проблем	1,685	0,203	0,366	3,933	0,030
Број лекова	-1,931	0,751	-0,291	-2,639	0,011
Пол	2,990	0,890	0,109	4,100	0,051

SMAQ: поједостављен упитник за процену адхеренце; NAFL: неалкохолна масна јетра.

Уверења о лековима

Већина пацијената укључених у истраживање (93%) попунили су упитник који процењује њихова уверења о лековима. Регистроване су средње вредности постигнутог *BMQ* скорa у табели 4.35.

Табела 4.35 Резултати анализе *BMQ* општег упитника: прекомерна употреба лекова/ штетност лекова

<i>BMQ</i> општи	Средња вредност	Стандардна девијација	Опсег
<i>BMQ</i> прекомерна употреба	12,3	3,5	9-20
<i>BMQ</i> штетност	13,8	4,8	4-18

BMQ: упитник „Мишљење о лековима“ (*Beliefs about Medicines*).

Детаљнији увид у добијене одговоре може се видети у Табели 4.36.

Табела 4.36 *BMQ* општи упитник и одговори пацијената

<i>BMQ</i> општи	Потпуно се слажем	Слажем се	Не знам	Не слажем се	Уопште се не слажем
<i>BMQ</i> прекомерна употреба лекова					
1. Лекари користе превише лекова	21,0%	35,0%	12,3%	22,8%	8,9%
2. Људи који узимају лекове би с времена на време требали да направе паузу у лечењу	59,9%	12,5%	9,0%	12,5%	6,1%
3. Већина лекова доводи до зависности	6,9%	24,0%	33,3%	30,0%	5,8%
4. Природни препарати су безбеднији од лекова	36,9%	18,9%	21,3%	18,0%	4,9%
<i>BMQ</i> штетност					
5. Лекови чине више штете него користи	13,6%	14,7%	44,0%	15,3%	12,4%
6. Сви лекови су отрови	11,1%	19,7%	26,6%	29,6%	13,0%
7. Лекари сувише верују лековима	0,0%	21,3%	47,3%	25,0%	6,4%
8. Када би лекари имали више времена за пацијенте прописивали би мање лекова	6,4%	31,8%	27,3%	21,9%	12,6%

BMQ: упитник „Мишљење о лековима“ (*Beliefs about Medicines*).

Корелација резултата адхеренце и мишљења пацијената о лековима приказана је у Табели 4.37.

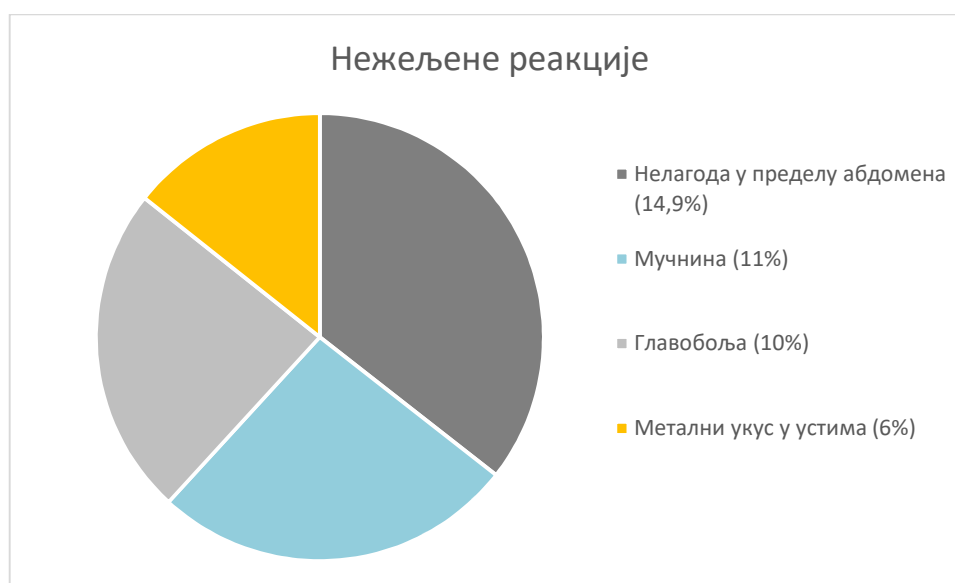
Табела 4.37 Повезаност адхеренце процењене *MMAS-4* скалом са општим *BMQ*

Варијабла	r (95% CI)	p-вредност	β (95% CI)
<i>BMQ</i> -прекомерна употреба	-0,54	0,05	0,12 (-0,09-0,18)
<i>BMQ</i> -штетност	-0,69	0,048	-0,24 (-0,3- -0,21)

BMQ: упитник „Мишљење о лековима“ (*Beliefs about Medicines*).

Нежељене реакције на лекове

Пацијенти су пријављивали нежељене реакције током примене испитиване терапије метформин/пентоксифилин које су биле описане као благе у манифестацији и пролазне (јављале су се током прве две недеље од увођења лекова, потом ишчезавале). Последично, сви пацијенти укључени у интервентну групу су примењивали комбиновану терапију предложеним режимом у трајању од 24 недеље. Најчешће НРЛ приказане су на слици 4.37.



Слика 4.37 Забележене НРЛ током терапије метформином и пентоксифилином у *NASH* групи

Нотирана је НРЛ која је захтевала додатну терапију у 15,0% случајева и подразумевала увођење инхибитора протонске пумпе (лансопризол 15 mg 1x1 ујутру, пола сата пре јела) у трајању од недељу дана. Корекција испитиваних доза пентоксифилина и метформина није била примењена, те су сви пацијенти користили терапију до краја интервенционог периода.

5 ДИСКУСИЈА

Резултати спроведеног истраживања дају увид у два аспекта изучавања неалкохолног стеатохепатитиса. Први део односи се на неинвазивну процену *NASH-a*, други испитује ефикасност и безбедност комбиноване терапије метформин/пентоксифилин.

Неинвазивна процена *NASH-a*

Правовремено откривање оштећења јетре код пацијената са *NAFLD*-ом постаје медицински изазов данашњице, имајући на уму епидемијске размере гојазности и дијабетеса. Наиме, према сазнањима *WHO*, преваленца гојазности у целом свету се удвостручила у односу на 1980. годину. Прецизније, у 2014. години чак 1,9 милијарди људи у популацији одраслих је имало прекомерну телесну масу (*BMI* 25-30 kg/m²), од којих је преко 600 милиона било гојазно (*BMI* > 30 kg/m²) (*CDC Overweight and Obesity*).

Распрострањеност гојазности/прекомерне ТМ у Србији у популацији одраслих, према подацима *WHO* (*World Health Organization, 2006*) прати европску статистику по којој је 54% индивидуа са прекомерном ТМ (*BMI* ≥25), док је 36,6% предгојазно (*BMI*: 25,0-29,9).

Преваленца *NAFL* код гојазних људи износи чак 60%, прогресија до *NASH-a* се јавља код готово сваког четвртог пацијента (20-25%). Када се посматрају пацијенти са дијабетесом типа 2, процењено је да чак 75% има неки облик *NAFLD*. У том светлу, занимљива је хипотеза објављеног истраживања да је *NAFLD* заправо снажна детерминанта за развој метаболичког синдрома а не хепатичка манифестација метаболичког синдрома како је претходно било тумачено (*Burne and Targher, 2015*). Сразмерно овим сазнањима, велики напори се улажу у правцу проналажења сензитивних дијагностичких тестова који искључују инвазивне процедуре, како би се добио одговор на питање: да ли пацијент има симплекс стеатозу или *NASH*.

Спознајући сложеност патогенезе *NASH-a*, врло је јасно да различити механизми играју улогу у развоју болести а како је већ истакнуто у уводном делу, данас су идентификовани оксидативни стрес, инсулинска резистенција и системска инфламација.

HOMA-IR

Више вредности на *HOMA-IR* скали су независни клинички предиктори *NASH-a*. Резултати истраживања су подударни са овим наводима јер је највиши експонент за предикцију *NASH-a* управо добијен за *HOMA-IR*.

Детаљном анализом, овакав резултат показује да повећање *HOMA-IR* за једну јединицу доводи до повећања вероватноће за појаву *NASH-a* за 26,3%. Додатно откриће доноси и недавно објављена мултицентрична студија спроведена у Јапану у популацији *NAFLD* пацијената где се наводи да је инсулинска резистенција у корелацији за озбиљношћу хистолошког оштећења јетре (*Kessoku et al., 2015*). Предложене су различите вредности за *HOMA-IR* као граничне у смислу указивања

на инсулинску резистенцију. У студији објављеној од стране *Shimada et al.* (*Shimada et al.*, 2007), али различито у односу на налазе *Dixon et al.* (*Dixon et al.*, 2003), наши резултати указују да све вредности *HOMA-IR* које су једнаке или веће од 2,5 указују на инсулинску резистенцију. Управо ова гранична вредност захтева даље истраживање пацијената са стеатозом у правцу *NASH*-а.

Мокраћна киселина у серуму

У хуманој популацији, мокраћна киселина у серуму је крајњи производ оксидације метаболизма пурина, која се екскретује путем урина. Поред добро познате чињенице да је хиперурикемија узрок гихта (*Arthritis urica*), такође се доводи у везу са појавом хипертензије, болести бубрега, кардиоваскуларних болести и метаболичког синдрома. Претходно је поменуто да оксидативни стрес и поремећај липидне пероксидације имају кључну улогу у патогенези *NAFLD*. Један од хипотетичких механизма настанка (поред инсулинске резистенције, оксидативног стреса и системске инфламације), јесте индукција дисфункције ендотела као последица хиперурикемије. Резултати велике опсервационе студије спроведене у Сједињеним Америчким Државама довели су у везу хиперурикемију са степеном оштећења јетре у *NAFLD* (*Sirota et al.*, 2013). Слично откриће је саопштено раније у проспективној опсервационој студији која је указала на чињеницу да је пораст нивоа мокраћне киселине у серуму независан предиктор повећаног ризика за *NAFLD*. У студији *Sertoglu et al.* се наводи да је хиперурикемија уобичајен налаз код пацијената мушког пола са *NAFLD*, и независно повезан са раним стадијумом *NASH*-а (*Sertoglu et al.*, 2014). Недавно публиковани резултати студије у којој су проучаване жене после менопаузе, нормалне ТМ, описују се више вредности мокраћне киселине у серуму са позитивном и независном асоцијацијом у односу на хепатичку стеатозу. Најновија студија *Wu et al.*, истиче да су специфичне вредности у погледу пола независно удружене са *NAFLD*, те указује на значајно веће вредности мокраћне киселине у серуму код жена у поређењу са мушкарацима (*Wu et al.*, 2015).

Резултати ове студије сугеришу да је вредност мокраћне киселине у серуму изнад 380 μ mol/L независни предиктивни фактор у детекцији *NASH*-а. У прилогу овом налазу сведочи и опсервација о повећаној концентрацији албумина и сулфхидрилних група, апострофирајући значај оксидативног стреса индукованог хиперурикемијом у патогенези *NASH*-а. Наиме, албумин је примарни извор редукованих сулфхидрилних група које су препознате као потентни елиминатори реактивног кисеоника и азотних једињења (*Quinlan et al.*, 1998).

Феритин

Нивои феритина без прекомерног оптерећења гвожђем били су значајно различити у испитиваној *NASH* групи пацијената у поређењу са *NAFL* пацијентима, иако су вредности и даље биле у референтном опсегу. Други аутори (*Sumida et al.*, 2011), су такође укључили феритин у *NASH* предиктивни модел, али су предложили више граничне вредности. Још више вредности феритина у смислу граничних за предвиђање *NASH*-а су предложене у претходно објављеним истраживањима, где се наводи да је феритин већи од 1,5х од горње границе у корелацији са дијагнозом

NASH-а. Резултати нашег истраживања су супротни овим наводима, подржавајући налазе студије спроведене од стране *Polyzos et al.* (*Polyzos, 2012*). Занимљив је податак да чак и код пацијената без хепатичког оптерећења гвожђем, где спадају и наши пацијенти, више вредности серумског феритина корелишу са прогресијом болести. Међутим, и даље није у потпуности разјашњено да ли је повишен ниво серумског феритина последица системске инфламације (за шта постоји све мање доказа) или маркер прекомерног оптерећења гвожђем код пацијената са *NAFL* (*Beaton et al., 2014*). Код пацијента са *NAFL*-ом и хиперферитинемијом у присуству поремећеног хепатограма, евакуација гвожђа флeботомијом доводи до значајнијег побољшања хистолошке слике у односу на изоловану примену измена у стилу живота (*Valenti et al., 2014*).

Аланин аминотрансфераза

Необјашњиво повећање *ALT*, најчешће не велик отклон у односу на горњу границу, наводи клиничаре да разматрају *NASH* као вероватан узрок, нарочито код пацијената са метаболичким факторима ризика. Мада *ALT* није идеалан биомаркер за разликовање *NAFL* од *NASH*-а, ипак је неколико студија показало да су повишене вредности *ALT* у директној вези са порастом ризика за настанак *NASH*-а (*Angulo et al., 2007*). Вредности *ALT* предложене као предиктори *NASH*-а, још увек нису јасно дефинисане. Узевши у обзир недавно објављене резултате, указано је на значајно мању инциденцу *NASH*-а код пацијената са нормалним вредностима *ALT* у поређењу са популацијом која има повишене вредности *ALT* (*Verma et al., 2013*). Испоставило се да резултати овог истраживања подржавају управо такву тврдњу. Пораст *ALT* обично иницира детаљнију дијагностику у смислу абдоминалног снимања и хистолошког прегледа. Запажање да су пацијенти у групи са нормалним вредностима *ALT* нешто старији од пацијената са повишеним *ALT*, што је нотирано код наших пацијената је конзистентно са подацима саопштеним од стране *Fracanzani et al.* (*Fracanzani et al., 2008*).

Дијагностички панели

Предложени су различити дијагностички панели за диференцијацију *NASH*-а од симплекс стеатозе. Детаљније посматрано, *NAFLD* дијагностички панел подразумева разматрање 5 карактеристика/параметара (пол, *BMI*, дијабетес, триглицериде и фрагменте цитокератина-18 (*CK-18*)) (*Younossi et al., 2011*) и показује бољи предиктивни значај за *NASH* у поређењу са *NASH* панелом који користи три биомаркера (*CK-18*, адипонектин и резистин) (*Yilmaz et al., 2008*). Оба панела дају добре резултате у погледу *AUROC* која износи 0,81 за *NAFLD* дијагностички панел и 0,73 за *NASH*. *CK-18* фрагменти осим тога што имају структурну улогу у обезбеђивању стабилности хепатоцита, истовремено делују као мете за токсични стрес индукујући апоптозу/некрозу ткива. Упркос чињеници да су претходна истраживања указала на *CK-18* као маркер који има висок потенцијал у детекцији *NASH*-а, новије студије ограничавају његову примењивост у клиничкој пракси. *Cusi et al.* сведоче о лимитираној вредности *CK-18* као биомаркера за *NASH*, истичући његову малу сензитивност у погледу стадијума *NASH*-а (*Cusi et al., 2014*). Ипак, у

студију су укључени морбидно гојазни пацијенти, стога резултати не могу бити екстраполирани на популацију пацијента са нижим *BMI*.

Следећи панел са добрим резултатом у предикцији *NASH*-а (*AUROC* 0,85), *NAFIC scoring* систем базиран је на три параметра (феритин, инсулин и тип IV колаген 7S), показао се бољим у односу на неколико других претходно предложених панела (Sumida et al., 2011).

Ипак, налази ове студије не могу се са сигурношћу применити на популацију пацијената у овом истраживању, јер су сви испитаници били Јапанци. Статистички значајна корелација је уочена са *NAS* скором и сва четири параметра (*HOMA-IR*, мокраћна киселина, феритин и *ALT*) укључена у *HUFA* индекс, предложен у овом истраживању. Међутим, није детектована значајна корелација са посматраним параметрима и стадијумом фиброзе. Сходно томе, биохемијски параметри који чине *HUFA* индекс иако не говоре о стадијуму фиброзе, могу бити параметри за рану детекцију некроинфламације у *NAFLD*-у.

Резултати истраживања подржавају важност четири варијабле у разликовању *NASH*-а од симплекс стеатозе: *HOMA-IR*, мокраћне киселине у серуму (*SUA*), феритина (*Ferritin*) и *ALT*. Посматрајући однос вероватноћа (енг. *odd ratios*) уочава се одређен пораст у вероватноћи настанка *NASH*-а за сваку јединицу раста у вредностима параметара (у опсегу од 1% до 26%). Наиме, ако се узме у обзир опсег посматраних параметара, пораст вредности мокраћне киселине и феритина за 50 јединица, односно пораст *ALT* за 10 јединица, вероватноћа за предикцију *NASH*-а добија већи клинички значај. Додатно, на основу директне компарације, модел се показао као врло добар ако се узме у обзир *AUROC* 0,94.

Такође, документоване су релативно добра сензитивност од 70,3%, одлична специфичност од 95,1%, и значајне вредности за позитивну и негативну предикцију од 83,1% и 90,0%. Модел је заснован на употреби четири лако доступна параметра у свакодневној клиничкој пракси, не повећавајући трошак анализа. Докази за сваки од ових параметара, посматраних самостално, иду у прилог хипотези да их треба користити у комбинованом моделу за предикцију у циљу диференцијације симплекс стеатозе од раног стадијума *NASH*-а пре него их тумачити одвојено. Када се примене сви критеријуми за искључивање, а пацијент показује следећу слику: *HOMA* изнад 2,5, мокраћна киселина већа од 380 $\mu\text{mol/L}$, феритин изнад 100 $\mu\text{g/L}$ и *ALT* већи од 45 U/L , требало би детаљније размотрити присуство *NASH*-а. Једначина 4.1 добијена као резултат предложеног модела, даје основ за формирање *HUFA* калкулатора који се једноставно може користити у свакодневној пракси.

Веома је важно размотрити цену поступка за идентификацију стадијума *NAFLD*-а, нарочито у земљама са ограниченим ресурсима, обезбеђујући нове процедуре/параметре које здравствени систем може приуштити и подржати.

Објављена је и студија која је дала евалуацију кроз анализу цена-корисност за *NASH screening*, уз закључак да биопсија јетре није исплатива у погледу цена-ефикасност (Zhang et al., 2015a). У овој студији више од трећине пацијената у стеатоза кохорти је подвргнуто биопсији јетре, док је стеатохепатитис потврђен биопсијом код свих пацијената у *NASH* кохорти. Такође је битно имати на уму да се биопсија јетре као инвазивна процедура не препоручује свим пацијентима. Строги критеријуми за искључивање/укључивање пацијената и бројни мерени/процењени параметри подупиру такве налазе. Осим тога, предложени дијагностички индекс би

требало тестирати и валидирати под различитим условима у различитим кохортама, а могуће га је једноставно применити у свакодневној клиничкој пракси без додатног утршка времена и без нових трошкова.

Apo A-1 и Apo B

Метаболизам липопротеина је битна компонента хепатоцелуларне хомеостазе масти, те последично инволвиран у патогенезу, дијагнозу и терапију *NAFLD*. Јетра утиче на продукцију липопротеина и у највећој мери модулира њихов клиренс (Jiang et al., 2013). Детаљније посматрано, инсулинска резистенција је удружена са дислипидемијом која настаје због прекомерне продукције *VLDL* честица (путем липидације *Apo B* молекула у ендоплазматском ретикулуму хепатичких ћелија). У стању инсулинске резистенције долази до акумулације *Apo B* у ендоплазматском ретикулуму као последица прекомерног дотока масних киселина у јетру (Su et al., 2010)

Како је синтеза *Apo B* у процесу секреције липида из хепатоцита корак ограничавајуће брзине, у једној мањој студији се наглашава да је смањена синтеза овог протеина важан фактор у настанку хепатичке стеатозе која претходи *NASH*-у (Charlton et al., 2002). У студији *Nass et al.* детектовано је присуство *Apo B* дислипидотеинемија у чак 61,5% *NAFLD* пацијената у поређењу са 16,5% испитаника без *NAFLD*, при чему су аутори закључили да је повећана преваленца удружена са *NAFLD* али не и са узнапредовалом хепатичком фиброзом. Овај поремећај липопротеина води ка повећаном кардиоваскуларном ризику пацијената са *NAFLD* (*Nass et al., 2017*). Осврнувши се на налазе из овог истраживања, нису детектовани поремећаји липопротеина у испитиваној популацији, односно измерене су вредности *Apo A-1* веће од 0,3 g/L а вредности *Apo B* мање од 0,3 g/L.

