

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Bojan Č. Mitrović

**Odnos između ispoljenosti steatoze u
nealkoholnoj masnoj bolesti jetre, neinvazivnih
skorova steatoze i fibroze jetre i koncentracija C-
reaktivnog proteina i azot-oksida kod negojaznih
osoba obolelih od tipa 2 dijabetesa na tretmanu
razliĉitim režimima oralnih antihyperglikemika**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Bojan Č. Mitrović

Relationship between non-alcoholic fatty liver disease steatosis severity, liver steatosis and fibrosis non-invasive scores and the concentrations of C-reactive protein and nitric oxide in non-obese type 2 diabetes patients under treatment with different regimens of oral antihyperglycemics

Doctoral dissertation

Belgrade, 2023.

MENTOR:

Prof. dr Đuro Macut, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

KOMENTOR:

Doc. dr Zoran Gluvić, docent Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

Komisija za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata dr sci. med. Bojana Mitrovića, izabrana je u sastavu:

1. **Prof. dr Miloš Žarković**, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. **Doc. dr Sanja Ognjanović**, docent Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
3. **Doc. dr Ratko Tomašević**, docent Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
4. **Doc. dr Violeta Mladenović**, docent Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Kragujevcu
5. **Dr Milan Obradović**, viši naučni saradnik Instituta za nuklearne nauke Vinča, Univerziteta u Beogradu

DATUM ODBRANE: _____

Zahvalnica

Zahvaljujem se kolektivu Klinike za internu medicinu, posebno Službi za endokrinologiju i dijabetes, Odeljenju intenzivne nege, Službi laboratorijske dijagnostike i Službi transfuzije za svesrdnu pomoć u realizaciji teze.

Zahvaljujem se Laboratoriji za molekularnu genetiku i radiobiologiju Instituta za nuklearne nauke „Vinča“, posebno Dr Esmi Isenović i Dr Milanu Obradoviću bez čije pomoći ništa od ovog rada ne bi ugledalo svetlost dana.

Zahvaljujem se mentoru, Prof. dr Đuri Macutu na korisnim sugestijama tokom izrade teze a najveću zahvalnost za bezgraničnu podršku dugujem komentoru, Doc. dr Zoranu Gluviću.

Zahvaljujem se članovima Komisije, na korisnim savetima i korekcijama.

Ipak, najveću zahvalnost dugujem porodici, jer sa njima nešto uvek ima smisla.

Majci Snežani koja će uvek živeti u mom srcu posvećujem ovaj rad sa zahvalnošću i ljubavi.

Naslov doktorske disertacije: **“Odnos između ispoljenosti steatoze u nealkoholnoj masnoj bolesti jetre, neinvazivnih skorova steatoze i fibroze jetre i koncentracija C-reaktivnog proteina i azot-oksida kod negojaznih osoba obolelih od tipa 2 dijabetesa na tretmanu različitim režimima oralnih antihiperglikemika“**

SAŽETAK

Uvod: Nealkoholna masna jetra je hepatična manifestacija metaboličkog sindroma. Ispoljenija steatoza je povezana sa povećanim rizikom od steatohepatitisa i fibroze jetre. Dijabetes samostalno dodatno doprinosi ispoljenosti i akceleraciji ovih procesa.

Cilj disertacije je utvrditi postojanje povezanosti između stepena ispoljenosti steatoze jetre, definisane ultrasonografski, sa neinvazivnim skorovima steatoze i fibroze jetre (FLI i Fib-4) i nivoima inflamatorno-endotelnih parametara (C-reaktivni protein i azot-oxid) u populaciji negojaznih osoba obolelih od tipa 2 dijabetesa, tretiranih različitim režimima oralnih antihiperglikemika.

Materijal i metode: Studija preseka je obuhvatila 61 ispitanika sa nealkoholnom masnom jetrom, koji su pod tretmanom tipa 2 dijabetesa bigvanidom ili bigvanidom i derivatom sulfonilureje. Kod svih ispitanika je ocenjen stepen ispoljenosti steatoze jetre ultrasonografski, određeni nivoi C-reaktivnog proteina i azot-oksida i izračunati FLI i Fib-4 skorovi.

Rezultati: Prosečni FLI i Fib-4 skorovi ukazuju na ispoljenost steatoze i F0-1 stadijum fibroze jetre. Ultrasonografski, najzastupljeniji je gradus 1 steatoze jetre. Nije detektovana povezanost stepena ispoljenosti steatoze jetre i nivoa C-reaktivnog proteina i azot-oksida. Registrovana je povezanost koncentracije azot-oksida i FLI skora, koji je ujedno i nezavisni prediktor koncentracije azot-oksida u ispitivanoj populaciji.

Zaključak: FLI i Fib-4 skorovi su pouzdani neinvazivni pokazatelji stepena steatoze i fibroze jetre kod obolelih od tipa 2 dijabetesa. S’obzirom da FLI pozitivno koreliše sa koncentracijom azot-oksida, više vrednosti FLI ukazuju na izraženiji sistemski i za-jetru specifični inflamatorni milje i sledstveno povećan rizik od fibroze jetre.

Ključne reči: masna jetra, tip 2 dijabetesa, inflamacija, fibroza jetre.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Endokrinologija

UDK broj: _____

Title of doctoral dissertation: **“Relationship between non-alcoholic fatty liver disease steatosis severity, liver steatosis and fibrosis non-invasive scores and the concentrations of C-reactive protein and nitric oxide in non-obese type 2 diabetes patients under treatment with different regimens of oral antihyperglycemics“**

ABSTRACT

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease is hepatic manifestation of metabolic syndrome. More severe liver steatosis is associated with an increased risk of steatohepatitis and liver fibrosis. Diabetes mellitus itself contributes additionally to atherosclerosis severity and acceleration.

The aim of this doctoral dissertation is to examine the correlation between ultrasound-determined liver steatosis severity, non-invasive liver steatosis and fibrosis scores (FLI and Fib-4) and the concentrations of inflammatory-endothelial parameters (C-reactive protein and nitric-oxide) in non-obese type 2 diabetes patients under treatment with different regimens of oral antihyperglycemics.

Material and Methods: Cross-sectional study involved 61 subjects suffered of non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes treated by biguanides or biguanides and sulphonylurea derivatives. The ultrasound-determined liver steatosis severity, the concentrations of C-reactive protein and nitric-oxide as well as calculated FLI and Fib-4 scores are assessed to each study subject.

Results: Average FLI and Fib-4 scores indicate significant liver steatosis and F0-1 grade of liver fibrosis, respectively. Concerning liver steatosis severity, grade 1 of liver steatosis determined by ultrasound is most frequently encountered. The correlation between liver steatosis severity and the concentrations of C-reactive protein and nitric-oxide is not detected. The correlation between the concentration of nitric-oxide and FLI score is registered. Additionally, FLI score represents independent predictor of the concentration of nitric-oxide in examined population.

Conclusions: FLI and Fib-4 scores are reliable non-invasive markers of liver steatosis and fibrosis in non-obese type 2 diabetes patients. According to the finding that FLI positively correlated with nitric-oxide concentrations, increased scores of FLI indicate more pronounced systemic and liver-specific inflammatory milieu and subsequent increase in liver fibrosis risk.

Key words: liver steatosis, type 2 diabetes, inflammation, scores, fibrosis

Scientific field: Medicine

Narrow scientific field: Endocrinology

UDC number: _____

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Nealkoholna masna bolest jetre.....	1
1.1.1. Definicija, etiologija, podela, faktori rizika.....	1
1.1.2. Epidemiologija i patogeneza.....	2
1.1.3. Klinička slika i prezentacija.....	5
1.1.4. Dijagnostika.....	5
1.1.5. Lečenje.....	8
1.2. Neinvazivni skorovi steatoze i fibroze jetre.....	10
1.2.1. Indeks masne jetre.....	11
1.2.2. Fibrozni skor-4.....	12
1.3. Inflamacija, nealkoholna masna bolest jetre, kardiovaskularni i hepatični rizik.....	12
1.4. Metabolički sindrom, tip 2 dijabetes melitusa i nealkoholna masna bolest jetre.....	14
1.4.1. Metabolički sindrom i tip 2 dijabetes melitusa – definicija i značaj.....	14
1.4.2. Povezanost između metaboličkog sindroma, tipa 2 dijabetes melitusa i nealkoholne masne bolesti jetre.....	14
1.4.3. Tretman metaboličkog sindroma, tipa 2 dijabetes melitusa i nealkoholne masne bolesti jetre.....	16
2. Ciljevi.....	17
3. Materijal i metode.....	18
3.1. Protokol.....	18
3.2. Određivanje epidemiološko-kliničkih parametara.....	18
3.3. Određivanje biohemijsko-seroloških parametara.....	19
3.4. Određivanje inflamatorno-endotelnih parametara.....	19
3.5. Ultrasonografska stratifikacija stepene steatoze.....	20
3.6. Izračunavanje neinvazivnih skorova steatoze (FLI) i fibroze (Fib-4) jetre.....	20
3.7. Statistička analiza.....	20
4. Rezultati.....	22
4.1. Određivanje epidemiološko-kliničkih parametara.....	22
4.2. Određivanje biohemijsko-seroloških parametara.....	22
4.3. Određivanje inflamatorno-endotelnih parametara.....	25
4.4. Ultrasonografska stratifikacija stepena steatoze i neinvazivni skorovi steatoze i fibroze jetre (FLI i Fib-4).....	25

4.5. Korelacija stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji.....	27
4.6. Korelacija neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji.....	28
4.7. Korelacija neinvazivnog skora fibroze jetre (Fib-4) sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji.....	28
5. Diskusija.....	34
6. Zaključci.....	40
7. Literatura.....	41

1. UVOD

1.1. Nealkoholna masna bolest jetre

1.1.1. Definicija, etiologija, podela, faktori rizika

Nealkoholna masna bolest jetre (engl. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*, NAFLD) se karakteriše prekomernom akumulacijom lipida u jetri. Međutim, NAFLD se samo u inicijalnoj fazi karakteriše prostim nagomilavanjem lipida u jetri. U kasnijem toku, kod obolelih sa prisutnim faktorima rizika za progresiju bolesti, histološki se razvija nekroinflamacija, a potom i remodelovanje jetrinog parenhima sa razvojem fibroze (1). Iako manje od 10% obolelih od NAFLD razvija hronične komplikacije jetre, imajući u vidu rasprostranjenost bolesti, jasno je da NAFLD predstavlja veliki javno-zdravstveni i ekonomski problem (2).

NAFLD je bidirekciono povezana sa metaboličkim poremećajima, poput tipa 2 dijabetes melitusa (T2DM), sindroma policističnih ovarijuma (engl. *Polycystic Ovaries Syndrome*, PCOS), insulinske rezistencije (IR), gojaznosti, kao i dislipidemije (3). Pored doprinosa u progresiji histološke slike NAFLD, ovi metabolički faktori rizika značajno povećavaju kardiovaskularni (KV) morbiditet, koji je, ipak, vodeći uzrok smrti kod obolelih od NAFLD (3). S druge strane, oboleli od T2DM sa NAFLD-om imaju oko dva puta veći rizik od razvoja uznapredovale bolesti jetre- ciroze i fibroze, potom komplikacija uzrokovanih cirozom jetre, ali i mortaliteta uzrokovanog samom hepatičnom bolešću (4). Konačno, oboleli od NAFLD nose povećan rizik od razvoja T2DM (5). Stoga su jasni razlozi sve glasnijih povika za promenu naziva bolesti, iz NAFLD u masnu jetru povezanu sa metaboličkim disfunkcijama (engl. *Metabolic-Dysfunction Associated Fatty Liver Disease*, MAFLD) (6).

NAFLD se definiše se kao prisustvo steatoze u >5% hepatocita prema histološkoj slici odnosno >5.6% udela masti izmereno proton-spektroskopskom magnetnom rezonancom (¹H-MRS) (7). Za postavljanje dijagnoze NAFLD je neophodno isključiti druge potencijalne uzroke deponovanja masti u jetri, kao što je upotreba alkoholnih pića (>20gr dnevno tj. >14 pića nedeljno kod žena, odnosno 30gr dnevno tj. >21 piće nedeljno kod muškaraca), druge hronične bolesti jetre (virusne, autoimunske, metaboličke), kao i upotrebe različitih lekova koji mogu dovesti do steatoze (npr. amiodaron, kortikosteroidi i brojni dr.) (2, 7).

Masnu jetru predstavljaju NAFLD i nealkoholni steatohepatitis (engl. *Non-Alcoholic Steatohepatitis*, NASH), kao dva odvojena entiteta. Za razliku od NAFLD, NASH može progredirati u fibrozu, cirozu i hepatocelularni karcinom (HCC) (7). Tako se NAFLD može manifestovati raznolikim histološkim spektrom, od jednostavne steatoze do inflamacijom- i fibrozom definisanog NASH-a, koji se dalje može ozbiljno komplikovati (8). Dislipidemija, hiperglikemija, IR, blaga inflamacija, kao i hiperandrogenemija predstavljaju faktore koji omogućavaju nastanak i progresiju NAFLD, ali i drugih oboljenja iz klastera metaboličkog sindroma (MetS), kao što je već pomenuti PCOS (9), pri čemu su gojaznost i IR zajednički faktori rizika za nastanak NAFLD i PCOS (10). Učestalost steatoze jetre je veća kod gojaznih (kod ~45%) kao i bolesnika sa T2DM (kod ~ 70% obolelih) (11), pri čemu je rizik od nastanka T2DM kod obolelih od NAFLD znatno veći (11). Takođe, NAFLD se definiše i kao hepatična manifestacija MetS (12). Nezdrava i visokokalorijska ishrana sa viškom unosa

zasićenih masti i rafiniranih ugljenih hidrata, slatkih napitaka i fruktoze, uz fizičku neaktivnost i sedantni način života značajno doprinose pojavi gojaznosti i NAFLD (13). Kod određenog broja obolelih pojedini genetski faktori (npr. nosioci PNPLA3I148M i TM6SF2E167K polimorfizama) mogu odrediti težinu NAFLD i uticati na pojavu progresivnih oblika bolesti (14).

1.1.2. Epidemiologija i patogeneza

NAFLD se smatra najčešćom hroničnom bolešću jetre (2). Procenjuje se da prevalenca NAFLD iznosi oko 25% i da od nje boluje više od jedne milijarde ljudi (15). S'obzirom da obolevanje od NAFLD uporedo prati i prevalencu kako gojaznosti tako i MetS (2), ona je očekivano veća kod gojaznih osoba sa NAFLD-om (40-70%) (16). Danas broj obolelih od MetS i gojaznosti poprima epidemijske razmere, povećava se i broj obolelih od NAFLD, te samim tim i NAFLD postaje ozbiljan javno-zdravstveni problem (17).

Od ukupnog broja pripadnika opšte populacije, NAFLD ima 34-36%, dok oko 12% ima NASH (16, 18). NAFLD je najčešća bolest jetre u zemljama Zapada, od koje oboleva 17-46% odraslih osoba (18-20). Oko 10% od broja obolelih sa NAFLD, odnosno 2-5% opšte populacije u SAD ima NASH (17). Na žalost, epidemiološke studije iz Srbije koje bi se odnosile na NAFLD/NASH nedostaju, ali verovatno da bitnijih razlika u odnosu na ostale zemlje Evrope nema. Ako posmatramo komplikacije NASH-a, ciroza jetre koja je uzrokovana NASH-om je vodeći uzrok HCC, ali je i druga vodeća indikacija za transplantaciju jetre u SAD (21). Međutim, veliki broj obolelih od NAFLD nije dijagnostikovao uprkos velikoj prevalenci (22). Često se kod bolesnika dijagnostikuje ciroza jetre nejasne etiologije (tzv. kriptogena), a u čijoj je osnovi NASH. Isto tako, HCC kao najozbiljnija komplikacija NAFLD, može nastati na terenu NASH-a bez prisutne ciroze jetre (23).

NAFLD je sporo progresivna bolest kako kod odraslih, tako i kod dece, s'tim što se fibroza može brzo razviti kod ~20% obolelih (24). Stopa progresije za svaki stadijum fibroze kod obolelih od NAFLD iznosi oko 14 godina, dok je kod obolelih od NASH taj period dvostruko kraći (oko sedam godina). Takođe, u slučajevima prateće arterijske hipertenzije, taj period se dvostruko skraćuje (24). Faktori sredine, poput ishrane, fizičke aktivnosti, prisustva endokrinih poremećaja, disbioze mikrobiota gastrointestinalnog trakta (GIT), kao i genetski faktori mogu imati značajnu ulogu u nastanku, razvoju, kao i prognozi NAFLD/NASH (25).

Patogeneza NAFLD još uvek nije u potpunosti razjašnjena. Postoji teorija koja smatra da se patogeneza NAFLD odvija kroz dva koraka („teorija dva udarca“). U prvom koraku, abdominalna gojaznost i/ili IR doprinose smanjenju inhibicije lipolize u visceralnom masnom tkivu, što dovodi do povećanog influksa slobodnih masnih kiselina (SMK) u jetru i njene sledstvene steatoze (26). Nastala steatoza jetre dodatno doprinosi i povećanju *de novo* lipogeneze karakteristične za obolele od NAFLD, pri čemu je efluks lipida u obliku lipoproteinskih čestica velike gustine (engl. *High-Density Lipoprotein*, HDL) redukovano zbog nedovoljne sinteze apoB komponente lipoproteina (27). Akumulacija tri-acilglicerola dovodi do narušavanja insulin-zavisnog hepatičnog energetskog metabolizma (28), sa poremećajem hepatične glukoneogeneze i sinteze lipoproteina veoma male gustine (engl. *Very-Low Density Lipoprotein*, VLDL) (29). Drugi korak u patogenezi NAFLD je razvoj inflamacije i fibroze, odnosno progresija iz proste steatoze u NASH, koja se registruje u oko trećine obolelih od NAFLD (30, 31). Pored navedene „teorije dva udarca“, postoji i nova „teorija multiplih udaraca“, gde pored deponovanja triglicerida (Tg) i inflamacije, postoji i uticaj inflamazoma (32). Povećana aktivacija NLRP3 inflamazoma je povezana sa razvojem brojnih bolesti, poput ateroskleroze, NAFLD, T2DM i brojnih drugih (33). Inflamazomi predstavljaju senzorni sistem urođene imunosti, koji je definisan receptorima sposobnim da prepoznaju određene modele prepoznavanja (engl. *Pattern-Recognition Receptors*, PRRs), poput molekularnih modela vezanih za patogene (engl. *Pathogen-Associated-Molecular Patterns*,

PAMPs) i nepatogene, tj. oštećenja (engl. *Damage-Associated-Molecular Patterns*, DAMPs) (34). Tako PRRs mogu da prepoznaju i PAMPs i DAMPs. Najpoznatiji PRRs je citoplazmatski NOD-like receptor P3 inflamazom, koji je uključen u patogenezu već pomenutih metaboličkih, ali i inflamatornih, malignih, degenerativnih i brojnih drugih bolesti (35). Ovaj proteinski kompleks po prepoznavanju liganda (PAMPs ili DAMPs), a potom po aktivaciji, tj. transkripciji i sjedinjavanju komponenti NLRP3 inflamazoma, dovodi do aktivacije kaspaze-1. Kaspaza-1 je enzim koji vrši aktivaciju proformi interleukina (IL)-1 β i IL-18 u aktivne forme, koje se sekretuju iz makrofaga, ali i gasdermina D, koji je zadužen za brzu inflamatornu formu programirane ćelijske smrti, tzv. piroptoze (33, 36). U kontroli aktivnosti inflamazoma, značajnu ulogu igraju i nuklearni receptori - superfamilija transkripcionih faktora (37), poput PPARs (engl. *Peroxisome Proliferator Activated Receptors*), kao i brojni drugi receptori. Pomenuti receptori mogu biti značajne terapijske mete, kojima se može kontrolisati aktivnost inflamazoma i na taj način uticati na brojne bolesti koje su povezane sa izmenom njegove aktivnosti. Eksperimentalnom primenom agonista PPAR β/γ na modelima pokazana je inhibicija aktivnosti kaspaze-1 i sekrecije IL-1 β , čime se usporava ili sprečava progresija NAFLD i NASH u fibrozu (38). Progresija NAFLD u NASH može biti uslovljena povećanom ekspresijom NLRP3 inflamazom-kompleksa (39, 40), a njegovom farmakološkom inhibicijom ili eksperimentalno (na modelima *knockout* miševa) se postiže smanjenje hepatične steatoze, inflamacije i fibrogeneze (41, 42). Takođe, NASH može nastati direktno, bez prethodne hepatične steatoze, što govori u prilog tome da nastanak inflamacije u NASH-u može poticati od odgovora GIT mikrobiota na hemokine neutrofila, makrofagni inflamatorni protein-2, inflamirano masno tkivo i cirkulišuće inflamatorne ćelije (43). Imajući u vidu sve prethodno rečeno, danas se smatra da je za nastanak NAFLD odgovorno više faktora, odnosno patogeneza NAFLD se smatra multifaktorijelnom. Kod osoba sa genetskom predispozicijom i neadekvatnim životnim navikama u smislu ishrane i fizičke aktivnosti, postojanje IR, inflamacije, lipotoksičnosti i efekta GIT mikrobiota takođe doprinose nastanku i razvoju NAFLD (8, 44, 45).

Nekoliko patofizioloških mehanizama učestvuje u nastanku i razvoju NAFLD/NASH-a, kao što su: inflamacija, oksidativni stres (OS) i IR (46). Osnovna metabolička karakteristika NAFLD je disbalans hepatičnog energetskeg metabolizma uzrokovanog intrahepatičnim nagomilavanjem triglicerida (Tg) posredovanog stanjem IR (47). Intrahepatična akumulacija lipida nastaje kao posledica poremećaja metabolizma lipida kod obolelih sa NAFLD, pri čemu prvo nastaje povećana lipoliza u masnom tkivu, potom povećano preuzimanje SMK u jetri, povećana produkcija VLDL lipoproteina, ali i smanjena oksidacija SMK u jetri kao i eksport Tg (48). Smatra se da najvažniju ulogu u inicijalnoj fazi patogeneze NAFLD imaju SMK, faktor tumorske nekroze α (engl. *Tumor Necrosis Factor α* , TNF α), kao i adipokini (49). Insulin omogućava esterifikaciju SMK i deponovanje Tg u masnom tkivu. Razvojem IR dolazi do nastanka nepovoljnog, reverznog pravca kretanja SMK ka neadipoznim tkivima, poput jetre. Tako se javlja povećan influks SMK u jetru, uzrokovan kako smanjenom inhibicijom lipolize, tako i povećanjem *de novo* sinteze SMK. Kod obolelih od NAFLD postoji smanjen nivo hepatoprotektivnih adipokina, poput adiponektina, što doprinosi nagomilavanju masti u jetri. Povećano prisustvo SMK u jetri aktivira produkciju TNF α u hepatocitima, što ima za posledicu inhibiciju hepatične aktivnosti adiponektina, ali i promociju NAFLD i hepatične IR (49, 50). Poremećaj metabolizma lipida je povezan sa indukcijom inflamacije i oksidativnim stresom, kao i promenama u produkciji adipokina, što sve zajedno utiče na brojne signalne puteve (51, 52). Pored toga u patofiziološkom mehanizmu nastanka NAFLD su uključeni i brojni citokini (TNF α , IL-1, IL-6), C-reaktivni protein (CRP), kao i GIT mikrobiota (53).

Inflamacija i oksidativni stres (OS). Inflamacija u masnom tkivu prethodi hepatičnoj inflamaciji (20). Povećano preuzimanje SMK od strane hepatocita, bez β -oksidacije, dovodi do povećane produkcije i deponovanja Tg u hepatocitima, kao i povećanom efluksu VLDL

lipoproteina, nadalje doprinoseći razvoju steatoze (54). Visceralno masno tkivo predstavlja značajan izvor reaktivnih kiseoničnih vrsta (engl. *Reactive Oxygen Species*, ROS), proinflamatornih adipokina, kao i citokina (55). Reaktivne kiseonične vrste utiču na signalne puteve, povećavaju influks SMK u jetru, *de novo* lipogenezu i deponovanje Tg, dovodeći do morfološko-funkcionalne promene hepatocita i favorizacije nastanka apoptoze (56). Stepenu ispoljenosti OS, koji takođe značajno doprinosi patogenezi NASH-a, je srazmeran stepenu ispoljenosti inflamacije i izraženosti fibroze (57, 58).

Fibroza i patogeneza NASH-a. NASH je uznapredovala forma NAFLD, koju karakteriše inflamacija sa ili bez prisustva fibroze u histološkim analizama bioptata jetre (59). Kod 1/3 obolelih sa NAFLD, bolest progredira ka fibrozi, druga trećina perzistira u stabilnoj formi, dok treća trećina rezoluiru (60). S'obzirom da će se kod 40% obolelih od NAFLD razviti NASH, a zatim i verovatno i fibrozu, povećanje kardiovaskularnog KV rizika kod takvih bolesnika iznosi ~350% (43). Progresija hepatične bolesti je često povezana sa pogoršanjem metaboličkih parametara, poput HOMA IR (engl. *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*), surogat markera IR (61).