Лептин

Детектоване су средње вредности лептина у популацији *NAFL* више него у *NASH*-у (14,7 vs. 10,9 ng/mL), које нису показале статистички значајну разлику. *Chitturi et al.* су изучавали концентрације лептина код пацијената са *NASH*-ом и корелацију са степеном стеатозе и фиброзе. Иако су за разлику од резултата овог истраживања доказали хиперлептеинемију у овој групи испитаника, закључили су да нивои лептина директно корелишу са стеатозом али не корелишу са фиброзом (*Chitturi et al., 2002b*). Сличан закључак је представљен и неколико година након овог открића, када није пронађена корелација серумског лептина са хистолошким налазом, нити са серумским трансaminaзама и инсулином. Лептин је корелисао само са процентом масног ткива и обимом субкутане абдоминалне масти (*Chalasaní et al., 2003*). У складу са тим је и резултат овог истраживања зато што су пацијенти у *NAFL* кохорти имали виши *BMI* него пацијенти у *NASH* кохорти (29,3 наспрам 27,7 kg/m²).

Интерлеукин 6

IL-6 је проинфламаторни адипокин, обично повишен у серуму и адипоцитима гојазних особа. Поред *TNF- α* и *IL-1*, *IL-6* представља кључну карику у настанку *NAFLD*, при чему доминирају слични механизми као и код алкохолне масне јетре (Moschen et al., 2010, Rosen and Spiegelman, 2014). Више је експримован у адипозном ткиву него у јетри, чиме се масно ткиво издваја као главни извор *IL-6* у *NASH*-у (Moschen et al., 2010). Shober et al. су уочили да су концентрације *IL-6* 2-4 пута више код гојазних у односу на здраве код којих износе око 1 *pg/mL* (Shober et al., 2007).

Упркос чињеници да није идентификована статистички значајна разлика у концентрацијама *IL-6* код *NASH/NAFL* испитаника, детектоване су више концентрације у *NASH*-у (3,3 *pg/mL*), у поређењу са *NAFL* групом (3,1 *pg/mL*). Сличан налаз, али са вишим измереним вредностима *IL-6* наводи се у студији Hadinia et al. који су детектовали 4,6/4,2 *pg/mL* у *NASH/NAFL* (Hadinia et al., 2019), уз напомену да је у овој студији доњи лимит детекције теста био 3 *pg/mL*.

Витамин Е

Резултати ове студије указују на то да су пацијенти са дијагнозом *NASH*-а имали нешто ниже вредности витамина Е у поређењу са пацијентима са *NAFL*-ом – 15,5 vs. 18,3 *mg/L*, мада уочена разлика није била статистички значајна. Сличан налаз нижих измерених нивоа витамина Е у *NASH*-у у односу на здраве добровљце објавили су Erhardt et al. (Erhardt et al., 2011). Иако се суплементација витамином Е налази у европским и америчким препорукама за терапију *NASH*-а, требало би имати на уму да тек сваки други пацијент показује одговор на терапију (Hoofnagle et al., 2013). Поред заштитних ефеката које витамина Е показује на хепатичку функцију, дуготрајна примена високих доза доводи се у везу са инсулинском резистенцијом (Manning et al., 2004). Додатно, профил нежељених реакција и изостанак значајнијег утицаја на фиброзу упућује на опрез при одабиру пацијената за терапију (Perumpail et al., 2018). Примећено је и да се измерене концентрације овог витамина код пацијената налазе у опсегу (близу горње референтне вредности), па се намеће питање хипервитаминозе у случају суплементације. У престижном научном часопису недавно је објављено да витамин Е није ефикасан у *NASH*-у када се примењује као монотерапија, те се не препоручује за рутинску примену (Bril et al., 2019).

Параметри оксидативног стреса

Оксидативни стрес настаје услед повећања слободних кисеоничних радикала који нарушавају интегритет биолошких једињења (укључујући липиде, протеине и дезоксирибонуклеинску киселину) и смањења антиоксиданаса у организму. Као последица овако поремећене равнотеже јавља се општећење ћелија (Yoshikawa, 2002). Механизам за продукцију реактивних кисеоничних једињења (*ROS*) дешава се на

нивоу митохондрија, ендоплазматског ретикулума и никотинамид аденин динуклеотид фосфат оксидазе. ROS сигнални пут модулира метаболизам липида, инсулина и инфламаторних процеса (Chen et al., 2020). У нашем истраживању испитивана су 4 фактора: *PON1*, сулфхидрилне групе, *AOPP* и *LOOH*.

PON1 као антиоксидантни ензим је недавно означен као „регулатор метаболизма глукозе и хомеостазе липида“, базирано на чињеници да штити од оксидативног стреса и инфламације (Meneses et al., 2019). Промене у нивоима *PON1* се јављају у различитим стањима када постоји оксидативни стрес, те је мерење серумске активности *PON1* предложено и за процену функције јетре (Camps et al., 2009).

У овом истраживању забележене су више вредности *PON1* код пацијената са *NASH*-ом у односу на *NAFL*, мада нису биле статистички значајно различите. Студије су показале ниске концентрације *PON1* у присуству *NAFLD*-а (Milaciu et al., 2019, Wang et al., 2017), што је делом детектовано и у приказаним резултатима. Такође су нотиране ниже вредности *PON1* у *NASH*-у у поређењу са *NAFL* (Milaciu et al., 2017), супротно налазима овог истраживања. Међутим, у литератури је описана иницијално повећана активност антиоксидантних ензима у *NASH*-у, а прогресија болести је праћена њиховом редукованом експресијом (Makowski, 2013). Овакво објашњење је у складу са приказаним резултатима јер је већина *NASH* пацијената била у почетном стадијуму (F1) фиброзе, те се тиме може објаснити запажање виших вредности *PON1* у *NASH* групи.

Подсећања ради, доказана је статистички значајна разлика између вредности сулфхидрилинних група у *NASH*-у које су биле више наспрам вредности сулфхидрилних група у *NAFL*, пратећи детектоване више концентрације албумина у *NASH*-у наспрам *NAFL*. Резултат је у складу са закључцима студије *Quinlan et al.* где је албумин потврђен као примарни извор сулфхидрилних група (Quinlan et al., 1998). Међутим, постоје контрадикторни резултати у погледу садржаја тиола у *NAFLD* популацији, иако је јасно да јетра има кључну улогу у метаболизму једињења сумпора (Pastore et al., 2014). Ниже вредности тиолних група потврђују ослабљени антиоксидантни систем јетре. Насупрот опсервацијама из овог истраживања нису пронађене разлике у тиолним групама између *NAFLD* и *не-NAFLD* пацијената (Wu et al., 2018). У литератури се наводи податак да су измерене ниже вредности тиолних група у *NASH*-у у поређењу са здравим добровољцима (Baskol et al., 2014).

Када се анализирају продукти крајње оксидације протеина, могу се уочити више вредности у *NASH*-у него у *NAFL*-у. И поред чињенице што није уочено да се *AOPP* разликује значајно у посматраним кохортама, ипак су резултати паралелни са претходно објављеним подацима. Међутим, у *NASH*-у су забележене ниже средње вредности *AOPP* (127 $\mu\text{mol/L}$) у односу на вредности које су саопштили *Baskol et al.* (256,7 $\mu\text{mol/L}$) односно *Ozenirler et al.* (461,8 $\mu\text{mol/L}$) (Baskol et al., 2014, Ozenirler et al., 2014). Показано је да *AOPP* корелише са степеном фиброзе и инфламације у *NASH*-у (Ozenirler et al., 2014), те су ниже вредности очекиване у почетним фазама болести.

У студији која је проучавала утицај конзумирања пероксидисаних масних киселина путем хране, доказано је да *LOOH* продужава стабилност синтетазе азот монооксида-2 и циклооксигеназе-2 информационе рибонуклеинске киселине путем *p38MAPK*. Стога је закључено да липидни хидропероксици могу индуковати

проинфламаторно стање у јетри те деловати као окидач за развој *NASH*-а (Boehm et al., 2010). Међутим, нису детектоване разлике у измереним вредностима *LOOH* у испитиваним групама, али је примећено да су симплекс стеатозе имале нешто више вредности овог параметра од *NASH*-а.

Хијалуронска киселина

Уобичајен пут развоја фиброзе и цирозе јетре јесте пораст депозита екстрацелуларног матрикса (Shiha et al., 2009) на рачун прерасподеле колагена, гликопротеина и хијалуронске киселине (Gressner, 2010). Управо је хијалуронска киселина изграђена од поновљених парова глукуронске киселине и глукозамина у форми полисахарида глукозаминогликана (Fraser et al., 1997) кључна компонента екстрацелуларног матрикса. Примарно је продукују периферна ткива и путем лимфе се транспортује у системску циркулацију, одакле се у великој мери метаболише хепатичком елиминацијом (Lebel et al., 1994). Како је показано да на брзину елиминације утиче проток крви кроз јетру и функција хепатоцита (Berg, 1997), хијалуронска киселина се изучава као неинвазивни маркер за процену функционалног капацитета јетре у хроничним болестима различите етиологије (Orasan et al., 2016).

Посматрајући до сада објављене податке, показано је да су нивои хијалуронске киселине у серуму значајно виши код пацијената са стеатохепатитисом у поређењу са здравим добровољцима, као и да су виши у цирози у поређењу са *NASH*-ом (Lebensztejn et al., 2010). *Malik et al.* су истраживали предиктивне вредности хијалуронске киселине у *NASH*-у процењујући степен фиброзе (F1-F4), указујући на удруженост овог биомаркера са стадијумима *NAFLD* (Malik et al., 2009).

Иако резултати ове студије нису показали статистички значајну разлику у концентрацијама хијалуронске киселине између група, ипак се могу уочити веће вредности медијане за *NASH* у односу на *NAFL* (35,6 ng/mL vs 29,8 ng/mL), као и већа максимална вредност хијалуронске киселине (88,7 ng/mL vs 71,7 ng/mL).

Анализирајући карактеристике пацијената у погледу степена фиброзе, јасно је да се већина у овом истраживању налази у стадијуму *F1*, те су измерене вредности у складу са до сада објављеним подацима. Наиме, расположиви докази сведоче у прилог тврдњи да су нивои хијалуронске киселине повишени код стеатохепатитиса и тешке фиброзе (Sakigawa et al., 2005) односно да је хијалуронска киселина погодан маркер за праћење прогресије фиброзе ка цирози код *NAFLD* пацијената (Bahcescioglu et al., 2005).

Коначно, серумске концентрације хијалуронске киселине представљају добар неинвазивни показатељ оштећења јетре, али се ипак сматра да је значајније разматрање вредности хијалуронске киселине у комбинацији са другим маркерима (Gudowska et al., 2016).

Крвна слика

Анализирајући детаљније комплетну крвну слику пацијената у контролној *NAFL* и у интервентној *NASH* групи у почетној фази истраживања, није уочена статистички значајна разлика за већину параметара. Међутим, примећено је да се еритроцити, хемоглобин и хематокрит разликују међу посматраним групама. Високе концентрације хемоглобина су издвојене као фактор ризика за настанак *NAFLD*-а у недавно објављеној студији (Ozturk et al., 2018), мада насупрот резултатима овог истраживања, није детектована разлика у вредностима између симплекс стеатоза и *NASH*-а. Литературни подаци указују и на повезаност броја леукоцита са *NAFLD*-ом, при чему су веће вредности предиктор за настанак болести, независно од кардиоваскуларног ризика и других компоненти метаболичког синдрома (Lee et al., 2010b). Посматрајући вредности леукоцита у испитиваним кохортама, *NASH* пацијенти су имали веће вредности леукоцита, ипак без доказа о статистичкој значајности међу групама.

Исходи комбиноване терапије метформин/пентоксифилин

У периоду када је студија иницирана, постојали су опречни докази у погледу примене метформина код пацијената без дијабетеса, те је наглашавана потреба за даљим испитивањем његове улоге. Последњих година у литератури се појављују контрадикторни подаци у вези терапијског потенцијала метформина у *NAFLD* пацијената. *Brandt et al.* истичу да метформин има протективну улогу у смислу настанка *NAFLD*-а делујући на састав цревне микрофлоре и смањење транслокације бактеријских ендотоксина (Brandt et al., 2019). Исте године су *Sui et al.* описали изостанак превентивног ефекта на анималном моделу (Sui et al., 2019).

Иако докази за примену метформина у терапији *NASH*-а бивају потиснути последњих година потенцијално ефикаснијим терапијским опцијама, метформин јесте добра терапијска опција када су у питању компликације повезане са *NAFLD*: ризик од кардиоваскуларних болести и *HCC*. У *NAFLD* пацијената примена метформина повољно делује на смањење ризика од развоја периферне, коронарне и цереброваскуларне болести (Targher et al., 2007). У великој кохортној студији доказано је смањење годишњег ризика од настанка *HCC*-а код дијабетичара који су примењивали метформин за 7% (Bhat et al., 2015).

Осврнувши се на безбедносни профил метформина, забележене су следеће опсервације. У прегледном раду који је обухватио и мета анализу студија о утицају метформина на хистолошку слику јетре, наводи се да су пацијенти пријавили само благе НРЛ, те да ниједан пацијент није обуставио терапију због интолеранције. Последично, примена овог лека сматра се безбедном и у дужем временском периоду (Li et al., 2013). Најчешће су описане следеће НРЛ које се доводе у везу са метформином: флатуленција, надутост и благ абдоминални бол (Nar and Gedik, 2009, Sofer et al., 2011). Налази су у складу са опажањима из ове студије јер су уочене само благе гастроинтестиналне сметње. *Haukeland et al.* описује само једног пацијента који је развио осип, али терапија није обустављена (Haukeland et al., 2009). Наравно, не би требало заборавити могућност испољавања нефротоксичности позивајући се

на претходно објављене студије, те је неопходно континуирано процењивати функцију бубрега (најмање једанпут годишње код пацијената са нормалном бубрежном функцијом; на 3-6 месеци код ослабљене бубрежне функције) (Inzucchi et al., 2014, Lipska et al., 2011). Такође, још 1969. године је први пут идентификована дефицијенција витамина Б12 услед поремећене интестиналне ресорпције код пацијената на терапији метформином у трајању од само три месеца (Berchtold et al., 1969). Објављена су бројна истраживања бавећи се овом НРЛ, а прегледни рад који је обухватио чак 27 студија сугерише рутинско праћење овог витамина код пацијената на дугорочној терапији метформином (Aroda et al., 2016). У овом истраживању су измерене концентрације витамина Б12 у интервентној *NASH* кохорти и није установљена статистички значајна разлика пре започињања терапије и након 6 месеци лечења ($p = 0,106$), као ни у поређењу са *NAFLD* кохортом.

Смањене вредности витамина Б12 су детектоване код приближно 7% пацијената (Alvarez et al., 2019), те ограничен број испитаника у испитиваној *NASH* кохорти може бити разлог изостанка овог очекиваног налаза.

Осим анализе измерених вредности витамина Б12 битно је осврнути се и на концентрације хомоцистеина и фолне киселине. Хомоцистеин, аминокиселина која садржи сумпор, настаје као међупродукт деградације метионина (Garcia et al., 2007). У мета анализи из 2015. године наводи се да фолна киселина и витамин Б12 имају важну улогу у регулацији метаболичких процеса хомоцистеина (Zeng et al, 2015 The effect of folate). Резултати студије Polyzos et al. где је примењена слична методологија као у овој студији, сведоче о нижим серумским вредностима хомоцистеина у *NASH*-у када се упореде са *NAFL* групом. Аутори описују да су вредности фолата и витамина Б12 биле сличне међу групама (Polyzos et al., 2012a). Резултати овог истраживања су у складу са поменутиим, јер су детектоване нешто ниже вредности хомоцистеина у *NASH*-у, у просеку $13,7 \mu\text{mol/L}$ наспрам $14,8 \mu\text{mol/L}$ у *NAFL*, које ипак нису биле статистички значајно различите. Такође, забележене су нешто више вредности фолне киселине у *NASH*-у ($11,6 \mu\text{g/L}$) у односу на *NAFL* ($10,9 \mu\text{g/L}$), чиме је потврђена негативна корелација са хомоцистеином. Доступне су и тврдње у којима низак ниво фолата (средња вредност $9,8 \mu\text{g/L}$) и витамина Б12 (средња вредност $387,5 \text{ng/L}$) корелишу са хистолошком тежином *NASH*-а али у овом истраживању није праћен ниво хомоцистеина. Исти аутори су потврдили ниже вредности параметара него у приказаном истраживању, што се може објаснити чињеницом да је 50,6% пацијента у поменутој студији имало F2 стадијум фиброзе, за разлику од пацијента ове студије код којих доминира F1 стадијум (Mahamid et al., 2018). Важно је истаћи да је сличан лабораторијски налаз (повишен хомоцистеин изнад $15 \mu\text{mol/L}$, снижена фолна киселина и витамин Б12) присутан код пацијената у повећаном ризику од коронарне артеријске болести (акутног инфаркта миокарда, стабилне и нестабилне *angine pectoris*) (Ma et al., 2017). Показано је да суплементација витамином Б12 и фолном киселином код пацијента са хиперхомоцистеинемом, може смањити кардиоваскуларни ризик (Liu et al., 2014). Имајући на уму да су кардиоваскуларне болести дефинисане као најчешћи узрок морталитета код пацијената са болестима јетре (Targher et al., 2010), ова 3 параметра добијају на значају и код пацијената са *NAFLD*-ом (Hu et al., 2016, Polyzos et al., 2012b).

У претходно објављеним студијама већ је показано да пентоксифилин и метформин остварују позитиван ефекат у терапији *NASH*-а, када се примењују као

монотерапија (Du et al., 2014, Li et al., 2013). Стога је један од циљева овог истраживања био да се испита комбиновани ефекат лекова, имајући на уму мултифакторијалну природу *NAFLD/NASH*-а. Колико је познато, нити једна студија која је испитивала метофрмин/пентоксифилин терапију, није објављена.

У складу са постављеним циљевима, пацијенти у групи са *NAFL*-ом који су представљали контролну групу, имали су биопсијом потврђену дијагнозу, а свим пацијентим који су укључени у студију (*NAFL/NASH*) саветована је специфична дијета и друге мере здравог начина живота. Додатно, *NASH* групи пацијената је уведена комбинована терапија наведеним лековима. У циљу процене исхода терапије метформином и пентоксифилином, у погледу ефикасности и безбедности терапије, код пацијената су праћене НПЛ и адхеренца. Наиме, присуство НПЛ и уверења пацијената да им терапија није неопходна утичу неповољно на степен адхеренце а самим тим и на ефикасност терапије.

Резултати истраживања указују на значајно побољшање биохемијских параметара код пацијената са биопсијом потврђеним *NASH*-ом, чак и након три месеца терапије. Установљен је тренд побољшања посматраних параметара и након шест месеци, уз толерабилне и благе НПЛ. *NASH* група третирана лековима показала је веома сличан профил за већину испитиваних параметара након шест месеци, компарабилан са *NAFL* контролном групом. Стога, препорука је да терапија траје дуже време.

Како је већ претходно поменуто, постоји све већи број доказа о улози (повишених вредности) мокраћне киселине у *NAFLD* (Liu et al., 2016, Sirota et al., 2013). Недавно је објављена студија у којој је закључено да су повишене вредности мокраћне киселине у серуму у корелацији са хепатоцелуларном стеатозом и *NASH*-ом, те да је битно размотрити вредности мокраћне киселине у серуму као компоненту хистопатолошког оштећења у склопу неинвазивних *NAFLD* скорова (Fernandez Rodriguez et al., 2019). Новија истраживања су такође потврдила асоцијацију између концентрација мокраћне киселине у серуму и метаболичког синдрома/*NAFLD* (Kanbay et al., 2016, Lombardi et al., 2016), и истакли серумске концентрације мокраћне киселине (уз унос фруктозе) као независни фактор повезан са *NASH*-ом (Mosca et al., 2017). Одавно је доказана веза између хиперурикемије и кардиоваскуларних болести (Gagliardi et al., 2009). Ова чињеница је од посебног значаја у слици *NAFLD/NASH*, јер су управо кардиоваскуларне болести а не болести јетре детерминисане као најчешћи узрок смрти у овој популацији (Targher et al., 2010). Такође је показана повезаност хиперурикемије и инсулинске резистенције (хиперинсулинемије) што се детаљније објашњава уносом фруктозе која може испровоцирати метаболички синдром и повећање мокраћне киселине, док управо снижавање нивоа мокраћне киселине у серуму зауставља развој и манифестације метаболичког синдрома (Cirillo et al., 2006). Потврђујући резултате цитиране студије, резултати овог истраживања показују веће вредности серумске концентрације мокраћне киселине у *NASH* кохорти у поређењу са стеатозама.

Интересантан је податак да су серумске концентрације мокраћне киселине редуковане након примењене терапије. Ово откриће може се објаснити да пентоксифилин смањењем вредности серумске концентрације мокраћне киселине минимизира оштећења јетре механизмом сугерисаним у новијој студији (Bektas et al., 2016). Поред тога, сматра се да пентоксифилин делује позитивно инотропно на

срчани мишић те побољшава хепатичку перфузију и проток крви кроз интестинум (Ribeiro et al., 2013). Хипотеза је и да метформин доприноси овом ефекту снижавања серумске концентрације мокраћне киселине кроз смањење инсулинске резистенције, јер је примећена значајно нижа вредност *HOMA-IR* након комбиноване терапије.

Уочене су и базично ниже вредности магнезијума у *NASH* кохорти, слично подацима недавно објављене студије, где се наглашава да је низак ниво магнезијума независно повезан са *NASH* -ом (Eshraghian et al., 2018). Након метформин/пентоксифилин терапије дошло је до повећања серумског магнезијума у *NASH* кохорти. Магнезијум игра значајну улогу у хомеостази инсулина. Докази указују на обрнуто пропорционалан однос између инсулинске резистенције и уноса магнезијума, нарочито код испитаника са прекомерном ТМ (Cahill et al., 2013). Могуће је да се објашњење за такву опсервацију у погледу повећања магнезијума након терапије, односи управо на инсулинску резистенцију. Дакле, очекивано је да ће смањење инсулинске резистенције подићи ниво магнезијума, што је и доказано. Овај ефекат лежи у основи механизма дејства метформина. Последице, такав резултат у смислу повећања магнезијума са метформин/пентоксифилин терапијом, даје ново светло о потенцијалној користи ових лекова.

Када се посматрају нивои калцијума, показано је да повећана концентрација овог електролита заједно са фосфором, значајно корелише са *NAFLD*-ом (Shin et al., 2015). Додатно, Park et al. (Park et al., 2012) наводе позитивну корелацију између серумског калцијума иметаболичког синдрома, а негативну корелацију са магнезијумом и глукозом. Резултати у *NASH* кохорти подржавају ову тврдњу, јер су установљене базично више вредности калцијума. Међутим, значајно ниже вредности калцијума су постигнуте након 6 месеци примене испитиване терапије. Такав третман је вероватно довео до поновног успостављања баланса између јона, опет путем побољшања инсулинске резистенције.

Слично претходно објављеним истраживањима на тему терапије метформином (Idilman et al., 2008, Krakoff et al., 2010, Mazza et al., 2012), и у интервентној групи овог истраживања је идентификовано значајно побољшање хепатограма кроз смањење *ALT*, *AST* и *GGT* након шестомесечне терапије. Поред добро документованих ефеката метформина на јетрене ензиме, пентоксифилин такође може имати утицаја на побољшање хепатограма, потврђујући резултате објављене у истраживању Van Wagner et al. (Van Wagner et al., 2011).

Иако су у употреби више од 50 година, нове потенцијалне користи метформина и пентоксифилина још увек се откривају. Пентоксифилин је метилксантин као и кофеин, за који савремени научници тврде да повећан унос може имати благотворно дејство на смањење фиброзе јетре (Modi et al., 2010).

Од изузетне је важности размотрити ефикасност, безбедност и цену лекова када се разматра терапијска опција за *NASH*, нарочито у земљама у развоју. Не разматрајући индиректне медицинске трошкове или трошак са социјалног аспекта који је јасно у порасту са растом преваленте *NASH*-а, директни медицински трошкови код пацијента са *NASH*-ом у Америци процењени су на 222 милијарде долара (Younossi et al., 2019c). Не би требало заборавити директни трошак лечења метформином и пентоксифилином, који спадају у групу лекова са ниском ценом. Како званично одобрена терапија за *NASH* још увек не постоји, трошак лечења није

покривен од стране фонда за здравствено осигурање, те пацијенти сами сnose трошкове терапије.

Упркос чињници да је приказана студија била ограничена мањим бројем испитаника, ипак успева да укаже на нови аспект примене добро познатих и лако доступних лекова у условима ограниченог здравственог фонда. Истовремено са ишчекивањем нових открића базираних на фармакогеномици који ће продрети у срж болести и омогућити индивидуалну терапију *NASH*-а, уз стил живота прилагођен за сваког пацијента понаособ (Lorbek et al., 2016). Лекови који делују до сада објашњеним механизмима, као што су метформин и пентоксифилин пружају могућу терапијску опцију.

Оптимальна дужина трајања терапије *NASH*-а није дефинисана, мада се наводи податак да би терапију требало обуставити након 6 месеци код пацијената који су базично имали повишене вредности *ALT* а жељена редукција није постигнута. За пацијенте са нормалним *ALT* вредностима нема препорука за трајање терапије, као ни за трајање терапије код пацијената који су одреаговали на третман (European Association for the Study of the Liver et al., 2016).

Адхеренца и уверења о лековима

Дефиниција адхеренце ка дугорочној терапији чини спојене изјаве *Haunes* и *Rand* и гласи: „Степен у коме понашање пацијента (узимање лекова, дијета и/или промене у стилу живота) одговара препорукама пружаоца здравствене услуге“ (Haunes, 1979, Rand, 1993). Низак степен адхеренце у хроничним болестима је глобални проблем у константном порасту и износи 50% у развијеним земљама. Сматра се да је још нижи у земљама у развоју. Незаразне болести широм света чине здравствено оптерећење за које се сматра да ће 2020. године премашити 65%. Последице ниског степена адхеренце јесу лоши терапијски исходи и повећање трошкова здравственог система.

Најважнији приступ у побољшању степена адхеренце би требало да подразумева подршку пацијентима а не окривљивање, а конкретне интервенције је нужно креирати и прилагодити потребама сваког пацијента понаособ. Као и управљање *NAFLD*-ом и овај проблем светских размера захтева мултидисциплинарни приступ (World Health Organization, 2003).

Степен адхеренце код пацијената на хроничној терапији варира у широком опсегу од 23% до 86% (Schlenk et al., 2004), а у просеку износи 50% (Unni and Shiyanbola, 2016), показујући да би овом аспекту требало посветити значајну пажњу. Општеприхваћено становиште је да се степен адхеренце $\geq 80\%$ сматра прихватљивим и углавном представља граничну вредност, нарочито у студијама где се процењује ефикасност односно безбедност терапије (Wei et al., 2002). Степен адхеренце $\geq 90\%$ ретко се очекује осим код пацијената на антиретровиралној терапији за хумани имунодефицијентни вирус као прекулсов постизања виралне супресије (Altice et al., 2019) или код пацијената након трансплантације органа код којих је такође показан тренд опадања адхеренце са временом са 95% на 80% (Villeneuve et al., 2020). Неадхеренца представља огроман проблем здравственог

система директно повезан са повећаним морбидитетом и морталитетом уз трошак који на годишњем нивоу у Сједињеним Америчким Државама износи између 100 и 300 милијарди долара (Bosworth et al., 2011).

Не изненађује резултат да је тек сваки други пацијент препознат као адхерентан у контролној групи, што је у складу са претходно објављеним истраживањима за пацијенте на хроничној терапији (Brown and Bussell, 2011, Costa et al., 2015). Интересантан је и податак да су највише адхерентни пацијенти у старосној пензији, затим незапослени, а само трећина стално запослених пацијената показује задовољавајућу адхеренцу.

Пацијенти са *NASH*-ом су били адхерентни у високом проценту, посматрајући резултате добијене применом и *MMAS-4* и *SMAQ* скале. Упркос негативним ставовима о лековима/терапији, који су била слични ставовима *NAFL* групе, ефикасност терапије је постигнута придржавањем прописаном режиму дозирања. Резултат се може приписати сталном медицинском надзору али и континуираном праћењу пацијената од стране клиничког фармацеута као стручњака за лекове. Спровођење структурираног саветовања о болести/лековима, правовремена евалуација и идентификација актуелних и потенцијалних терапијских проблема који могу утицати на адхеренцу, континуирана едукација са препорукама за правовремено решавање НРЛ, несумњиво доводе до бољих исхода лечења. Директно поређење броја идентификованих адхерентних пацијената између контролне и интервентне групе није учињено, јер је разлика јасно очекивана услед сталне супервизије степена адхеренце у интервентној групи. Пацијент који је идентификован као једини са ниским степеном адхеренце након прва три месеца, додатно је посаветован о терапији и болести, уведена је терапија за решавање НРЛ, те је лечење настављено како је и планирано.

Просечан број лекова у обе кохорте био је сличан (2,8 у *NASH*-у наспрам 3,0 у *NAFL*-у) пре него што је уведена комбинована терапија за пацијенте са дијагнозом *NASH*-а. Резултат се могао предвидети јер се свеобухватно посматрано ради о популацији која нема манифестне симптоме болести јетре, претежно су средње животне доби, а пацијенти са лековима који би потенцијално могли утицати на исход терапије нису ни били укључени у истраживање.

Већина пацијената је имала средњу стручну спрему, што је у складу са објављеним подацима (Horne and Weinman, 1999). Када разматрамо пол као фактор варијабилности у односу на степен адхеренце, идентификована је гранична вредност статистичке значајности указујући на бољу адхеренцу у популацији жена. У литератури постоје контрадикторни подаци у погледу пола као фактора варијабилности у адхеренци, те је у Холандији објављена студија која показује нижи степен адхеренце код жена (Eindhoven et al., 2018), док је у Канади показана боља адхеренца у женској популацији (Boucquemont et al., 2019). Интересантна је и студија спроведена у Шведској у којој није показана разлика међу половима у степену адхеренце према прописаној терапији у општој популацији, али су идентификовани различити разлози за неадхеренцу: код мушкараца је наведено заборављање, а код жена НРЛ. Стога је неопходно стратегију побољшања адхеренце у циљу постизања жељених исхода терапије прилагодити и овој чињеници (Sundbom and Bingefors, 2012).

Студија спроведена у Кини на три различите групе пацијената (са дијабетесом, реуматоидним артритисом и можданим ударом) закључује да је *BMQ* користан за процену адхеренце те да је управо овај упитник (општи и специфични) вредело применити у сврху препознавања пацијената који су у ризику од ниског степена адхеренце (Wei et al., 2017). Резултати овог истраживања говоре о генерално негативном ставу пацијената према терапији.

Имајући на уму повезаност ставова пацијената у погледу лекова и степена адхеренце, ова процена може пружити корисне информације пре увођења терапије (Gatt et al., 2017). *Unni et al.* су истраживали како се степен адхеренце и уверења пацијената о лековима мењају у току посматраног периода од две године, применом *MMAS-4* и *BMQ*. Забележили су следеће: 58,8% испитаника није променило ставове, 21,7% је показало нижи степен адхеренце, 19,5% је имало виши степен адхеренце. Закључено је да је правовремена интервенција и саветовање о уверењима на почетку терапије есенцијална за побољшање степена адхеренце (Unni and Shiyanbola, 2016). У литератури се наводи да је неопходно пружити потпору у смислу теоријске подлоге која се тиче свих аспеката адхеренце, укључујући уверења о лековима и искуства о узимању лекова, на самом почетку увођења терапије (Petrilla et al., 2005, Ruppap et al., 2008, van Dulmen et al., 2008). У складу са поменутиим сазнањима, интервентна кохорта која је изложена теоријској основи о испитиваној терапији, показала је висок ниво адхеренце од 85%, за разлику од контролне у којој је идентификовано само 58% адхерентних пацијената (*MMAS-4*).

Животни стил и *NAFLD*

Према *EASL* препорукама потребно је 150-200 мин/недељно физичке активности у 3-5 наврата (аеробна активност и вежбе отпора), док ниједан наш пацијент није имао више од 3 пута физичке активности недељно. У погледу конзумације кафе, 75,6% наших пацијената су се понашали у складу са *EASL* препорукама по којима се кафе може конзумирати без ограничења. Наиме, бројне студије сведоче о повољном ефекту овог напитка на различите хроничне болести јетре. *Ruhl и Everhart* су још пре 15 година скренули пажњу стручне јавности на резултате којима показују да конзумација кафе смањује ризик од хроничних болести јетре (Ruhl and Everhart, 2005). *Klatsky и Armstrong* су показали обрнуто сразмеран однос конзумације кафе са ризиком од цирозе јетре (Klatsky and Armstrong, 1992). Такође су забележене значајно ниже вредности јетрених ензима (*GGT, ALT, ALP*) и билирубина код особа које уносе бар 3 шољице кафе дневно у поређењу са онима који не пију кафе (*Casiglia et al.*, 1993). Занимљиве су и тврдње јапанских и италијанских научника да је конзумација кафе у корелацији са смањеним ризиком од *HCC*-а (*Inoue et al.*, 2005, *Kurozawa et al.*, 2005, *Tanaka et al.*, 2007) потврђене мета анализом 2013. године (*Bravi et al.*, 2013). Повезаност конзумације кафе и *NAFLD* проучавана је у бројним студијама које су детектовале инверзну асоцијацију и доказале да већи унос кафе подразумева блажу форму *NAFLD*-а (*Birerdinc et al.*, 2012, *Catalano et al.*, 2010, *Gutierrez-Grobe et al.*, 2012). У популацији *NASH* пацијената код којих је дијагноза потврђена биопсијом, откривена је негативна корелација између уноса кафе и степена фиброзе (*Molloy et al.*, 2012).

Поред тога што расположиви докази сугеришу Медитеранску дијету, повећан унос дијетарних влакана и повећан протеински унос уз физичку активност, битним се сматра и време уношења оброка. Показано је да већи калоријски унос у јутарњим часовима има благотворно дејство на *NAFLD* (El-Agroudy et al., 2019). Студија спроведена у једној немачкој болници, подвргнула је режиму поста хоспитализоване пацијенте са и без дијабетеса, према водичима „Пост као терапија“ (Wilhelmi de Toledo et al., 2013). Уведена је нискокалоријска дијета (600 kcal првог дана) која се базирала на воћу, поврћу, овсу и пиринчу уз 2 литре течности, а затим ово-лакто вегетеријанска храна уз физичку активност. Просечна дужина поста износила је 8,5 дана. На основу ове студије закључено је да (Drinda et al., 2019) периодични пост уз последичну редукацију ТМ доводи до значајно бржег побољшања индекса масне јетре (Bedogni et al., 2006). Иако постоје јасни докази да редукована исхрана и физичка активност доводе до смањења интрахепатичких масти, ипак само мали број особа успева да оствари циљану редукацију ТМ за 10% неопходну за клинички значајно побољшање *NASH*-а и фиброзе (Romero-Gomez et al., 2017). Препорука о постепеном смањењу телесне масе код гојазних пацијената даје најбоље резултате, али се нажалост тешко постиже у реалним условима (Farrell, 2019). Просечне вредности *BMI* указују на прекомерну ТМ пацијената укључених у описано истраживање (26-28kg/m²), што се може довести у везу са ниским степеном физичке активности који је примећен у кохорти у којој је процењивана адхеренца.

Данас је јасно да комбинација оптималне исхране и физичке активности представља једини потврђен нефармаколошки приступ у побољшању *NAFLD* (El-Agroudy et al., 2019). Интересантна су опажања истраживача која говоре да су *NAFLD* пацијенти који немају прекомерну ТМ у већем ризику од развоја тешке болести јетре (иако имају нижи степен фиброзе) у поређењу са *NAFLD* пацијентима који имају виши *BMI* (Hagstrom et al., 2018).

Закључна запажања

Дијагностиковање и лечење *NASH*-а још увек представља изазов за клиничаре, те захтева мултидисциплинарни приступ. Јасно је да је пут који води ка ефикасној терапији трновит и дуготрајан. Лекови који се примењују у сврху лечења показују скромну ефикасност, и често нису доступни у свим здравственим системима. Новија терапија која се налази у фази испитивања уноси светлост и разрешење овог проблема, уз неопходну строгу контролу примене и праћење безбедности како би испољила максималну ефикасност.

Међународни водичи дају смернице и предлажу терапију за *NAFLD/NASH*. Међутим, ове препоруке би требало узети са резервом јер разлике у генетици и факторима средине нису узете у обзир. Стога, примена ових стратегија не важи на глобалном нивоу. Одговор би требало пронаћи у прилагођавању локалним условима разматрајући карактеристике популације у односу на порекло и исхрану базирану на геному у сврху превенције гојазности и *NASH*-а (Roman et al., 2015). Док званично одобрена терапија не постане јасно одређена и примењива у свим здравственим системима као стандард у лечењу пацијената са *NASH*-ом, важно је имати доказе о тренутно расположивим терапијским опцијама. Корисно је размотрити неинвазивне приступе који могу умањити потребу за биопсијом јетре.

Управо објављена студија пресека која је проучавала да ли постоји одговор/стратегија за *NAFLD* у јавном здрављу 29 земаља Европе, установила је општи недостатак националних политика по овом питању. *Lazarus et al.* су идентификовали главне проблеме у смислу непостојања националних стратегија и клиничких водича, недовољног укључивања друштвене заједнице у сврху подизања свести о овој болести и свега неколико доступних епидемиолошких база. Забележено је да је 7 земаља пријавило структуриран програм модификације животног стила усмерен ка *NAFLD*, а само 4 земље су пријавиле активну друштвену сарадњу о проблемима које ова болест са собом носи (*Lazarus et al.*, 2020).

Индивидуалан приступ пацијенту је императив у свим областима медицине и фармације, па чак и када стандардни протоколи постоје, пут лечења и избор терапије мора бити прилагођен специфичним карактеристикама пацијента.

6 ЗАКЉУЧАК

У складу са постављеним циљевима и резултатима, могуће је изнети следеће закључке:

1. Идентификована је група параметара на основу којих је сачињен *HUFA* индекс, који се може применити као скор за неинвазивну диференцијацију неалкохолне масне јетре од неалкохолног стеатохепатитиса
2. *HUFA* индекс је значајан за рану детекцију некроинфламације у *NAFLD*-у
3. Комбинована терапије метформином и пентоксифилином код пацијената са *NASH*-ом је показала побољшање биохемијских параметара
4. Безбедносни профил испитиване терапије је имао повољну слику у погледу пријављених НРЛ
5. Детектован је проценат неадхерентних пацијената у обе посматране кохорте који омогућава интервенције у сврху постизања бољих исхода лечења, правовременим и структурираним саветовањем о болести и лековима.