Progresija NAFLD/NASH u fibrozu se ne javlja kod svih obolelih (62). Rizik od fibroze je u određenom stepenu genetski determinisan, tako da pojedine genetske determinante, poput pojedinačnih nukleotidnih polimorfizama (engl. *Single Nucleotide Determinants*, SNPs), utiču na povećanje incidence i progresije fibroznog procesa (63). Tako polimorfizam na PNPLA-3, sa zamenom izoleucina sa metioninom na 148 kodonu, dovodi do smanjenja lipolize Tg u hepatocitima. U slučaju promene glutamata u lizin na kodonu 167 na TM6SF2, dolazi do smanjenja eksporta VLDL lipoproteina iz jetre (63). Oba pomenuta polimorfizma su povezana sa većim rizikom od nastanka steatoze, NASH-a, ciroze i HCC (63). Klinički pokazatelji koji ukazuju na povećan rizik od fibroze su povišeni nivoi transaminaza, pogoršanje IR, porast u telesnoj težini (>5 kg), snižen broj trombocita, pogoršanje steatoze jetre (bilo skora steatoze, bilo analizom bioptata jetre), pojava T2DM kao i povećanje Fib-4 skora (64).

Stepenu fibroze jetre određuje klinički ishod obolelih od NAFLD/NASH (65), što nije slučaj sa NAFLD-om, koji kod poređenja obolelih sa opštom populacijom, ne utiče na povećanje opšteg, KV ili hepatičnog mortaliteta (43). Pored fibroze, značajan prateći faktor koji doprinosi povećanju mortaliteta je hronična bolest bubrega (HBB). Utisak je da hronična hepatična bolest i HBB progrediraju istovremeno kod obolelih od NAFLD/NASH (43).

Kod obolelih od NAFLD, jedan od doprinosećih faktora za nastanak i razvoj fibroze je i narušen profil produkcije i sekrecije adipokina: povišen nivo leptina i snižen nivo adiponektina (51). Leptin stimuliše fibrogenezu aktivacijom Kupferovih i sinusoidalnih endotelnih ćelija sa sledstvenim povećanjem produkcije transformišućeg faktora rasta- $\beta 1$ (engl. *Transforming Growth Factor $\beta 1$* , TGF- $\beta 1$), ali i indukujući proliferaciju i inhibirajući apoptozu hepatičnih stelatnih ćelija (HSC) (66). Adiponektin deluje hepatoprotektivno i antifibrozo modulirajući funkcionalnost HSC, koje ekspimiraju adiponektinske receptore. Insulin potencira umnožavanje HSC, kao i sintezu i oslobađanje citokina sa prokolagenim i profibrogenim karakteristikama (67).

Savremen koncept narušenosti homeostaze i balansa GIT mikrobiota smatra se veoma značajnim faktorom za nastanak i razvoj fibroze obolelih od NAFLD/NASH-a (68). Prevalencija Gram negativnih nad Gram pozitivnim bakterijama, *Bacteroides*-a, kao i povećan broj bakterija koje razlažu mucin, narušavaju integritet GIT-hepatične barijere (69). To omogućuje nekontrolisan prolaz bakterija i njihovih toksina, kao i fragmenata u portalni sistem i dalje u jetru, gde u hepatocitima aktiviraju nuklearni faktor κB (NF κ B)-zavisne signalne puteve, bilo putem aktivacije receptora na površini membrane ili u samoj ćeliji (engl. *NOD-Like Receptors*, NLRs), koji su povezani sa inflamazomima. Kada su aktivirani, ovi proteinski kompleksi promovišu apoptozu i oslobađanje citokina iz inflamatornih ćelija. Pojačana aktivnost inflamazoma se kod obolelih od NAFLD/NASH-a povezuje sa IR,

povišenim nivoima SMK, kao i povišenim nivoom leptina i sniženim nivoom adiponektina (69-71). Inflamazomi i lipopolisaharidi bakterija mogu direktno delovati na HSC i Kupferove ćelije i tako stimulisati produkciju glatkomišićnog aktina, TGF- β 1 i kolagenih vlakana i dovesti do nastanka i razvoja fibroze. Pored toga, GIT mikrobiota narušavaju strukturu žučnih soli, koje tako izmenjene dodatno doprinose nastanku i pogoršanju fibroze jetre (8).

Krajnji stadijum morfološko-funkcionalne dezintegracije hepatocita je njihova smrt. Kod obolelih od NAFLD/NASH je povećana apoptoza hepatocita, dok porast nivoa serumskog feritina može ukazivati na progresiju u NAFLD u NASH (72).

1.1.3. Klinička slika i prezentacija

NAFLD se obično prezentuje asimptomatski, dok se biohemijski povremeno prezentuje lako povišenim nalazima serumskih transaminaza (10), što govori u prilog da serumске transaminaze nisu senzitivni markeri prisustva NAFLD (10, 73). U slučajevima uznapredovale bolesti, prisustva NASH-a, fibroze i ciroze jetre, prisutnost kliničkog ispoljavanja je znatno veća nego u slučajevima izolovanog NAFLD. Povremeno, to može biti bol pod desnim rebarnim lukom, mučnina, nagon na povraćanje, pojava funkcionalnih gastričnih ili crevnih smetnji, kao i žutica. Sa razvojem dekompenzovane bolesti jetre, nastaju sve kliničke manifestacije dekompenzovane ciroze jetre. Pojava neobjašnjive febrilnosti, gubitka u telesnoj težini ili hemoragični ascites mogu ukazati na najtežu komplikaciju NAFLD, HCC, koji se u biohumoralnom sindromu može prezentovati porastom alfafetoproteina (10).

1.1.4. Dijagnostika

Skrining. Osobe sa IR i/ili metaboličkim faktorima rizika (gojaznost, MetS) trebalo bi da budu skriningovane na prisustvo NAFLD, dok bi obolele sa NAFLD trebalo skriningovati na prisustvo MetS i takođe podvrgnuti proceduri za otkrivanje sekundarnih uzroka NAFLD i upotrebi alkoholnih pića (7). Uprkos velikoj prevalenci, najveći broj vodiča, uključujući i nacionalne, ne preporučuje skrining na NAFLD/NASH. Međutim, kod obolelih sa dijagnostikovanim NAFLD/NASH-om se preporučuje skrining na prisustvo fibroze (62). Određivanje nivoa transaminaza i sprovođenje ultrazvučnog pregleda (UZ) jetre su se pokazali nedovoljno senzitivnim za detekciju NAFLD. Kod većine obolelih od NAFLD funkcionalni testovi jetre su se pokazali urednim u 79% slučajeva, uključujući i značajan broj obolelih od NAFLD sa uznapredovalim stadijumima fibroze (74). Međutim, za detekciju NAFLD ultrazvukom (UZ) jetre je neophodno prisustvo umereno visokog udela masti u jetri. Smatra se da su ovo verovatni razlozi zbog kojih se odustalo od sistemskog skrininga na NAFLD/NASH (62).

Dijagnoza NAFLD. Dijagnoza NAFLD zahteva isključivanje njegovih sekundarnih uzroka (alkoholna i metaboličke bolesti jetre, medikamentozni i virusni hepatitisi, urođene bolesti metabolizma, hipotireoza, hipopituitarizam, gladovanje, parenteralna nutricija), kao i svakodnevno konzumiranje alkoholnih pića u ranije pomenutim količinama (75). NAFLD se može detektovati UZ kao i magnetnom rezonancom (MR) (7). UZ jetre ima očekivano manju senzitivnost u detekciji steatoze i nije pouzdana metoda kada je udeo steatoze <20% ili kad se primenjuje u dijagnostici kod gojaznih osoba sa indeksom telesne mase (ITM) >40kg/m² (76). Pored UZ jetre, na prisustvo steatoze mogu ukazati i neinvazivni skorovi, poput indeksa masne jetre (*engl. Fatty Liver Index, FLI*). (77). Međutim, osnovno ograničenje ovih skorova je što oni ukazuju samo na prisustvo, ali ne i na težinu steatoze (7, 77), ali su korisni kada UZ jetre nije dostupan ili, pak, nije izvodljiv (77). Najpreciznija neinvazivna kvantitativna procena udela jetrine masti se dobija ¹H-MR spektroskopijom, koja se smatra neinvazivnim zlatnim standardom za merenje udela masti u jetri, a inače nije rutinska dijagnostička

procedura (7, 78), dok je invazivna procena omogućena histološkom analizom bioptata jetre (79).

Dijagnoza NASH-a. Definitivna dijagnoza NASH-a se može postaviti samo histološki, analizom uzorka dobijenog biopsijom jetre (7, 17). Značaj dijagnoze NASH-a je prevashodno prognostički, zbog njegove moguće progresije u fibrozu, cirozu jetre i HCC (7, 80).

Algoritam. Današnje preporuke predlažu UZ jetre kao prvi metod u detekciji NAFLD-a (7), dok su MR metode mnogo preciznije, ali i mnogo manje dostupne za detekciju i kvantifikaciju steatoze jetre (81). Po detekciji NAFLD, pažljivo uzimanje podataka iz lične i porodične anamneze ima za cilj da isključi sekundarne uzroke nastanka NAFLD. Istovremeno se sprovodi temeljna evaluacija komponenti MetS (7). Neinvazivni (surogat) skorovi fibroze (npr. fibroza 4 (Fib-4) skor) treba da se izračunaju već na primarnom nivou zdravstvene zaštite kod svakog ispitanika, sa ciljem da se isključi postojanje značajne fibroze (stadijum $F \geq 3$) (7, 82). Ukoliko neinvazivni testovi ukazuju na visok ili umeren rizik od ozbiljne fibroze, oboleli od NAFLD/NASH se upućuju na dalju dijagnostiku, koja se sastoji ili u primeni drugog, obično biohemijskog testa, kojim se meri nivo komponenti ekstraćelijskog matriksa (npr. ELF test u okviru Fibrometer-a) ili tranzitornu elastografiju (TE) jetre. TE jetre je najbolje validirana i aktuelno najviše primenjivana metoda, gde mera elastičnosti jetre (engl. *Liver Stiffness Measurement*, LSM) < 8 kPa isključuje značajnu fibrozu, $> 9,5(10)$ kPa ukazuje na značajnu fibrozu ili kompenzovanu hroničnu hepatičnu bolest, dok > 15 kPa ukazuje na cirozu jetre (83). Kod onih kod kojih je test drugog nivoa potvrdio uznapredovalu hroničnu hepatičnu bolest, oboleli treba da se upute hepatologu, sa ciljem daljeg praćenja rizika od progresije u cirozu i detekcije portne hipertenzije i komplikacija hronične bolesti jetre (ezofagealni variksi i HCC) (84). S'obzirom da neinvazivni testovi imaju osrednju prediktivnu moć za detekciju ciroze jetre, ukoliko se kod obolelih neinvazivnim metodama posumnja na postojanje ciroze jetre, obolele treba uputiti hepatologu radi sprovođenja invazivne dijagnostike- biopsije jetre, kao zlatnog standarda za detekciju i stratifikaciju fibroze i ciroze jetre (85).

Ukoliko se značajna fibroza ne može isključiti neinvazivnim skorovima fibroze, bolesnika treba uputiti hepatologu radi sprovođenja TE. Ako se na taj način potvrdi značajna fibroza, bolesnik se upućuje na biopsiju jetre, radi dobijanja uzorka za postavljanje definitivne histološke dijagnoze (7). Kod žena sa PCOS se preporučuje UZ jetre uz određivanje neinvazivnih markera steatoze i fibroze. Žene sa PCOS i sa postojanjem sumnje na progresiju NAFLD-a, treba uputiti na biopsiju jetre. Hiperandrogeni fenotipovi PCOS pokazuju veću sklonost ka nastanku i razvoju NAFLD u odnosu na normoandrogene, stoga je veliki značaj primene metformina kod žena sa PCOS/NAFLD (10).

Prisustvo fibroze je najznačajniji prognostički faktor u NAFLD-u, jer određuje ishod bolesti i rizik od mortaliteta. Rizični faktori za nastanak i razvoj fibroze jetre su godine života (> 50 godina), T2DM i genetska predispozicija (62). Iako je histološki nalaz najmerodavniji za ocenu prisustva i težine fibroze, primenom jednostavnih neinvazivnih skorova fibroze, koji se konstruišu na osnovu algoritama sa primenom određenih serumskih markera, moguće je detektovati prisustvo fibroze i oceniti rizik od potencijalno ozbiljnog toka bolesti (80). Upotrebom TE može se dopuniti tačnost neinvazivnih skorova jer se TE pokazala senzitivnijom za detekciju ciroze jetre (stadijum F4 fibroze), nego u slučajevima uznapredovale fibroze (stadijum F3) (86). Kombinovanje neinvazivnih skorova fibroze i TE povećava dijagnostičku tačnost za fibrozu i tako doprinosi smanjenju broja biopsija jetre (7). Takođe, detekcija ili visoka sumnja na progresiju fibroze ili pojavu ciroze primenom neinvazivnih skorova fibroze i TE, treba da ukaže kliničaru na neophodnost biopsije jetre u cilju najmerodavnije histološke diferencijalne dijagnoze (7).

Značaj neinvazivne dijagnostike. Neinvazivnom dijagnostikom su obuhvaćene NAFLD, NASH, ali i fibroza (7). Ukoliko se NAFLD/NASH dobro ocene neinvazivnom

dijagnostikom, redukuje se potreba za biopsijom jetre. Upravo stoga se tragalo za neinvazivnim metodama za dijagnostiku NAFLD. Postojeće vizuelizacione metode uključuju UZ jetre, potom kompjuterizovanu tomografiju (CT), MR, kao i ¹H-MRS, koje imaju senzitivnost u detekciji steatoze od 80 do 94% (10, 87). Ni jedna od ovih metoda ne detektuje fibrozu i ne može razlikovati NAFLD od NASH-a (73).

Kombinacijom seroloških markera i neinvazivnih imidžing metoda značajno se dobija na poboljšanju senzitivnosti u dijagnostici NASH-a i fibroze, ali i omogućava adekvatnu selekciju bolesnika iz ove grupe za invazivnu dijagnostiku (88). Prvobitni pokušaji da pojedinačni biohemijski markeri omoguće jasnu distinkciju između NAFLD i NASH-a ili, pak, ukažu na fibrozu jetre su odavno napušteni. Među pojedinačnim markerima, zadovoljavajući značaj u razlikovanju NAFLD od NASH-a bez fibroze je pokazao prokalgen tip III-amino-terminalni peptid (89). Međutim, povezivanjem nekolicine seroloških markera koji se najčešće koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi u formulisane algoritme ili internet-kalkulatore, značajno se pomoglo izabranom lekaru u izboru aktivnosti mera koje treba sprovesti za svakog bolesnika ponaosob. Od brojnih markera i skorova, neki si korišćeni i u ovoj studiji- FLI za ocenu prisutnosti steatoze, odnosno Fib-4 za ocenu prisutnosti ozbiljne fibroze (stadijum F \geq 3) (90, 91), pri čemu se literaturno Fib-4 pokazao kao veoma pouzdan skor za dijagnozu NASH-a (AUROC 0,86-0,90) (91).

Imidžing modaliteti dijagnostike fibroze uključuju TE i merenje kontrolisanog parametra atenuacije (engl. *Controlled Attenuation Parameter*, CAP). U odnosu na MR metode, TE i CAP su se pokazali manje značajnim u detekciji fibroze (92). Merenje udela masti u jetri, ali ne i NASH-a, sa visokom senzitivnošću i specifičnošću procenjuje MR metoda merenja frakcije masti (engl. *Magnetic Resonance Imaging Proton Density Fat Fraction*, PDFF), koja nije rutinska dijagnostička metoda (93).

Najčešće korišćena neinvazivna vizualizaciona metoda za detekciju i procenu težine fibroze je TE (94), za koju je pokazano da ima dijagnostičku tačnost u identifikaciji prisustva fibroze kod obolelih od NAFLD/NASH (86). Tranzitorna elastografija, kao i modifikacije elastografske metode („*real-time*“ elastografija udarnog talasa ili magnetna elastografija) su se pokazale neprikosnovanim u merenju elastičnosti jetre, koja je u direktnoj korelaciji sa fibrozom jetre (95). Limitacija TE je otežana izvodljivost kod gojaznih bolesnika (96), koja je delom prevaziđena primenom modifikacije metoda, koje su veoma skupe i dostupne malom broju obolelih (95, 97).

Invazivna dijagnostika - biopsija jetre. Biopsija jetre je zlatni standard za dijagnozu NAFLD, NASH i fibroze jetre (10). Brojnost obolelih od NAFLD, invazivnost biopsije jetre kao procedure, greške u uzorkovanju, intra/interopservacione razlike u interpretaciji histološkog nalaza predstavljaju samo neke od limitacija za široku upotrebu biopsije jetre u dijagnostici NAFLD (98). Najčešće komplikacije biopsije jetre su bol na mestu uboda (kod ~20% bioptiranih), kao i krvarenje i hemobilija (kod ~0,5% bioptiranih) (99). Histološkom analizom bioptata jetre dobija se najmerodavnija slika o postojanju NAFLD, NASH-a i detekciji i stratifikaciji stepena fibroze. NAFLD se histološki definiše kao prisustvo steatoze u >5% hepatocita. Lipidi su deponovani u vidu velikih kapljica, koje potiskuju jedro ka periferiji ćelije (tzv. makrovezikularna steatoza). Kod odraslih, steatoza obično počinje oko centralne vene (zona 3). Kod 10-20% obolelih sa NAFLD progredira u NASH, koji pored makrovezikularne steatoze definišu i inflamacija i baloniranje hepatocita predominantno u zoni 3. Lobularni infiltrat je prevashodno sastavljen iz limfocita i Kupferovih ćelija. Hronične lezije dovode do nastanka fibroze jetre, koja počinje oko centralne vene, dok portalna i periportalna fibroza nastaju kasnije, sa mogućim razvojem posledične bridžing fibroze i ciroze (17). Fibroza jetre se definiše po stadijumima F0-4, pri čemu unzapredovale forme pripadaju stadijumima F3 i 4 (31). Svi histološki nalazi u jetri nastaju u odsustvu upotrebe alkoholnih pića ili ostalih uzroka hronične bolesti jetre (100). Na histološku diferencijalnu dijagnozu između NASH-a i alkoholnog steatohepatitisa (ASH) ukazuje pojava „satelitoze“-

okruživanje baloniranih hepatocita granulocitima, uz obilno prisustvo Mallory-Denkovich telašaca, koja su patognomonična za ASH (17).

Praćenje obolelih od NAFLD, NASH-a i fibroze jetre. Praćenje bolesnika se sprovodi primenom rutinske laboratorije, komorbiditeta, kao i neinvazivnim praćenjem fibroze. Oboleli od NAFLD bez metaboličkih ko-morbiditeta ili njihovih pogoršanja, treba da se prate na 2-3 godine, dok oboleli sa NASH-om i/ili fibrozom na godišnjem nivou. Osobe sa postojanjem ciroze na terenu NASH-a treba da se prate na 6 meseci, a re-biopsije jetre, ukoliko su neophodne, mogu da se ponavljaju na pet godina (7). Savetuje se redovan skrining na ostale komponente MetS (hipertenzija, T2DM), kao i ostale ekstrahepatične manifestacije i komplikacije, posebno u slučajevima dužeg trajanja NAFLD/NASH (101).

1.1.5. Lečenje

Lečenje NAFLD/NASH ima za cilj poboljšanje ishoda bolesti - smanjenje stope hepatičnog i KV morbiditeta i mortaliteta (7). Primenjuju se sledeće mere: a) promena životnih navika (korekcija ishrane i fizička aktivnost), b) farmakoterapija, c) barijatrijska hirurgija i transplantacija jetre, d) ostala i inovativna terapija (7, 46). Primarna terapijska opcija kod obolelih sa NAFLD/NASH-om je redukcija telesne težine, pri čemu, aktuelno, primenjena farmakološka terapija daje relativno male i skromne učinke (102). Najbolji i najefikasniji terapijski pristup u lečenju obolelih od NAFLD/NASH je multifaktorsko lečenje, koje obuhvata nefarmakološke i farmakološke mere tretmana pojedinačnih komponenti MetS (dislipidemija, hiperglikemija, hipertenzija) (46).

Nefarmakološke mere. Uska povezanost između neadekvatne ishrane i fizičke neaktivnosti i postojanja NAFLD stavlja njihovu korekciju na prvo mesto u tretmanu NAFLD (103). Pokazano je da je redukcija telesne težine za 5-7% primenom higijensko-dijetetskog režima i promenom fizičke aktivnosti, dovela do rezolucije NASH-a kod 26% obolelih, odnosno fibroze kod 18% obolelih (104, 105). Mediteranska dijeta je pokazala bolje rezultate u redukciji udela hepatične masti od niskomasne dijete, iako je gubitak u telesnoj težini sličan (106). Zabrana upotrebe alkohola ili, smanjenje njegove upotrebe dovodi do poboljšanja histološke slike NAFLD/NASH (<30gr dnevno kod muškaraca, odnosno <20 gr dnevno kod žena) (7). Individualan pristup za korekciju fizičke neaktivnosti, uz dozirano povećanje aerobnih i vežbi istezanja je važna karika svakog nefarmakološkog tretmana NAFLD/NASH (107).

Farmakoterapija. Farmakoterapija bi trebalo da bude rezervisana za tretman obolelih od NAFLD/NASH-a, prevashodno u slučajevima postojanja značajne fibroze (stadijum F \geq 3) ili udruženosti NASH-a sa MetS, T2DM ili perzistentno povišenim transaminazama (7, 108). Koliko dugo lečiti lekovima obolelog sa NAFLD/NASH-om je još uvek nepoznanica. Ukoliko se kod obolelih nakon šest meseci primene tretmana NAFLD/NASH-a povišen nivo transaminaza nije normalizovao, savetuje se prekid lečenja. Obolelim koji su imali normalne nivoe transaminaza na početku lečenja za sada nije moguće dati precizne preporuke u pogledu trajanja dužine lečenja (7).

Pored nefarmakoloških mera, ni jedna strukovna organizacija niti udruženje nisu definisali čvrste farmakološke preporuke za lečenje NAFLD/NASH. Stoga se svi lekovi primenjuju *off-label*, osim u slučajevima tretmana T2DM, kada antihiperglikemici i insulinski senzitivatori mogu imati efekta u tretmanu pridružene NAFLD/NASH (109). Primena farmakoterapije je po preporukama rezervisana u slučajevima NASH-a sa visokim rizikom od fibroze, aktivnog NASH-a sa povećanom inflamatornom aktivnošću, kao i progresivnog NASH-a sa prelaznom (*engl. bridging*) nekrozom i cirozom (7).

Osnovu farmakoterapije čine: 1) insulinski senzitivatori, 2) antioksidansi i citoprotektivi, 3) hipolipemici, 4) kao i ostali lekovi. U novije vreme, značajan udeo imaju eksperimentalne terapije (7).

Insulinski senzitivatori. Upotreba *metformina* je ograničena kod obolelih od NAFLD, ali je terapija izbora kod obolelih sa PCOS i NAFLD (7, 10, 110). Metformin smanjuje insulinsku rezistenciju i koriguje izmenjen hepatogram, ali su kontroverzni njegovi učinci na poboljšanje histološkog nalaza bioptata jetre obolelih od NAFLD/NASH (111). *Tiazolidindioni (TZD)* su agonisti PPAR γ receptora, koji su glavni regulatori transdiferencijacije preadipocita u insulin-senzitivne adipocite koji deponuju masti (7), a ujedno su i veoma značajni insulinski senzitivatori (7). Pored toga, PPAR γ agonisti smanjuju fibrozu jetre, tako što inhibiraju diferencijaciju HSC u aktivirane miofibroblaste (7). Za *pioglitazon* je pokazano da popravljaja histološku sliku lobularne inflamacije u NASH-u, ali je još uvek diskutabilno da li smanjuje i fibrozu (112, 113), (114). Pored toga, pioglitazon koriguje lipidogram, tako što smanjuje nivo ukupnog holesterola i Tg, ali i povećava nivo protektivnih HDL lipoproteinskih partikula (115). Aktuelno se pioglitazon prevashodno koristi kod obolelih sa NAFLD/NASH-om, udruženim sa poremećajem metabolizma glukoze (poremećaj glikemije naše, poremećaj glukozne tolerancije, T2DM ili MetS) (7, 113). Potencijalni neželjeni efekti upotrebe pioglitazona su srčana slabost ili njeno pogoršanje, prelomi i moguć karcinom mokraćne bešike (116). Iako je tretman pioglitazonom *off-label* kod obolelih od NAFLD/NASH bez T2DM, njegova samostalna ili kombinovana kratkoročna primena sa vitaminom E je dala povoljne rezultate (108). Iako je kombinovana primena pioglitazona i vitamina E pokazala efekat u redukciji udela hepatične masti i inflamacije, nije registrovan učinak na fibrozu (112). Noviji selektivni modulatori PPAR γ receptora (SMPPAR) imaju poboljšan bezbedonosni profil u odnosu na agoniste PPAR γ receptora, smanjuju inflamaciju u jetri, modifikuju nivo lipida, ali i povećavaju nivo adiponektina, koji je snižen kod gojaznih bolesnika i obolelih od NAFLD/NASH (51, 117).

Vitamini. Vitamin E je pokazao pozitivne efekte u smislu poboljšanja steatoze i inflamacije kod 1/3 obolelih od NASH-a (112). Iako su retki, potencijalni neželjeni efekti prilikom njegove primene se moraju uzeti u obzir: hemoragijski moždani udar i karcinom prostate kod mlađih muškaraca (118).

Hipolipemici. Statini se mogu koristiti bezbedno u NAFLD, bez povećanja rizika od hepatotoksičnosti, uz čak, snižavanje nivoa povišenih transaminaza (119). Učinak statina je značajan u redukciji steatoze, inflamacije i fibroze jetre, pa čak i do potpune rezolucije NASH-a po patohistološkim studijama (119-121). Najveći broj studija se odnosi na primenu i efekte atorvastatina i rosuvastatina, gde je uz bezbedan profil pokazan i njihov koristan učinak u redukciji KV događaja (122), delujući na smanjenje nivoa LDL partikula male gustine i postprandijalne lipemije, kao i prevalence HBB (123, 124). Veoma je značajan učinak statina na markere supkliničke ateroskleroze i endotelne disfunkcije, npr. brzine pulsno talasa (engl. *Pulse Wave Velocity*, PWV) (125). Takođe, statini utiču i na smanjenje rizika od hepatičnog morbiditeta kod obolelih od NAFLD/NASH-a, poput portne hipertenzije (7, 126).

Strah od upotrebe statina, prevashodno zbog oštećenja jetre, doveo je do toga da se veoma mali broj (čak i <10%) obolelih od NAFLD tretira statinima uprkos veoma visokom KV riziku, iako je bezbednost statina primenjenih kod ovih bolesnika potvrđena nekolicinom studija, trajanja tri do pet godina (127-131). Bezbednost statina je dokumentovana čak i u slučajevima kada su transaminaze umereno povišene (do trostruke vrednosti gornjih referentnih vrednosti) (132, 133). Od ostalih hipolipemika, efekat u korekciji biohemijskih pokazatelja i IR, kao i poboljšanje histološke slike kod obolelih od NAFLD/NASH je pokazao *ezetimib*, inhibitor intestinalne lipaze (134, 135). U slučajevima kombinovanja terapije statinima i ezetimibom, pokazan je aditivan učinak na biohemijske parametre i histološku sliku kod obolelih od NAFLD/NASH (136). Konačno, pri primeni *fibrata* zabeležen je uticaj na korekciju lipidskih i hepatičnih biohemijskih parametara, ali ne i na steatozu i fibrozu (46, 137). Studije su pokazale kontroverzne rezultate u pogledu učinka *niacina* na udeo masti u jetri (138).

Ostali lekovi. Primena receptorskih agonista peptida poput glukagona (engl. *glucagon-like peptide 1 receptor agonist*, GLP1RA), poput liraglutida i semaglutida, dala je povoljne rezultate kod obolelih od PCOS i NAFLD (139), dok su u slučajevima NASH-a rezultati bili delimično zadovoljavajući (43). Sami GLP1RA-i ostvaruju svoj povoljan efekat na NAFLD/NASH bilo direktno, uticajem na metabolizam lipida i inflamaciju u jetri, ili indirektno, delujući na metabolizam glukoze i insulinsku senzitivnost (140). Međutim, kod obolelih sa T2DM i NAFLD/NASH-om, primena liraglutida je pokazala rezultate slične prilikom primene metformina u pogledu redukcije udela masti u jetri, telesne težine, nivoa glikoziliranog hemoglobina (HbA1c), kao i nivoa jetrinih enzima, ali koji su bolji u komparaciji sa gliklazidom (141).

Inhibitori dipeptidil peptidaze 4 (engl. *Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors*, DPP-4i) ispoljavaju indirektan inkretinski efekat tako što blokiraju enzim koji učestvuje u razgradnji inkretina (109). Poznato je da je ekspresija DPP-4i povećana u jetri u hepatičnim bolestima (142). Manje opservacione studije su pokazale da sitagliptin nakon primene u trajanju od šest meseci nije bolji od placebo u smanjenju udela masti u jetri kod osoba sa MetS/T2DM i NAFLD, kao i da ne popravlja fibrozu u NASH-u (143). Mišljenje je da su efekti lekova sa inkretinskim učincima (GLP1RA i DPP-4i) kod obolelih od NAFLD/NASH prevashodno vezani za njihov efekat na redukciju telesne težine, pri čemu je taj efekat veći kod primene GLP1RA nego kod primene DPP-4i (144).

U eksperimentalnim studijama na animalnim modelima pokazano je da empagliflozin, kao pripadnik grupe inhibitora natrijum-glukoznog transportnog proteina dva (engl. *Sodium-glucose Transport Protein 2 Inhibitor*, SGLT2i) dovodi do promene ekspresije gena uključenih u procesu inflamacije, kao i do sinteze i oksidacije masnih kiselina, što bi moglo imati uticaja na poboljšanje NAFLD/NASH-a (145).

Ursodeoksiholna kiselina, n-3 polinezasićene masne kiseline (engl. *Polyunsaturated Fatty Acids*, PUFA), *vitamin D*, *polifenoli*, *minerali*, *pentoksifilin* i *orlistat* mogu poboljšati biohemijske, ali ne i histološke nalaze (7, 146, 147) kod obolelih od NAFLD/NASH. Na osnovu aktuelnih preporuka, primena pioglitazona i statina sa/bez ezetimiba je najčešća farmakološka opcija kod obolelih od NAFLD/NASH (32).

Hirurška terapija. Barijatrijska hirurgija je rezervisana bolesnike sa NAFLD/NASH-om kod kojih su nefarmakološki i farmakološki tretmani neuspešni (7). Pored efekta u redukciji telesne težine i boljoj kontroli dijabetesa, barijatrijskom hirurgijom se postiže i redukcija udela masti u jetri, histološka regresija NASH-a, čak i fibroze (7). *Transplantacija jetre* je procedura koja se koristi u završnoj fazi uznapredovale hepatične bolesti uzrokovane NASH-om i nalazi se na trećem mestu indikacija za transplantaciju jetre (7). Kandidati za transplantaciju jetre su oboleli od NASH-a sa pridruženom insuficijencijom jetre ili HCC (7).

Budućnost i nove perspektive u tretmanu NAFLD/NASH predstavlja primena *inovativne terapije*, poput mikro-RNK (miRs), targetiranja nukleusnih receptora, primene adiponektinskih receptorskih agonista, digestivnih probiotika, PCSK9 inhibitora (engl. *Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9*)-evalocumaba i alirocumaba (46).

1.2. Neinvazivni dijagnostički metodi: skorovi steatoze i fibroze jetre

Upravo zbog invazivnosti biopsije jetre, kao i velike zastupljenosti obolelih od NAFLD/NASH, bilo je neophodno definisati neinvazivne dijagnostičke metode za ranu detekciju, ali i monitoring progresije hepatične bolesti (148). Pored biohemijskih markera, kao i neinvazivnih vizualizacionih metoda, značajno mesto među neinvazivnim dijagnostičkim metodama zauzimaju neinvazivni skorovi kako steatoze, tako i fibroze jetre. Neinvazivne skorove čine kombinacija različitih seroloških markera i epidemioloških (najčešće demografskih ili antropometrijskih) parametara. Da bi se što jasnije i efikasnije ukazalo na pojavu ili progresiju hepatične bolesti, oni se upotpunjuju sa neinvazivnim vizualizacionim metodama (88). Neinvazivni skorovi mogu dati i informacije o postojanju

steatoze i time ukazati kliničaru da pacijenta uputi na UZ jetre ili mogu dati informacije o prisustvu fibroze jetre i njenoj ispoljenosti, što značajno određuje ne samo dalji tretman, nego i samu prognozu hepatičke bolesti (149).

Idealan neinvazivan dijagnostički metod za ocenu stepena hepatične fibroze treba da ima sledeće osobine: senzitivnost, specifičnost, dostupnost i primenljivost u različitim bolestima jetre. U kontekstu NAFLD, taj test bi trebalo da razlikuje NAFLD od NASH-a. Međutim, ni jedan od aktuelno korišćenih testova se ne uklapa u sve pomenute kriterijume (150). Senzitivnost i specifičnost neinvazivnih metoda $>85\%$ se smatra dovoljnim u smislu detekcije postojanja lažno pozitivnih i lažno negativnih slučajeva. Pored toga, neinvazivni testovi se mogu ponavljati tokom vremena, dok se u slučajevima nedefinisanih rezultata mogu kombinovati dva ili više testova uz dopunu neinvazivnih vizualizacionih metoda (149). Sve ove neinvazivne metode su namenjene detekciji značajne fibroze (stadijum $F\geq 3$), ali nisu dovoljno senzitivne za identifikaciju nižih stadijuma fibroze (149, 151). Takođe, nijedna od neinvazivnih metoda nema željenu tačnost u detekciji i oceni ispoljenosti fibroze da bi mogao zameniti biopsiju jetre i histološku analizu bioptata i pored postojanja grešaka u uzorkovanju, kao i inter- i intraopservacionih varijacija u interpretaciji histološkog nalaza bioptata (152, 153). I pored toga, neinvazivne dijagnostičke metode mogu vrlo precizno prediktovati postojanje hepatične fibroze, a takođe mogu smanjiti i potrebu za sprovođenjem biopsije jetre kod većine hroničnih hepatičnih bolesti, uključujući i pacijente koinficirane sa HCV/HIV-om (154).

Upotreba *kombinacije biomarkera fibroze jetre* može biti od koristi u praćenju progresije bolesti ili kod odgovora na primenjenu nefarmakološku i farmakološku terapiju, ali takođe i primenu inovativne (npr. antifibrotične) terapije u budućnosti (149).

Neinvazivne skorove fibroze čine klinički i biohemijski parametri koji se često koriste u svakodnevnom kliničkom radu (150). Zbog jednostavnosti, njihova primena je našla mesto i na sekundarnom nivou zdravstvene zaštite. Ciljna grupa za njihovu primenu su oboleli povišenim transaminazama sa ili bez NAFLD/NASH-a (155). Aktuelni dijagnostičko-terapijski vodiči za NAFLD/NASH preporučuju primenu neinvazivnih skorova fibroze za identifikaciju ili isključivanje uznapredovalih stadijuma fibroze, kao sastavni deo dijagnostičkog algoritma i stratifikacije rizika kod obolelih (7, 75, 156).

1.2.1. Indeks masne jetre (engl. *Fatty Liver Index, FLI*)

Indeks masne jetre je jednostavan dijagnostički metod koji pomaže kliničaru u selekciji ispitanika za UZ jetre. Sa terapijskog aspekta, FLI skor ≥ 60 ukazuje da obolelom treba intenzivirati nefarmakološke mere tretmana NAFLD/NASH. Takođe, ako se praćenjem bolesnika pokaže da FLI ima perzistentnu ili vrednost skora koja raste, kliničar treba da upozori obolelog na moguće komplikacije, ali i omogući upućivanje ispitanika na određivanje skorova fibroze. Sa epidemiološkog stanovišta, FLI skor je koristan u selekciji ispitanika za opservacione i intervencijske epidemiološke studije (157, 158). FLI skor se kreće u rasponu 0 do 100. FLI skor ≥ 60 pokazuje dobru senzitivnost (87,3%) i specifičnost (80,3%) za postojanje NAFLD detektovane UZ-om jetre. Nasuprot tome, FLI skor <30 isključuje mogućnost NAFLD (157, 159). Dijagnostička tačnost FLI za detekciju masne jetre je 84% (95% CI 81-87%) (157). Granična vrednost FLI skora ≥ 60 obezbeđuje specifičnost od 91% i odnos pozitivne verovatnoće $+5,1$ (LR $+5,1$), što pokazuje da osoba sa steatozom jetre ima 5 puta veću verovatnoću da ima vrednost FLI skora ≥ 60 (78). FLI može predvideti pojavu T2DM kao i aterosklerotske bolesti srca (160), ali takođe i stopu 15-godišnjeg mortaliteta uzrokovanog hepatičnom bolešću (161), što FLI skor čini dobrim i dijagnostičkim i prognostičkim markerom (78).

1.2.2. Fibrozni skor-4 (*Fib-4*)

Jedan od najčešće korišćenih neinvazivnih skorova za procenu fibroze je Fib-4 (154), (162). Sterling i saradnici (154) su definisali Fib-4 skor sa pouzdanom prediktivnom tačnošću za detekciju fibroze jetre, ali i za diferencijaciju blage od uznapredovale fibroze i ciroze. Prvobitno je razvijen kao neinvazivni skor za stratifikaciju težine bolesti jetre kod osoba sa koinfekcijom HCV/HIV (163). Njegova primena u svakodnevnoj praksi je jednostavna, jer se varijable koje ulaze u njegovo izračunavanje rutinski određuju svim osobama sa suspektim ili dokazanim hepatičnim bolestima (150, 154).

Fibrozni skor-4 ima značajnu ulogu u stratifikaciji obolelih od NAFLD/NASH u smislu prisustva ili odsustva fibroze, ali i u selekciji za upućivanje na biopsiju jetre onih bolesnika koji su sa rizikom od ozbiljnih komplikacija uzrokovanih uznapredovalom hroničnom hepatičnom bolešću. Godine života značajno utiču na određivanje i reproducibilnost Fib-4 testa u dijagnostici uznapredovale fibroze jetre. Poštujući ograničenja, preporučuje se primena alternativnih metoda za detekciju i procenu težine fibroze kod osoba <35 godina života (151). Godine života mogu uticati na izvođenje i tumačenje Fib-4 skora zbog toga što životno doba dovodi do promena u morfologiji jetre. Kako se povećava broj godina života, fiziološki se smanjuje protok krvi kroz jetru sa sledstvenim smanjenjem mase jetre. Pored toga, u zdravoj jetri se menja vaskularna morfologija u smislu sinusoidalne fibroze, zadebljanja arteriolarnih zidova, kao i smanjenja njihovog dijametra, doprinoseći disfunkciji hepatocita uzrokovanoj hipoksijom (164). Isti ti faktori utiču na izvođenje i tumačenje TE (165). Nove granične vrednosti za Fib-4 skor su 1,3-2,67, odnosno za ispitanike ≥ 65 godina <2,0-2,67. Vrednosti <1,3 (<2,0) isključuju uznapredovalu fibrozu, dok nasuprot tome, vrednosti >2,67 ukazuju na uznapredovale stadijume fibroze (stadijum $F \geq 3$). Korekcijom donjih referentnih vrednosti za Fib-4 skor kod osoba ≥ 65 godina postiže se poboljšanje specifičnosti (77%), a bez uticaja na senzitivnost, dok AUROC iznosi 0,75-0,88 (166). Na taj način je istovremeno omogućena racionalizacija u pogledu smanjenja broja nepotrebnih biopsija jetre u starijoj populaciji bolesnika podložnijih komplikacijama, ali i smanjenje troškova lečenja koji bi proistekli iz nepotrebnih hospitalizacija u ustanovama sekundarnog i tercijernog nivoa pružanja zdravstvenih usluga (151).

Fib-4 skor ne pravi razliku između NAFLD i NASH-a i u tu svrhu ne bi trebalo ni da se koristi. Njegova upotreba treba da bude rezervisana za obolele sa/bez NAFLD ili drugih hroničnih bolesti jetre u cilju evaluacije postojanja potencijalne uznapredovale fibroze (stadijum $\geq F3$) (167). Tako, on pomaže identifikaciji onih bolesnika koje treba uputiti hepatologu na biopsiju jetre, kako zbog bližeg i jedino merodavnog stratifikovanja težine fibroze, tako i zbog skrininga na HCC (150). Pored toga, surogat markeri hepatične fibroze, poput Fib-4, mogu prediktovati i pojavu T2DM, ali i ukazati na rizik od opšteg morbiditeta i mortaliteta (7).

1.3. Inflamacija, NAFLD, KV i hepatični rizik

Jetra je u tesnoj funkcionalnoj vezi sa masnim tkivom. Masno tkivo, kao endokrini organ, između ostalih, ima i ulogu u sintezi i sekreciji polipeptida - adipokina, koji su uključeni u brojne procese, poput inflamacije, insulinske senzitivnosti, imunosti, ali i nastanku i razvoju NAFLD i progresiji u NASH (168, 169).

Oksidativni stres nezavisno utiče na nastanak i razvoj NAFLD/NASH-a, posebno kod obolelih od T2DM (159). Komponente OS su ROS, čija su glavna meta ćelijska organele i proteini i lipidi seruma. Od ćelijskih organela, prevashodno su pogođene mitohondrije (citohrom P450 enzimski sistem) i endoplazmatski retikulum hepatocita. Kao posledica te interakcije nastaju morfološki i funkcionalni poremećaji hepatocita (170). Simultano, u interakciji ROS sa plazma proteinima i lipidima dolazi do stvaranja novih oksidacionih produkata, ali i izmene osnovne funkcije oksidovanih proteina i lipida. Tako nastaju produkti

oksidacije proteina (engl. *Advanced Oxidant Protein Products*, AOPP), kao i produkti lipidnog oksidativnog oštećenja (npr. malondialdehid) (171). Ovi produkti su povišeni kod obolelih sa NAFLD i pokazano je da produkti lipidnog oštećenja imaju bolju prediktivnu moć za nastanak i razvoj NAFLD/NASH u odnosu na markere proteinskog oksidativnog oštećenja (159, 172). Od značaja je da su regulatorni mehanizmi odbrane organizma od oksidativnog stresa takođe sniženi, čime je narušena ravnoteža između *pro et contra* mehanizama OS. Tako se detektuje snižena aktivnost antioksidativnih enzima, poput katalaze, koja neutrališe proksidacioni vodonik peroksid u vodu i kiseonik (171, 172).

Najveći broj obolelih od NAFLD ima bolest benignog toka, dok se kod ~40% obolelih sa NAFLD može razviti ciroza i i dalje hepatične komplikacije, koje značajno određuju dalji tok bolesti (61, 173). Oboleli od NAFLD imaju značajno veći desetogodišnji KV rizik u poređenju sa opštom populacijom (174). Na rizik od KVB utiču histološka i klinička slika NAFLD, pa taj KV rizik još brže raste kako napreduje NAFLD u smislu NASH-a, fibroze i ciroze (175). Smatra se da je povećan rizik od KVB najverovatnije posledica povećanja sekrecije citokina i sistemske inflamacije (17). Prevalenca i incidenca KV bolesti je veća kod obolelih od NAFLD u odnosu na kontrole (43). Kardiovaskularne bolesti predstavljaju češći uzrok smrti kod ovih bolesnika nego bolesti jetre (46, 127). NAFLD je inače nezavisan faktor rizika za KV bolesti (176). U poređenju sa opštom populacijom, stopa mortaliteta obolelih od NAFLD je veća, dok je u poređenju sa stopom mortaliteta obolelih od alkoholne i bolesti jetre uzrokovane B i C virusom, ona manja (177, 178). Takođe, stopa mortaliteta je veća kod obolelih sa NASH-om nego kod obolelih od NAFLD (178). Najčešći uzroci smrti kod obolelih sa NAFLD-om su KV bolesti (30-69% obolelih), ekstrahepatični maligniteti (19-28% obolelih) i bolesti jetre (7,7-19% obolelih) (127, 177). Oboleli od NASH-a imaju veći KV rizik u odnosu na obolele od NAFLD (179). Taj rizik kod obolelih od NASH-a zaostaje čak i nakon učinjene transplantacije jetre (180). Najveći broj obolelih od NASH-a umire pre od KV bolesti nego od hronične hepatične bolesti (65).

Ukoliko se NAFLD duže vremena ne leči, kod određenog broja obolelih može dovesti do nastanka fibroze, ciroze i HCC (181). Hepatocelularni karcinom ima veću učestalost kod obolelih od NASH-a i ciroze, ali su registrovani i slučajevi obolevanja u precirotičnom stadijumu NASH-a (do 20% obolelih) (182). Učestalost HCC se povećava kod obolelih sa PNPLA3rs738409 C>G polimorfizmom (7). Pored toga, mogući ekstrahepatični i nekardiovaskularni uzroci smrti mogu biti kolorektalni karcinom, komplikovane metaboličke bolesti kostiju, ali i druge ređe sistemske metaboličke bolesti (183).

Imajući u vidu da oboleli od NAFLD-a sa prisutnom fibrozom imaju daleko veću stopu opšteg, KV i hepatičnog morbiditeta i mortaliteta, potrebno je sve obolele sa potvrđenim NAFLD testirati na prisustvo prevashodno značajne fibroze. Oboleli sa F0 i F1 stadijumom fibroze nastavljaju praćenje kod svog izabranog lekara primarne zdravstvene ustanove, s'obzirom da očekivano vreme za razvoj hepatičnih komplikacija iznosi >20 godina (184, 185).

NAFLD je udružen sa pokazateljima supkliničke ateroskleroze i arterioskleroze, što se može detektovati senzitivnijim metodama, kao što je metoda dilatacije posredovane protokom (engl. *Flow-mediated Dilation*, FMD), merenje arterijske krutosti ili procene skora kalcifikacije koronarnih arterija, dok je u svakodnevnoj kliničkoj praksi moguće sprovesti merenje debljine intima-medija kompleksa na karotidnim arterijama (154, 186). NAFLD je povezan sa pojavom HBB, koja je ekvivalent koronarne bolesti (187). Za razliku od supkliničke ateroskleroze, slučajevi manifestne ateroskleroze su najčešće simptomatski, a njihova detekcija se sprovodi uobičajenim vizualizacionim metodama (Doppler krvnih sudova, angiografске metode) (187).

S'obzirom da jetra ima važnu ulogu u metabolizmu lipida i uticaj na nivo cirkulišućih lipida, kod obolelih od NAFLD može doći do nagomilavanja lipida i u miokardu

zbog povećanog influksa SMK, sa posledičnim izmenama u funkciji leve komore (188). Pored toga, epikardno masno tkivo, kao metabolički aktivno, produkuje proaterogene, inflamatorne i protrombogene adipokine (189) i tako parakrino interreaguje sa miokardom (190). NAFLD je takođe faktor rizika za rane, supkliničke poremećaje u strukturi i funkciji miokarda (191), (192).

1.4. Metabolički sindrom (MetS), T2DM i NAFLD/NASH

1.4.1. Metabolički sindrom – definicija i značaj

Metabolički sindrom predstavlja grupu međusobno povezanih faktora rizika, koji pogoduju nastanku i razvoju aterosklerotskih KV bolesti i T2DM (193). Ti faktori uključuju poremećaj metabolizma glukoze (poremećaj jutarnje glikemije, poremećaj glukozne tolerancije ili T2DM), hipertenziju, dislipidemiju (hipertrigliceridemiju i/ili snižene nivoe HDL lipoproteina) i gojaznost, prevashodno centralnog tipa (194).

Patofiziološki mehanizam koji može povezati većinu ovih stanja je IR (194). Insulinska rezistencija je stanje u kome normalna koncentracija insulina nije dovoljna da obezbedi očekivan odgovor perifernih tkiva, poput jetre, masnog i mišićnog tkiva, kao najvažnijih ciljnih organa za delovanje insulina. Kao odgovor, nastaje pojačana sekrecija insulina u cilju prevazilaženja hiperglikemije. Stanje hiperinsulinemije je tranzitorno, te ukoliko prezistira stimulus za sekreciju insulina, β ćelije pankreasa više nisu sposobne da sekretuju onu količinu insulina koja bi bila dovoljna za prevazilaženje hiperglikemije, te nastaje poremećaj glukozne tolerancije ili T2DM (194, 195).

Patogenetski, MetS je stanje hronične inflamacije niskog intenziteta, koje nastaje kao posledica interakcije genetskih faktora i faktora spoljne sredine. Tako MetS čine IR, abdominalna gojaznost, aterogena dislipidemija, endotelna disfunkcija, genetska predispozicija, hipertenzija, protrombogeno i proinflamatorno stanje i hronični OS (196). Visceralni adipociti u stanjima IR predstavljaju glavni izvor cirkulišućih inflamatornih peptida (adipokina), koji ustvari predstavljaju vezu između pomenutih patoloških stanja (197). Kao posledica izmenjenog metabolizma masti nastaju abnormalni depoi masnog tkiva, koji dovode do indukcije inflamacije i OS (43, 46). Pokazano je da su abnormalni depoi masnog tkiva najčešće prisutni kod gojaznih, obolelih od T2DM i KV bolesti (198).