7 ЛИТЕРАТУРА

- Abdel-Razik, A., Mousa, N., Shabana, W., Refaey, M., Elzehery, R., Elhelaly, R., Zalata, K., Abdelsalam, M., Eldeeb, A. A., Awad, M., Elgamal, A., Attia, A., El-Wakeel, N. & Eldars, W. 2018. Rifaximin in nonalcoholic fatty liver disease: hit multiple targets with a single shot. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 30, 1237-1246.
- Abdelmalek, M. F., Liu, C., Shuster, J., Nelson, D. R. & Asal, N. R. 2006. Familial aggregation of insulin resistance in first-degree relatives of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 4, 1162-9.
- Adams, L. A., Sanderson, S., Lindor, K. D. & Angulo, P. 2005. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*, 42, 132-8.
- Adams, L. A., Zein, C. O., Angulo, P. & Lindor, K. D. 2004. A pilot trial of pentoxifylline in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 99, 2365-8.
- Adolph, T. E., Grander, C., Grabherr, F. & Tilg, H. 2017. Adipokines and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Multiple Interactions. *Int J Mol Sci*, 18.
- Ahrens, M., Ammerpohl, O., Von Schonfels, W., Kolarova, J., Bens, S., Itzel, T., Teufel, A., Herrmann, A., Brosch, M., Hinrichsen, H., Erhart, W., Egberts, J., Sipos, B., Schreiber, S., Hasler, R., Stickel, F., Becker, T., Krawczak, M., Rocken, C., Siebert, R., Schafmayer, C. & Hampe, J. 2013. DNA methylation analysis in nonalcoholic fatty liver disease suggests distinct disease-specific and remodeling signatures after bariatric surgery. *Cell Metab*, 18, 296-302.
- Alberti, K. G., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P., Loria, C. M., Smith, S. C., Jr., International Diabetes Federation Task Force On, E., Prevention, Hational Heart, L., Blood, I., American Heart, A., World Heart, F., International Atherosclerosis, S. & International Association for the Study Of, O. 2009. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120, 1640-5.
- Altice, F., Evuarherhe, O., Shina, S., Carter, G. & Beaubrun, A. C. 2019. Adherence to HIV treatment regimens: systematic literature review and meta-analysis. *Patient Prefer Adherence*, 13, 475-490.
- Alvarez, M., Sierra, O. R., Saavedra, G. & Moreno, S. 2019. Vitamin B12 deficiency and diabetic neuropathy in patients taking metformin: a cross-sectional study. *Endocr Connect*, 8, 1324-1329.
- Amer, J., Salhab, A., Nouredin, M., Doron, S., Abu-Tair, L., Ghantous, R., Mahamid, M. & Safadi, R. 2018. Insulin signaling as a potential natural killer cell checkpoint in fatty liver disease. *Hepatol Commun*, 2, 285-298.

- Anderson, E. L., Howe, L. D., Jones, H. E., Higgins, J. P., Lawlor, D. A. & Fraser, A. 2015. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 10, e0140908.
- Angulo, P. 2002. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 346, 1221-31.
- Angulo, P., Alba, L. M., Petrovic, L. M., Adams, L. A., Lindor, K. D. & Jensen, M. D. 2004. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 41, 943-9.
- Angulo, P., Hui, J. M., Marchesini, G., Bugianesi, E., George, J., Farrell, G. C., Enders, F., Saksena, S., Burt, A. D., Bida, J. P., Lindor, K., Sanderson, S. O., Lenzi, M., Adams, L. A., Kench, J., Therneau, T. M. & Day, C. P. 2007. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 45, 846-54.
- Anstee, Q. M., Neuschwander-Tetri, B. A., Wong, V. W., Abdelmalek, M. F., Younossi, Z. M., Yuan, J., Pecoraro, M. L., Seyedkazemi, S., Fischer, L., Bedossa, P., Goodman, Z., Alkhouri, N., Tacke, F. & Sanyal, A. 2019. Cenicriviroc for the treatment of liver fibrosis in adults with nonalcoholic steatohepatitis: AURORA Phase 3 study design. *Contemp Clin Trials*, 89, 105922.
- Argo, C. K., Patrie, J. T., Lackner, C., Henry, T. D., De Lange, E. E., Weltman, A. L., Shah, N. L., Al-Osaimi, A. M., Pramoonjago, P., Jayakumar, S., Binder, L. P., Simmons-Egolf, W. D., Burks, S. G., Bao, Y., Taylor, A. G., Rodriguez, J. & Caldwell, S. H. 2015. Effects of n-3 fish oil on metabolic and histological parameters in NASH: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Hepatol*, 62, 190-7.
- Armstrong, M. J., Gaunt, P., Aithal, G. P., Barton, D., Hull, D., Parker, R., Hazlehurst, J. M., Guo, K., Team, L. T., Abouda, G., Aldersley, M. A., Stocken, D., Gough, S. C., Tomlinson, J. W., Brown, R. M., Hubscher, S. G. & Newsome, P. N. 2016. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet*, 387, 679-90.
- Aroda, V. R., Edelstein, S. L., Goldberg, R. B., Knowler, W. C., Marcovina, S. M., Orchard, T. J., Bray, G. A., Schade, D. S., Temprosa, M. G., White, N. H., Crandall, J. P. & Diabetes Prevention Program Research, G. 2016. Long-term Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 101, 1754-61.
- Asilmaz, E., Cohen, P., Miyazaki, M., Dobrzyn, P., Ueki, K., Fayzikhodjaeva, G., Soukas, A. A., Kahn, C. R., Ntambi, J. M., Socci, N. D. & Friedman, J. M. 2004. Site and mechanism of leptin action in a rodent form of congenital lipodystrophy. *J Clin Invest*, 113, 414-24.
- Aviado, D. M. & Porter, J. M. 1984. Pentoxifylline: a new drug for the treatment of intermittent claudication. Mechanism of action, pharmacokinetics, clinical efficacy and adverse effects. *Pharmacotherapy*, 4, 297-307.

- Bahcecioglu, I. H., Yalniz, M., Ataseven, H., Ilhan, N., Ozercan, I. H., Seckin, D. & Sahin, K. 2005. Levels of serum hyaluronic acid, TNF-alpha and IL-8 in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatogastroenterology*, 52, 1549-53.
- Bailey, C. J. 2017. Metformin: historical overview. *Diabetologia*, 60, 1566-1576.
- Banini, B. A. & Sanyal, A. J. 2016. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Epidemiology, Pathogenesis, Natural History, Diagnosis, and Current Treatment Options. *Clin Med Insights Ther*, 8, 75-84.
- Baskol, G., Baskol, M. & Kocer, D. 2007. Oxidative stress and antioxidant defenses in serum of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Biochem*, 40, 776-80.
- Baskol, M., Dolgun Seckin, K. & Baskol, G. 2014. Advanced oxidation protein products, total thiol levels and total oxidant/antioxidant status in patients with nash. *Turk J Gastroenterol*, 25 Suppl 1, 32-7.
- Battaller, R. & Brenner, D. A. 2005. Liver fibrosis. *J Clin Invest*, 115, 209-18.
- Bayly, G. 2002. HDL-cholesterol and cardiac disease: which table to use? *Ann Clin Biochem*, 39, 12-21.
- Beaton, M. D., Chakrabarti, S. & Adams, P. C. 2014. Inflammation is not the cause of an elevated serum ferritin in non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*, 13, 353-6.
- Bedogni, G., Bellentani, S., Miglioli, L., Masutti, F., Passalacqua, M., Castiglione, A. & Tiribelli, C. 2006. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*, 6, 33.
- Bedossa, P. & Consortium, F. P. 2014. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 60, 565-75.
- Bektas, S., Karakaya, K., Can, M., Bahadir, B., Guven, B., Erdogan, N. & Ozdamar, S. O. 2016. The effects of tadalafil and pentoxifylline on apoptosis and nitric oxide synthase in liver ischemia/reperfusion injury. *Kaohsiung J Med Sci*, 32, 339-47.
- Berchtold, P., Bolli, P., Arbenz, U. & Keiser, G. 1969. [Disturbance of intestinal absorption following metformin therapy (observations on the mode of action of biguanides)]. *Diabetologia*, 5, 405-12.
- Berg, S. 1997. Hyaluronan turnover in relation to infection and sepsis. *J Intern Med*, 242, 73-7.
- Bhat, A., Sebastiani, G. & Bhat, M. 2015. Systematic review: Preventive and therapeutic applications of metformin in liver disease. *World J Hepatol*, 7, 1652-9.
- Birerdinc, A., Stepanova, M., Pawloski, L. & Younossi, Z. M. 2012. Caffeine is protective in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 35, 76-82.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L. L., Simonetti, R. G. & Gluud, C. 2012. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*, CD007176.

- Boehm, T., Sagmeister, S., Berger, H., Daryabeigi, A., Haslinger, E., Murkovic, M., Rohr-Udilova, N., Stolze, K., Huber, W. & Grasl-Kraupp, B. 2010. Peroxidized fatty acids may induce a pro-inflammatory response in the liver and may trigger the outbreak of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Journal of Hepatology*, 52, S139.
- Bonkovsky, H. L., Jawaid, Q., Tortorelli, K., Leclair, P., Cobb, J., Lambrecht, R. W. & Banner, B. F. 1999. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 31, 421-9.
- Bosworth, H. B., Granger, B. B., Mendys, P., Brindis, R., Burkholder, R., Czajkowski, S. M., Daniel, J. G., Ekman, I., Ho, M., Johnson, M., Kimmel, S. E., Liu, L. Z., Musaus, J., Shrank, W. H., Whalley Buono, E., Weiss, K. & Granger, C. B. 2011. Medication adherence: a call for action. *Am Heart J*, 162, 412-24.
- Boucquemont, J., Pai, A. L. H., Dharnidharka, V. R., Hebert, D., Furth, S. L. & Foster, B. J. 2019. Gender Differences in Medication Adherence Among Adolescent and Young Adult Kidney Transplant Recipients. *Transplantation*, 103, 798-806.
- Boursier, J., Mueller, O., Barret, M., Machado, M., Fizanne, L., Araujo-Perez, F., Guy, C. D., Seed, P. C., Rawls, J. F., David, L. A., Hunault, G., Oberti, F., Cales, P. & Diehl, A. M. 2016. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology*, 63, 764-75.
- Brandt, A., Hernandez-Arriaga, A., Kehm, R., Sanchez, V., Jin, C. J., Nier, A., Baumann, A., Camarinha-Silva, A. & Bergheim, I. 2019. Metformin attenuates the onset of non-alcoholic fatty liver disease and affects intestinal microbiota and barrier in small intestine. *Sci Rep*, 9, 6668.
- Bravi, F., Bosetti, C., Tavani, A., Gallus, S. & La Vecchia, C. 2013. Coffee reduces risk for hepatocellular carcinoma: an updated meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 11, 1413-1421 e1.
- Bril, F., Biernacki, D. M., Kalavalapalli, S., Lomonaco, R., Subbarayan, S. K., Lai, J., Tio, F., Suman, A., Orsak, B. K., Hecht, J. & Cusi, K. 2019. Role of Vitamin E for Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*, 42, 1481-1488.
- Bril, F., Kalavalapalli, S., Clark, V. C., Lomonaco, R., Soldevila-Pico, C., Liu, I. C., Orsak, B., Tio, F. & Cusi, K. 2018. Response to Pioglitazone in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis With vs Without Type 2 Diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 16, 558-566 e2.
- Bril, F., Sninsky, J. J., Baca, A. M., Superko, H. R., Portillo Sanchez, P., Biernacki, D., Maximos, M., Lomonaco, R., Orsak, B., Suman, A., Weber, M. H., Mcphaul, M. J. & Cusi, K. 2016. Hepatic Steatosis and Insulin Resistance, But Not Steatohepatitis, Promote Atherogenic Dyslipidemia in NAFLD. *J Clin Endocrinol Metab*, 101, 644-52.
- Britton, L. J., Subramaniam, V. N. & Crawford, D. H. 2016. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 22, 8112-22.
- Brown, M. T. & Bussell, J. K. 2011. Medication adherence: WHO cares? *Mayo Clin Proc*, 86, 304-14.

- Brunt, E. M. 2016. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pros and Cons of Histologic Systems of Evaluation. *Int J Mol Sci*, 17.
- Brunt, E. M., Janney, C. G., Di Bisceglie, A. M., Neuschwander-Tetri, B. A. & Bacon, B. R. 1999. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 94, 2467-74.
- Byrne, C. D. & Targher, G. 2015. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*, 62, S47-64.
- Cahill, F., Shahidi, M., Shea, J., Wadden, D., Gulliver, W., Randell, E., Vasdev, S. & Sun, G. 2013. High dietary magnesium intake is associated with low insulin resistance in the Newfoundland population. *PLoS One*, 8, e58278.
- Caiazzo, R., Lassailly, G., Leteurtre, E., Baud, G., Verkindt, H., Raverdy, V., Buob, D., Pigeyre, M., Mathurin, P. & Pattou, F. 2014. Roux-en-Y gastric bypass versus adjustable gastric banding to reduce nonalcoholic fatty liver disease: a 5-year controlled longitudinal study. *Ann Surg*, 260, 893-8; discussion 898-9.
- Campbell, M. S. & Reddy, K. R. 2004. Review article: the evolving role of liver biopsy. *Aliment Pharmacol Ther*, 20, 249-59.
- Camps, J., Marsillach, J. & Joven, J. 2009. Measurement of serum paraoxonase-1 activity in the evaluation of liver function. *World J Gastroenterol*, 15, 1929-33.
- Cantor, S. B. & Kattan, M. W. 2000. Determining the area under the ROC curve for a binary diagnostic test. *Med Decis Making*, 20, 468-70.
- Carulli, L., Canedi, I., Rondinella, S., Lombardini, S., Ganazzi, D., Fargion, S., De Palma, M., Lonardo, A., Ricchi, M., Bertolotti, M., Carulli, N. & Loria, P. 2009. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphism is associated with non-alcoholic steatohepatitis. *Dig Liver Dis*, 41, 823-8.
- Casiglia, E., Spolaore, P., Ginocchio, G. & Ambrosio, G. B. 1993. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. *Eur J Epidemiol*, 9, 293-7.
- Castera, L., Vilgrain, V. & Angulo, P. 2013. Noninvasive evaluation of NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10, 666-75.
- Catalano, D., Martines, G. F., Tonzuso, A., Pirri, C., Trovato, F. M. & Trovato, G. M. 2010. Protective role of coffee in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci*, 55, 3200-6.
- Caussy, C., Hsu, C., Lo, M. T., Liu, A., Bettencourt, R., Ajmera, V. H., Bassirian, S., Hooker, J., Sy, E., Richards, L., Schork, N., Schnabl, B., Brenner, D. A., Sirlin, C. B., Chen, C. H., Loomba, R. & Genetics Of, N. I. T. C. 2018. Link between gut-microbiome derived metabolite and shared gene-effects with hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD. *Hepatology*, 68, 918-932.
- Chalasani, N., Abdelmalek, M. F., Garcia-Tsao, G., Vuppalanchi, R., Alkhoury, N., Rinella, M., Noureddin, M., Pyko, M., Shiffman, M., Sanyal, A., Allgood, A., Shlevin, H., Horton, R., Zomer, E., Irish, W., Goodman, Z., Harrison, S. A., Traber, P. G. & Belaepectin Study, I. 2020. Effects of Belaepectin, an Inhibitor of Galectin-3, in Patients

With Nonalcoholic Steatohepatitis With Cirrhosis and Portal Hypertension. *Gastroenterology*, 158, 1334-1345 e5.

- Chalasani, N., Crabb, D. W., Cummings, O. W., Kwo, P. Y., Asghar, A., Pandya, P. K. & Considine, R. V. 2003. Does leptin play a role in the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis? *Am J Gastroenterol*, 98, 2771-6.
- Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Charlton, M., Cusi, K., Rinella, M., Harrison, S. A., Brunt, E. M. & Sanyal, A. J. 2018. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 67, 328-357.
- Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Charlton, M., Sanyal, A. J., American Association for the Study of Liver, D., American College Of, G. & American Gastroenterological, A. 2012. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol*, 107, 811-26.
- Charlton, M., Sreekumar, R., Rasmussen, D., Lindor, K. & Nair, K. S. 2002. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 35, 898-904.
- Chen, Z., Tian, R., She, Z., Cai, J. & Li, H. 2020. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med*, 152, 116-141.
- Chiang, J. Y. L. & Ferrell, J. M. 2018. Bile Acid Metabolism in Liver Pathobiology. *Gene Expr*, 18, 71-87.
- Chitturi, S., Abeygunasekera, S., Farrell, G. C., Holmes-Walker, J., Hui, J. M., Fung, C., Karim, R., Lin, R., Samarasinghe, D., Liddle, C., Weltman, M. & George, J. 2002a. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*, 35, 373-9.
- Chitturi, S., Farrell, G., Frost, L., Kriketos, A., Lin, R., Fung, C., Liddle, C., Samarasinghe, D. & George, J. 2002b. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology*, 36, 403-9.
- Cirillo, P., Sato, W., Reungjui, S., Heinig, M., Gersch, M., Sautin, Y., Nakagawa, T. & Johnson, R. J. 2006. Uric acid, the metabolic syndrome, and renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 17, S165-8.
- Cobbold, J. F. L., Atkinson, S., Marchesi, J. R., Smith, A., Wai, S. N., Stove, J., Shojaee-Moradie, F., Jackson, N., Umpleby, A. M., Fitzpatrick, J., Thomas, E. L., Bell, J. D., Holmes, E., Taylor-Robinson, S. D., Goldin, R. D., Yee, M. S., Anstee, Q. M. & Thursz, M. R. 2018. Rifaximin in non-alcoholic steatohepatitis: An open-label pilot study. *Hepatol Res*, 48, 69-77.
- Cohen, B., Novick, D. & Rubinstein, M. 1996. Modulation of insulin activities by leptin. *Science*, 274, 1185-8.
- Cope, K., Risby, T. & Diehl, A. M. 2000. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterology*, 119, 1340-7.

- Costa, E., Giardini, A., Savin, M., Menditto, E., Lehane, E., Laosa, O., Pecorelli, S., Monaco, A. & Marengoni, A. 2015. Interventional tools to improve medication adherence: review of literature. *Patient Prefer Adherence*, 9, 1303-14.
- Culafic, M., Vezmar Kovacevic, S., Dopsaj, V., Oluic, B., Bidzic, N., Miljkovic, B. & Culafic, D. 2019a. Pentoxifylline with metformin treatment improves biochemical parameters in patients with nonalcoholic steatohepatitis *J Med Biochem*, 38, 1-9.
- Culafic, M., Vezmar Kovacevic, S., Dopsaj, V., Stulic, M., Vlaisavljevic, Z., Miljkovic, B. & Culafic, D. 2019b. A Simple Index for Nonalcoholic Steatohepatitis-HUFA-Based on Routinely Performed Blood Tests. *Medicina (Kaunas)*, 55.
- Cunha, V., Cotrim, H. P., Rocha, R., Carvalho, K. & Lins-Kusterer, L. 2019. Metformin in the prevention of hepatocellular carcinoma in diabetic patients: A systematic review. *Ann Hepatol*.
- Cusi, K., Chang, Z., Harrison, S., Lomonaco, R., Bril, F., Orsak, B., Ortiz-Lopez, C., Hecht, J., Feldstein, A. E., Webb, A., Louden, C., Goros, M. & Tio, F. 2014. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 60, 167-74.
- Danan, G. & Benichou, C. 1993. Causality assessment of adverse reactions to drugs--I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol*, 46, 1323-30.
- Dash, A., Figler, R. A., Sanyal, A. J. & Wamhoff, B. R. 2017. Drug-induced steatohepatitis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 13, 193-204.
- Dimatteo, M. R., Lepper, H. S. & Croghan, T. W. 2000. Depression is a risk factor for noncompliance with medical treatment: meta-analysis of the effects of anxiety and depression on patient adherence. *Arch Intern Med*, 160, 2101-7.
- Dixon, J. B., Dixon, A. F. & O'brien, P. E. 2003. Improvements in insulin sensitivity and beta-cell function (HOMA) with weight loss in the severely obese. Homeostatic model assessment. *Diabet Med*, 20, 127-34.
- Domenici, F. A., Brochado, M. J., Martinelli Ade, L., Zucoloto, S., Da Cunha, S. F. & Vannucchi, H. 2013. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma2 polymorphisms in nonalcoholic fatty liver disease: a study in Brazilian patients. *Gene*, 529, 326-31.
- Dongiovanni, P., Fracanzani, A. L., Fargion, S. & Valenti, L. 2011. Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: a promising therapeutic target. *J Hepatol*, 55, 920-32.
- Dongiovanni, P. & Valenti, L. 2016. Genetics of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 65, 1026-37.
- Donnelly, K. L., Smith, C. I., Schwarzenberg, S. J., Jessurun, J., Boldt, M. D. & Parks, E. J. 2005. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*, 115, 1343-51.
- Doumas, M., Imprialos, K., Dimakopoulou, A., Stavropoulos, K., Binas, A. & Athyros, V. G. 2018. The Role of Statins in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Pharm Des*, 24, 4587-4592.