NAFLD se smatra hepatičnom manifestacijom MetS (199). Takođe, MetS i NAFLD/NASH su udruženi sa povećanim rizikom od nastanka KV bolesti i T2DM (199). Najveći broj obolelih od NAFLD/NASH ima pridružene metaboličke poremećaje, dok veoma mali broj ima izolovanu hepatičnu steatozu (2). Prevalenca izolovanog NAFLD/NASH iznosi ~7% u SAD, odnosno do 25% u Aziji (200). Prevalenca MetS i NAFLD/NASH u opštoj populaciji iznosi 30-40%, odnosno 20-30% (201). Prisustvo gojaznosti i T2DM dodatno povećava incidencu NAFLD/NASH i MetS (202). Sve ove bolesti su, očekivano, u uzajamnom odnosu (199) i stoga je veoma značajan skrining za MetS kod obolelih od NAFLD/NASH i obrnuto (203).

1.4.2. Povezanosti između MetS, T2DM i NAFLD

Nealkoholna masna bolest jetre je povezana sa MetS, hiperglikemijom našte, poremećajem glukozne tolerancije i T2DM, a zajedničko im je da su povezani sa povećanim KV rizikom (187). Pored toga, NAFLD je povezan sa brojnim ekstrahepatičnim bolestima, poput KV bolesti, HBB i karcinomom kolorektuma (204). Stoga sastavni deo lečenja i praćenja obolelih od NAFLD čini i skrining na potencijalne ekstrahepatične manifestacije (204, 205).

Prema meta-analizama, prevalenca NAFLD, NASH i teške fibroze jetre (stadijum $F \geq 3$) kod obolelih sa T2DM iznosi 57,8, 65,26 i 15,05% za svako od navedenih stanja (2, 200). S druge strane, prevalenca MetS kod obolelih od NAFLD i NASH iznosi 41 i 47% za

oba navedena stanja (2, 29). Interakcija između T2DM i NAFLD/NASH je dvosmerna (62) u smislu da se kod oko četvrtine obolelih sa NAFLD/NASH javlja T2DM, dok se NAFLD javlja kod ¼ obolelih sa T2DM (206).

Oboleli od T2DM sa NAFLD/NASH-om imaju dvostruko veći rizik od razvoja i progresije KV bolesti (207), ali i dva do tri puta veći rizik od smrti uzrokovane hroničnim hepatičnim bolestima, ako bi se poredili sa obolelim od T2DM bez NAFLD (208). Prisustvo T2DM je nezavisan prediktor opšteg mortaliteta, ali i prediktor mortaliteta uzrokovanog bolešću jetre (209). Rizik od T2DM kod obolelih od NAFLD/NASH-a je 33-55% (11). Oboleli od NAFLD/NASH imaju gotovo dvostruko veći rizik od nastanka T2DM tokom petogodišnjeg perioda praćenja (210). Kvalitet glukozne regulacije tako određuje KV rizik i u prilog tome je pokazano da je hiperglikemija našte, poremećaj glukozne tolerancije i bilo koji povišen nivo HbA1c povezan sa povećanjem rizika od koronarne bolesti (211). Interesantno je da iako su u referentnom rangu, visoko normalne vrednosti glikemija (5,3-5,5mmol/L) mogu predskazati povećan rizik od koronarne bolesti i fatalnih događaja koji su nezavisni od tradicionalnih faktora rizika za KV bolesti (212). Pokazano je da lečenje T2DM utiče na smanjenje udela masti u jetri (159).

Oboleli od T2DM imaju mnogo veću šansu da razviju NASH iz NAFLD u poređenju sa populacijom nedijabetičara (109). Kod obolelih od T2DM pojava NAFLD se registruje znatno ranije od ostalih vaskularnih komplikacija (213). Stoga je veoma značajno uticati na prevenciju ili rano otkrivanje NAFLD/NASH kod obolelih sa T2DM. U tom smislu, značajnu pomoć može pružiti određivanje biomarkera oksidativnog stresa, dislipidemije i inflamacije (159). Pored toga, T2DM (214) i NAFLD (215) su najvažniji faktori rizika za razvoj HBB, te je doprinos HBB za razvoj KV bolesti udruženo mnogo veći (216). Tako je nastala tzv. *trijadna bolest*, koja se sastoji iz NAFLD/NASH-a, HBB i T2DM, čiji je zdravstveni značaj veliki, prevashodno zbog rastuće incidence i posledičnog KV morbiditeta i mortaliteta (216). Takođe, T2DM je značajan faktor za nastanak i razvoj fibroze jetre kod obolelih od NAFLD (217). Inače, postoje četiri kategorije međusobne povezanosti dijabetesa i bolesti jetre: slučajno i istovremeno postojanje oba entiteta (koja se inače često sreću), dijabetična hepatopatija (bolest jetre izazvana dijabetesom), hepatogeni dijabetes (dijabetes uzrokovan hroničnom bolešću jetre), kao i bolest jetre koja se koincidentno javlja kod obolelih sa dijabetesom (218). Tako NAFLD/NASH, NASH-om indukovana ciroza jetre i HCC pripadaju podgrupi hroničnih bolesti jetre pogoršanih dijabetesom, dok podgrupi hroničnih bolesti jetre uzrokovanih dijabetesom pripadaju glikogena hepatopatija i dijabetična hepatoskleroza (219). Bolesti jetre koje koicidiraju sa dijabetesom su hemohromatoza, autoimunske bolesti jetre i autoimunske bilijarne bolesti (220).

Patofiziološki put kojim T2DM dovodi do NAFLD/NASH-a može se delimično objasniti stanjem hronične inflamacije, koja je povezana sa IR, pojačanim preuzmanjem SMK od strane jetre, lipotoksičnošću i razvojem nekroinflamacije (217). Akumulirani produkti lipidnog metabolizma (ceramidi, diacilglicerol) dovode do hepatične IR, povećanja glukoneogeneze, oksidativnog stresa, kao i iscrpljenja β ćelija pankreasa (127). S druge strane, pojava NAFLD kod obolelih od T2DM je povezana sa IR, kao i lošom metaboličkom kontrolom (221). Takođe, pojava NAFLD kod obolelih sa T2DM je povezana sa većom učestalošću mikro- i makrovaskularnih komplikacija dijabetesa (222). Nasuprot tome, poboljšanje NAFLD uslovljava smanjenje rizika za pojavu T2DM za ~70% (223).

Zbog česte i snažne udruženosti T2DM i NAFLD/NASH-a, potrebno je sve obolele od T2DM testirati na prisustvo NAFLD i obrnuto (218, 224). Za dijagnostiku poremećaja metabolizma glukoze kod obolelih od hroničnih bolesti jetre, najverodostojniji je oralni glukoza tolerans test (OGTT) (225), jer najveći broj ovih bolesnika ima normalne vrednosti jutarnje glikemije našte (224). Dok se kod kompenzovane hronične hepatične bolesti jetre HbA1c može koristiti kao pokazatelj kvaliteta retrogradne glukozne regulacije, to nije slučaj sa dekompenzovanim stanjima, kada se savetuje određivanje nivoa fruktozamina u toj svrsi.

Za ocenu kvaliteta dnevne glukozne regulacije i procene podesnosti aktuelne terapije dijabetesa, od velike pomoći je češće merenje glikemije u toku dana ili, optimalno, kontinuirani monitoring glikemije, gde je to izvodljivo (218, 224).

1.4.3. Lečenje MetS, T2DM i NAFLD/NASH

Lečenje NAFLD i MetS, oboljenja koja često koegzistiraju kod istog bolesnika, zahteva multifaktorski pristup, primenom nefarmakoloških (dijetetski režim i fizička aktivnost) i farmakoloških mera (tretman gojaznosti, hipertenzije, T2DM, dislipidemije) u cilju poboljšanja biohemijske i histološke slike NAFLD/NASH, ali i na redukciju kardiološkog i KV rizika (199). Glavni cilj tretmana MetS je smanjenje rizika od KV bolesti (194) te je stoga lečenje usmereno ka snižavanju nivoa povišenog LDL, tretmanu hipertenzije i T2DM (226).

Ukoliko *nefarmakološke mere* (redukcija telesne težine, promena fizičke aktivnosti) ne daju adekvatne rezultate, neophodna je farmakološka terapija (194, 227). Još uvek nema jednog, pojedinačnog leka, koji bi se upotrebio samo za lečenje MetS (194). Trenutno korišćeni lekovi za tretman pojedinačnih komponenti MetS, poput hipertenzije, T2DM, aterogene dislipidemije, pozitivno utiču na smanjenje inflamacije (201, 227).

Farmakološke mere. Aktuelno, ni jedan vodič ne preporučuje lečenje jednim, određenim lekom za NAFLD/NASH sa ili bez T2DM. Noviji antidijabetesni agensi, poput GLP1RA/DPP4i (vilda-, alo- i linagliptin, ekse- i liksisenatid, liraglutid) ili SGLT2i, mogu imati koristi u lečenju NAFLD/NASH-a, smanjujući ukupni udeo masti u jetri, a verovatno i inflamaciju i fibrozu. Dodatno, oni smanjuju obolevanje od HBB, koja je ispoljena ili samostalno, ili je povezana sa NAFLD/NASH-om, T2DM ili KV bolesti (109). Od ostalih lekova koji se koriste za lečenje T2DM, primena metformina, pioglitazona, je dovela do poboljšanja biohemijske, ultrasonografske i/ili histološke slike kod obolelih od NAFLD/NASH (228-236). U pogledu primene sitagliptina, postoje konfliktni rezultati (143, 237). Kod osoba sa T2DM i NAFLD/NASH, kombinovana terapija statin+liraglutid sa/bez SGLT2i je veoma potentna i korisna, posebno sa aspekta redukcije hepatičnog i KV morbiditeta i mortaliteta kod ovih bolesnika (109, 238). Dodatak tome predstavlja i primena renin-angiotenzin-aldosteron blokatora kao antihipertenzivnih agenasa kod obolelih od NAFLD/NASH-a (148).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

2.1. Ciljevi

Ciljevi ove doktorske disertacije su sledeći:

1. Utvrditi postojanje korelacije između stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD definisane ultrasonografski sa nivoima CRP i azot monoksida (NO) u negojaznih osoba sa T2DM.
2. Utvrditi postojanje korelacije između neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji negojaznih osoba sa T2DM.
3. Utvrditi postojanje korelacije između neinvazivnog skora fibroze jetre (Fib-4) sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji negojaznih osoba sa T2DM.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Protokol

Studija preseka je sprovedena u KBC Zemun dok su merenja slobodnih masnih kiselina kao i nivoa NO sprovedena i u Laboratoriji za radiobiologiju i molekularnu endokrinologiju Instituta od nacionalnog značaja, Instituta za nuklearne nauke „Vinča” tokom 2019-2020 godine. U studiju je prospektivno uključen 61 ispitanik, koji ispunjava osnovne *inkluzione kriterijume*: ultrazvučni (UZ) nalaz masne jetre kod obolelih od T2DM, koji su pod tretmanom oralnim antihiperглиkemicima najmanje jednu, a najviše pet godina, sa indeksom telesne mase (ITM) 18.5-30kg/m². Način tretmana T2DM je određivao pripadnost grupama ispitanika. U prvoj grupi su bili ispitanici tretirani metforminom (n=31), dok su drugoj grupi (n=30) pripadali oni koji su tretirani metforminom i derivatom sulfonilureje (SU), gliklazidom ili glimepiridom. Etički odbor KBC Zemun je odobrio istraživanje. Svi ispitanici su informisani o studijskom protokolu i potpisali su informisani pristanak o učešću u studiji.

Ekskluzionni kriterijumi su bili: primena insulinske terapije, unos alkohola (> 30gr dnevno za žene, tj. >40gr dnevno za muškarce), infekcija virusom Hepatitisa B/C, upotreba lekova koji mogu uzrokovati steatozu jetre, postojanje celijakije, tiroidne bolesti, PCOS, inflamatornih, malignih, kao i retkih bolesti jetre, postojanje tretmana antihipertenzivima, statinima i antitrombocitnom terapijom (zbog uticaja na markere endotelne funkcije) (7). Ispitivanje ekskluzionih kriterijuma omogućeno je uzimanjem anamnestičkih podataka i uvidom u medicinsku dokumentaciju. Kod ispitanika kod kojih su postojali podaci ili simptomi ekskluzione bolesti/stanja, sprovedene su odgovarajuće analize: antitransglutaminska antitela za celijakiju, tirostimulišući hormon (TSH) za tiroidne disfunkcije, nalaz ginekologa/endokrinologa za PCOS, kao i odgovarajuće testiranje na prisustvo Wilsonove bolesti, autoimunskih hepatitisa i alfa1-antitripsin deficita.

Kod svih ispitanika su analizirani epidemiološko-klinički, hematološko-biohemijski i inflamatorno-endotelni parametri. Od *epidemiološko-kliničkih parametara* analizirani su pol, godine života, trajanje T2DM i njegovog tretmana, telesna težina i visina, obim struka, sistolni i dijastolni krvni pritisak, puls, kao i ITM. Od *biohemijsko-seroloških parametara* analizirana je kompletna krvna slika (eritrociti, leukociti, trombociti, hemoglobin, hematokrit i hematološki indeksi: MCV, MCH, MCHC, PDW, PCT, RDW, MPV), potom hepatogram (SGOT, SGPT, gamaGT, alkalna fosfataza), glikemija, HbA1c, holesterol, Tg, HDL, LDL, mokraćna kiselina, feritin, transferin, insulin, TSH, slobodni tiroksin (engl. *free Thyroxine*, fT4), bazalni C peptid, kao i kvalitativno određivanje antiHBsAg, anti HCV antitela (kod onih ispitanika koji već nisu imali određena). Od *inflamatorno-endotelnih parametara* analizirani su CRP i NO. Nakon toga, kod svakog ispitanika je urađen UZ jetre kako bi se uniformno gradirala steatoza (239). Potom su upotrebom odgovarajućih kalkulatora izračunati neinvazivni skorovi steatoze (FLI) i fibroze jetre (Fib-4).

3.2. Određivanje epidemiološko-kliničkih parametara

Merenje je izvršeno u jutarnjim časovima, po pristizanju u Službu endokrinologije i dijabetesa KBC Zemun, u prostoriji gde su se obavljala merenja. Prvo su nakon

petominutnog mirovanja pacijenta u sedećem položaju, mereni puls (P) i sistolno-dijastolni krvni pritisak (s/dTA), a potom telesna visina (TV), telesna masa (TM) i obim struka (OS). Nakon toga se pristupalo uzorkovanju venske krvi za odgovarajuće analize iz studijskog protokola.

Sprovedena su sledeća antropometrijska i klinička merenja: TV, TM, ITM, OS, s/d TA i P. Za merenje TV korišćen je metar sa preciznošću od 0.5 cm, a dobijene vrednosti izražavane su u metrima (m), dok je za merenje TM korišćena medicinska decimalna vaga preciznosti 0,1 kg, a vrednosti izražavane u kilogramima (kg). ITM je izračunavan kao odnos TM i kvadrata TV izražene u kg/m². Obim struka je meren nerastegljivim trakastim metrom obuhvatanjem struka na nivou sredine rastojanja između donje ivice poslednjeg palpabilnog rebra i vrha ilijačne kosti, a izražavan je u centimetrima (cm). Puls je meren neposredno pre merenja s/d TA, manuelnom metodom, stavljanjem prstiju ispitivača na *sulcus pulsus* radijalne arterije. Sprovedena su tri uzastopna merenja i uzimana je srednja vrednost broja otkucaja srca u minuti. S/d TA ispitanika su mereni manometrom po metodi *Riva-Rocci* sa preciznošću od 1 milimetra živinog stuba (mmHg).

3.3. Određivanje biohemijsko-seroloških parametara

U pojedinim namirnicama, poput cvekla, zelene salate i spanaća, posebno je visok nivo nitrita koji utiču na određivanje koncentracija NO u serumu. Stoga je ispitanicima uručena pisana dijeta sa naznačenim namirnicama koje treba izbegavati najmanje 16 sati pre uzorkovanja. Na sledećoj ugovorenoj viziti, dan nakon potpisivanja informisanog pristanka i pridržavanja uručene dijeta, ispitanicima ujutru našte uzorkovana venska krv za određivanje laboratorijskih parametara.

Hematološki parametri (broj eritrocita, leukocita, trombocita, kao i hematološki indeksi: MCV, MCH, MCHC, PDW, PCT, RDW, MPV) određivani su na automatskom analizatoru *DxH-900 „Beckman Coulter”*. Određivanje glikemije, osnovnog lipidograma (ukupni holesterol, LDL, HDL i Tg), hepatograma (SGOT, SGPT, gama GT), mokraćne kiseline, kao i pokazatelja fero-metabolizma (gvožđe, feritin, transferin) sprovedeno je pomoću biohemijskog analajzera *DxC Au 700 i Au 480 „Beckman Coulter”*, dok su vrednosti LDL-H izračunate primenom Friedvaldove formule ($LDL = \text{ukupni holesterol} - HDL - 0,45 * Tg$ [mmol/L] (240). Nivo HbA1c je određivan *DxC Au 700 „Beckman Coulter”* analajzeru.

Nivoi TSH, fT4, insulina i bazalnog C peptida su određivani komercijalnim testovima na automatskom analizatoru *DXI „Beckman Coulter”*.

3.4. Određivanje inflamatorno-endotelnih parametara

Nivo CRP je određivan imunoturbidimetrijskom metodom na *DxC Au 700 „Beckman Coulter”* analajzeru.

Određivanje koncentracije NO u krvi ispitanika određivana je primenom odgovarajućeg metoda u Laboratoriji radiobiologiju i molekularnu endokrinologiju (laboratorija Prof. dr Esmo R. Isenović, NSV) na Institutu za nuklearne nauke „Vinča“.

Pošto je venska krv ispitanika prethodno adekvatno uzorkovana i centrifugirana (15 min./3000 rpm), izdvojen serum je lagerovan pod adekvatnim uslovima i potom transportovan do referentne laboratorije. Koncentracija NO u serumu određivana je indirektno, merenjem koncentracije NO₂⁻ i nitrata NO₃⁻ kao stabilnih metabolita NO i krajnjih produkata oksidacije *in vivo*. Koncentracija NO₂⁻ i NO₃⁻ određivana je modifikovanom kolorimetrijskom metodom nitrat reduktaze i Grisovom (Griess) reakcijom, korišćenjem NO₂⁻/NO₃⁻ kompleta (Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, SAD) na automatskom čitaču za mikrotitarske ploče Wallac 1420 Victor (Perkin Elmer, SAD), prema uputstvu proizvođača.

Princip metode zasniva se na dvostepenoj reakciji, u kojoj se uz pomoć koenzima $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ zavisne-nitrat reduktaze, NO_3^- konvertuju u NO_2^- . Dodatkom Grisovog reagensa, dobijeni NO_2^- gradi purpurno azo-jedinjenje sa maksimumom apsorbcije na 570 nm. Merenjem apsorbcije nastalog azo-jedinjenja kvantifikovana je koncentracija NO_2^- . Esej je rađen u mikrotitarskoj polistirenskoj ploči sa 96 bunarića. Nakon nanošenja serije standarda NO_3^- poznate koncentracije i uzoraka seruma u mikrotitar ploču u volumenu od 80 μl , u svaki bunarić dodavano je po 10 μl kofaktora enzima (BH_4 , CaM, FAD, FMN i hem), a potom po 10 μl nitrat reduktaze. Nakon 3 časa inkubacije na 37 °C u svaki bunarić dodavano je 50 μl Grisovog reagensa 1, a odmah potom i 50 μl Grisovog reagensa 2. Nakon inkubacije od 10 minuta, očitavana je apsorbcija na 570 nm. Koncentracija NO_3^- je određivana korišćenjem standardne krive konstruisane na osnovu vrednosti apsorbcije očitanih za seriju poznatih koncentracija rastvora kalijum nitrata (KNO_3). Koncentracija NO_2^- i NO_3^- u serumu izražavana je u μmol .

3.5. Ultrasonografska stratifikacija stepene steatoze

Ultrazvučni pregled jetre je sproveden na Klinici za internu medicinu KBC Zemun na istom aparatu od strane istog ultrasonografiste sa iskustvom u dijagnostici bolesti jetre, sa ciljem uniformnog gradiranja steatoze i eliminacije interoserverskih varijacija u nalazima. Nakon sprovođenja merenja i uzorkovanja krvi, kod svih ispitanika je urađen UZ jetre primenom konveksne sonde 5MHz na aparatu *Toshiba Xario SSA-660A* na Klinici za internu medicinu. Različiti stepeni steatoze jetre su definisani vizuelnom analizom ultrasonografiste sa iskustvom i poređenjem tog opisa sa UZ definisanim karakteristikama svake gradacije steatoze. Prisutnost samo povišene ehogenosti karakteriše steatozu prvog stepena. Ukoliko ehogenost jetre narušava ehogenost zidova grana *v. portae*, u pitanju je steatoza drugog stepena, a u slučaju da ehogenost jetre narušava vidljivost obrisa dijafragme, onda je steatoza trećeg stepena (239, 241).

3.6. Izračunavanje neinvazivnih skorova steatoze (FLI) i fibroze (Fib-4) jetre

Izračunavanje neinvazivnih skorova steatoze i fibroze jetre je obavljeno unošenjem odgovarajućih varijabli u formulisanom kalkulatoru na odgovarajućem linku (www.mdcalc.com).

Za određivanje *FLI* su neophodne sledeće varijable: ITM, OSt, kao i koncentracije gama GT i Tg. Vrednosti sa *FLI* su od 0 do 100. Vrednosti <30 ukazuju na nizak rizik za postojanje steatoze jetre ($-\text{LR}=0,2$), dok vrednosti ≥ 60 ukazuju na značajnu steatozu jetre ($+\text{LR}=4,3$). Vrednost *FLI* skora između 30 i 60 je neodređena, te se rizik za postojanje steatoze jetre ne može ni odbaciti niti prihvatiti (157).

Za određivanje *Fib-4* su neophodne sledeće varijable: godine života, koncentracije SGOT, SGPT i broj trombocita. Za vrednosti *Fib-4* $<1,45$ procenjen stadijum fibroze jetre je F0-1, za vrednosti 1,45-3,25 procenjen stadijum fibroze jetre je F2-3, dok vrednost *Fib-4* $>3,25$ ukazuje na uznapredovalu fibrozu jetre stadijuma $F\geq 3$ (154).

3.7. Statistička analiza

Od metoda *deskriptivne statistike* korišće se relativni brojevi, mere centralne tendencije i mere varijabiliteta. Od mera centralne tendencije korišće se aritmetička sredina i medijana, a od mera varijabiliteta standardna devijacija, interval i koeficijent varijacije.

Od metoda *analitičke statistike* korišćeni su testovi za procenu značajnosti povezanosti i razlike. Od testova za procenu značajnosti povezanosti korišten je Pearsonov test, dok je za procenu značajnosti razlike korišćen χ^2 test u slučajevima kategorijskih podataka, odnosno T test za dva nezavisna uzorka u slučajevima intervalnih podataka koji

slede normalnu distribuciju, odnosno Mann-Whitney test u slučajevima intervalnih podataka, koji ne slede normalnu distribuciju. Ispitivanje prediktivnosti antropometrijskih, biohemijskih i hormonskih varijabli, kao i korišćenih skorova hepatične steatoze i fibroze za koncentraciju NO određivano je univarijantnom i multivarijantnom linearnom regresionom analizom.

Nivo statističke značajnosti je 0,05. Dobijeni podaci i rezultati su prikazivani tabelarno i grafički, shodno karakteristikama varijabli, a analizirani su upotrebom statističkog paketa SPSS for Windows 22.0.

4. REZULTATI

4.1. Određivanje epidemiološko-kliničkih parametara

U istraživanje je uključen 61 ispitanik, prosečne starosti 57 ± 10 godina. Od ukupnog broja, 28 (45,9%) ispitanika je bilo muškog pola, dok je 33 (54,1%) bilo ženskog pola.

Medijana trajanja T2DM u ispitivanoj populaciji bila je 40 meseci, pri čemu je zabeleženo minimalno trajanje 12, dok je maksimalno bilo 180 meseci. Medijana trajanja terapije T2DM u ispitivanoj populaciji je bila 36 (12-60) meseci. Prosečna terapijska doza u grupi ispitanika lečenih metforminom bila je 1500 (1000-2000) mg, dok je prosečna terapijska doza metformina u grupi ispitanika lečenih metforminom i derivatom sulfonilureje bila 2000 (1500-2000) mg. U grupi ispitanika lečenih metforminom i sulfonilurejom, 25 (83,3%) ispitanika je lečeno gliklazidom, dok je 5 (16,7%) lečeno glimepiridom. Medijana terapijske doze gliklazida je bila 80 (60-120) mg, dok je kod tretiranih glimepiridom medijana terapijske doze glimepirida bila je 2 (1-3) mg.

Antropometrijski podaci (indeks telesne mase, obim struka, sistolni i dijastolni krvni pritisak i puls) u ispitivanoj populaciji prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Pregled antropometrijskih parametara u ispitivanoj populaciji

Antropometrijski parametri	ITM (kg/m ²)	OSt (cm)	sTA (mm Hg)	dTA (mm Hg)	P (otkucaji/min.)	
Prosečna vrednost	28,369	102,66	124,77	77,46	76,02	
Standardna devijacija	2,21	10,02	17,95	9,25	6,81	
Minimum	21,3	75	11	60	64	
Maksimum	30,0	118	150	110	92	
Percentili	25	27,000	97,00	115,00	70,00	71,00
	50	29,400	104,00	130,00	80,00	76,00
	75	29,900	110,50	130,00	85,00	79,00

ITM- indeks telesne mase (engl. Body Mass Index); OSt- obim struka; sTA- sistolni krvni pritisak; Hg- živa; dTA- dijastolni krvni pritisak; P - puls

4.2. Određivanje biohemijško-seroloških parametara

Hematološki parametri i hematološki indeksi u ispitivanoj populaciji prikazani su u Tabelama 2 i 3, dok su pokazatelji metabolizma glukoze i lipida prikazani u Tabeli 4. Tabelom 5 je prikazana rapodela ispitanika po *cut off* vrednostima parametara metabolizma glukoze i lipida, a Tabelom 6 pokazatelji metabolizma jetre i gvožđa.

Tabela 2. Hematološki parametri u ispitivanoj populaciji

Hematološke analize		Er ($\times 10^{12}/L$)	Hgb (g/L)	Hct (L/L)	Le ($\times 10^9/L$)	Tr ($\times 10^9/L$)
Prosečna vrednost		4,72	138,77	0,41	7,32	255,52
Standardna devijacija		0,45	14,71	0,04	1,94	60,44
Minimum		3,58	93	0,27	3,6	138
Maksimum		5,81	163	0,48	13,5	392
Percentili	25	4,36	131,00	0,38	6,00	207,00
	50	4,68	140,00	0,42	7,00	254,00
	75	5,01	151,00	0,45	8,55	296,00

Er - eritrociti; Hgb - hemoglobin; Hct - hematokrit; Le - leukociti; Tr - trombociti

Tabela 3. Hematološki indeksi u ispitivanoj populaciji

Hematološki indeksi		MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	PDW (%)	PCT (%)	RDW (%)
Prosečna vrednost		87,28	29,45	333,52	16,46	0,22	13,20
Standardna devijacija		8,55	2,24	9,85	,64	0,05	1,10
Minimum		38,0	19,1	302	14,8	0,13	9,8
Maksimum		98,4	34,2	356	18,1	0,33	16,9
Percentili	25	85,50	28,55	327,50	16,00	0,18	12,45
	50	88,00	29,80	334,00	16,60	0,22	13,10
	75	91,75	30,90	338,00	16,80	0,25	13,65

MCV - srednji volumen Er; MCH - prosečna količina Hgb u Er; MCHC - prosečna koncentracija Hgb u Er; PDW – širina raspodele Tr; PCT - zapreminski udeo Tr u jedinici pune krvi; RDW – širina raspodele Er

Tabela 4. Parametri metabolizma glukoze i lipida u ispitivanoj populaciji

Parametri	Glikemija (mmol/L)	HbA1c (%)	Insulin (μ mol/L)	Bazalni C peptid (nmol/L)	Hol (mmol/L)	Tg (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)	
Prosečna vrednost	7,97	6,98	9,21	2,93	5,216	2,145	3,256	1,366	
Standardna devijacija	2,19	1,83	5,05	1,04	1,0234	1,1160	,8661	,3107	
Minimum	4,6	4,70	3,06	0,61	3,4	,6	1,5	,8	
Maksimum	16,2	13,90	25,46	5,87	7,9	5,7	4,9	2,3	
Percentili	25	6,45	5,80	5,33	2,27	4,425	1,315	2,605	1,170
	50	7,60	6,39	7,99	2,78	5,400	1,860	3,260	1,325
	75	9,20	7,69	12,39	3,56	5,860	2,630	3,920	1,540

HbA1c – glikozilirani hemoglobin; Hol - holesterol; Tg - trigliceridi; LDL - lipoproteini male gustine; HDL - lipoproteini velike gustine

Tabela 5. Raspodela ispitanika u ispitivanoj populaciji po graničnim vrednostima parametara metabolizma glukoze i lipida

Varijabla		n	%
Glikemija	$\leq 6,1$	11	18,0
	$> 6,1$	50	82,0
HbA1c (%)	$\leq 6,5$	33	55,0
	$> 6,5$	27	45,0
Hol	$\leq 5,1$	26	42,6
	$> 5,1$	35	57,4
Tg	$< 1,7$	28	45,9
	$\geq 1,7$	33	54,1
HDL	$> 1,1$	34	85,0
	$\leq 1,1$	6	15,0
LDL	$< 3,2$	17	45,9
	$\geq 3,2$	20	54,1

HbA1c – glikozilirani hemoglobin;
 Hol - holesterol; Tg - trigliceridi;
 LDL - lipoproteini male gustine;
 HDL - lipoproteini velike gustine

Tabela 6. Pokazatelji metabolizma jetre i gvožđa u ispitivanoj populaciji

Hepatogram	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	GGT (U/L)	AcUr (μ mol/)	Fe (μ mol/)	Feritin (μ L)	Transferin (g/L)	
Prosečna vrednost	23,80	31,16	34,90	353,59	15,11	136,48	2,74	
Standardna devijacija	11,25	16,00	39,10	89,89	5,66	141,17	0,45	
Minimum	6	12	9	204	2,9	9,0	1,90	
Maksimum	73	78	250	553	26,0	931,7	4,20	
Percentili	25	18,00	19,50	18,00	288,00	10,60	41,85	2,40
	50	22,00	27,00	27,00	348,00	16,20	95,90	2,70
	75	25,00	40,00	36,00	414,50	19,50	191,65	3,00

SGOT - aspartat aminotferaza; SGPT - alanin aminotferaza; GGT – gama glutamil transferaza; AcUr- mokraćna kiselina; Fe - gvožđe

Prosečan nivo TSH i fT4 u ispitivanoj populaciji je bio $2,45 \pm 1,32$ (0,32-6,87) mIU/ml i $11,97 \pm 1,97$ (6,04-17,90) pmol/L u odnosu na navedene hormone. Od ukupnog broja, kod 4 (6,7%) je registrovano odstupanje od referentnog opsega za nivo TSH: kod 3 (5,0%) ispitanika je TSH viši, dok je kod 1 (1,7%) niži od granične vrednosti. Posmatrajući nivoe fT4, kod 3 (4,9%) i 2 (3,3%) ispitanika je registrovan viši, odnosno niži nivo u odnosu na graničnu vrednost.

4.3. Određivanje inflamatorno-endotelnih parametara

Tabelom 7 su prikazani određivani inflamatorno endotelni-parametri.

Tabela 7. Inflamatorno-endotelni parametri u ispitivanoj populaciji.

	CRP (mg/L)	NO (μ mol)	
Prosečna vrednost	6,53	54,59	
Standardna devijacija	8,11	29,04	
Minimum	0,2	10,50	
Maksimum	51,2	125,18	
Percentili	25	1,65	26,79
	50	4,50	53,03
	75	7,80	79,33

CRP - C reaktivni protein; NO- azot monoksid

4.4. Ultrasonografska stratifikacija stepena steatoze i neinvazivni skorovi steatoze i fibroze jetre (FLI i Fib-4)

Tabelom 8 je prikazana distribucija ispitanika prema UZ stepenu steatoze jetre, dok su Tabelom 9 prikazani neinvazivni skorovi steatoze i fibroze jetre u ispitivanoj populaciji. Distribucija ispitanika prema gradacijama rizika steatoze jetre određene primenom FLI,

odnosno stepena ispoljenosti fibroze jetre određene primenom Fib-4, prikazane su Tabelom 10 i 11.

Tabela 8. Zastupljenost ispitanika prema gradusu steatoze jetre procenjene UZ nalazom

	n	%
Gradus 1	28	46,7
Gradus 2	24	40,0
Gradus 3	8	13,3
Ukupno	60	100,0

Tabela 9. Parametri neinvazivnih skorova steatoze i fibroze jetre (FLI i Fib-4) u ispitivanoj populaciji

Neinvazivni skorovi steatoze/fibroze		FLI	Fib-4
Prosečna vrednost		67,38	1,17
Standardna devijacija		23,57	1,21
Minimum		9	0,32
Maksimum		99	9,63
Percentili	25	54,00	0,73
	50	76,00	0,92
	75	84,50	1,12

FLI - indeks masne jetre; Fib-4 - indeks fibroze jetre

Tabela 10. Zastupljenost ispitanika prema FLI skoru steatoze

FLI	n	%
nizak rizik	7	11,5
neodređen rizik	12	19,7
značajan rizik	42	68,9
Ukupno	61	100,0

FLI - indeks masne jetre

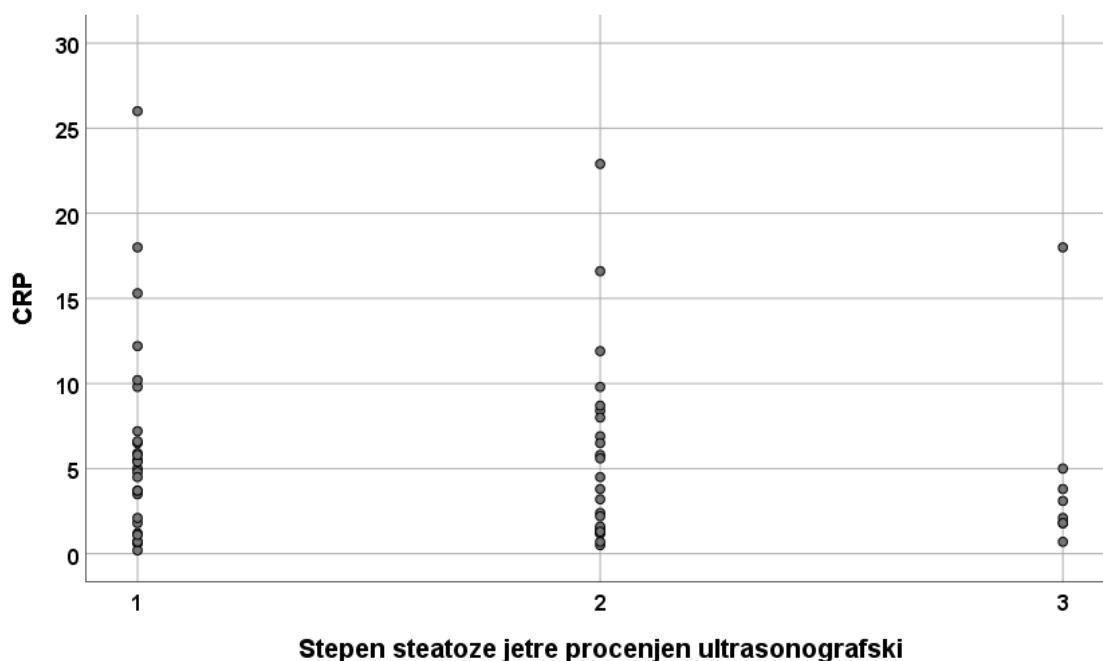
Tabela 11. Zastupljenost ispitanika prema Fib-4 skoru fibroze

	n	%
F0-1	50	82,0
F2-3	10	16,4
F \geq 3	1	1,6
Ukupno	61	100,0

Fib-4 - indeks fibroze jetre

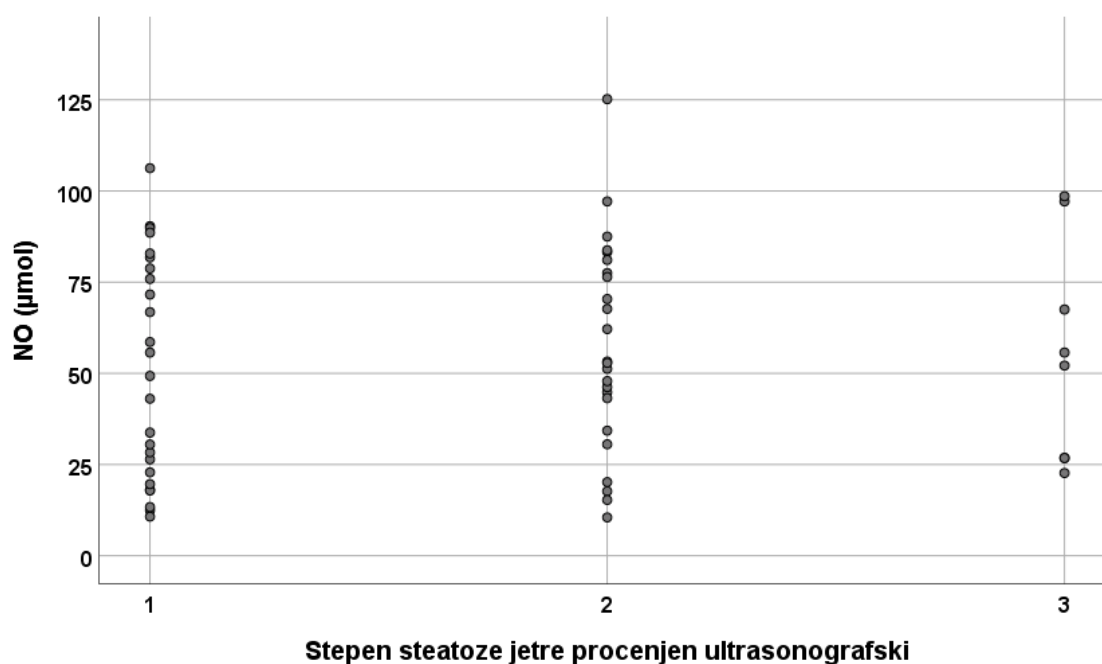
4.5. Korelacija stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji

U ispitivanoj populaciji, nije pronađena statistički značajna povezanost stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski i nivoa CRP-a ($r=0,095$; $p=0,475$) (Grafikon 1).



Grafikon 1. Nivo CRP (mg/L) u odnosu na stepen ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski u ispitivanoj populaciji

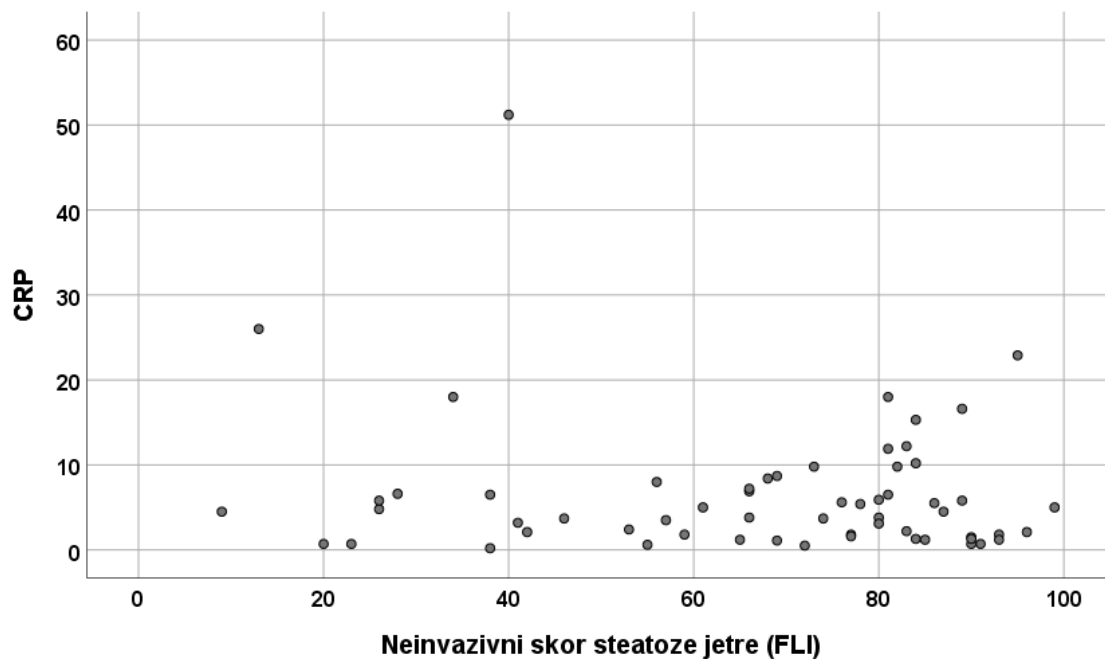
Takođe, u ispitivanoj populaciji nije pronađena statistički značajna povezanost stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski i koncentracije NO ($r=0,085$; $p=0,528$) (Grafikon 2).



Grafikon 2. Koncentracija NO (µmol) u odnosu na stepen ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski u ispitivanoj populaciji

4.6. Korelacija neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji

U ispitivanoj populaciji, nije pronađena statistički značajna povezanost neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) i nivoa CRP ($r=0,133$; $p=0,310$) (Grafikon 3).

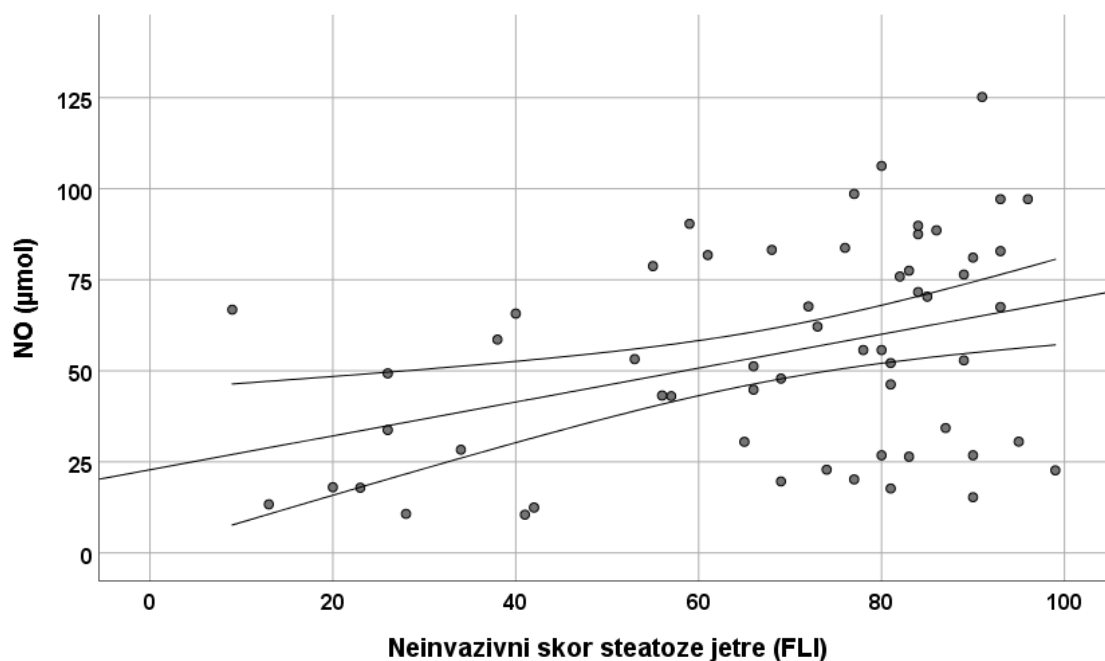


Grafikon 3. Nivo CRP u odnosu na neinvazivni skor steatoze jetre (FLI) u ispitivanoj populaciji

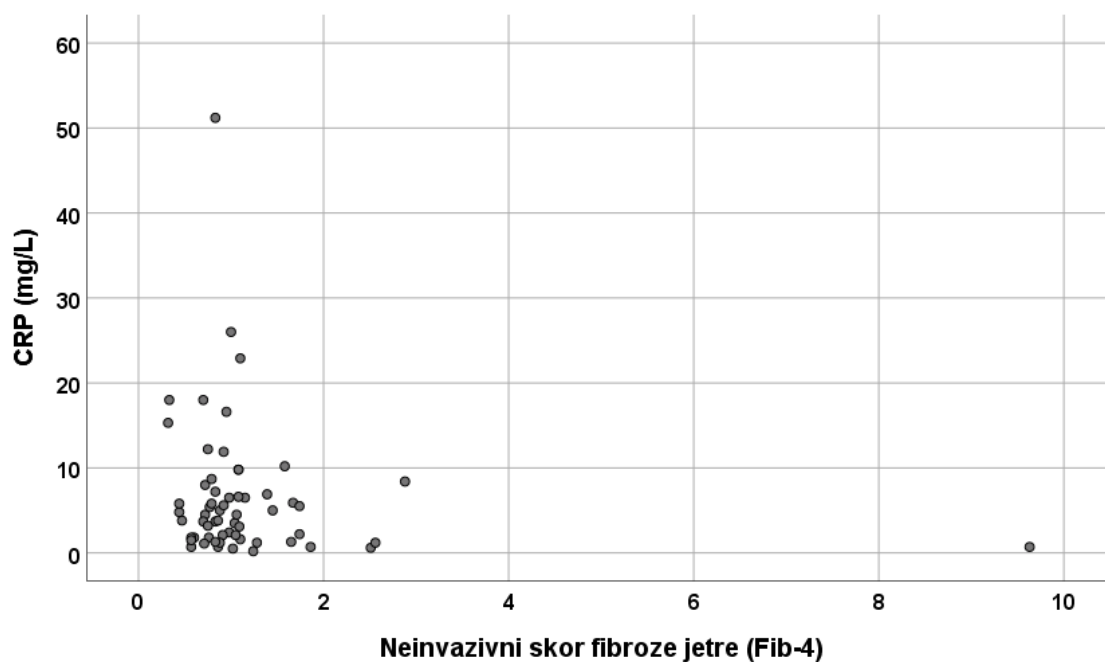
U ispitivanoj populaciji, pronađena je statistički značajna povezanost neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) i koncentracije NO ($r=0,379$; $p=0,003$) (Grafikon 4).

4.7. Korelacija neinvazivnog skora fibroze jetre (Fib-4) sa nivoima CRP i NO u ispitivanoj populaciji

U ispitivanoj populaciji, nije pronađena statistički značajna povezanost neinvazivnog skora fibroze jetre (Fib-4) i nivoa CRP-a (mg/L) ($r=0,145$; $p=0,268$) (Grafikon 5).

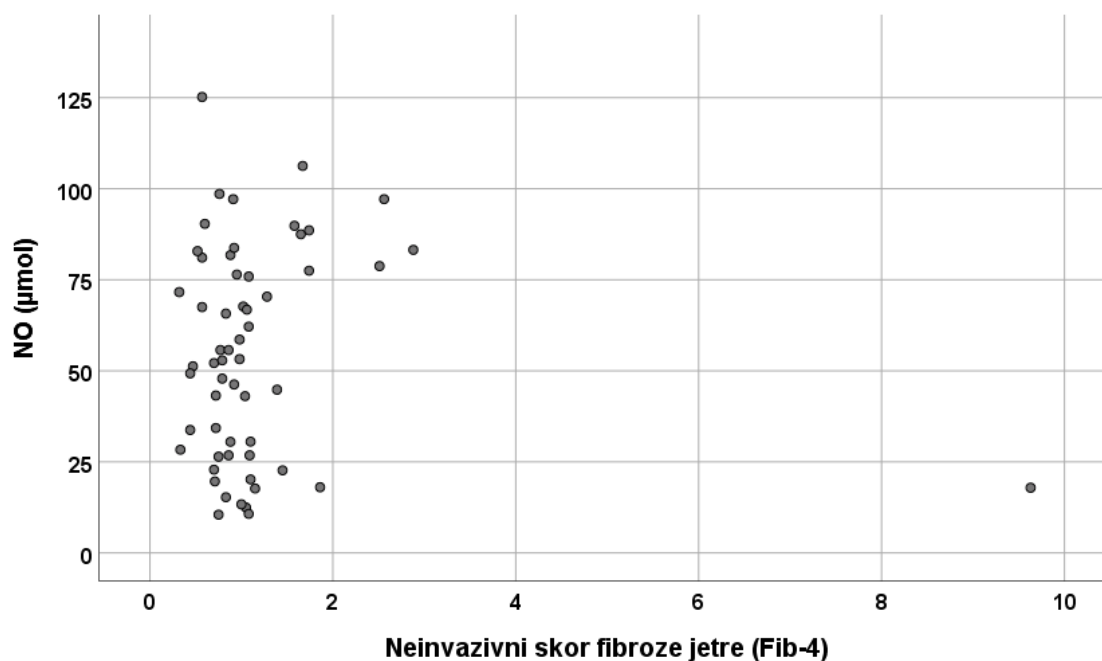


Grafikon 4. Koncentracija NO u odnosu na neinvazivni skor steatoze jetre (FLI) u ispitivanoj populaciji



Grafikon 5. Nivo CRP u odnosu na neinvazivni skor fibroze jetre (Fib-4) u ispitivanoj populaciji

Takođe, nije pronađena statistički značajna povezanost neinvazivnog skora fibroze jetre (Fib-4) i koncentracije NO ($r=0,057$; $p=0,673$) (Grafikon 6).