- Drew, L. 2017. Development pipeline review 2018. *Nature*, 551, S86-89.
- Drinda, S., Grundler, F., Neumann, T., Lehmann, T., Steckhan, N., Michalsen, A. & Wilhelmi De Toledo, F. 2019. Effects of Periodic Fasting on Fatty Liver Index-A Prospective Observational Study. *Nutrients*, 11.
- Du, J., Ma, Y. Y., Yu, C. H. & Li, Y. M. 2014. Effects of pentoxifylline on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*, 20, 569-77.
- Dulai, P. S., Singh, S., Patel, J., Soni, M., Prokop, L. J., Younossi, Z., Sebastiani, G., Ekstedt, M., Hagstrom, H., Nasr, P., Stal, P., Wong, V. W., Kechagias, S., Hultcrantz, R. & Loomba, R. 2017. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*, 65, 1557-1565.
- Eindhoven, D. C., Hilt, A. D., Zwaan, T. C., Schalijs, M. J. & Borleffs, C. J. W. 2018. Age and gender differences in medical adherence after myocardial infarction: Women do not receive optimal treatment - The Netherlands claims database. *Eur J Prev Cardiol*, 25, 181-189.
- El-Agroudy, N. N., Kurzbach, A., Rodionov, R. N., O'sullivan, J., Roden, M., Birkenfeld, A. L. & Pesta, D. H. 2019. Are Lifestyle Therapies Effective for NAFLD Treatment? *Trends Endocrinol Metab*, 30, 701-709.
- Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82, 70-7.
- Entzian, P., Bitter-Suermann, S., Burdon, D., Ernst, M., Schlaak, M. & Zabel, P. 1998. Differences in the anti-inflammatory effects of theophylline and pentoxifylline: important for the development of asthma therapy? *Allergy*, 53, 749-54.
- Erhardt, A., Stahl, W., Sies, H., Lirussi, F., Donner, A. & Haussinger, D. 2011. Plasma levels of vitamin E and carotenoids are decreased in patients with Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Eur J Med Res*, 16, 76-8.
- Eshraghian, A., Nikeghbalian, S., Geramizadeh, B. & Malek-Hosseini, S. A. 2018. Serum magnesium concentration is independently associated with non-alcoholic fatty liver and non-alcoholic steatohepatitis. *United European Gastroenterol J*, 6, 97-103.
- Eslam, M., Alvani, R. & Shiha, G. 2019. Obeticholic acid: towards first approval for NASH. *Lancet*, 394, 2131-2133.
- Eslam, M., Valenti, L. & Romeo, S. 2018. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol*, 68, 268-279.
- European Association for the Study of the Liver, European Association for the Study of Diabetes & Obesity, E. a. F. T. S. O. 2016. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 64, 1388-402.
- Facchini, F. S., Hua, N. W. & Stoohs, R. A. 2002. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 122, 931-9.
- Feldstein, A. E., Charatcharoenwitthaya, P., Treeprasertsuk, S., Benson, J. T., Enders, F. B. & Angulo, P. 2009. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut*, 58, 1538-44.

- Fernandez Rodriguez, C. M., Aller, R., Gutierrez Garcia, M. L., Ampuero, J., Gomez-Camarero, J., Martin-Mateos, R. M. F., Burgos-Santamaria, D., Rosales, J. M., Aspichueta, P., Buque, X., Latorre, M., Andrade, R. J., Hernandez-Guerra, M. & Romero-Gomez, M. 2019. Higher levels of serum uric acid influences hepatic damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Rev Esp Enferm Dig*, 111, 264-269.
- Fiorentino, L., Vivanti, A., Cavalera, M., Marzano, V., Ronci, M., Fabrizi, M., Menini, S., Pugliese, G., Menghini, R., Khokha, R., Lauro, R., Urbani, A. & Federici, M. 2010. Increased tumor necrosis factor alpha-converting enzyme activity induces insulin resistance and hepatosteatosis in mice. *Hepatology*, 51, 103-10.
- Force, I. D. F. C. G. T. 2012. Global guideline for type 2 diabetes.
- Foretz, M., Guigas, B., Bertrand, L., Pollak, M. & Viollet, B. 2014. Metformin: from mechanisms of action to therapies. *Cell Metab*, 20, 953-66.
- Forouzanmehr, F., Salazar, G., Patrushev, N., Xiong, S., Hilenski, L., Fei, B. & Alexander, R. W. 2014. Metformin beyond diabetes: pleiotropic benefits of metformin in attenuation of atherosclerosis. *J Am Heart Assoc*, 3, e001202.
- Fracanzani, A. L., Valenti, L., Bugianesi, E., Andreoletti, M., Colli, A., Vanni, E., Bertelli, C., Fatta, E., Bignamini, D., Marchesini, G. & Fargion, S. 2008. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*, 48, 792-8.
- Fraser, J. R., Laurent, T. C. & Laurent, U. B. 1997. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med*, 242, 27-33.
- Fujita, N. & Takei, Y. 2011. Iron overload in nonalcoholic steatohepatitis. *Adv Clin Chem*, 55, 105-32.
- Gadzick, J. 2006. "How much should I weigh?"--Quetelet's equation, upper weight limits, and BMI prime. *Conn Med*, 70, 81-8.
- Gagliardi, A. C., Miname, M. H. & Santos, R. D. 2009. Uric acid: A marker of increased cardiovascular risk. *Atherosclerosis*, 202, 11-7.
- Garcia, D. & Shaw, R. J. 2017. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Mol Cell*, 66, 789-800.
- Garcia, G., Trejos, J., Restrepo, B. & Landazuri, P. 2007. Homocysteine, folate and vitamin B12 in Colombian patients with coronary disease. *Arq Bras Cardiol*, 89, 71-6, 79-85.
- Gastaldelli, A., Harrison, S., Belfort-Aguiar, R., Hardies, J., Balas, B., Schenker, S. & Cusi, K. 2010. Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin. *Aliment Pharmacol Ther*, 32, 769-75.
- Gatt, I., West, L. M., Calleja, N., Briffa, C. & Cordina, M. 2017. Psychometric properties of the Belief about Medicines Questionnaire (BMQ) in the Maltese language. *Pharm Pract (Granada)*, 15, 886.
- Gawrieh, S. & Chalasani, N. 2018. Emerging Treatments for Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis*, 22, 189-199.

- Gay, C. A. & Gebicki, J. M. 2003. Measurement of protein and lipid hydroperoxides in biological systems by the ferric-xylenol orange method. *Anal Biochem*, 315, 29-35.
- Genoves, P., Garcia, D., Cejalvo, D., Martin, A., Zaragoza, C., Toledo, A. H., Toledo-Pereyra, L. H. & Lloris-Carsi, J. M. 2014. Pentoxifylline in liver ischemia and reperfusion. *J Invest Surg*, 27, 114-24.
- Germani, G., Laryea, M., Rubbia-Brandt, L., Egawa, H., Burra, P., O'grady, J. & Watt, K. D. 2019. Management of Recurrent and De Novo NAFLD/NASH After Liver Transplantation. *Transplantation*, 103, 57-67.
- Gressner, O. A. 2010. In the search of the magic bullet. *Gastroenterology*, 139, 1453-7.
- Gudowska, M., Gruszewska, E., Panasiuk, A., Cylwik, B., Flisiak, R., Swiderska, M., Szmitkowski, M. & Chrostek, L. 2016. Hyaluronic acid concentration in liver diseases. *Clin Exp Med*, 16, 523-528.
- Gutierrez-Grobe, Y., Chavez-Tapia, N., Sanchez-Valle, V., Gavilanes-Espinar, J. G., Ponciano-Rodriguez, G., Uribe, M. & Mendez-Sanchez, N. 2012. High coffee intake is associated with lower grade nonalcoholic fatty liver disease: the role of peripheral antioxidant activity. *Ann Hepatol*, 11, 350-5.
- Guyatt, G. H., Akl, E. A., Crowther, M., Schunemann, H. J., Gutterman, D. D. & Lewis, S. Z. 2012. Introduction to the ninth edition: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*, 141, 48S-52S.
- Guzman, G., Brunt, E. M., Petrovic, L. M., Chejfec, G., Layden, T. J. & Cotler, S. J. 2008. Does nonalcoholic fatty liver disease predispose patients to hepatocellular carcinoma in the absence of cirrhosis? *Arch Pathol Lab Med*, 132, 1761-6.
- Hadinia, A., Doustimotlagh, A. H., Goodarzi, H. R., Arya, A. & Jafarinia, M. 2019. Circulating Levels of Pro-inflammatory Cytokines in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Iran J Immunol*, 16, 327-333.
- Hagstrom, H., Nasr, P., Ekstedt, M., Hammar, U., Stal, P., Hultcrantz, R. & Kechagias, S. 2018. Risk for development of severe liver disease in lean patients with nonalcoholic fatty liver disease: A long-term follow-up study. *Hepatol Commun*, 2, 48-57.
- Haldar, D., Kern, B., Hodson, J., Armstrong, M. J., Adam, R., Berlakovich, G., Fritz, J., Feurstein, B., Popp, W., Karam, V., Muiesan, P., O'grady, J., Jamieson, N., Wigmore, S. J., Pirenne, J., Malek-Hosseini, S. A., Hidalgo, E., Tokat, Y., Paul, A., Pratschke, J., Bartels, M., Trunecka, P., Settmacher, U., Pinzani, M., Duvoux, C., Newsome, P. N., Schneeberger, S., European, L. & Intestine Transplant, A. 2019. Outcomes of liver transplantation for non-alcoholic steatohepatitis: A European Liver Transplant Registry study. *J Hepatol*, 71, 313-322.
- Hamaguchi, M., Kojima, T., Takeda, N., Nakagawa, T., Taniguchi, H., Fujii, K., Omatsu, T., Nakajima, T., Sarui, H., Shimazaki, M., Kato, T., Okuda, J. & Ida, K. 2005. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*, 143, 722-8.

- Hariri, M. & Zohdi, S. 2019. Effect of Vitamin D on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review of Randomized Controlled Clinical Trials. *Int J Prev Med*, 10, 14.
- Harrison, S. A., Bashir, M. R., Guy, C. D., Zhou, R., Moylan, C. A., Frias, J. P., Alkhoury, N., Bansal, M. B., Baum, S., Neuschwander-Tetri, B. A., Taub, R. & Moussa, S. E. 2019. Resmetirom (MGL-3196) for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*, 394, 2012-2024.
- Harrison, S. A., Goodman, Z., Jabbar, A., Vemulapalli, R., Younes, Z. H., Freilich, B., Sheikh, M. Y., Schattenberg, J. M., Kayali, Z., Zivony, A., Sheikh, A., Garcia-Samaniego, J., Satapathy, S. K., Therapondos, G., Mena, E., Schuppan, D., Robinson, J., Chan, J. L., Hagerty, D. T. & Sanyal, A. J. 2020a. A randomized, placebo-controlled trial of emricasan in patients with NASH and F1-F3 fibrosis. *J Hepatol*, 72, 816-827.
- Harrison, S. A., Torgerson, S., Hayashi, P., Ward, J. & Schenker, S. 2003. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 98, 2485-90.
- Harrison, S. A., Wai-Sun Wong, V., Okanou, T., Bzowej, N., Vuppalanchi, R., Younes, Z., Kohli, A., Sarin, S., Caldwell, S. H., Alkhoury, N., Shiffman, M. L., Camargo, M., Li, G., Kersey, K., Jia, C., Zhu, Y., Djedjos, C. S., Subramanian, G. M., Myers, R. P., Gunn, N., Sheikh, A., Anstee, Q. M., Romero-Gomez, M., Trauner, M., Goodman, Z., Lawitz, E. J., Younossi, Z., Stellar & Investigators, S.-. 2020b. Selonsertib for Patients with Bridging Fibrosis or Compensated Cirrhosis Due to NASH: Results from Randomized Ph III STELLAR Trials. *J Hepatol*.
- Hassan, N. F., Nada, S. A., Hassan, A., El-Ansary, M. R., Al-Shorbagy, M. Y. & Abdelsalam, R. M. 2019. Saroglitazar Deactivates the Hepatic LPS/TLR4 Signaling Pathway and Ameliorates Adipocyte Dysfunction in Rats with High-Fat Emulsion/LPS Model-Induced Non-alcoholic Steatohepatitis. *Inflammation*, 42, 1056-1070.
- Hattori, Y., Hattori, K. & Hayashi, T. 2015. Pleiotropic benefits of metformin: macrophage targeting its anti-inflammatory mechanisms. *Diabetes*, 64, 1907-9.
- Haukeland, J. W., Konopski, Z., Eggesbo, H. B., Von Volkmann, H. L., Raschpichler, G., Bjoro, K., Haaland, T., Loberg, E. M. & Birkeland, K. 2009. Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol*, 44, 853-60.
- Haynes, R. B. 1979. Determinants of compliance: The disease and the mechanics of treatment. *Baltimore, Johns Hopkins University Press*.
- Hayward, K. L., Valery, P. C., Cottrell, W. N., Irvine, K. M., Horsfall, L. U., Tallis, C. J., Chachay, V. S., Ruffin, B. J., Martin, J. H. & Powell, E. E. 2016. Prevalence of medication discrepancies in patients with cirrhosis: a pilot study. *BMC Gastroenterol*, 16, 114.
- Hazlehurst, J. M. & Tomlinson, J. W. 2013. Non-alcoholic fatty liver disease in common endocrine disorders. *Eur J Endocrinol*, 169, R27-37.

- Hoofnagle, J. H., Van Natta, M. L., Kleiner, D. E., Clark, J. M., Kowdley, K. V., Loomba, R., Neuschwander-Tetri, B. A., Sanyal, A. J., Tonascia, J. & Non-Alcoholic Steatohepatitis Clinical Research, N. 2013. Vitamin E and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 38, 134-43.
- Horne, R., Chapman, S. C., Parham, R., Freemantle, N., Forbes, A. & Cooper, V. 2013. Understanding patients' adherence-related beliefs about medicines prescribed for long-term conditions: a meta-analytic review of the Necessity-Concerns Framework. *PLoS One*, 8, e80633.
- Horne, R., Cooper, V., Wileman, V. & Chan, A. K. C. 2019. Supporting adherence to medicines for long-term conditions: A perceptions and practicalities approach based on an extended common-sense model. *European Psychologist*, 24, 82-96.
- Horne, R. & Weinman, J. 1999. Patients' beliefs about prescribed medicines and their role in adherence to treatment in chronic physical illness. *J Psychosom Res*, 47, 555-67.
- Hu, Y., Liu, J., Dong, X., Xu, Y., Leng, S. & Wang, G. 2016. Clinical Study of Serum Homocysteine and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Euglycemic Patients. *Med Sci Monit*, 22, 4146-4151.
- Hu, Y. B., Liu, X. Y. & Zhan, W. 2018. Farnesoid X receptor agonist INT-767 attenuates liver steatosis and inflammation in rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Des Devel Ther*, 12, 2213-2221.
- Huypens, P., Quartier, E., Pipeleers, D. & Van De Casteele, M. 2005. Metformin reduces adiponectin protein expression and release in 3T3-L1 adipocytes involving activation of AMP activated protein kinase. *Eur J Pharmacol*, 518, 90-5.
- Idilman, R., Mizrak, D., Corapcioglu, D., Bektas, M., Doganay, B., Sayki, M., Coban, S., Erden, E., Soykan, I., Emral, R., Uysal, A. R. & Ozden, A. 2008. Clinical trial: insulin-sensitizing agents may reduce consequences of insulin resistance in individuals with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 28, 200-8.
- Ilic, V., Bogicevic, D., Miljkovic, B. & Vezmar-Kovacevic, S. 2018. Association between Adverse Effects and Parental Beliefs about Antiepileptic Medicines. *Medicina (Kaunas)*, 54.
- Inoue, M., Yoshimi, I., Sobue, T., Tsugane, S. & Group, J. S. 2005. Influence of coffee drinking on subsequent risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study in Japan. *J Natl Cancer Inst*, 97, 293-300.
- Inzucchi, S. E., Lipska, K. J., Mayo, H., Bailey, C. J. & McGuire, D. K. 2014. Metformin in patients with type 2 diabetes and kidney disease: a systematic review. *JAMA*, 312, 2668-75.
- Ipsen, D. H., Rolin, B., Rakipovski, G., Skovsted, G. F., Madsen, A., Kolstrup, S., Schou-Pedersen, A. M., Skat-Rordam, J., Lykkesfeldt, J. & Tveden-Nyborg, P. 2018. Liraglutide Decreases Hepatic Inflammation and Injury in Advanced Lean Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 123, 704-713.

- Ismail, A., Colosi, H. A., Rusu, F. & Dumitrascu, D. L. 2019. Cardiac Arrhythmias and Electrocardiogram Modifications in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. A Systematic Review. *J Gastrointest Liver Dis*, 28, 483-493.
- Ismail, A. & Dumitrascu, D. L. 2019. Cardiovascular Risk in Fatty Liver Disease: The Liver-Heart Axis-Literature Review. *Front Med (Lausanne)*, 6, 202.
- Jiang, Z. G., Robson, S. C. & Yao, Z. 2013. Lipoprotein metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *J Biomed Res*, 27, 1-13.
- Kanbay, M., Jensen, T., Solak, Y., Le, M., Roncal-Jimenez, C., Rivard, C., Lanaspa, M. A., Nakagawa, T. & Johnson, R. J. 2016. Uric acid in metabolic syndrome: From an innocent bystander to a central player. *Eur J Intern Med*, 29, 3-8.
- Kelley, D. E., Mckolanis, T. M., Hegazi, R. A., Kuller, L. H. & Kalhan, S. C. 2003. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285, E906-16.
- Kenny, P. R., Brady, D. E., Torres, D. M., Ragozzino, L., Chalasani, N. & Harrison, S. A. 2010. Exenatide in the treatment of diabetic patients with non-alcoholic steatohepatitis: a case series. *Am J Gastroenterol*, 105, 2707-9.
- Kessoku, T., Yoneda, M., Sumida, Y., Eguchi, Y., Fujii, H., Hyogo, H., Ono, M., Kawaguchi, T., Nakajima, A. & Japan Study Group Of, N. 2015. Insulin resistance correlated with the severity of liver histology in Japanese NAFLD patients: a multicenter retrospective study. *J Clin Gastroenterol*, 49, 169-70.
- Kim, D. & Kim, W. R. 2017. Nonobese Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 15, 474-485.
- Kim, D. J., Yoon, S., Ji, S. C., Yang, J., Kim, Y. K., Lee, S., Yu, K. S., Jang, I. J., Chung, J. Y. & Cho, J. Y. 2018. Ursodeoxycholic acid improves liver function via phenylalanine/tyrosine pathway and microbiome remodelling in patients with liver dysfunction. *Sci Rep*, 8, 11874.
- Kim, N. H., Park, J., Kim, S. H., Kim, Y. H., Kim, D. H., Cho, G. Y., Baik, I., Lim, H. E., Kim, E. J., Na, J. O., Lee, J. B., Lee, S. K. & Shin, C. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and subclinical cardiovascular changes in the general population. *Heart*, 100, 938-43.
- Kim, S. J., Kim, J. W., Kim, Y. H., Lee, S. H., Yoon, H. K., Kim, C. H., Ahn, J. H., Lee, J. M., Kim, J. S., Kim, S. C., Lee, S. Y., Kwon, S. S. & Kim, Y. K. 2009. Effects of tranilast and pentoxifylline in a mouse model of chronic asthma using house dust mite antigen. *J Asthma*, 46, 884-94.
- Kirsch, R., Clarkson, V., Verdonk, R. C., Marais, A. D., Shephard, E. G., Ryffel, B. & De La, M. H. P. 2006. Rodent nutritional model of steatohepatitis: effects of endotoxin (lipopolysaccharide) and tumor necrosis factor alpha deficiency. *J Gastroenterol Hepatol*, 21, 174-82.
- Klatsky, A. L. & Armstrong, M. A. 1992. Alcohol, smoking, coffee, and cirrhosis. *Am J Epidemiol*, 136, 1248-57.