Grafikon 6. Koncentracija NO u odnosu na neinvazivni skor steatoze jetre (FLI) u ispitivanoj populaciji

Modelovanje odnosa neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) i koncentracije NO prikazano je u Tabeli 12. U univarijantnoj regresionoj analizi sledeće ispitivane karakteristike su identifikovane kao značajne: terapijska opcija (Metformin vs Metformin + Sulfoniureja) ($p=0,025$), ITM (kg/m^2) ($p=0,011$), glikemija $>6,1$ ($p=0,037$), insulin ($p=0,007$), bazalni C peptid ($p=0,015$), fT4 ($p=0,023$), neinvazivni skor steatoze jetre (FLI) ($p=0,003$) i neinvazivni skor fibroze jetre (Fib-4) ($p=0,079$).

Tabela 12. Modelovanje odnosa neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) i koncentracije NO - univarijantna regresiona analiza

Varijabla	B	SE	Beta	t	p
Metformin vs Metformin + Sulfoniureja	-16,910	7,359	-0,294	-2,298	0,025
ITM (kg/m^2)	4,297	1,629	0,332	2,637	0,011
Glikemija $>6,1\text{mmol/L}$	21,878	10,214	0,275	2,142	0,037
Insulin	2,011	0,719	0,353	2,798	0,007
Bazalni C peptid	8,735	3,478	0,318	2,512	0,015
fT4	-4,329	1,851	-0,298	-2,339	0,023
FLI	0,465	0,152	0,379	3,065	0,003
Fib-4	12,935	7,220	,235	1,792	0,079

ITM - indeks telesne mase; fT4 - slobodni tiroksin; FLI - indeks masne jetre; Fib-4 - indeks fibroze jetre

Zavisna varijabla: NO - azot monoksid

Nakon modelovanja sa svim značajnim varijablama iz univarijantne regresione analize, kao nezavisni prediktor koncentracije NO u ispitivanoj populaciji identifikovan je neinvazivni skor steatoze jetre (FLI) ($p=0,003$) (Tabela 13).

Tabela 13. Modelovanje odnosa neinvazivnog skora steatoze jetre (FLI) i koncentracije NO-multivarijantna regresiona analiza

Model					
Varijable uključene u finalni model					
	B	SE	beta	t	p
FLI	0,472	0,154	0,383	3,071	0,003
Varijable isključene iz finalnog modela					
	Beta In	t	p	Parcijalna korelacija	Tolerancija kolinearnosti
Metformin vs Metformin + Sulfonilurea					
ITM (kg/m^2)	-0,194 ^b	-1,494	0,141	-0,199	0,901
Glikemija >6,1	0,096 ^b	0,493	0,624	0,067	0,416
Insulin	0,184 ^b	1,430	0,159	0,191	0,922
Bazalni C peptid	0,221 ^b	1,580	0,120	0,210	0,773
fT4	0,186 ^b	1,349	0,183	0,181	0,807
Fib-4	-0,219 ^b	-1,734	0,089	-0,230	0,942

ITM - indeks telesne mase; fT4 - slobodni tiroksin; FLI - indeks masne jetre; Fib-4 - indeks fibroze jetre

Zavisna varijabla: NO - azot monoksid

Prikaz rezultata po grupama ispitanika dat je Tabelama 14 -17.

Tabela 14: Demografski i antropometrijsko-klinički parametri po grupama ispitanika

Varijabla	Grupa 1 (n=31)	Grupa 2 (n=30)	p
Godine života	59±9 (40-72)	55±13 (31-81)	ns
Trajanje T2DM (meseći)	36 (12-180)	48 (12-132)	ns
Trajanje terapije T2DM (meseći)	30 (12-48)	34 (12-60)	ns
TT (kg)	83±10 (63-112)	83±14 (56-105)	ns
TV (m)	1,68±0,1 (1,53-1,96)	1,73±0,10 (1,51-1,89)	ns
ITM (kg/m ²)	29,5 (23,7-30,0)	29 (21,3-30,0)	ns
OSt (cm)	104±7 (87-118)	101±12 (75-117)	ns
sTA (mmHg)	130 (110-145)	130 (70-150)	ns
dTA (mmHg)	80 (60-90)	80 (60-110)	ns
P (otkucaji/min)	76 (64-92)	76 (65-88)	ns

T2DM – tip 2 dijabetes melitus; TT - telesna težina; TV - telesna visina; ITM - indeks telesne mase; OSt - obim struka; sTA - sistolni krvni pritisak; dTA - dijastolni krvni pritisak; P –puls; p- verovatnoća; ns- nesignifikantno

Tabela 15: Hematološki parametri po grupama ispitanika

Varijabla	Gr 1 (n=31)	Gr 2 (n=30)	p
Er (x10 ¹² /L)	4,69±0,32 (4,04-5,26)	4,74±0,56 (3,58-5,81)	ns
Hgb (g/L)	139±12 (104-163)	139±18 (93-163)	ns
Hct (L/L)	0,42±0,03 (0,34-0,47)	0,41±0,05 (0,27-0,48)	ns
Le (x10 ⁹ /L)	6,9±1,9 (3,6-12,5)	7,7±1,8 (5,2-13,5)	ns
Tr (x10 ⁹ /L)	250±56 (158-377)	261±65 (138-392)	ns
MCV (fl)	90 (73-97)	87 (38-98)	ns
MCH (pg)	30 (23-32)	29 (19-34)	ns
MCHC (g/L)	332±9 (311-356)	334±11 (302-355)	ns
PDW (%)	16,5±0,59 (15,7-18,1)	16,4±0,69 (14,8-17,6)	ns
PCT (%)	0,214±0,05 (0,129-0,331)	0,230±0,04 (0,151-0,320)	ns
RDW (%)	13,3±1,1 (9,8-16,9)	13,1±1,1 (11,7-15,9)	ns
MPV (%)	8,6±1,7 (6,5-11,8)	8,8±1,0 (7,4-12,2)	ns

Er - eritrociti; Hgb - hemoglobin; Hct - hematokrit; Le - leukociti; Tr – trombociti; MCV - srednji volumen Er; MCH - prosečna količina Hgb u Er; MCHC - prosečna koncentracija

Hgb u Er; PDW – širina raspodele Tr; PCT - zapreminski udeo Tr u jedinici pune krvi; RDW – širina raspodele Er; MPV- prosečni volumen trombocita

Tabela 16: Biohemijski parametri po grupama ispitanika

Varijabla	Gr 1 (n=31)	Gr 2 (n=30)	p
Glikemija (mmol/L)	7,3±1,5 (5,4-12,7)	8,7±2,6 (4,6-16,2)	0,01
HbA1c (%)	6,6±1,9 (4,8-13,9)	7,4±1,7 (4,7-12,6)	ns
Hol (mmol/L)	5,5±1,1 (3,5-7,9)	4,9±0,9 (3,4-6,6)	0,01
Tg (mmol/L)	1,9±0,7 (0,9-3,8)	2,4±1,4 (0,6-5,7)	ns
LDL (mmol/L)	3,4±0,9 (1,5-4,9)	2,9±0,6 (2,1-4,0)	ns
HDL (mmol/L)	1,4±0,3 (1,0-2,3)	1,3±0,3 (0,8-2,0)	ns
SGOT (U/L)	22 (11-73)	21 (6-62)	ns
SGPT (U/L)	34±18 (12-78)	29±14 (12-59)	ns
GGT (U/L)	29 (9-250)	24 (10-108)	ns
AcUr (µmol/L)	355±79 (214-519)	352±101 (204-553)	ns
Fe (µmol/L)	15,7±5,5 (4,8-25,0)	14,6±5,9 (2,9-26)	ns
Feritin (µg/L)	85,4 (9,2-378,6)	124,1 (9,0-931,7)	ns
Transferin (g/L)	2,70±0,38 (2,00-3,60)	2,77±0,52 (1,9-4,2)	ns
CRP (mg/L)	4,5 (0,2-22,9)	4,5 (0,7-51,2)	ns
Insulin (µIU/L)	10,3±5,3 (3,7-25,5)	8,0±4,6 (3,0-20,9)	ns
Bazalni C peptid (nmol/L)	3,12±1,00 (0,61-5,87)	2,74±1,06 (1,23-5,65)	ns
TSH (µIU/ml)	2,49±1,07 (0,32-5,79)	2,47±1,56 (0,62-6,87)	ns
fT4 (pmol/L)	10,66±2,14 (6,04-17,2)	11,69±1,64 (7,99-15,16)	0,01

HbA1c – glikozilirani hemoglobin; Hol - holesterol; Tg - trigliceridi; LDL - lipoproteini male gustine; HDL - lipoproteini velike gustine; SGOT - aspartat aminotransferaza; SGPT - alanin aminotransferaza; GGT - gama glutamil transferaza; AcUr - mokraćna kiselina; Fe - gvožđe; CRP - c reaktivni protein; TSH - tirostimulišući hormon; fT4 - slobodni tiroksin

Tabela 17: Skorovi i inflamatorni parametri po grupama

Varijabla	Gr 1 (n=31)	Gr 2 (n=30)	p
FLI	73±16 (38-95)	62±29 (9-99)	0,06
Fib-4	0,98 (0,47-2,88)	0,89 (0,32-9,63)	ns
NO	63,36±26,80 (17,68-125,18)	46,48±29,08 (10,5-98,57)	0,02
Pol	♂ 9 (29%) ♀ 22 (71%)	♂ 19 (64%) ♀ 11 (36%)	0,01
Gradusi steatoze (n/%)	Gr 1 →15 (48%) Gr 2 →13 (48%) Gr 3 →3 (10%)	Gr 1 →13 (45%) Gr 2 →11 (38%) Gr 3 →5 (17%)	ns

FLI - indeks masne jetre; Fib-4 - indeks fibroze jetre; NO - azot monoksid

5. DISKUSIJA

Polazna hipoteza ove doktorske disertacije je da postoji povezanost stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD definisane ultrasonografski sa neinvazivnim skorovima steatoze i fibroze i koncentracijama CRP i NO kod negojaznih osoba sa T2DM. Dobijeni rezultati naše studije nisu utvrdili povezanost ultrasonografski definisane steatoze u NAFLD sa neinvazivnim skorovima steatoze i fibroze već su utvrdili postojanje korelacije i nezavisne predikcije koncentracije NO od strane neinvazivnog FLI skora kod negojaznih bolesnika sa T2DM i NAFLD, a koje su lečene oralnim antihiperlipidemicima.

U okviru ove doktorske disertacije je sprovedena studija preseka koja je obuhvatila 61 ispitanika obolelih od T2DM lečenih oralnim agensima, prosečne životne dobi 57 ± 10 godina, sa udelom ženskog pola od 54,1%. Ispitanici su na osnovu načina tretmana T2DM podeljeni u dve grupe: prvoj grupi su pripadali ispitanici tretirani metforminom ($n=31$), dok su drugoj grupi ($n=30$) pripadali ispitanici tretirani metforminom i derivatom SU, gliklazidom (25 ispitanika (83,3%) ili glimepiridom (5 ispitanika (16,7%)). Grupe ispitanika su grupisane po godinama života, trajanju T2DM, kao i trajanju njegovog tretmana. U grupi ispitanika lečenih samo bigvanidom kao monoterapijskim agensom, prosečna dnevna terapijska doza metformina je bila 1500mg, dok je u grupi lečenih derivatom SU i bigvanidom, prosečna dnevna doza metformina bila 2000mg.

U ispitivanoj populaciji je uočena korelacija FLI skora sa koncentracijom NO, dok nasuprot tome, ona nije uočena u slučajevima FLI i koncentracija CRP, odnosno Fib-4 i koncentracija CRP i NO. Multivarijantni prediktivni model je pokazao da je jedini nezavisni prediktor koncentracije NO u ispitivanoj populaciji FLI.

NO je pluripotentni ćelijski signalni molekul, sintetisan iz aminokiseline L-arginina od strane enzima NOS klase, koje postoje u tri izoforme: eNOS, iNOS, nNOS. NO sintetisan u endotelnim ćelijama, odgovoran je za relaksaciju glatkih mišića KS, tako što difundujući preko sloja endotelnih ćelija ulazi u glatke mišićne ćelije, gde stimulacijom guanilat-ciklaznog puta, dovodi do vazodilatacije (242, 243). Narušena ravnoteža između vazodilatatornih (predominantno NO) i vazokonstriktivnih endotelnih faktora predstavlja endotelnu disfunkciju, koja je patofiziološka osnova ne samo KV bolesti, nego i brojnih sistemskih bolesti, poput T2DM i gojaznosti. Sa aspekta NO, endotelna disfunkcija se karakteriše njegovom smanjenom sintezom, oslobađanjem ili aktivnošću (244, 245). Od ostalih tkiva, značajna produkcija NO se zapaža u jetri, posebno u stanjima vitalne ugroženosti, poput šoka, teškim bolestima jetre, sepsi. U tim stanjima prevladava ekspresija iNOS, koji obezbeđuje prekomernu produkciju NO, koji u višku dovodi do oštećenja brojnih tkiva, posebno jetre, prevashodno zbog interakcije NO sa superoksidnim anjonima i nastajanja ROS (246). Doprinos oštećenjima tkiva je posebno vidljiv u slučajevima nedostatka L-arginina kao supstrata zbog pojačane potrošnje uzrokovane pojačanom aktivnosti iNOS, koji počinje da stvara ROS i slobodne radikale, predominantno superoksidni anjon (247, 248).

Prosečan nivo NO u našoj ispitivanoj populaciji je iznosio $54,59 \pm 29,04$ mM, što ukazuje da je nivo NO pri gornjograničnom normalnom rangu. Iz literaturnih podataka, referentni opseg za NO je 10,3-66,8 mM za oba pola i različite starosne grupe u populaciji zdravih odraslih osoba. Iz manje populacione studije su definisane i vrednosti po polovima: za muški 11,5-76,4 mM, a za ženski 10,1-65,6 mM. Takođe, posmatrano prema godinama života, najniže i najviše granične referentne vrednosti su registrovane u klasterima od 20-30 godina i >50 godina života (249). Više gornje granice referentnih vrednosti se objašnjavaju efektima ateroskleroze, inflamacije, menopauze i verovatno involutivnog hipoandrogenizma (249-251). Prekomerna telesna masa i gojaznost doprinose takođe pozitivnom uticaju na povećanje nivoa NO. Tako su koncentracije NO veće kod zdravih, gojaznih žena, što se može objasniti povećanom produkcijom NO u masnom tkivu (252), dok se niže koncentracije NO registruju kod mladih osoba (249, 253).

Pored NO, CRP je takođe praćen kao inflamatorni marker kod obolelih sa T2DM i NAFLD. Kao i u slučaju NO, visoko normalne prosečne koncentracije CRP, koje se nisu razlikovale među grupama ispitanika, takođe ukazuju na postojanje latentne, supkliničke ateroskleroze. Poznata je veza između povišenog CRP i T2DM, što je pokazano i animalnim modelima (254). Postojanje masnog oštećenja jetre dodatno doprinosi već postojećem oštećenju jetre kod obolelih od T2DM zbog činjenice da je jetra među najvažnijim insulin-senzitivnim organima. Hiperglikemija u NAFLD, udružena sa hiperglikemijom-indukovanim OS dovode do promena u metabolizmu proteina, ugljenih hidrata i masti, doprinoseći pogoršanju funkcionalne, ali i razvoju morfološke lezije jetre. Izmenjen metabolizam nadalje pogoršava OS i aktivira dalji pro-inflamatorni odgovor (255). Rezultati mnogobrojnih humanih studija pokazuju da povišeni nivoi CRP koreliraju sa progresijom T2DM (256, 257), ali isto tako mogu ukazati na opasnost od pojave T2DM kod osoba sa rizikom (258).

U daljem radu, na osnovu UZ nalaza abdomena, ispitanici su grupisani u 3 grupe prema ispoljenosti steatoze jetre: 28, 24 i 8 ispitanika pripadaju gradusu 1, 2 i 3 steatoze. Uzimajući u obzir da prosečna jutarnja glikemija $7,97 \pm 2,19$ mmol/L, odnosno prosečni nivo HbA1c $6,98 \pm 1,83\%$ ukazuju na delimično zadovoljavajuću kontrolu T2DM i ovaj stepen ispoljenosti steatoze jetre je odgovarajući trajanju i kvalitetu lečenja T2DM. Naši publikovani rezultati, koji su proistekli iz ove doktorske disertacije pokazuju da, kod bolesnika sa T2DM lečenih monoterapijom metforminom sa povoljnom retrogradnom metaboličkom kontrolom procenjenom nivoima HbA1c, koncentracije serumskih inflamatornih markera nemaju uticaja na UZ-om utvrđenu težinu NAFLD. Normalne vrednosti serumskih inflamatornih markera ukazuju da je tretman metforminom dovoljan u kontroli sistemske inflamacije nezavisno od težine NAFLD kod negojaznih bolesnika sa T2DM i zadovoljavajućom metaboličkom kontrolom (259).

Takođe, postojanje visoko normalnih koncentracija NO kod obolelih od T2DM tretiranih mono-ili dualnom oralnom terapijom sa delimično zadovoljavajućom kontrolom regulacije T2DM ukazuje da trajanje lečenja bolesti i kvalitet njegove kontrole značajno određuju koncentracije NO. Visoko normalne vrednosti ukazuju na postojanje inflamacije nižeg stepena, koja nedvosmisleno ubrzava aterosklerotski proces i pospešuje nastanak i razvoj mikro- i makrovaskularnih komplikacija udruženih sa dijabetesom (249, 260, 261).

Prosečni FLI skor u ispitivanoj populaciji je $67,38 \pm 23,57$ i ukazuje na ispoljenost steatoze, dok je prosečan Fib-4 skor $1,17 \pm 1,21$, što ukazuje na početni (F0-1) stadijum fibroze jetre. Dobijeni rezultati su od izuzetnog kliničkog značaja i pokazuju da nefarmakološki tretman T2DM uz tretman metforminom ili metforminom i derivatom SU, pored uticaja na kvalitet glukozne regulacije, utiče indirektno i na usporavanje progresije postojeće steatoze u fibrozu jetre. Grupe ispitanika u našoj studiji se nisu razlikovale po dužini trajanja terapije dijabetesa, FLI i Fib-4, što ukazuje da tretman dijabetesa sigurno ima uticaja na nastanak i razvoj NAFLD. Takođe, u našoj studiji grupe ispitanika se nisu

razlikovale po demografskim, antropometrijsko-kliničkim i hematološko-biohemijskim parametrima.

U našoj populaciji ispitanika, uočena je statistički značajna razlika u pogledu blizu normoglikemičnih jutarnjih glikemija. Više glikemije našte u grupi tretiranih dualnom terapijom mogle bi se okarakterisati očekivanim, jer su upravo one razlog za uvođenje drugog oralnog antihiperglikemika. Stoga je postojanje ove razlike objašnjivo i mogućnom kratkotrajnošću primene drugog agensa. Iako postoji, razlika među nivoima HbA1c po grupama ispitanika nije dostigla statističku značajnost.

Poznato je da je NAFLD globalni zdravstveni problem kao i od nje trenutno boluje preko 1 milijarda ljudi, dok oko 400 miliona ljudi ima NASH (262). Prosečna prevalenca NAFLD u SAD i Evropi iznosi 24,1 odnosno 23,7% (2, 263), dok u Južnoj i Jugoistočnoj Aziji iznosi 9-45% (264). Na Afričkom kontinentu prevalenca NAFLD iznosi oko 13,48%, u Južnoj Americi 30,45%, dok na Bliskom Istoku iznosi čak 31,79% (2, 263). Precizni epidemiološki podaci za Srbiju vezani za prevalencu NAFLD/NASH ne postoje, te se mogu primeniti oni koji su vezani za Evropu. Pokazano je da je NAFLD hepatična manifestacija MetS i time predstavlja ogromno opterećenje javno-zdravstvenog sistema (265). Učestalost bolesti prednjači u razvijenijim zemljama, što ukazuje na značajan uticaj modernih životnih navika i sedanternog načina života.

Najčešće se NAFLD u kliničkoj praksi prvo detektuje ultrasonografski (7, 241). Međutim, često u izveštajima ultrasonografista nalazimo samo termin svetle jetre. Potreba za kvantifikacijom težine masne jetre, proizvela je primenom populacionih studija ultrasonografske kriterijume, a neki od njih su korišćeni u ovoj studiji (239). Podatak da neko ima ultrasonografski dokazanu steatozu jetre trećeg stepena ukazuje kliničaru na ekstreman rizik od postojanja ozbiljne fibroze i ciroze jetre, koje su neposredne komplikacije NAFLD (46, 63). Međutim, ostaje otvoreno pitanje: da li su sve steatoze trećeg stepena sličnog rizika od fibroze ili ciroze odnosno da li i steatoza drugog stepena može imati visok rizik od razvoja ovih ozbiljnih komplikacija? Neizvodljivo je uputiti sve ispitanike na biopsiju jetre, kao zlatnog standarda u dijagnostici NAFLD. Međutim, napretkom tehnologije, danas su u upotrebi savremeni UZ aparati kao i dopunske ultrasonografske metode, poput TE, tomografskih aplikacija, MR i spektroskopije. Takođe, svakodnevno se radi na pronalaženju novih biohemijskih markera steatoze i fibroze jetre (266).

Korisnost svih ovih metoda je da se od velikog broja obolelih sa NAFLD izdvoje oni koji su sa najvećim rizikom od fibroze i ciroze i shodno tome regrutuju za biopsiju jetre. U tom smislu, od određene pomoći su i brojni neinvazivni skorovi za ispitivanje postojanja i ispoljenosti steatoze i fibroze jetre, poput skorova koji su korišćeni u okviru ove doktorske disertacije : FLI i Fib-4 (78, 150, 154, 157). Značaj njihove primene je prilagođenost ambulantnom registrovanju ispitanika sa masnom jetrom od interesa za fibrozu i cirozu jetre, koji bi se uputili hepatologu na dalji tretman. Ovi alati moraju biti jednostavni i koristiti minimalno vremena za izabranog lekara u ambulantnom okruženju. Postojanje velikog broja preporuka nedvosmisleno je doveo do neophodne institucionalne adaptacije procedura, ali i potrebe za sve većim uključivanjem endokrinologa, imajući u vidu povezanost NAFLD sa brojnim metaboličkim poremećajima (267).

Dijabetes je oboljenje koje često prati NAFLD, neposredno utičući jedno na drugo, bilo kao odvojeni entiteti, bilo kao komponente MetS (199, 203). Nekoliko objavljenih meta-analiza pokazale su da je procenjena prevalenca NAFLD, NASH i uznapredovale fibroze jetre (faza F \geq 3) kod bolesnika sa T2DM bila 57,8%, 65,26%, odnosno 15,05% (2, 200). Prevalenca MetS kod obolelih sa NAFLD i NASH je bila 41 i 47% (29, 200) što sve zajedno ukazuje na dvosmernu interakciju između T2DM i NAFLD/NASH, imajući u vidu da se T2DM javio kod 1/4 bolesnika koji boluju od NAFLD/NASH, dok je NAFLD dijagnostikovao kod 3/4 bolesnika koji boluju od T2DM (62, 206, 268). Danas je već dobro poznato da lečenje T2DM utiče na sadržaj lipida u jetri, što je uočljivo ne samo

ultrasonografski nego i kroz same skorove (159). Od velikog prognostičkog značaja za obolelog je uspostavljanje kontrole nad što više faktora, u slučaju kada više njih deluje sinergistički na razvoj fibroze ili ciroze jetre (7, 46). Dijabetes samostalno, ili kao komponenta MetS, doprinosi narušavanju balansa pro-vazodilatatornih i pro-vazokonstriktornih humoralnih faktora, ali i endotelnoj disfunkciji, kao doprinosećim faktorima razvoja i akceleracije ateroskleroze (46, 55, 269). Inflamacija niskog stepena je osnovna patofiziološka karakteristika dijabetesa i gojaznosti i predstavlja osnovu za razvoj angiopatskih komplikacija odmaklog ili nekontrolisanog dijabetesa. Pojedine studije ukazuju na povezanost između nivoa CRP i rizika od nastanka dijabetesa (270, 271). Kod obolelih od dijabetesa, povišen nivo CRP-a može ukazati na povećan rizik od mikro- ili makrovaskularnih komplikacija povezanih sa dijabetesom (272, 273).

U našoj studiji nismo uočili statističku povezanost između stepena ispoljenosti NAFLD definisane ultrasonografski i koncentracija CRP i NO, kao posmatranih inflamatorno-endotelnih parametara. Kao moguće objašnjenje dobijenih rezultata je to što je najveća zastupljenost ispitanika u prvom gradusu steatoze po ultrasonografiji, našta ukazuje i manje pomeranje inflamatornih parametara prema gornjim *cut-off* vrednostima, indikujući prisutnost blage inflamacije u ranim stadijuma ispoljene steatoze kod delimično zadovoljavajuće regulisanog T2DM.

Dugi niz godina se traga za idealnim markerom, skorom ili metodom za dijagnostiku i praćenje NAFLD, NASH i fibroze jetre. Nažalost, dosadašnja istraživanja su pokazala da ne postoji najsenzitivnija niti najspecifičnija pojedinačna metoda. Međutim, pokazano je da se kombinovanjem biomarkera, skorova ili dijagnostičkih metoda može sa velikom verovatnoćom ukazati na postojanje NAFLD, kao i da se napravi razlika između NAFLD i NASH-a i omogući stratifikacija fibroze po stadijumima. Utisak je da je svrha primene svih prethodno nabrojanih metoda upravo u kvalitetnom i blagovremenom regrutovanju ispitanika sa NAFLD, koji su od rizika za NASH i fibrozu jetre, za sprovođenje biopsije jetre i patohistološke dijagnostike (267). U novije vreme, primenom „omics“ tehnologija, sa akcentom na RNK biomarkere („micro RNA“ i „long-noncoding RNA“), pokušava se sa identifikacijom markera koji bi na najsenzitivniji i tačniji način identifikovali pomenute patologije (274, 275).

U okviru ove doktorske disertacije je uočena razlika u koncentracijama NO između grupa ispitanika, gde su viši, proinflamatorniji nivoi registrovani u grupi tretiranih monoterapijom metforminom. Ovako dobijerni rezultati bi se mogli objasniti time da kod obolelih tretiranih monoterapijom, posebno u kasnijim fazama trajanja tretmana, dolazi do poremećaja glukozne regulacije, te bi se stoga porast nivoa NO mogao koristiti kao biološki marker za intenzifikaciju postojeće terapije dijabetesa ili pak njenu promenu. U situaciji kada je kvalitet glukozne regulacije adekvatan, pri čemu se uočava porast nivoa NO, čiji se porast ne bi mogao dovesti u vezu sa nekom drugom patologijom, on bi kod ispitanika sa postojećom NAFLD mogao biti indikator progresije stetatoze ka NASH-u i povećanom riziku od fibroze jetre (1). Ovakvo objašnjenje je potkrepljeno rezultatima koji pokazuju da postoji pozitivna korelacija nivoa NO i FLI kod osoba sa NAFLD i T2DM u našoj grupi ispitanika.

Naši i rezultati studija takođe pokazuju da FLI ima zadovoljavajuću tačnost u detekciji prisustva NAFLD (AUC= 0,84) i dobro kolerira sa njenim ultrasonografskim prikazom (157, 266). Uz to, Fib-4 ima zadovoljavajuću tačnost u detekciji F3 stadijuma fibroze jetre (AUC= 0,80) (154). Najveća prednost primenjenih skorova je njihova jednostavnost u ambulantnim uslovima. Takođe, njihovim kombinovanjem sa inflamatornim markerima i ultrasonografijom moguće je dobiti sliku o riziku od progresije NAFLD u NASH i oceniti rizik od preteće ozbiljne fibroze. Na taj način se može precizno regrutovati osoba od interesa za nastanak i razvoj najopasnije komplikacije NAFLD- fibroze i ciroze jetre, te uputiti na izvođenje biopsije jetre. Pored toga, praćenjem dinamike ovih skorova i markera inflamacije, moguće je dobiti podatke o kvalitetu primenjene terapije, ali takođe ukazati na potrebu

promene postojeće terapije dijabetesa. Pravovremeni tretman NAFLD i MetS doprinosi sprečavanju ili odlaganju razvoja T2DM. U svakodnevnoj kliničkoj praksi to znači da nefarmakološke mere tretmana NAFLD i MetS istovremeno predstavljaju i nefarmakološke mere u tretmanu T2DM. Isto tako, farmakološki tretman T2DM novim antihiperглиkemijskim agensima (SGLT2 inhibitori, DPP4 inhibitori, GLP1- receptorski agonisti) sa ili bez kombinacije sa insulinskim senzitizerima (bigvanidi ili tiazolidindioni) može sprečiti nastanak ili progresiju NAFLD u hronične komplikacije bolesti jetre. Ako, pak, sva tri dijagnostička entiteta ko-egzistiraju kod istog bolesnika, simultan tretman doprinosi značajnom smanjenju zajedničkog kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta. U slučajevima da se komponente metaboličke trijade javljaju kod istog bolesnika, lečenjem prve detektovane komponentne nedvosmisleno se utiče na nastanak i razvoj druge i/ili treće komponente. Sve ovo ukazuje na kompleksnost veze NAFLD, MetS i T2DM, te razumevanje patofiziologije i molekularnih osnova ove veze omogućava pravovremenu dijagnostiku, kao i monitoring ovih stanja, ali i doprinosi primeni efikasnog tretmana (276).

Limitacija studije čiji su rezultati prikazani u okviru ove doktorske disertacije je svakako relativno mali broj ispitanika. Međutim, ona predstavlja dobru osnovu za sprovođenje budućih interventnih i kohortnih studija za definisanje koncentracija NO na ispitivanim populacijama, kao i praćenja efekata primenjene terapije na koncentracije NO i karakteristike NAFLD.

Uzimajući u obzir podatke iz literature, zajedno sa rezultatima prikazanim u okviru ove doktorske disertacije, kao i naše objavljene i preliminarne rezultate koji se odnose na primenu neinvazivnih skorova steatoze i fibroze jetre i njihove interakcije sa inflamatornim markerima, sugeriše se da bi primena FLI i Fib-4 u ambulantnim uslovima mogla upotpuniti inflamatorni portfolio kod obolelih od T2DM pod tretmanom oralnim antihiperглиkemicima i pridruženim NAFLD. Praćenje dinamike FLI skora i koncentracija NO bi bila od velikog kliničkog značaja, jer može ukazati na moguću pojavu transfera NAFLD u NASH ili fibrozu jetre. Takođe, stacionaran nalaz ili trend pada koncentracije NO kod ovih bolesnika može, pored ostalih parametara, da ukaže na stabilnost u glikometaboličkoj regulaciji i opštem inflamatornom statusu organizma obolelog.

Postoji značajna potreba za poboljšanjem postojećih ili formulisanja novih neinvazivnih skorova za predikciju fibroze kod obolelih od T2DM i NAFLD. Rezultati prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji ukazuju na uzajamne odnose ultrasonografski detektovane steatoze jetre, jednostavnih i ambulantno primenjivih skorova steatoze i fibroze jetre i markera inflamacije. U današnje vreme, biopsija jetre je još uvek zlatni standard za potvrdu NAFLD, ali i procenu rizika progresije NAFLD u nealkoholni steatohepatitis, fibrozu i cirozu jetre, kao i hepatocelularni karcinom. Zbog visoke prevalencije NAFLD i mogućih postproceduralnih komplikacija invazivne dijagnostičke metode, od ogromnog značaja je izvršiti ciljanu selekciju bolesnika za biopsiju jetre. S'obzirom da prisustvo fibroze određuje dalji klinički tok i praćenje obolelih od NAFLD, za očekivati je da je izvođenje biopsije jetre namenjeno prevashodno obolelim sa povećanim rizikom od fibroze jetre. Upravo se na ovom mestu jasno vidi značaj upotrebe ne-invazivnih alata za ocenu prisustva fibroze jetre (277). Od istog uticaja na kvalitet selekcije bolesnika za biopsiju jetre i dalje njihovo praćenje je unapređenje saradnje među različitim specijalnostima lekara koji se bave tretmanom metaboličke trijade i njenim komponentama pojedinačno: izabranim lekarima, gastroenterohepatolozima i endokrinolozima. U tom pravcu moguće je formirati multidisciplinarnе timove i institucionalno prilagoditi međunarodne esnafske Vodiče kliničke prakse za tretman NAFLD (267). Ukazano je da nivo NO, kao markera inflamacije i funkcionalnosti endotela, pozitivno korelira sa FLI skorom, koji ujedno predstavlja i njegov nezavisni prediktor, što je od velike kliničke koristi, posebno ako se dinamika promene koncentracije NO kod ovih bolesnika prati u vremenu.

Potencijalni naučni doprinos rezultata dobijenih ovom doktorskom disertacijom je, između ostalog, upoznavanje delovanja NO u stanjima MetS kao i njegove povezanosti sa oboljenjima jetre. Izučavanja usmerena u tom pravcu su od izuzetne važnosti za razumevanje uloge NO, kako u dijabetologiji i metaboličkim bolestima, tako i u KV bolestima.

Potreba za daljim razvojem ovog polja hepatologije je od ogromne važnosti, imajući u vidu da je NAFLD uz T2DM najrasprostranjenija metabolička bolest. Sve su prisutnije potrebe da se prag za Fib-4 treba još više sniziti i time značajno povećati njegova korisnost u pravcu što ranije detekcije fibroze jetre u naprednim stadijumima. U tom smislu Wu i saradnici predlažu da prag za Fib-4 bude $<1,05$ (278). Nadalje, dalji doprinos razumevanju molekularnih mehanizama, koji su u osnovi efekata NO, kako u fiziološkim, tako i u patofiziološkim stanjima, kao što su NAFLD i T2DM, je od velike važnosti.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih i prikazanih rezultata u okviru ove doktorske disertacije, mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Prosečni FLI skor u ispitivanoj populaciji je $67,38 \pm 23,57$ i ukazuje na ispoljenost steatoze detektovane ultrasonografski
2. Prosečan Fib-4 skor u ispitivanoj populaciji je $1,17 \pm 1,21$ i ukazuje na F0-1 stadijum fibroze jetre,
3. Zastupljenost ispitanika sa T2DM prema gradusu steatoze jetre procenjene ultrazvučnim nalazom je iznosila 46,7% za Gradus 1, 40% za Gradus 2 i 13,3% za Gradus 3,
4. Zastupljenost ispitanika sa T2DM prema skorima steatoze jetre procenjene FLI indeksom je iznosila 11,5% za FLI skor niskog rizika, 19,7% neodređenog rizika i 68,9% značajnog rizika,
5. Zastupljenost ispitanika sa T2DM prema skorima fibroze jetre procenjene Fib-4 indeksom je iznosila 82,0% za F0-1, 16,4% za F2-3 i 1,6% za $F \geq 3$ skor,
6. U ispitivanoj populaciji nije pronađena statistički značajna povezanost stepena ispoljenosti steatoze u NAFLD gradirane ultrasonografski i nivoa CRP-a ($r=0,095$; $p=0,475$) odnosno koncentracije NO ($r=0,085$; $p=0,528$),
7. U ispitivanoj populaciji nije pronađena statistički značajna povezanost skora FLI i nivoa CRP ($r=0,133$; $p=0,310$),
8. U ispitivanoj populaciji pronađena je statistički značajna povezanost skora FLI i koncentracije NO ($r=0,379$; $p=0,003$),
9. U ispitivanoj populaciji nije pronađena statistički značajna povezanost neinvazivnog skora fibroze jetre (Fib-4) i nivoa CRP-a ($r=0,145$; $p=0,268$), odnosno koncentracije NO ($r=0,057$; $p=0,673$),
10. FLI je identikovao kao nezavisni prediktor koncentracije NO u ispitivanoj populaciji bolesnika sa T2DM i NAFLD.

7. LITERATURA

1. Powell EE, Wong VW, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet* (London, England). 2021;397(10290):2212-24.
2. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* (Baltimore, Md). 2016;64(1):73-84.
3. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018;15(1):11-20.
4. Jarvis H, Craig D. Metabolic risk factors and incident advanced liver disease in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and meta-analysis of population-based observational studies. *PLoS medicine*. 2020;17(4):e1003100.
5. Ayonrinde OT, Adams LA, Doherty DA, Mori TA, Beilin LJ, Oddy WH, et al. Adverse metabolic phenotype of adolescent girls with non-alcoholic fatty liver disease plus polycystic ovary syndrome compared with other girls and boys. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2016;31(5):980-7.
6. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *Journal of hepatology*. 2020;73(1):202-9.
7. Caldwell SH, Argo CK. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Dilemmas in Non- Alcoholic Fatty Liver Disease*. 2016. Wiley-Blackwell; 1st edition, p. 1-7.
8. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism: clinical and experimental*. 2016;65(8):1038-48.
9. Macut D, Tziomalos K, Božić-Antić I, Bjekić-Macut J, Katsikis I, Papadakis E, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with insulin resistance and lipid accumulation product in women with polycystic ovary syndrome. *Human reproduction* (Oxford, England). 2016;31(6):1347-53.
10. Macut D, Božić-Antić I, Bjekić-Macut J, Tziomalos K. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: Polycystic ovary syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *European journal of endocrinology*. 2017;177(3):R145-r58.
11. Bae JC, Rhee EJ, Lee WY, Park SE, Park CY, Oh KW, et al. Combined effect of nonalcoholic fatty liver disease and impaired fasting glucose on the development of type 2 diabetes: a 4-year retrospective longitudinal study. *Diabetes care*. 2011;34(3):727-9.
12. Katsiki N, Imprialos K, Vlachopoulos C. Editorial: Arterial Stiffness, Central Haemodynamics and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Links with Cardiovascular Risk and Effects of Drug Treatment. *Current vascular pharmacology*. 2018;16(4):401-4.
13. Gerber L, Otgonsuren M, Mishra A, Escheik C, Birerdinc A, Stepanova M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with low level of physical activity:

- a population-based study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;36(8):772-81.
14. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JB, et al. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nature communications*. 2014;5:4309.
 15. Jennings J, Faselis C, Yao MD. NAFLD-NASH: An Under-Recognized Epidemic. *Current vascular pharmacology*. 2018;16(3):209-13.
 16. Reccia I, Kumar J, Akladios C, Viridis F, Pai M, Habib N, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A sign of systemic disease. *Metabolism: clinical and experimental*. 2017;72:94-108.
 17. Koch LK, Yeh MM. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): Diagnosis, pitfalls, and staging. *Annals of diagnostic pathology*. 2018;37:83-90.
 18. Madan SA, John F, Pitchumoni CS. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Mean Platelet Volume: A Systemic Review and Meta-analysis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2016;50(1):69-74.
 19. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011;34(3):274-85.
 20. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Mir H, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2011;9(6):524-30.e1; quiz e60.
 21. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. 2015;148(3):547-55.
 22. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2012;55(6):2005-23.
 23. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Annals of medicine*. 2011;43(8):617-49.
 24. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(4):643-54.e1-9; quiz e39-40.
 25. Seto WK, Yuen MF. Nonalcoholic fatty liver disease in Asia: emerging perspectives. *Journal of gastroenterology*. 2017;52(2):164-74.
 26. Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, et al. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology*. 2009;137(3):865-72.
 27. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(5):1343-51.
 28. Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, et al. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell metabolism*. 2015;21(5):739-46.

29. Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2014;2(11):901-10.
30. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998;114(4):842-5.
31. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2005;41(6):1313-21.
32. Athyros VG, Alexandrides TK, Bilianou H, Cholongitas E, Doumas M, Ganotakis ES, et al. The use of statins alone, or in combination with pioglitazone and other drugs, for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis and related cardiovascular risk. An Expert Panel Statement. *Metabolism: clinical and experimental*. 2017;71:17-32.
33. Duez H, Pourcet B. Nuclear Receptors in the Control of the NLRP3 Inflammasome Pathway. *Frontiers in endocrinology*. 2021;12:630536.
34. Evavold CL, Kagan JC. Inflammasomes: Threat-Assessment Organelles of the Innate Immune System. *Immunity*. 2019;51(4):609-24.
35. Groß CJ, Mishra R, Schneider KS, Médard G, Wettmarshausen J, Dittlein DC, et al. K(+) Efflux-Independent NLRP3 Inflammasome Activation by Small Molecules Targeting Mitochondria. *Immunity*. 2016;45(4):761-73.
36. Ding J, Wang K, Liu W, She Y, Sun Q, Shi J, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. *Nature*. 2016;535(7610):111-6.
37. Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear Receptors, RXR, and the Big Bang. *Cell*. 2014;157(1):255-66.
38. Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, Yeh MM, Johnson CD, Van Rooyen DM, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *Journal of hepatology*. 2017;66(5):1037-46.
39. Wree A, McGeough MD, Peña CA, Schlattjan M, Li H, Inzaugarat ME, et al. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 2014;92(10):1069-82.
40. Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;54(1):133-44.
41. Witek RP, Stone WC, Karaca FG, Syn WK, Pereira TA, Agboola KM, et al. Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;50(5):1421-30.
42. Kamari Y, Shaish A, Vax E, Shemesh S, Kandel-Kfir M, Arbel Y, et al. Lack of interleukin-1 α or interleukin-1 β inhibits transformation of steatosis to steatohepatitis and liver fibrosis in hypercholesterolemic mice. *Journal of hepatology*. 2011;55(5):1086-94.
43. Athyros VG, Tziomalos K, Katsiki N, Doumas M, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Cardiovascular risk across the histological spectrum and the clinical manifestations of non-alcoholic fatty liver disease: An update. *World journal of gastroenterology*. 2015;21(22):6820-34.
44. Boutari C, Perakakis N, Mantzoros CS. Association of Adipokines with Development and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Endocrinology and Metabolism*. 2018;33(1):33-43.
45. Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism: clinical and experimental*. 2016;65(8):1049-61.
46. Katsiki N, Mikhailidis DP, Mantzoros CS. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism: clinical and experimental*. 2016;65(8):1109-23.

47. Milovanovic Alempijevic T, Stojkovic Lalosevic M, Dumic I. Diagnostic Accuracy of Platelet Count and Platelet Indices in Noninvasive Assessment of Fibrosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Patients. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2017;2017:6070135.
48. Almeda-Valdes P, Altamirano-Barrera A, Méndez-Sánchez N. Insights in non-alcoholic fatty liver disease pathophysiology with lipidomic analyses. *Annals of hepatology*. 2015;14(4):567-9.
49. Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, Uto H, Ono M, Sumida Y, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of gastroenterology*. 2015;50(4):364-77.
50. Chaldakov GN, Stankulov IS, Hristova M, Ghenev PI. Adipobiology of disease: adipokines and adipokine-targeted pharmacology. *Current pharmaceutical design*. 2003;9(12):1023-31.
51. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism: clinical and experimental*. 2016;65(8):1062-79.
52. Zeng L, Tang WJ, Yin JJ, Zhou BJ. Signal transductions and nonalcoholic fatty liver: a mini-review. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2014;7(7):1624-31.
53. Kirpich IA, Marsano LS, McClain CJ. Gut-liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical biochemistry*. 2015;48(13-14):923-30.
54. Papaetis GS, Papakyriakou P, Panagiotou TN. Central obesity, type 2 diabetes and insulin: exploring a pathway full of thorns. *Archives of medical science : AMS*. 2015;11(3):463-82.
55. Klisic AN, Vasiljevic ND, Simic TP, Djukic TI, Maksimovic MZ, Matic MG. Association between C-reactive protein, anthropometric and lipid parameters among healthy normal weight and overweight postmenopausal women in Montenegro. *Laboratory medicine*. 2014;45(1):12-6.
56. Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(11):26087-124.
57. Twisk JW, Kemper HC, van Mechelen W, Post GB, van Lenthe FJ. Body fatness: longitudinal relationship of body mass index and the sum of skinfolds with other risk factors for coronary heart disease. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 1998;22(9):915-22.
58. Whitmer RA, Gunderson EP, Barrett-Connor E, Quesenberry CP, Jr., Yaffe K. Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2005;330(7504):1360.
59. Athyros VG, Doumas M. Editorial: Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Non-alcoholic Steatohepatitis: An Epidemic that will Boost the Incidence of Cardiovascular Morbidity and Mortality. *Current vascular pharmacology*. 2018;16(3):206-8.
60. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *Journal of hepatology*. 2005;42(1):132-8.
61. Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *Journal of hepatology*. 2013;59(3):550-6.
62. Grgurevic I, Podrug K, Mikolasevic I, Kukla M. Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Implications for Clinical Practice and an Individualized Approach. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020;2020:9181368.

63. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;53(6):1883-94.
64. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *Journal of hepatology*. 2015;62(5):1148-55.
65. Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2013;57(4):1357-65.
66. Saxena NK, Titus MA, Ding X, Floyd J, Srinivasan S, Sitaraman SV, et al. Leptin as a novel profibrogenic cytokine in hepatic stellate cells: mitogenesis and inhibition of apoptosis mediated by extracellular regulated kinase (Erk) and Akt phosphorylation. *FASEB journal*. 2004;18(13):1612-4.
67. Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, Dargere D, Parfait B, Vidaud M, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2001;34(4 Pt 1):738-44.
68. Augustyn M, Grys I, Kukla M. Small intestinal bacterial overgrowth and nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical and experimental hepatology*. 2019;5(1):1-10.
69. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500(7464):541-6.
70. Zhang C, Zhang M, Wang S, Han R, Cao Y, Hua W, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *The ISME journal*. 2010;4(2):232-41.
71. Schuppan D, Surabattula R, Wang XY. Determinants of fibrosis progression and regression in NASH. *Journal of hepatology*. 2018;68(2):238-50.
72. Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, Watkins J, Xirouchakis E, Pleguezuelo M, et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2011;31(5):730-9.
73. Loria P, Adinolfi LE, Bellentani S, Bugianesi E, Grieco A, Fargion S, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease. A decalogue from the Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Expert Committee. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010;42(4):272-82.
74. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2003;37(6):1286-92.
75. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *Journal of hepatology*. 2010;53(2):372-84.
76. Ryan CK, Johnson LA, Germin BI, Marcos A. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2002;8(12):1114-22.

77. Fedchuk L, Nascimbeni F, Pais R, Charlotte F, Housset C, Ratziu V. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2014;40(10):1209-22.
78. Cuthbertson DJ, Weickert MO, Lythgoe D, Sprung VS, Dobson R, Shoaiee-Moradie F, et al. External validation of the fatty liver index and lipid accumulation product indices, using 1H-magnetic resonance spectroscopy, to identify hepatic steatosis in healthy controls and obese, insulin-resistant individuals. *European journal of endocrinology*. 2014;171(5):561-9.
79. Monga HK, Rodriguez-Barradas MC, Breaux K, Khattak K, Troisi CL, Velez M, et al. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2001;33(2):240-7.
80. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of hepatology*. 2015;63(1):237-64.
81. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS, Polymerou V, Katsinelos P. Effects of combined low-dose spironolactone plus vitamin E vs vitamin E monotherapy on insulin resistance, non-invasive indices of steatosis and fibrosis, and adipokine levels in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2017;19(12):1805-9.
82. Srivastava A, Gailer R, Tanwar S, Trembling P, Parkes J, Rodger A, et al. Prospective evaluation of a primary care referral pathway for patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2019;71(2):371-8.
83. Guillaume M, Moal V, Delabaudiere C, Zuberbuhler F, Robic MA, Lannes A, et al. Direct comparison of the specialised blood fibrosis tests FibroMeter(V2G) and Enhanced Liver Fibrosis score in patients with non-alcoholic fatty liver disease from tertiary care centres. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2019;50(11-12):1214-22.
84. Stepanova M, Rafiq N, Makhlof H, Agrawal R, Kaur I, Younoszai Z, et al. Predictors of all-cause mortality and liver-related mortality in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Digestive diseases and sciences*. 2013;58(10):3017-23.
85. Majumdar A, Campos S, Gurusamy K, Pinzani M, Tsochatzis EA. Defining the Minimum Acceptable Diagnostic Accuracy of Noninvasive Fibrosis Testing in Cirrhosis: A Decision Analytic Modeling Study. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2020;71(2):627-42.
86. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;51(2):454-62.
87. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;54(3):1082-90.
88. Wieckowska A, Feldstein AE. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive. *Seminars in liver disease*. 2008;28(4):386-95.
89. Tanwar S, Trembling PM, Guha IN, Parkes J, Kaye P, Burt AD, et al. Validation of terminal peptide of procollagen III for the detection and assessment of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2013;57(1):103-11.
90. Lerchbaum E, Gruber HJ, Schwetz V, Giuliani A, Möller R, Pieber TR, et al. Fatty liver index in polycystic ovary syndrome. *European journal of endocrinology*. 2011;165(6):935-43.
91. Demir M, Lang S, Nierhoff D, Drebber U, Hardt A, Wedemeyer I, et al. Stepwise combination of simple noninvasive fibrosis scoring systems increases diagnostic

- accuracy in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of clinical gastroenterology*. 2013;47(8):719-26.
92. Imajo K, Kessoku T, Honda Y, Tomeno W, Ogawa Y, Mawatari H, et al. Magnetic Resonance Imaging More Accurately Classifies Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Than Transient Elastography. *Gastroenterology*. 2016;150(3):626-37.e7.
 93. Middleton MS, Heba ER, Hooker CA, Bashir MR, Fowler KJ, Sandrasegaran K, et al. Agreement Between Magnetic Resonance Imaging Proton Density Fat Fraction Measurements and Pathologist-Assigned Steatosis Grades of Liver Biopsies From Adults With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2017;153(3):753-61.
 94. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound in medicine & biology*. 2003;29(12):1705-13.
 95. Kwok R, Tse YK, Wong GL, Ha Y, Lee AU, Ngu MC, et al. Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease--the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2014;39(3):254-69.
 96. Castéra L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;51(3):828-35.
 97. Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, Oberti F, Dib N, Lebigot J, et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2010;22(9):1074-84.
 98. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005;128(7):1898-906.
 99. Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEF). *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2000;32(3):477-81.
 100. Mishra A, Younossi ZM. Epidemiology and Natural History of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2012;2(2):135-44.
 101. Tzartzeva K, Obi J, Rich NE, Parikh ND, Marrero JA, Yopp A, et al. Surveillance Imaging and Alpha Fetoprotein for Early Detection of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Cirrhosis: A Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2018;154(6):1706-18.e1.
 102. Corrado RL, Torres DM, Harrison SA. Review of treatment options for nonalcoholic fatty liver disease. *The Medical clinics of North America*. 2014;98(1):55-72.
 103. Zelber-Sagi S, Ratziu V, Oren R. Nutrition and physical activity in NAFLD: an overview of the epidemiological evidence. *World journal of gastroenterology*. 2011;17(29):3377-89.
 104. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367-78.e5; quiz e14-5.
 105. Marchesini G, Petta S, Dalle Grave R. Diet, weight loss, and liver health in nonalcoholic fatty liver disease: Pathophysiology, evidence, and practice. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2016;63(6):2032-43.
 106. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2013;59(1):138-43.