- Klein, E. A., Thompson, I. M., Jr., Tangen, C. M., Crowley, J. J., Lucia, M. S., Goodman, P. J., Minasian, L. M., Ford, L. G., Parnes, H. L., Gaziano, J. M., Karp, D. D., Lieber, M. M., Walther, P. J., Klotz, L., Parsons, J. K., Chin, J. L., Darke, A. K., Lippman, S. M., Goodman, G. E., Meyskens, F. L., Jr. & Baker, L. H. 2011. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*, 306, 1549-56.
- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y. C., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., Mccullough, A. J., Sanyal, A. J. & Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research, N. 2005. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41, 1313-21.
- Kleiner, D. E., Chalasani, N. P., Lee, W. M., Fontana, R. J., Bonkovsky, H. L., Watkins, P. B., Hayashi, P. H., Davern, T. J., Navarro, V., Reddy, R., Talwalkar, J. A., Stolz, A., Gu, J., Barnhart, H., Hoofnagle, J. H. & Drug-Induced Liver Injury, N. 2014. Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury: systematic evaluation and clinical associations. *Hepatology*, 59, 661-70.
- Knobel, H., Alonso, J., Casado, J. L., Collazos, J., Gonzalez, J., Ruiz, I., Kindelan, J. M., Carmona, A., Juega, J., Ocampo, A. & Group, G. S. 2002. Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEEMA Study. *AIDS*, 16, 605-13.
- Kohjima, M., Higuchi, N., Kato, M., Kotoh, K., Yoshimoto, T., Fujino, T., Yada, M., Yada, R., Harada, N., Enjoji, M., Takayanagi, R. & Nakamuta, M. 2008. SREBP-1c, regulated by the insulin and AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*, 21, 507-11.
- Koschack, J., Marx, G., Schnakenberg, J., Kochen, M. M. & Himmel, W. 2010. Comparison of two self-rating instruments for medication adherence assessment in hypertension revealed insufficient psychometric properties. *J Clin Epidemiol*, 63, 299-306.
- Kotronen, A., Peltonen, M., Hakkarainen, A., Sevastianova, K., Bergholm, R., Johansson, L. M., Lundbom, N., Rissanen, A., Ridderstrale, M., Groop, L., Orho-Melander, M. & Yki-Jarvinen, H. 2009. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology*, 137, 865-72.
- Krakoff, J., Clark, J. M., Crandall, J. P., Wilson, C., Molitch, M. E., Brancati, F. L., Edelstein, S. L., Knowler, W. C. & Diabetes Prevention Program Research, G. 2010. Effects of metformin and weight loss on serum alanine aminotransferase activity in the diabetes prevention program. *Obesity (Silver Spring)*, 18, 1762-7.
- Kral, J. G., Lundholm, K., Bjorntorp, P., Sjostrom, L. & Schersten, T. 1977. Hepatic lipid metabolism in severe human obesity. *Metabolism*, 26, 1025-31.
- Kuhn, C. & Weiner, H. L. 2016. Therapeutic anti-CD3 monoclonal antibodies: from bench to bedside. *Immunotherapy*, 8, 889-906.
- Kurdi, P., Kawanishi, K., Mizutani, K. & Yokota, A. 2006. Mechanism of growth inhibition by free bile acids in lactobacilli and bifidobacteria. *J Bacteriol*, 188, 1979-86.

- Kurozawa, Y., Ogimoto, I., Shibata, A., Nose, T., Yoshimura, T., Suzuki, H., Sakata, R., Fujita, Y., Ichikawa, S., Iwai, N., Tamakoshi, A. & Group, J. S. 2005. Coffee and risk of death from hepatocellular carcinoma in a large cohort study in Japan. *Br J Cancer*, 93, 607-10.
- Larson, S. P., Bowers, S. P., Palekar, N. A., Ward, J. A., Pulcini, J. P. & Harrison, S. A. 2007. Histopathologic variability between the right and left lobes of the liver in morbidly obese patients undergoing Roux-en-Y bypass. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5, 1329-32.
- Lassailly, G., Caiazzo, R., Buob, D., Pigeyre, M., Verkindt, H., Labreuche, J., Raverdy, V., Leteurtre, E., Dharancy, S., Louvet, A., Romon, M., Duhamel, A., Pattou, F. & Mathurin, P. 2015. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology*, 149, 379-88; quiz e15-6.
- Lazarus, J. V., Ekstedt, M., Marchesini, G., Mullen, J., Novak, K., Pericas, J. M., Roel, E., Romero-Gomez, M., Ratziu, V., Tacke, F., Cortez-Pinto, H., Anstee, Q. M. & Collaborators, E. I. L. F. N. P. R. 2020. A cross-sectional study of the public health response to non-alcoholic fatty liver disease in Europe. *J Hepatol*, 72, 14-24.
- Lazo, M., Hernaez, R., Eberhardt, M. S., Bonekamp, S., Kamel, I., Guallar, E., Koteish, A., Brancati, F. L. & Clark, J. M. 2013. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*, 178, 38-45.
- Lebel, L., Gabrielsson, J., Laurent, T. C. & Gerdin, B. 1994. Kinetics of circulating hyaluronan in humans. 4. *Eur J Clin Invest*, 24, 621-6.
- Lebensztejn, D. M., Kowalczyk, D., Tarasow, E., Skiba, E. & Kaczmarek, M. 2010. Tumor necrosis factor alpha and its soluble receptors in obese children with NAFLD. *Adv Med Sci*, 55, 74-9.
- Lee, J. H., Kim, D., Kim, H. J., Lee, C. H., Yang, J. I., Kim, W., Kim, Y. J., Yoon, J. H., Cho, S. H., Sung, M. W. & Lee, H. S. 2010a. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*, 42, 503-8.
- Lee, J. Y., Kim, K. M., Lee, S. G., Yu, E., Lim, Y. S., Lee, H. C., Chung, Y. H., Lee, Y. S. & Suh, D. J. 2007. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in potential living liver donors in Korea: a review of 589 consecutive liver biopsies in a single center. *J Hepatol*, 47, 239-44.
- Lee, Y. J., Lee, H. R., Shim, J. Y., Moon, B. S., Lee, J. H. & Kim, J. K. 2010b. Relationship between white blood cell count and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*, 42, 888-94.
- Lexicomp, O. 2020. Lexi-Drugs Online. 2020 ed. Hudson, Ohio: Wolters Kluwer Clinical Drug Information.
- Li, Q., Dhyani, M., Grajo, J. R., Sirlin, C. & Samir, A. E. 2018. Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 10, 530-542.
- Li, Y., Liu, L., Wang, B., Wang, J. & Chen, D. 2013. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep*, 1, 57-64.

- Lin, Y. C., Chang, P. F., Chang, M. H. & Ni, Y. H. 2013. A common variant in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease in obese children. *Am J Clin Nutr*, 97, 326-31.
- Lipska, K. J., Bailey, C. J. & Inzucchi, S. E. 2011. Use of metformin in the setting of mild-to-moderate renal insufficiency. *Diabetes Care*, 34, 1431-7.
- Liu, C. Q., He, C. M., Chen, N., Wang, D., Shi, X., Liu, Y., Zeng, X., Yan, B., Liu, S., Yang, S., Li, X., Li, X. & Li, Z. 2016. Serum uric acid is independently and linearly associated with risk of nonalcoholic fatty liver disease in obese Chinese adults. *Sci Rep*, 6, 38605.
- Liu, Y., Tian, T., Zhang, H., Gao, L. & Zhou, X. 2014. The effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on flow-mediated vasodilation in patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*, 235, 31-5.
- Lombardi, R., Onali, S., Thorburn, D., Davidson, B. R., Gurusamy, K. S. & Tsochatzis, E. 2017. Pharmacological interventions for non-alcohol related fatty liver disease (NAFLD): an attempted network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*, 3, CD011640.
- Lombardi, R., Pisano, G. & Fargion, S. 2016. Role of Serum Uric Acid and Ferritin in the Development and Progression of NAFLD. *Int J Mol Sci*, 17, 548.
- Lonardo, A., Bellini, M., Tondelli, E., Frazzoni, M., Grisendi, A., Pulvirenti, M. & Della Casa, G. 1995. Nonalcoholic steatohepatitis and the "bright liver syndrome": should a recently expanded clinical entity be further expanded? *Am J Gastroenterol*, 90, 2072-4.
- Loomba, R., Sirlin, C. B., Ang, B., Bettencourt, R., Jain, R., Salotti, J., Soaft, L., Hooker, J., Kono, Y., Bhatt, A., Hernandez, L., Nguyen, P., Nouredin, M., Haufe, W., Hooker, C., Yin, M., Ehman, R., Lin, G. Y., Valasek, M. A., Brenner, D. A., Richards, L. & San Diego Integrated, N. R. C. 2015. Ezetimibe for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: assessment by novel magnetic resonance imaging and magnetic resonance elastography in a randomized trial (MOZART trial). *Hepatology*, 61, 1239-50.
- Lorbek, G., Urlep, Z. & Rozman, D. 2016. Pharmacogenomic and personalized approaches to tackle nonalcoholic fatty liver disease. *Pharmacogenomics*, 17, 1273-1288.
- Lord, G. M., Matarese, G., Howard, J. K., Baker, R. J., Bloom, S. R. & Lechler, R. I. 1998. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, 394, 897-901.
- Ludwig, J., Viggiano, T. R., McGill, D. B. & Oh, B. J. 1980. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 55, 434-8.
- Ma, X., Hua, J., Mohamood, A. R., Hamad, A. R., Ravi, R. & Li, Z. 2007. A high-fat diet and regulatory T cells influence susceptibility to endotoxin-induced liver injury. *Hepatology*, 46, 1519-29.

- Ma, Y., Peng, D., Liu, C., Huang, C. & Luo, J. 2017. Serum high concentrations of homocysteine and low levels of folic acid and vitamin B12 are significantly correlated with the categories of coronary artery diseases. *BMC Cardiovasc Disord*, 17, 37.
- Machado, M. V., Michelotti, G. A., Pereira Tde, A., Boursier, J., Kruger, L., Swiderska-Syn, M., Karaca, G., Xie, G., Guy, C. D., Bohinc, B., Lindblom, K. R., Johnson, E., Kornbluth, S. & Diehl, A. M. 2015. Reduced lipoapoptosis, hedgehog pathway activation and fibrosis in caspase-2 deficient mice with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*, 64, 1148-57.
- Mahady, S. E., Webster, A. C., Walker, S., Sanyal, A. & George, J. 2011. The role of thiazolidinediones in non-alcoholic steatohepatitis - a systematic review and meta analysis. *J Hepatol*, 55, 1383-90.
- Mahamid, M., Mahroum, N., Bragazzi, N. L., Shalaata, K., Yavne, Y., Adawi, M., Amital, H. & Watad, A. 2018. Folate and B12 Levels Correlate with Histological Severity in NASH Patients. *Nutrients*, 10.
- Makowski, M. S. 2013. *Advances in Clinical Chemistry*, Elsevier Inc.
- Malik, R., Chang, M., Bhaskar, K., Nasser, I., Curry, M., Schuppan, D., Byrnes, V. & Afdhal, N. 2009. The clinical utility of biomarkers and the nonalcoholic steatohepatitis CRN liver biopsy scoring system in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 24, 564-8.
- Manning, P. J., Sutherland, W. H., Walker, R. J., Williams, S. M., De Jong, S. A., Ryalls, A. R. & Berry, E. A. 2004. Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care*, 27, 2166-71.
- Mapalla, H. 2019. IDDF2019-ABS-0251 The efficacy of ursodeoxycholic acid in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: A 15-year systematic review. *Clinical Hepatology*, 68.
- Marcos, A., Fisher, R. A., Ham, J. M., Olzinski, A. T., Shiffman, M. L., Sanyal, A. J., Luketic, V. A., Sterling, R. K., Olbrisch, M. E. & Posner, M. P. 2000. Selection and outcome of living donors for adult to adult right lobe transplantation. *Transplantation*, 69, 2410-5.
- Marra, F. & Svegliati-Baroni, G. 2018. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis. *J Hepatol*, 68, 280-295.
- Maruyama, H., Kobayashi, K., Kiyono, S., Chiba, T., Kato, N., Ohtsuka, M., Ito, K., Yamaguchi, T. & Shiina, S. 2020. Free fatty acid-based low-impedance liver image: a characteristic appearance in nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Eur Radiol Exp*, 4, 3.
- Mathurin, P., Hollebecque, A., Arnalsteen, L., Buob, D., Leteurtre, E., Caiazzo, R., Pigeyre, M., Verkindt, H., Dharancy, S., Louvet, A., Romon, M. & Pattou, F. 2009. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology*, 137, 532-40.

- Matteoni, C. A., Younossi, Z. M., Gramlich, T., Boparai, N., Liu, Y. C. & McCullough, A. J. 1999. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*, 116, 1413-9.
- Mazza, A., Fruci, B., Garinis, G. A., Giuliano, S., Malaguarnera, R. & Belfiore, A. 2012. The role of metformin in the management of NAFLD. *Exp Diabetes Res*, 2012, 716404.
- McGovern, T., McDevitt, E. & Wright, I. 1935. Theobromine sodium salicylate as a vasodilator. *J Clin Invest* 15, 11-16.
- McPherson, S., Hardy, T., Henderson, E., Burt, A. D., Day, C. P. & Anstee, Q. M. 2015. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*, 62, 1148-55.
- McPherson, S., Wilkinson, N., Tiniakos, D., Wilkinson, J., Burt, A. D., McColl, E., Stocken, D. D., Steen, N., Barnes, J., Goudie, N., Stewart, S., Bury, Y., Mann, D., Anstee, Q. M. & Day, C. P. 2017. A randomised controlled trial of losartan as an anti-fibrotic agent in non-alcoholic steatohepatitis. *PLoS One*, 12, e0175717.
- Mendler, M. H., Turlin, B., Moirand, R., Jouanolle, A. M., Sapey, T., Guyader, D., Le Gall, J. Y., Brissot, P., David, V. & Deugnier, Y. 1999. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology*, 117, 1155-63.
- Meneses, M. J., Silvestre, R., Sousa-Lima, I. & Macedo, M. P. 2019. Paraoxonase-1 as a Regulator of Glucose and Lipid Homeostasis: Impact on the Onset and Progression of Metabolic Disorders. *Int J Mol Sci*, 20.
- Miele, L., Liguori, A., Marrone, G., Biolato, M., Araneo, C., Vaccaro, F. G., Gasbarrini, A. & Grieco, A. 2017. Fatty liver and drugs: the two sides of the same coin. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 21, 86-94.
- Milaciu, M. V., Ciumărnean, L., Sâmpolean, D. P., Bocșan, I. C., Popa, D. E., Pașca, S. & Acalovschi, M. 2017. Paraoxonase 1 activities and gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis—preliminary results of a pilot study. *Human and Veterinary Medicine*, 9, 157-160.
- Milaciu, M. V., Vesa, S. C., Bocsan, I. C., Ciumarnean, L., Sampelean, D., Negrean, V., Pop, R. M., Matei, D. M., Pasca, S., Rachisan, A. L., Buzoianu, A. D. & Acalovschi, M. 2019. Paraoxonase-1 Serum Concentration and PON1 Gene Polymorphisms: Relationship with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Med*, 8.
- Ministarstvo Zdravlja Republike Srbije 2012. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje diabetes mellitusa.
- Modi, A. A., Feld, J. J., Park, Y., Kleiner, D. E., Everhart, J. E., Liang, T. J. & Hoofnagle, J. H. 2010. Increased caffeine consumption is associated with reduced hepatic fibrosis. *Hepatology*, 51, 201-9.
- Mohammadi, Z., Poustchi, H., Motamed-Gorji, N., Eghtesad, S., Hekmatdoost, A., Saniee, P. & Merat, S. 2020. Fecal Microbiota in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review. *Arch Iran Med*, 23, 44-52.

- Molloy, J. W., Calcagno, C. J., Williams, C. D., Jones, F. J., Torres, D. M. & Harrison, S. A. 2012. Association of coffee and caffeine consumption with fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and degree of hepatic fibrosis. *Hepatology*, 55, 429-36.
- Moran, J. R., Ghishan, F. K., Halter, S. A. & Greene, H. L. 1983. Steatohepatitis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction. *Am J Gastroenterol*, 78, 374-7.
- Morisky, D. E., Green, L. W. & Levine, D. M. 1986. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care*, 24, 67-74.
- Mosca, A., Nobili, V., De Vito, R., Crudele, A., Scorletti, E., Villani, A., Alisi, A. & Byrne, C. D. 2017. Serum uric acid concentrations and fructose consumption are independently associated with NASH in children and adolescents. *J Hepatol*, 66, 1031-1036.
- Moschen, A. R., Molnar, C., Geiger, S., Graziadei, I., Ebenbichler, C. F., Weiss, H., Kaser, S., Kaser, A. & Tilg, H. 2010. Anti-inflammatory effects of excessive weight loss: potent suppression of adipose interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha expression. *Gut*, 59, 1259-64.
- Mottin, C. C., Moretto, M., Padoin, A. V., Swarowsky, A. M., Toneto, M. G., Glock, L. & Repetto, G. 2004. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes Surg*, 14, 635-7.
- Murphy, S. K., Yang, H., Moylan, C. A., Pang, H., Dellinger, A., Abdelmalek, M. F., Garrett, M. E., Ashley-Koch, A., Suzuki, A., Tillmann, H. L., Hauser, M. A. & Diehl, A. M. 2013. Relationship between methylome and transcriptome in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 145, 1076-87.
- Musso, G., Gambino, R., Cassader, M. & Pagano, G. 2010. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 52, 79-104.
- Musso, G., Gambino, R., De Michieli, F., Cassader, M., Rizzetto, M., Durazzo, M., Faga, E., Silli, B. & Pagano, G. 2003. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 37, 909-16.
- Musso, G., Gambino, R., Durazzo, M., Biroli, G., Carello, M., Faga, E., Pacini, G., De Michieli, F., Rabbione, L., Premoli, A., Cassader, M. & Pagano, G. 2005. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology*, 42, 1175-83.
- Musso, G., Gambino, R., Tabibian, J. H., Ekstedt, M., Kechagias, S., Hamaguchi, M., Hultcrantz, R., Hagstrom, H., Yoon, S. K., Charatcharoenwitthaya, P., George, J., Barrera, F., Hafliethadottir, S., Bjornsson, E. S., Armstrong, M. J., Hopkins, L. J., Gao, X., Francque, S., Verrijken, A., Yilmaz, Y., Lindor, K. D., Charlton, M., Haring, R., Lerch, M. M., Rettig, R., Volzke, H., Ryu, S., Li, G., Wong, L. L., Machado, M., Cortez-Pinto, H., Yasui, K. & Cassader, M. 2014. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*, 11, e1001680.
- Nar, A. & Gedik, O. 2009. The effect of metformin on leptin in obese patients with type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Diabetol*, 46, 113-8.

- Nass, K. J., Van Den Berg, E. H., Faber, K. N., Schreuder, T., Blokzijl, H. & Dullaart, R. P. F. 2017. High prevalence of apolipoprotein B dyslipoproteinemias in non-alcoholic fatty liver disease: The lifelines cohort study. *Metabolism*, 72, 37-46.
- Neuschwander-Tetri, B. A., Loomba, R., Sanyal, A. J., Lavine, J. E., Van Natta, M. L., Abdelmalek, M. F., Chalasani, N., Dasarathy, S., Diehl, A. M., Hameed, B., Kowdley, K. V., Mccullough, A., Terrault, N., Clark, J. M., Tonascia, J., Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Doo, E. & Network, N. C. R. 2015. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 385, 956-65.
- Noureddin, M., Vipani, A., Bresee, C., Todo, T., Kim, I. K., Alkhoury, N., Setiawan, V. W., Tran, T., Ayoub, W. S., Lu, S. C., Klein, A. S., Sundaram, V. & Nissen, N. N. 2018. NASH Leading Cause of Liver Transplant in Women: Updated Analysis of Indications For Liver Transplant and Ethnic and Gender Variances. *Am J Gastroenterol*, 113, 1649-1659.
- Orasan, O. H., Ciulei, G., Cozma, A., Sava, M. & Dumitrascu, D. L. 2016. Hyaluronic acid as a biomarker of fibrosis in chronic liver diseases of different etiologies. *Clujul Med*, 89, 24-31.
- Ozenirler, S., Erkan, G., Konca Degertekin, C., Ercin, U., Cengiz, M., Bilgihan, A., Yilmaz, G. & Akyol, G. 2014. The relationship between advanced oxidation protein products (AOPP) and biochemical and histopathological findings in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Dig Dis*, 15, 131-6.
- Ozturk, K., Kurt, O., Demirci, H., Dogan, T., Ozen, A., Cakir, M., Sakin, Y., Taskin, G., Kantarcioglu, M., Kilciler, G. & Uygun, A. 2018. Association of complete blood count parameters with liver histology and atherosclerosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Gulhane Med J*, 60, 71-77.
- Pagano, G., Pacini, G., Musso, G., Gambino, R., Mecca, F., Depetris, N., Cassader, M., David, E., Cavallo-Perin, P. & Rizzetto, M. 2002. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology*, 35, 367-72.
- Pais, R., Charlotte, F., Fedchuk, L., Bedossa, P., Lebray, P., Poynard, T., Ratziau, V. & Group, L. S. 2013. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol*, 59, 550-6.
- Park, S. H., Kim, S. K. & Bae, Y. J. 2012. Relationship between serum calcium and magnesium concentrations and metabolic syndrome diagnostic components in middle-aged Korean men. *Biol Trace Elem Res*, 146, 35-41.
- Pasik, C. 1997. Diabetes and the biguanides: the mystery of each. In: Pasik C (ed) *Glucophage: serving diabetology for 40 years*. Groupe Liphia, Lyon, 79.
- Pastore, A., Alisi, A., Di Giovamberardino, G., Crudele, A., Ceccarelli, S., Panera, N., Dionisi-Vici, C. & Nobili, V. 2014. Plasma levels of homocysteine and cysteine increased in pediatric NAFLD and strongly correlated with severity of liver damage. *Int J Mol Sci*, 15, 21202-14.

- Perumpail, B. J., Li, A. A., John, N., Sallam, S., Shah, N. D., Kwong, W., Cholankeril, G., Kim, D. & Ahmed, A. 2018. The Role of Vitamin E in the Treatment of NAFLD. *Diseases*, 6.
- Petersen, K. F., Dufour, S., Hariri, A., Nelson-Williams, C., Foo, J. N., Zhang, X. M., Dziura, J., Lifton, R. P. & Shulman, G. I. 2010. Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 362, 1082-9.
- Petrilla, A. A., Benner, J. S., Battleman, D. S., Tierce, J. C. & Hazard, E. H. 2005. Evidence-based interventions to improve patient compliance with antihypertensive and lipid-lowering medications. *Int J Clin Pract*, 59, 1441-51.
- Petta, S., Grimaudo, S., Camma, C., Cabibi, D., Di Marco, V., Licata, G., Pipitone, R. M. & Craxi, A. 2012. IL28B and PNPLA3 polymorphisms affect histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 56, 1356-62.
- Polyzos, S. 2012. Serum Ferritin in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Evaluation of Ferritin to Adiponectin Ratio and Ferritin by Homeostatic Model of Assessment Insulin Resistance Product as Non-Invasive Markers. *ImmunoGastroenterology*, 1, 119.
- Polyzos, S. A., Kountouras, J., Patsiaoura, K., Katsiki, E., Zafeiriadou, E., Deretzi, G., Zavos, C., Gavalas, E., Katsinelos, P., Mane, V. & Slavakis, A. 2012a. Serum homocysteine levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*, 11, 68-76.
- Polyzos, S. A., Kountouras, J., Patsiaoura, K., Katsiki, E., Zafeiriadou, E., Zavos, C., Deretzi, G., Tsiaousi, E. & Slavakis, A. 2012b. Serum vitamin B12 and folate levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Food Sci Nutr*, 63, 659-66.
- Prattichizzo, F., Giuliani, A., Mensa, E., Sabbatinelli, J., De Nigris, V., Rippo, M. R., La Sala, L., Procopio, A. D., Olivieri, F. & Ceriello, A. 2018. Pleiotropic effects of metformin: Shaping the microbiome to manage type 2 diabetes and postpone ageing. *Ageing Res Rev*, 48, 87-98.
- Quinlan, G. J., Margaron, M. P., Mumby, S., Evans, T. W. & Gutteridge, J. M. 1998. Administration of albumin to patients with sepsis syndrome: a possible beneficial role in plasma thiol repletion. *Clin Sci (Lond)*, 95, 459-65.
- Rabinowich, L. & Shibolet, O. 2015. Drug Induced Steatohepatitis: An Uncommon Culprit of a Common Disease. *Biomed Res Int*, 2015, 168905.
- Rall, J. A. 1990. Emil Bozler: sixty years of investigation into the fundamental nature of muscle contraction. *Prog Clin Biol Res*, 327, 1-15.
- Rand, C. S. 1993. Measuring adherence with therapy for chronic diseases: implications for the treatment of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*, 72, 68D-74D.
- Ratziu, V., Charlotte, F., Heurtier, A., Gombert, S., Giral, P., Bruckert, E., Grimaldi, A., Capron, F., Poynard, T. & Group, L. S. 2005. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 128, 1898-906.

- Ratziu, V., Harrison, S. A., Francque, S., Bedossa, P., Leheret, P., Serfaty, L., Romero-Gomez, M., Boursier, J., Abdelmalek, M., Caldwell, S., Drenth, J., Anstee, Q. M., Hum, D., Hanf, R., Roudot, A., Megnien, S., Staels, B., Sanyal, A. & Group, G.-I. S. 2016. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-alpha and -delta, Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology*, 150, 1147-1159 e5.
- Reig, M., Gambato, M., Man, N. K., Roberts, J. P., Victor, D., Orzi, L. A. & Toso, C. 2019. Should Patients With NAFLD/NASH Be Surveyed for HCC? *Transplantation*, 103, 39-44.
- Rena, G., Hardie, D. G. & Pearson, E. R. 2017. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*, 60, 1577-1585.
- Rensen, S. S., Slaats, Y., Nijhuis, J., Jans, A., Bieghs, V., Driessen, A., Malle, E., Greve, J. W. & Buurman, W. A. 2009. Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol*, 175, 1473-82.
- Ribeiro, E. A., Poli-De-Figueiredo, L. F., Vincenzi, R., Galvao, F. H., Margarido, N., Rocha, E. S. M. & Cruz, R. J., Jr. 2013. Intraportal versus Systemic Pentoxifylline Infusion after Normothermic Liver Ischemia: Effects on Regional Blood Flow Redistribution and Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. *HPB Surg*, 2013, 689835.
- Rich, N. E., Oji, S., Mufti, A. R., Browning, J. D., Parikh, N. D., Odewole, M., Mayo, H. & Singal, A. G. 2018. Racial and Ethnic Disparities in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Prevalence, Severity, and Outcomes in the United States: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 16, 198-210 e2.
- Richter, R. J. & Furlong, C. E. 1999. Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics*, 9, 745-53.
- Roeb, E. & Geier, A. 2019. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) - current treatment recommendations and future developments. *Z Gastroenterol*, 57, 508-517.
- Rofsky, N. M. & Fleishaker, H. 1995. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR*, 16, 16-33.
- Roman, S., Ojeda-Granados, C., Ramos-Lopez, O. & Panduro, A. 2015. Genome-based nutrition: an intervention strategy for the prevention and treatment of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*, 21, 3449-61.
- Romero-Gomez, M., Zelber-Sagi, S. & Trenell, M. 2017. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol*, 67, 829-846.
- Rosen, E. D. & Spiegelman, B. M. 2014. What we talk about when we talk about fat. *Cell*, 156, 20-44.
- Rotman, Y., Koh, C., Zmuda, J. M., Kleiner, D. E., Liang, T. J. & Nash, C. R. N. 2010. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 52, 894-903.
- Ruhl, C. E. & Everhart, J. E. 2005. Coffee and tea consumption are associated with a lower incidence of chronic liver disease in the United States. *Gastroenterology*, 129, 1928-36.

- Ruppar, T. M., Conn, V. S. & Russell, C. L. 2008. Medication adherence interventions for older adults: literature review. *Res Theory Nurs Pract*, 22, 114-47.
- Saab, S., Manne, V., Nieto, J., Schwimmer, J. B. & Chalasani, N. P. 2016. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Latinos. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 14, 5-12; quiz e9-10.
- Sag, D., Carling, D., Stout, R. D. & Suttles, J. 2008. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase promotes macrophage polarization to an anti-inflammatory functional phenotype. *J Immunol*, 181, 8633-41.
- Sakugawa, H., Nakayoshi, T., Kobashigawa, K., Yamashiro, T., Maeshiro, T., Miyagi, S., Shiroma, J., Toyama, A., Nakayoshi, T., Kinjo, F. & Saito, A. 2005. Clinical usefulness of biochemical markers of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 11, 255-9.
- Salazar, J., Bermudez, V., Calvo, M., Olivar, L. C., Luzardo, E., Navarro, C., Mencia, H., Martinez, M., Rivas-Rios, J., Wilches-Duran, S., Cerda, M., Graterol, M., Graterol, R., Garicano, C., Hernandez, J. & Rojas, J. 2017. Optimal cutoff for the evaluation of insulin resistance through triglyceride-glucose index: A cross-sectional study in a Venezuelan population. *F1000Res*, 6, 1337.
- Sanyal, A. J., Campbell-Sargent, C., Mirshahi, F., Rizzo, W. B., Contos, M. J., Sterling, R. K., Luketic, V. A., Shiffman, M. L. & Clore, J. N. 2001. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*, 120, 1183-92.
- Sanyal, A. J., Chalasani, N., Kowdley, K. V., McCullough, A., Diehl, A. M., Bass, N. M., Neuschwander-Tetri, B. A., Lavine, J. E., Tonascia, J., Unalp, A., Van Natta, M., Clark, J., Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Hoofnagle, J. H., Robuck, P. R. & Nash, C. R. N. 2010. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*, 362, 1675-85.
- Saraei, P., Asadi, I., Kakar, M. A. & Moradi-Kor, N. 2019. The beneficial effects of metformin on cancer prevention and therapy: a comprehensive review of recent advances. *Cancer Manag Res*, 11, 3295-3313.
- Sastre, J., Pallardo, F. V., Llopis, J., Furukawa, T., Vina, J. R. & Vina, J. 1989. Glutathione depletion by hyperphagia-induced obesity. *Life Sci*, 45, 183-7.
- Satapathy, S. K., Kuwajima, V., Nadelson, J., Atiq, O. & Sanyal, A. J. 2015. Drug-induced fatty liver disease: An overview of pathogenesis and management. *Ann Hepatol*, 14, 789-806.
- Satapathy, S. K., Sakhuja, P., Malhotra, V., Sharma, B. C. & Sarin, S. K. 2007. Beneficial effects of pentoxifylline on hepatic steatosis, fibrosis and necroinflammation in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*, 22, 634-8.
- Savvidou, S., Hytiroglou, P., Orfanou-Koumerkeridou, H., Panderis, A., Frantzoulis, P. & Goulis, J. 2009. Low serum adiponectin levels are predictive of advanced hepatic fibrosis in patients with NAFLD. *J Clin Gastroenterol*, 43, 765-72.
- Schauer, P. R., Bhatt, D. L., Kirwan, J. P., Wolski, K., Brethauer, S. A., Navaneethan, S. D., Aminian, A., Pothier, C. E., Kim, E. S., Nissen, S. E., Kashyap, S. R. & Investigators,

- S. 2014. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes--3-year outcomes. *N Engl J Med*, 370, 2002-13.
- Schlenk, E. A., Dunbar-Jacob, J. & Engberg, S. 2004. Medication non-adherence among older adults: a review of strategies and interventions for improvement. *J Gerontol Nurs*, 30, 33-43.
- Schober, F., Neumeier, M., Weigert, J., Wurm, S., Wanninger, J., Schaffler, A., Dada, A., Liebisch, G., Schmitz, G., Aslanidis, C. & Buechler, C. 2007. Low molecular weight adiponectin negatively correlates with the waist circumference and monocyte IL-6 release. *Biochem Biophys Res Commun*, 361, 968-73.
- Schurks, M., Glynn, R. J., Rist, P. M., Tzourio, C. & Kurth, T. 2010. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*, 341, c5702.
- Schwimmer, J. B., Behling, C., Newbury, R., Deutsch, R., Nievergelt, C., Schork, N. J. & Lavine, J. E. 2005. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 42, 641-9.
- Sertoglu, E., Ercin, C. N., Celebi, G., Gurel, H., Kayadibi, H., Genc, H., Kara, M. & Dogru, T. 2014. The relationship of serum uric acid with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*, 47, 383-8.
- Shapiro, M. D. & Fazio, S. 2017. Apolipoprotein B-containing lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease. *F1000Res*, 6, 134.
- Sheka, A. C., Adeyi, O., Thompson, J., Hameed, B., Crawford, P. A. & Ikramuddin, S. 2020. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA*, 323, 1175-1183.
- Shen, J., Wong, G. L., Chan, H. L., Chan, H. Y., Yeung, D. K., Chan, R. S., Chim, A. M., Chan, A. W., Choi, P. C., Woo, J., Chu, W. C. & Wong, V. W. 2014. PNPLA3 gene polymorphism accounts for fatty liver in community subjects without metabolic syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*, 39, 532-9.
- Shetty, S., Kusminski, C. M. & Scherer, P. E. 2009. Adiponectin in health and disease: evaluation of adiponectin-targeted drug development strategies. *Trends Pharmacol Sci*, 30, 234-9.
- Shiha, G., Sarin, S. K., Ibrahim, A. E., Omata, M., Kumar, A., Lesmana, L. A., Leung, N., Tozun, N., Hamid, S., Jafri, W., Maruyama, H., Bedossa, P., Pinzani, M., Chawla, Y., Esmat, G., Doss, W., Elzanaty, T., Sakhuja, P., Nasr, A. M., Omar, A., Wai, C. T., Abdallah, A., Salama, M., Hamed, A., Yousry, A., Waked, I., Elshahar, M., Fateen, A., Mogawer, S., Hamdy, H., Elwakil, R. & Jury of The, A. C. D. M. J. O. L. F. W. W. H. B. O. C. 2009. Liver fibrosis: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL). *Hepatol Int*, 3, 323-33.
- Shimada, M., Kawahara, H., Ozaki, K., Fukura, M., Yano, H., Tsuchishima, M., Tsutsumi, M. & Takase, S. 2007. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 102, 1931-8.

- Shin, J. Y., Kim, M. J., Kim, E. S., Mo, E. Y., Moon, S. D., Han, J. H. & Cha, B. Y. 2015. Association between serum calcium and phosphorus concentrations with non-alcoholic fatty liver disease in Korean population. *J Gastroenterol Hepatol*, 30, 733-41.
- Simon, T. G., Henson, J., Osganian, S., Masia, R., Chan, A. T., Chung, R. T. & Corey, K. E. 2019. Daily Aspirin Use Associated With Reduced Risk For Fibrosis Progression In Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 17, 2776-2784 e4.
- Sirota, J. C., Mcfann, K., Targher, G., Johnson, R. J., Chonchol, M. & Jalal, D. I. 2013. Elevated serum uric acid levels are associated with non-alcoholic fatty liver disease independently of metabolic syndrome features in the United States: Liver ultrasound data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Metabolism*, 62, 392-9.
- Sofer, E., Boaz, M., Matas, Z., Mashavi, M. & Shargorodsky, M. 2011. Treatment with insulin sensitizer metformin improves arterial properties, metabolic parameters, and liver function in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, placebo-controlled trial. *Metabolism*, 60, 1278-84.
- Steinacher, D., Claudel, T. & Trauner, M. 2017. Therapeutic Mechanisms of Bile Acids and Nor-Ursodeoxycholic Acid in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis*, 35, 282-287.
- Sterling, R. K. & Sanyal, A. J. 2011. Pentoxifylline for steatohepatitis: magic bullet or smoking gun? *Hepatology*, 54, 1496-9.
- Stickel, F. & Hellerbrand, C. 2010. Non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for hepatocellular carcinoma: mechanisms and implications. *Gut*, 59, 1303-7.
- Strauss, R. S., Barlow, S. E. & Dietz, W. H. 2000. Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents. *J Pediatr*, 136, 727-33.
- Su, Q., Rutledge, A. C., Dekker, M. & Adeli, K. 2010. Apolipoprotein B: not just a biomarker but a causal factor in hepatic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance. *Clinical Lipidology*, 5, 267-276.
- Sui, Y., Kong, X., Fan, R., Ye, Y., Mai, H., Zhuo, S., Lu, W., Ruan, P., Fang, S. & Yang, T. 2019. Long-term treatment with metformin in the prevention of fatty liver in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetol Metab Syndr*, 11, 94.
- Sumida, Y., Nakajima, A. & Itoh, Y. 2014. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*, 20, 475-85.
- Sumida, Y., Okanou, T., Nakajima, A. & Japan Study Group Of, N. 2019. Phase 3 drug pipelines in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res*, 49, 1256-1262.
- Sumida, Y., Yoneda, M., Hyogo, H., Yamaguchi, K., Ono, M., Fujii, H., Eguchi, Y., Suzuki, Y., Imai, S., Kanemasa, K., Fujita, K., Chayama, K., Yasui, K., Saibara, T., Kawada, N., Fujimoto, K., Kohgo, Y., Okanou, T. & Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver, D. 2011. A simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin,

and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*, 46, 257-68.

- Sun, L., Xie, C., Wang, G., Wu, Y., Wu, Q., Wang, X., Liu, J., Deng, Y., Xia, J., Chen, B., Zhang, S., Yun, C., Lian, G., Zhang, X., Zhang, H., Bisson, W. H., Shi, J., Gao, X., Ge, P., Liu, C., Krausz, K. W., Nichols, R. G., Cai, J., Rimal, B., Patterson, A. D., Wang, X., Gonzalez, F. J. & Jiang, C. 2018. Gut microbiota and intestinal FXR mediate the clinical benefits of metformin. *Nat Med*, 24, 1919-1929.
- Sundbom, L. & Bingeors, K. 2012. Women and men report different behaviours in, and reasons for medication non-adherence: a nationwide Swedish survey *Pharmacy Practice*, 10, 207-221.
- Tajiri, K., Shimizu, Y., Tsuneyama, K. & Sugiyama, T. 2009. Role of liver-infiltrating CD3+CD56+ natural killer T cells in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 21, 673-80.
- Tan, X., Al-Dabagh, A., Davis, S. A., Lin, H. C., Balkrishnan, R., Chang, J. & Feldman, S. R. 2013. Medication adherence, healthcare costs and utilization associated with acne drugs in Medicaid enrollees with acne vulgaris. *Am J Clin Dermatol*, 14, 243-51.
- Tanaka, K., Hara, M., Sakamoto, T., Higaki, Y., Mizuta, T., Eguchi, Y., Yasutake, T., Ozaki, I., Yamamoto, K., Onohara, S., Kawazoe, S., Shigematsu, H. & Koizumi, S. 2007. Inverse association between coffee drinking and the risk of hepatocellular carcinoma: a case-control study in Japan. *Cancer Sci*, 98, 214-8.
- Targher, G., Bertolini, L., Padovani, R., Rodella, S., Tessari, R., Zenari, L., Day, C. & Arcaro, G. 2007. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 30, 1212-8.
- Targher, G., Day, C. P. & Bonora, E. 2010. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 363, 1341-50.
- The European Association for the Study of the Liver (Easl) 2015. HEPAMAP. A roadmap for hepatology research in Europe: An overview for policy makers.
- Tiessen, R. G., Kennedy, C. A., Keller, B. T., Levin, N., Acevedo, L., Gedulin, B., Van Vliet, A. A., Dorenbaum, A. & Palmer, M. 2018. Safety, tolerability and pharmacodynamics of apical sodium-dependent bile acid transporter inhibition with volixibat in healthy adults and patients with type 2 diabetes mellitus: a randomised placebo-controlled trial. *BMC Gastroenterol*, 18, 3.
- Tseng, C. H. 2018. Metformin and risk of hepatocellular carcinoma in patients with type 2 diabetes. *Liver Int*, 38, 2018-2027.
- Tsochatzis, E., Coilly, A., Nadalin, S., Levistky, J., Tokat, Y., Ghobrial, M., Klinck, J. & Berenguer, M. 2019. International Liver Transplantation Consensus Statement on End-stage Liver Disease Due to Nonalcoholic Steatohepatitis and Liver Transplantation. *Transplantation*, 103, 45-56.
- Tuccori, M., Filion, K. B., Yin, H., Yu, O. H., Platt, R. W. & Azoulay, L. 2016. Pioglitazone use and risk of bladder cancer: population based cohort study. *BMJ*, 352, i1541.

- Tully, D. C., Rucker, P. V., Chianelli, D., Williams, J., Vidal, A., Alper, P. B., Mutnick, D., Bursulaya, B., Schmeits, J., Wu, X., Bao, D., Zoll, J., Kim, Y., Groessl, T., Mcnamara, P., Seidel, H. M., Molteni, V., Liu, B., Phimister, A., Joseph, S. B. & Laffitte, B. 2017. Discovery of Tropifexor (LJN452), a Highly Potent Non-bile Acid FXR Agonist for the Treatment of Cholestatic Liver Diseases and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *J Med Chem*, 60, 9960-9973.
- Uk Prospective Diabetes Study (Ukpds) Group 1998. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet*, 352, 854-65.
- Unni, E. & Shiyanbola, O. O. 2016. Clustering medication adherence behavior based on beliefs in medicines and illness perceptions in patients taking asthma maintenance medications. *Curr Med Res Opin*, 32, 113-21.
- Urdaneta, V. & Casadesus, J. 2017. Interactions between Bacteria and Bile Salts in the Gastrointestinal and Hepatobiliary Tracts. *Front Med (Lausanne)*, 4, 163.
- Us Food and Drug Administration, U. 2018. FDA adds Boxed Warning to highlight correct dosing of Ocaliva (obeticholic acid) for patients with a rare chronic liver disease.
- Uygun, A., Kadayifci, A., Yesilova, Z., Erdil, A., Yaman, H., Saka, M., Deveci, M. S., Bagci, S., Gulsen, M., Karaeren, N. & Dagalp, K. 2000. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 95, 3584-9.
- Vajro, P., Fontanella, A., Perna, C., Orso, G., Tedesco, M. & De Vincenzo, A. 1994. Persistent hyperaminotransferasemia resolving after weight reduction in obese children. *J Pediatr*, 125, 239-41.
- Valenti, L., Fracanzani, A. L., Dongiovanni, P., Rovida, S., Rametta, R., Fatta, E., Pulixi, E. A., Maggioni, M. & Fargion, S. 2014. A randomized trial of iron depletion in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia. *World J Gastroenterol*, 20, 3002-10.
- Valenti, L., Fracanzani, A. L., Dongiovanni, P., Santorelli, G., Branchi, A., Taioli, E., Fiorelli, G. & Fargion, S. 2002. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 122, 274-80.
- Van Der Poorten, D., Milner, K. L., Hui, J., Hodge, A., Trenell, M. I., Kench, J. G., London, R., Peduto, T., Chisholm, D. J. & George, J. 2008. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology*, 48, 449-57.
- Van Dulmen, S., Sluijs, E., Van Dijk, L., De Ridder, D., Heerdink, R., Bensing, J. & International Expert Forum on Patient, A. 2008. Furthering patient adherence: a position paper of the international expert forum on patient adherence based on an internet forum discussion. *BMC Health Serv Res*, 8, 47.
- Van Wagner, L. B., Koppe, S. W., Brunt, E. M., Gottstein, J., Gardikiotes, K., Green, R. M. & Rinella, M. E. 2011. Pentoxifylline for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a randomized controlled trial. *Ann Hepatol*, 10, 277-86.

- Vasamsetti, S. B., Karnewar, S., Kanugula, A. K., Thatipalli, A. R., Kumar, J. M. & Kotamraju, S. 2015. Metformin inhibits monocyte-to-macrophage differentiation via AMPK-mediated inhibition of STAT3 activation: potential role in atherosclerosis. *Diabetes*, 64, 2028-41.
- Verma, S., Jensen, D., Hart, J. & Mohanty, S. R. 2013. Predictive value of ALT levels for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Liver Int*, 33, 1398-405.
- Vernon, G., Baranova, A. & Younossi, Z. M. 2011. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*, 34, 274-85.
- Verzijl, C. R. C., Van De Peppel, I. P., Struik, D. & Jonker, J. W. 2020. Pegbelfermin (BMS-986036): an investigational PEGylated fibroblast growth factor 21 analogue for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Expert Opin Investig Drugs*, 29, 125-133.
- Vezmar Kovacevic, S. & Miljkovic, B. 2018. *Klinička farmacija u teoriji i praksi*, Beograd, Srbija, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet.
- Vigano, M., Vergani, A., Trombini, P., Paleari, F. & Piperno, A. 2000. Insulin resistance influence iron metabolism and hepatic steatosis in type II diabetes. *Gastroenterology*, 118, 986-7.
- Vilar-Gomez, E., Calzadilla-Bertot, L., Wai-Sun Wong, V., Castellanos, M., Aller-De La Fuente, R., Metwally, M., Eslam, M., Gonzalez-Fabian, L., Alvarez-Quinones Sanz, M., Conde-Martin, A. F., De Boer, B., Mcleod, D., Hung Chan, A. W., Chalasani, N., George, J., Adams, L. A. & Romero-Gomez, M. 2018. Fibrosis Severity as a Determinant of Cause-Specific Mortality in Patients With Advanced Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Multi-National Cohort Study. *Gastroenterology*, 155, 443-457 e17.
- Vilar-Gomez, E. & Chalasani, N. 2018. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol*, 68, 305-315.
- Villeneuve, C., Rousseau, A., Rerolle, J. P., Couzi, L., Kamar, N., Essig, M., Etienne, I., Westeel, P. F., Buchler, M., Esposito, L., Thierry, A., Marquet, P. & Monchard, C. 2020. Adherence profiles in kidney transplant patients: Causes and consequences. *Patient Educ Couns*, 103, 189-198.
- Voils, C. I., Hoyle, R. H., Thorpe, C. T., Maciejewski, M. L. & Yancy, W. S., Jr. 2011. Improving the measurement of self-reported medication nonadherence. *J Clin Epidemiol*, 64, 250-4.
- Wagenknecht, L. E., Scherzinger, A. L., Stamm, E. R., Hanley, A. J., Norris, J. M., Chen, Y. D., Bryer-Ash, M., Haffner, S. M. & Rotter, J. I. 2009. Correlates and heritability of nonalcoholic fatty liver disease in a minority cohort. *Obesity (Silver Spring)*, 17, 1240-6.
- Wang, B., Yang, R. N., Zhu, Y. R., Xing, J. C., Lou, X. W., He, Y. J., Ding, Q. L., Zhang, M. Y. & Qiu, H. 2017. Involvement of xanthine oxidase and paraoxonase 1 in the process of oxidative stress in nonalcoholic fatty liver disease. *Mol Med Rep*, 15, 387-395.

- Wang, H., Wang, L., Cheng, Y., Xia, Z., Liao, Y. & Cao, J. 2018. Efficacy of orlistat in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep*, 9, 90-96.
- Watanabe, S., Hashimoto, E., Ikejima, K., Uto, H., Ono, M., Sumida, Y., Seike, M., Takei, Y., Takehara, T., Tokushige, K., Nakajima, A., Yoneda, M., Saibara, T., Shiota, G., Sakaida, I., Nakamura, M., Mizuta, T., Tsubouchi, H., Sugano, K., Shimosegawa, T., Japanese Society Of, G. & Japan Society Of, H. 2015. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*, 50, 364-77.
- Watkins, P. B. & Seeff, L. B. 2006. Drug-induced liver injury: summary of a single topic clinical research conference. *Hepatology*, 43, 618-31.
- Wei, L., Champman, S., Li, X., Li, X., Li, S., Chen, R., Bo, N., Chater, A. & Horne, R. 2017. Beliefs about medicines and non-adherence in patients with stroke, diabetes mellitus and rheumatoid arthritis: a cross-sectional study in China. *BMJ Open*, 7, e017293.
- Wei, L., Wang, J., Thompson, P., Wong, S., Struthers, A. D. & Macdonald, T. M. 2002. Adherence to statin treatment and readmission of patients after myocardial infarction: a six year follow up study. *Heart*, 88, 229-33.
- White, D. L., Thrift, A. P., Kanwal, F., Davila, J. & El-Serag, H. B. 2017. Incidence of Hepatocellular Carcinoma in All 50 United States, From 2000 Through 2012. *Gastroenterology*, 152, 812-820 e5.
- Wigg, A. J., Roberts-Thomson, I. C., Dymock, R. B., McCarthy, P. J., Grose, R. H. & Cummins, A. G. 2001. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*, 48, 206-11.
- Wilhelmi De Toledo, F., Buchinger, A., Burggrabe, H., Holz, G., Kuhn, C., Lischka, E., Lischka, N., Lutzner, H., May, W., Ritzmann-Widderich, M., Stange, R., Wessel, A., Boschmann, M., Peper, E., Michalsen, A., Medical Association For, F. & Nutrition 2013. Fasting therapy - an expert panel update of the 2002 consensus guidelines. *Forsch Komplementmed*, 20, 434-43.
- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., De Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G. Y. H., McManus, R., Narkiewicz, K., Ruschitzka, F., Schmieder, R. E., Shlyakhto, E., Tsioufis, C., Aboyans, V., Desormais, I. & Group, E. S. C. S. D. 2018. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*, 39, 3021-3104.
- Williams, C. D., Stengel, J., Asike, M. I., Torres, D. M., Shaw, J., Contreras, M., Landt, C. L. & Harrison, S. A. 2011. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*, 140, 124-31.

- Willner, I. R., Waters, B., Patil, S. R., Reuben, A., Morelli, J. & Riely, C. A. 2001. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. *Am J Gastroenterol*, 96, 2957-61.
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillere-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., Jungers, P. & Descamps-Latscha, B. 1996. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*, 49, 1304-13.
- Woods, J. R., Jr., Plessinger, M. A. & Fantel, A. 1998. An introduction to reactive oxygen species and their possible roles in substance abuse. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 25, 219-36.
- World Health Organisation 2008. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation.
- World Health Organization 2003. Adherence to Long-Term Therapies - Evidence for Action.
- World Health Organization 2006. BMI Classification. Global Database on Body Mass Index.
- World Health Organization 2015. WHO model list of essential medicines.
- Wu, H., Esteve, E., Tremaroli, V., Khan, M. T., Caesar, R., Manneras-Holm, L., Stahlman, M., Olsson, L. M., Serino, M., Planas-Felix, M., Xifra, G., Mercader, J. M., Torrents, D., Burcelin, R., Ricart, W., Perkins, R., Fernandez-Real, J. M. & Backhed, F. 2017. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med*, 23, 850-858.
- Wu, P. J., Chen, J. B., Lee, W. C., Ng, H. Y., Lien, S. C., Tsai, P. Y., Wu, C. H., Lee, C. T. & Chiou, T. T. 2018. Oxidative Stress and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Hemodialysis Patients. *Biomed Res Int*, 2018, 3961748.
- Wu, S. J., Zhu, G. Q., Ye, B. Z., Kong, F. Q., Zheng, Z. X., Zou, H., Shi, K. Q., Lin, L., Braddock, M., Huang, W. J., Chen, Y. P. & Zheng, M. H. 2015. Association between sex-specific serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults: a large population-based study. *Medicine (Baltimore)*, 94, e802.
- Xu, A., Wang, Y., Keshaw, H., Xu, L. Y., Lam, K. S. & Cooper, G. J. 2003. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest*, 112, 91-100.
- Yang, S. Q., Lin, H. Z., Lane, M. D., Clemens, M. & Diehl, A. M. 1997. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 2557-62.
- Ye, J. H., Chao, J., Chang, M. L., Peng, W. H., Cheng, H. Y., Liao, J. W. & Pao, L. H. 2016. Pentoxifylline ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in hyperglycaemic and dyslipidaemic mice by upregulating fatty acid beta-oxidation. *Sci Rep*, 6, 33102.
- Yilmaz, Y., Ulukaya, E. & Dolar, E. 2008. A "biomarker biopsy" for the diagnosis of NASH: promises from CK-18 fragments. *Obes Surg*, 18, 1507-8; author reply 1509-10.
- Yoon, H. J. & Cha, B. S. 2014. Pathogenesis and therapeutic approaches for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 6, 800-11.

- Younossi, Z., Tacke, F., Arrese, M., Chander Sharma, B., Mostafa, I., Bugianesi, E., Wai-Sun Wong, V., Yilmaz, Y., George, J., Fan, J. & Vos, M. B. 2019a. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*, 69, 2672-2682.
- Younossi, Z. M. 2019. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *J Hepatol*, 70, 531-544.
- Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L. & Wymer, M. 2016. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 64, 73-84.
- Younossi, Z. M., Page, S., Rafiq, N., Birerdinc, A., Stepanova, M., Hossain, N., Afendy, A., Younoszai, Z., Goodman, Z. & Baranova, A. 2011. A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis. *Obes Surg*, 21, 431-9.
- Younossi, Z. M., Ratziu, V., Loomba, R., Rinella, M., Anstee, Q. M., Goodman, Z., Bedossa, P., Geier, A., Beckebaum, S., Newsome, P. N., Sheridan, D., Sheikh, M. Y., Trotter, J., Knapp, W., Lawitz, E., Abdelmalek, M. F., Kowdley, K. V., Montano-Loza, A. J., Boursier, J., Mathurin, P., Bugianesi, E., Mazzella, G., Olveira, A., Cortez-Pinto, H., Graupera, I., Orr, D., Glud, L. L., Dufour, J. F., Shapiro, D., Campagna, J., Zaru, L., Macconell, L., Shringarpure, R., Harrison, S., Sanyal, A. J. & Investigators, R. S. 2019b. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*, 394, 2184-2196.
- Younossi, Z. M., Stepanova, M., Negro, F., Hallaji, S., Younossi, Y., Lam, B. & Srishord, M. 2012. Nonalcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. *Medicine (Baltimore)*, 91, 319-27.
- Younossi, Z. M., Tampi, R., Priyadarshini, M., Nader, F., Younossi, I. M. & Racila, A. 2019c. Burden of Illness and Economic Model for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States. *Hepatology*, 69, 564-572.
- Yuan, L. & Bambha, K. 2015. Bile acid receptors and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 7, 2811-8.
- Zein, C. O., Lopez, R., Fu, X., Kirwan, J. P., Yerian, L. M., Mccullough, A. J., Hazen, S. L. & Feldstein, A. E. 2012. Pentoxifylline decreases oxidized lipid products in nonalcoholic steatohepatitis: new evidence on the potential therapeutic mechanism. *Hepatology*, 56, 1291-9.
- Zein, C. O., Yerian, L. M., Gogate, P., Lopez, R., Kirwan, J. P., Feldstein, A. E. & Mccullough, A. J. 2011. Pentoxifylline improves nonalcoholic steatohepatitis: a randomized placebo-controlled trial. *Hepatology*, 54, 1610-9.
- Zhang, E., Wartelle-Bladou, C., Lepanto, L., Lachaine, J., Cloutier, G. & Tang, A. 2015a. Cost-utility analysis of nonalcoholic steatohepatitis screening. *Eur Radiol*, 25, 3282-94.
- Zhang, S., Du, T., Zhang, J., Lu, H., Lin, X., Xie, J., Yang, Y. & Yu, X. 2017. The triglyceride and glucose index (TyG) is an effective biomarker to identify nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis*, 16, 15.

- Zhang, Y., Coca, A., Casa, D. J., Antonio, J., Green, J. M. & Bishop, P. A. 2015b. Caffeine and diuresis during rest and exercise: A meta-analysis. *J Sci Med Sport*, 18, 569-74.
- Zhou, Z. Y., Ren, L. W., Zhan, P., Yang, H. Y., Chai, D. D. & Yu, Z. W. 2016. Metformin exerts glucose-lowering action in high-fat fed mice via attenuating endotoxemia and enhancing insulin signaling. *Acta Pharmacol Sin*, 37, 1063-75.

8 ПРИЛОЗИ

8.1 Прилог 1: *MMAS-4* скала за процену адхеренце

<i>Morisky</i> -скала (MMAS-4)		Да	Не
1.	Да ли икада заборавите да узмете Ваше лекове за <i>NASH</i> ?	1	0
2.	Да ли сте икада имали проблем да се сетите да узмете Ваше лекове за <i>NASH</i> ?	1	0
3.	Када се осећате боље, да ли понекад престанете да узимате Ваше лекове за <i>NASH</i> ?	1	0
4.	Када се понекад осећате лошије када узмете Ваше лекове за <i>NASH</i> , престанете ли да их узимате ?	1	0

Напомена: убацили други здравствени проблем (нпр. хипертензија) када се процењује адхеренца код пацијената са *NAFL*. Преузето и прилагођено од (Morisky et al., 1986).

8.2 Прилог 2: SMAQ упитник за процену адхеренце

Упитник за процену адхеренце

(Simplified Medication Adherence Questionnaire (SMAQ))

Овај упитник се односи на степен придржавања упутстава о примени лекова које Вам је лекар прописао за терапију NASH-a (NAFL-a)
Молимо Вас да одговорите на сва питања истинито и искрено, имајући у виду да су подаци поверљиви. ХВАЛА ВАМ!

1. Да ли увек узимате лекове у одговарајуће време?

Да Не

2. Кад се не осећате добро, да ли прекинете са применом лекова?

Да Не

3. Да ли икад заборавите да узмете лекове?

Да Не

4. Да ли Вам се догоди да заборавите да узмете лекове током викенда?

Да Не

5. У току протекле недеље, КОЛИКО ПУТА сте прескочили узимање лека?

Ниједном 1-2 пута 3-5 пут 6-10 пута Више од 10 пута

6. Од Ваше последње контроле, колико дана је прошло да уопште нисте узели лек?

Дана _____

8.3 Прилог 3: Упитник „Мишљење о лековима“ (ВМQ)

1. Лекари користе превише лекова

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

2. Људи који узимају лекове би с времена на време требали да направе паузу у лечењу

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

3. Већина лекова доводи до зависности

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

4. Природни препарати су безбеднији од лекова

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

5. Лекови чине више штете него користи

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

6. Сви лекови су отрови

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

7. Лекари верују сувише лековима

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слажем

8. Када би лекари имали више времена за пацијенте прописивали би мање лекова

Потпуно се слажем Слажем се Не знам Не слажем се Уопште се не слаже

9 Биографија

Милица Тулафић је дипломирала на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду, јануара 2005. године. Похађала је последипломску академску специјализацију *Фармацеутска здравствена заштита* на поменутом Факултету, коју је завршила 2007. године. Школовање наставља на Фармацеутском факултету у Лондону, Велика Британија (*UCL School of Pharmacy*), где у октобру 2009. стиче звање магистра наука из области клиничке фармације (*Master of Science – Cum laude*). Докторске студије из области Фармакокинетики и клиничке фармације уписала је школске 2011/2012. године. Здравствену специјализацију Клиничка фармација уписала је 2013. године. Од октобра 2009. је запослена на Катедри за броматологију Фармацеутског факултета, а од јануара 2011. наставља да ради на Катедри за фармакокинетику и клиничку фармацију, најпре као сарадник, а потом као асистент. Учествоје у изради плана и програма за практичну наставу из предмета клиничка фармација и припреми и извођењу практичне наставе из предмета фармакокинетика и клиничка фармакокинетика. Од октобра 2013. укључена је у бригу о пацијентима у јединици трансплантационе хепатологије Клинике за гастроентерологију и хепатологију, Клиничког центра Србије, где ради као консултант за фармакотерапију. Континуирано се усавршава у Великој Британији (*Kings College Hospital, London, University College Hospital*). Научно-истраживачки интерес испољила је у следећим областима: клиничка фармација у хепатологији и кардиологији, клиничка фармакокинетика. Рецензент је радова за часописе *Journal of Gastroenterology and Hepatology, American Journal of Managed Care, American Journal of Pharmacy Benefits*. Члан је Европског удружења клиничких фармацеута и Удружења фармацеута у трансплантацији солидних органа Велике Британије.

10 Изјаве

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Милица Д. Ђулафић

Број индекса 40/2011

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Значај биохемијских параметара у диференцијацији неалкохолног стеатохепатитиса и процена исхода терапије и адхеренце, при примени метформина и пентоксифилина

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име и презиме аутора Милица Д. Тулафић

Број индекса 40/2011

Студијски програм: Фармакокинетика и клиничка фармација

Наслов рада Значај биохемијских параметара у диференцијацији неалкохолног
стеатохепатитиса и процена исхода терапије и адхеренце, при примени
метформина и пентоксифилина

Ментори: проф. др Сандра Везмар Ковачевић, проф. др Ђорђе Тулафић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској
верзији коју сам предао/ла ради похрањивања **у Дигиталном репозиторијуму
Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског
назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум
одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне
библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у
Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Значај биохемијских параметара у диференцијацији неалкохолног стеатохепатитиса и процена исхода терапије и адхеренце, при примени метформина и пентоксифилина

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве.)

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално– без прерада.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.