107. Rodriguez B, Torres DM, Harrison SA. Physical activity: an essential component of lifestyle modification in NAFLD. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2012;9(12):726-31.
108. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *The American journal of gastroenterology*. 2012;107(6):811-26.
109. Athyros VG, Polyzos SA, Kountouras J, Katsiki N, Anagnostis P, Doumas M, et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Treatment in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus; New Kids on the Block. *Current vascular pharmacology*. 2020;18(2):172-81.
110. Sumida Y, Seko Y, Yoneda M. Novel antidiabetic medications for non-alcoholic fatty liver disease with type 2 diabetes mellitus. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2017;47(4):266-80.
111. Doycheva I, Loomba R. Effect of metformin on ballooning degeneration in nonalcoholic steatohepatitis (NASH): when to use metformin in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Advances in therapy*. 2014;31(1):30-43.
112. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *The New England journal of medicine*. 2010;362(18):1675-85.
113. Cusi K, Orsak B, Bril F, Lomonaco R, Hecht J, Ortiz-Lopez C, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Annals of internal medicine*. 2016;165(5):305-15.
114. Rakoski MO, Singal AG, Rogers MA, Conjeevaram H. Meta-analysis: insulin sensitizers for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;32(10):1211-21.
115. Monami M, Vitale V, Ambrosio ML, Bartoli N, Toffanello G, Raghianti B, et al. Effects on lipid profile of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors, pioglitazone, acarbose, and sulfonylureas: meta-analysis of placebo-controlled trials. *Advances in therapy*. 2012;29(9):736-46.
116. Turner RM, Kwok CS, Chen-Turner C, Maduakor CA, Singh S, Loke YK. Thiazolidinediones and associated risk of bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *British journal of clinical pharmacology*. 2014;78(2):258-73.
117. Polyzos SA, Mantzoros CS. Adiponectin as a target for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis with thiazolidinediones: A systematic review. *Metabolism: clinical and experimental*. 2016;65(9):1297-306.
118. Klein EA, Thompson IM, Jr., Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Jama*. 2011;306(14):1549-56.
119. Dongiovanni P, Petta S, Mannisto V, Mancina RM, Pipitone R, Karja V, et al. Statin use and non-alcoholic steatohepatitis in at risk individuals. *Journal of hepatology*. 2015;63(3):705-12.
120. Hyogo H, Ikegami T, Tokushige K, Hashimoto E, Inui K, Matsuzaki Y, et al. Efficacy of pitavastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dyslipidemia: An open-label, pilot study. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2011;41(11):1057-65.
121. Nakahara T, Hyogo H, Kimura Y, Ishitobi T, Arihiro K, Aikata H, et al. Efficacy of rosuvastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dyslipidemia: An open-label, pilot study. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2012;42(11):1065-72.

122. Kargiotis K, Athyros VG, Giouleme O, Katsiki N, Katsiki E, Anagnostis P, et al. Resolution of non-alcoholic steatohepatitis by rosuvastatin monotherapy in patients with metabolic syndrome. *World journal of gastroenterology*. 2015;21(25):7860-8.
123. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A. Achieving lipid targets in primary care settings. *Current medical research and opinion*. 2014;30(10):1971-4.
124. Athyros VG, Kakafika AI, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Pleiotropic effects of statins--clinical evidence. *Current pharmaceutical design*. 2009;15(5):479-89.
125. Mitsiou E, Boutari C, Kotsis V, Georgiou E, Doumas M, Karagiannis A, et al. Effect of Low (5 mg) vs. High (20-40 mg) Rosuvastatin Dose on 24h Arterial Stiffness, Central Haemodynamics, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Optimally Controlled Arterial Hypertension. *Current vascular pharmacology*. 2018;16(4):393-400.
126. Kim RG, Loomba R, Prokop LJ, Singh S. Statin Use and Risk of Cirrhosis and Related Complications in Patients With Chronic Liver Diseases: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and hepatology*. 2017;15(10):1521-30.e8.
127. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *The New England journal of medicine*. 2010;363(14):1341-50.
128. Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, et al. Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: a post-hoc analysis. *Lancet (London, England)*. 2010;376(9756):1916-22.
129. Athyros VG, Giouleme O, Ganotakis ES, Elisaf M, Tziomalos K, Vassiliadis T, et al. Safety and impact on cardiovascular events of long-term multifactorial treatment in patients with metabolic syndrome and abnormal liver function tests: a post hoc analysis of the randomised ATTEMPT study. *Archives of medical science : AMS*. 2011;7(5):796-805.
130. Tikkanen MJ, Fayyad R, Faergeman O, Olsson AG, Wun CC, Laskey R, et al. Effect of intensive lipid lowering with atorvastatin on cardiovascular outcomes in coronary heart disease patients with mild-to-moderate baseline elevations in alanine aminotransferase levels. *International journal of cardiology*. 2013;168(4):3846-52.
131. Bays H, Cohen DE, Chalasani N, Harrison SA, The National Lipid Association's Statin Safety Task F. An assessment by the Statin Liver Safety Task Force: 2014 update. *Journal of clinical lipidology*. 2014;8(3 Suppl):S47-57.
132. Pastori D, Polimeni L, Baratta F, Pani A, Del Ben M, Angelico F. The efficacy and safety of statins for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2015;47(1):4-11.
133. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. The role of statins in the treatment of type 2 diabetes mellitus: an update. *Current pharmaceutical design*. 2014;20(22):3665-74.
134. Simon TG, Corey KE, Chung RT, Giugliano R. Cardiovascular Risk Reduction in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Potential Role of Ezetimibe. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61(12):3425-35.
135. Oza N, Takahashi H, Eguchi Y, Kitajima Y, Kuwashiro T, Ishibashi E, et al. Efficacy of ezetimibe for reducing serum low-density lipoprotein cholesterol levels resistant to lifestyle intervention in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2014;44(7):812-7.

136. Husain NE, Hassan AT, Elmadhoun WM, Ahmed MH. Evaluating the safety of Liptruzet (ezetimibe and atorvastatin): what are the potential benefits beyond low-density lipoprotein cholesterol-lowering effect? *Expert opinion on drug safety*. 2015;14(9):1445-55.
137. Rizzo M, Montalto G, Al-Rasadi K. Treatment options for managing atherogenic dyslipidemia and fatty liver disease. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2014;15(8):1065-8.
138. Hu M, Chu WC, Yamashita S, Yeung DK, Shi L, Wang D, et al. Liver fat reduction with niacin is influenced by DGAT-2 polymorphisms in hypertriglyceridemic patients. *Journal of lipid research*. 2012;53(4):802-9.
139. Kahal H, Abouda G, Rigby AS, Coady AM, Kilpatrick ES, Atkin SL. Glucagon-like peptide-1 analogue, liraglutide, improves liver fibrosis markers in obese women with polycystic ovary syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical endocrinology*. 2014;81(4):523-8.
140. Lee J, Hong SW, Rhee EJ, Lee WY. GLP-1 Receptor Agonist and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Diabetes & metabolism journal*. 2012;36(4):262-7.
141. Feng W, Gao C, Bi Y, Wu M, Li P, Shen S, et al. Randomized trial comparing the effects of gliclazide, liraglutide, and metformin on diabetes with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of diabetes*. 2017;9(8):800-9.
142. Blaslov K, Bulum T, Zibar K, Duvnjak L. Incretin based therapies: a novel treatment approach for non-alcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(23):7356-65.
143. Joy TR, McKenzie CA, Tirona RG, Summers K, Seney S, Chakrabarti S, et al. Sitagliptin in patients with non-alcoholic steatohepatitis: A randomized, placebo-controlled trial. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(1):141-50.
144. Wells RG, Mohandas TK, Hediger MA. Localization of the Na⁺/glucose cotransporter gene SGLT2 to human chromosome 16 close to the centromere. *Genomics*. 1993;17(3):787-9.
145. Cheng ST, Chen L, Li SY, Mayoux E, Leung PS. The Effects of Empagliflozin, an SGLT2 Inhibitor, on Pancreatic β -Cell Mass and Glucose Homeostasis in Type 1 Diabetes. *PloS one*. 2016;11(1):e0147391.
146. Argo CK, Patrie JT, Lackner C, Henry TD, de Lange EE, Weltman AL, et al. Effects of n-3 fish oil on metabolic and histological parameters in NASH: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of hepatology*. 2015;62(1):190-7.
147. Dongiovanni P, Lanti C, Riso P, Valenti L. Nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2016;29:1-11.
148. Milic S, Mikolasevic I, Krznaric-Zrnic I, Stanic M, Poropat G, Stimac D, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: emerging targeted therapies to optimize treatment options. *Drug design, development and therapy*. 2015;9:4835-45.
149. Martínez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;53(1):325-35.
150. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2009;7(10):1104-12.
151. McPherson S, Hardy T, Dufour JF, Petta S, Romero-Gomez M, Allison M, et al. Age as a Confounding Factor for the Accurate Non-Invasive Diagnosis of Advanced NAFLD Fibrosis. *The American journal of gastroenterology*. 2017;112(5):740-51.
152. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2003;38(6):1449-57.

153. Machado MV, Cortez-Pinto H. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal. *Journal of hepatology*. 2013;58(5):1007-19.
154. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2006;43(6):1317-25.
155. Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to diagnosis and staging. *Frontline gastroenterology*. 2014;5(3):211-8.
156. Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(11):3142-6.
157. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC gastroenterology*. 2006;6:33.
158. Comar KM, Sterling RK. Review article: Drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2006;23(2):207-15.
159. Klisic A, Isakovic A, Kocic G, Kavarić N, Jovanovic M, Zvrko E, et al. Relationship between Oxidative Stress, Inflammation and Dyslipidemia with Fatty Liver Index in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2018;126(6):371-8.
160. Gastaldelli A, Kozakova M, Højlund K, Flyvbjerg A, Favuzzi A, Mitrakou A, et al. Fatty liver is associated with insulin resistance, risk of coronary heart disease, and early atherosclerosis in a large European population. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;49(5):1537-44.
161. Calori G, Lattuada G, Ragona F, Garancini MP, Crosignani P, Villa M, et al. Fatty liver index and mortality: the Cremona study in the 15th year of follow-up. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;54(1):145-52.
162. Kahl S, Straßburger K, Nowotny B, Livingstone R, Klüppelholz B, Keßel K, et al. Comparison of liver fat indices for the diagnosis of hepatic steatosis and insulin resistance. *PloS one*. 2014;9(4):e94059.
163. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork NJ, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2005;42(3):641-9.
164. Fiel MI, Deniz K, Elmali F, Schiano TD. Increasing hepatic arteriole wall thickness and decreased luminal diameter occur with increasing age in normal livers. *Journal of hepatology*. 2011;55(3):582-6.
165. Jansen PL. Liver disease in the elderly. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2002;16(1):149-58.
166. Poynard T, Halfon P, Castera L, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Ratziu V, et al. Standardization of ROC curve areas for diagnostic evaluation of liver fibrosis markers based on prevalences of fibrosis stages. *Clinical chemistry*. 2007;53(9):1615-22.
167. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, et al. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC gastroenterology*. 2006;6:6.
168. Polyzos SA, Mantzoros CS. Leptin in health and disease: facts and expectations at its twentieth anniversary. *Metabolism: clinical and experimental*. 2015;64(1):5-12.
169. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C. Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Current molecular medicine*. 2009;9(3):299-314.

170. Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(25):8082-91.
171. Lee SM, Cho YH, Lee SY, Jeong DW, Cho AR, Jeon JS, et al. Urinary Malondialdehyde Is Associated with Visceral Abdominal Obesity in Middle-Aged Men. *Mediators of inflammation*. 2015;2015:524291.
172. Köroğlu E, Canbakan B, Atay K, Hatemi İ, Tuncer M, Dobrucalı A, et al. Role of oxidative stress and insulin resistance in disease severity of non-alcoholic fatty liver disease. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*. 2016;27(4):361-6.
173. Bhala N, Angulo P, van der Poorten D, Lee E, Hui JM, Saracco G, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis: an international collaborative study. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2011;54(4):1208-16.
174. Treeprasertsuk S, Leverage S, Adams LA, Lindor KD, St Sauver J, Angulo P. The Framingham risk score and heart disease in nonalcoholic fatty liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2012;32(6):945-50.
175. Bhatia LS, Curzen NP, Calder PC, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: a new and important cardiovascular risk factor? *European heart journal*. 2012;33(10):1190-200.
176. Luo J, Xu L, Li J, Zhao S. Nonalcoholic fatty liver disease as a potential risk factor of cardiovascular disease. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2015;27(3):193-9.
177. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2006;44(4):865-73.
178. Söderberg C, Stål P, Askling J, Glaumann H, Lindberg G, Marmur J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;51(2):595-602.
179. Sung KC, Ryan MC, Wilson AM. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with increased cardiovascular risk in a large cohort of non-obese Asian subjects. *Atherosclerosis*. 2009;203(2):581-6.
180. Vanwagner LB, Bhave M, Te HS, Feinglass J, Alvarez L, Rinella ME. Patients transplanted for nonalcoholic steatohepatitis are at increased risk for postoperative cardiovascular events. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2012;56(5):1741-50.
181. Shimada M, Hashimoto E, Kaneda H, Noguchi S, Hayashi N. Nonalcoholic steatohepatitis: risk factors for liver fibrosis. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2002;24(4):429-38.
182. Mikolasevic I, Filipic-Kanizaj T, Mijic M, Jakopic I, Milic S, Hrstic I, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and liver transplantation - Where do we stand? *World journal of gastroenterology*. 2018;24(14):1491-506.
183. Kim NH, Park J, Kim SH, Kim YH, Kim DH, Cho GY, et al. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and subclinical cardiovascular changes in the general population. *Heart (British Cardiac Society)*. 2014;100(12):938-43.
184. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2015;61(5):1547-54.
185. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *Journal of hepatology*. 2017;67(6):1265-73.
186. Jaruvongvanich V, Wirunsawanya K, Sanguankeo A, Upala S. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with coronary artery calcification: A systematic review and meta-

- analysis. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver.* 2016;48(12):1410-7.
187. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Should we expand the concept of coronary heart disease equivalents? *Current opinion in cardiology.* 2014;29(4):389-95.
 188. Abel ED, O'Shea KM, Ramasamy R. Insulin resistance: metabolic mechanisms and consequences in the heart. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2012;32(9):2068-76.
 189. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation.* 2003;108(20):2460-6.
 190. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nature clinical practice Cardiovascular medicine.* 2005;2(10):536-43.
 191. Pacifico L, Chiesa C, Anania C, De Merulis A, Osborn JF, Romaggioli S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and the heart in children and adolescents. *World journal of gastroenterology.* 2014;20(27):9055-71.
 192. Pacifico L, Di Martino M, De Merulis A, Bezzi M, Osborn JF, Catalano C, et al. Left ventricular dysfunction in obese children and adolescents with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md).* 2014;59(2):461-70.
 193. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Metabolic syndrome and non-cardiac vascular diseases: an update from human studies. *Current pharmaceutical design.* 2014;20(31):4944-52.
 194. Gluvic Z, Zaric B, Resanovic I, Obradovic M, Mitrovic A, Radak D, et al. Link between Metabolic Syndrome and Insulin Resistance. *Current vascular pharmacology.* 2017;15(1):30-9.
 195. Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *The American journal of medicine.* 2006;119(5 Suppl 1):S10-6.
 196. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice.* 2014;2014:943162.
 197. Haidara M, Mikhailidis DP, Yassin HZ, Dobutovic B, Smiljanic KT, Soskic S, et al. Evaluation of the possible contribution of antioxidants administration in metabolic syndrome. *Current pharmaceutical design.* 2011;17(33):3699-712.
 198. Katsiki N, Athyros VG, Mikhailidis DP. Abnormal Peri-Organ or Intra-organ Fat (APIFat) Deposition: An Underestimated Predictor of Vascular Risk? *Current vascular pharmacology.* 2016;14(5):432-41.
 199. Katsiki N, Perez-Martinez P, Anagnostis P, Mikhailidis DP, Karagiannis A. Is Nonalcoholic Fatty Liver Disease Indeed the Hepatic Manifestation of Metabolic Syndrome? *Current vascular pharmacology.* 2018;16(3):219-27.
 200. Younossi ZM, Marchesini G, Pinto-Cortez H, Petta S. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Implications for Liver Transplantation. *Transplantation.* 2019;103(1):22-7.
 201. Han TS, Lean ME. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM cardiovascular disease.* 2016;5:2048004016633371.
 202. Bril F, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The New Complication of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrinology and metabolism clinics of North America.* 2016;45(4):765-81.
 203. Grander C, Grabherr F, Moschen AR, Tilg H. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Cause or Effect of Metabolic Syndrome. *Visceral medicine.* 2016;32(5):329-34.

204. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *Journal of hepatology*. 2015;62(1 Suppl):S47-64.
205. Fargion S, Porzio M, Fracanzani AL. Nonalcoholic fatty liver disease and vascular disease: state-of-the-art. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(37):13306-24.
206. Kwok R, Choi KC, Wong GL, Zhang Y, Chan HL, Luk AO, et al. Screening diabetic patients for non-alcoholic fatty liver disease with controlled attenuation parameter and liver stiffness measurements: a prospective cohort study. *Gut*. 2016;65(8):1359-68.
207. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Tessari R, Zenari L, Lippi G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*. 2007;30(8):2119-21.
208. Zoppini G, Fedeli U, Gennaro N, Saugo M, Targher G, Bonora E. Mortality from chronic liver diseases in diabetes. *The American journal of gastroenterology*. 2014;109(7):1020-5.
209. Stepanova M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome are independent predictors of mortality in patients with chronic liver disease: a population-based study. *Gut*. 2010;59(10):1410-5.
210. Chan WK, Tan AT, Vethakkan SR, Tah PC, Vijayanathan A, Goh KL. Non-alcoholic fatty liver disease in diabetics--prevalence and predictive factors in a multiracial hospital clinic population in Malaysia. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2013;28(8):1375-83.
211. Khaw KT, Wareham N, Luben R, Bingham S, Oakes S, Welch A, et al. Glycated haemoglobin, diabetes, and mortality in men in Norfolk cohort of european prospective investigation of cancer and nutrition (EPIC-Norfolk). *BMJ (Clinical research ed)*. 2001;322(7277):15-8.
212. Anand SS, Dagenais GR, Mohan V, Diaz R, Probstfield J, Freeman R, et al. Glucose levels are associated with cardiovascular disease and death in an international cohort of normal glycaemic and dysglycaemic men and women: the EpiDREAM cohort study. *European journal of preventive cardiology*. 2012;19(4):755-64.
213. Giorda C, Forlani G, Manti R, Mazzella N, De Cosmo S, Rossi MC, et al. Occurrence over time and regression of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2017;33(4).
214. Targher G, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging driving force in chronic kidney disease. *Nature reviews Nephrology*. 2017;13(5):297-310.
215. Targher G, Chonchol M, Pichiri I, Zoppini G. Risk of cardiovascular disease and chronic kidney disease in diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: just a coincidence? *Journal of endocrinological investigation*. 2011;34(7):544-51.
216. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *The New England journal of medicine*. 2004;351(13):1296-305.
217. Valenti L, Bugianesi E, Pajvani U, Targher G. Nonalcoholic fatty liver disease: cause or consequence of type 2 diabetes? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016;36(11):1563-79.
218. Hamed AE, Elwan N, Naguib M, Elwakil R, Esmat G, El Kassas M, et al. Diabetes Association with Liver Diseases: An Overview for Clinicians. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*. 2019;19(3):274-80.
219. Upadhyay R. Diabetic hepatopathy, ch 67, In: *API Text book of Medicine*, (Ed. YP Munjal) p314.2017.
220. Levinthal GN, Tavill AJ. Liver disease and diabetes mellitus. *Clinical Diabetes*. 1999;17:73.

221. Lomonaco R, Bril F, Portillo-Sanchez P, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Biernacki D, et al. Metabolic Impact of Nonalcoholic Steatohepatitis in Obese Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes care*. 2016;39(4):632-8.
222. Mantovani A, Pernigo M, Bergamini C, Bonapace S, Lipari P, Pichiri I, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Independently Associated with Early Left Ventricular Diastolic Dysfunction in Patients with Type 2 Diabetes. *PloS one*. 2015;10(8):e0135329.
223. Yamazaki H, Tsuboya T, Tsuji K, Dohke M, Maguchi H. Independent Association Between Improvement of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Reduced Incidence of Type 2 Diabetes. *Diabetes care*. 2015;38(9):1673-9.
224. Hamed AE, Elshahar M, Elwan NM, El-Nakeep S, Naguib M, Soliman HH, et al. Managing diabetes and liver disease association: Practice guidelines from the Egyptian Association for the Study of Liver and Gastrointestinal Disease (EASLGD). *Arab journal of gastroenterology : the official publication of the Pan-Arab Association of Gastroenterology*. 2019;20(1):61-3.
225. Orsi E, Grancini V, Menini S, Aghemo A, Pugliese G. Hepatogenous diabetes: Is it time to separate it from type 2 diabetes? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2017;37(7):950-62.
226. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *E Circulation*. 2005;13(6):322-7.
227. Rizzo M, Rizvi AA, Rini GB, Berneis K. The therapeutic modulation of atherogenic dyslipidemia and inflammatory markers in the metabolic syndrome: what is the clinical relevance? *Acta diabetologica*. 2009;46(1):1-11.
228. Katsiki N, Christou GA, Kiortsis DN. Liraglutide and Cardiometabolic Effects: More than Just Another Antiobesity Drug? *Current vascular pharmacology*. 2016;14(1):76-9.
229. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet (London, England)*. 2016;387(10019):679-90.
230. Olaywi M, Bhatia T, Anand S, Singhal S. Novel anti-diabetic agents in non-alcoholic fatty liver disease: a mini-review. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPD INT*. 2013;12(6):584-8.
231. Gluud LL, Knop FK, Vilsbøll T. Effects of lixisenatide on elevated liver transaminases: systematic review with individual patient data meta-analysis of randomised controlled trials on patients with type 2 diabetes. *BMJ open*. 2014;4(12):e005325.
232. Macauley M, Hollingsworth KG, Smith FE, Thelwall PE, Al-Mrabeih A, Schweizer A, et al. Effect of vildagliptin on hepatic steatosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2015;100(4):1578-85.
233. Mashitani T, Noguchi R, Okura Y, Namisaki T, Mitoro A, Ishii H, et al. Efficacy of alogliptin in preventing non-alcoholic fatty liver disease progression in patients with type 2 diabetes. *Biomedical reports*. 2016;4(2):183-7.
234. Michurina SV, Ishenko IJ, Klimontov VV, Archipov SA, Myakina NE, Cherepanova MA, et al. Linagliptin alleviates fatty liver disease in diabetic db/db mice. *World journal of diabetes*. 2016;7(19):534-46.
235. Katsiki N, Athyros VG, Mikhailidis DP. Cardiovascular effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: multiple actions. *Current medical research and opinion*. 2016;32(9):1513-4.

236. Katsiki N, Mikhailidis DP, Theodorakis MJ. Sodium-glucose Cotransporter 2 Inhibitors (SGLT2i): Their Role in Cardiometabolic Risk Management. *Current pharmaceutical design*. 2017;23(10):1522-32.
237. Yilmaz Y, Yonal O, Deyneli O, Celikel CA, Kalayci C, Duman DG. Effects of sitagliptin in diabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Acta gastroenterologica Belgica*. 2012;75(2):240-4.
238. Katsiki N, Athyros VG, Mikhailidis DP. Non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: Effects of statins and antidiabetic drugs. *Journal of diabetes and its complications*. 2017;31(3):521-2.
239. Singh D, Das CJ, Baruah MP. Imaging of non alcoholic fatty liver disease: A road less travelled. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2013;17(6):990-5.
240. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*. 1972;18(6):499-502.
241. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123(3):745-50.
242. Murad F. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *The Journal of clinical investigation*. 1986;78(1):1-5.
243. Sudar-Milovanovic E, Zafirovic S, Jovanovic A, Trebaljevac J, Obradovic M, Cenic-Milosevic D, et al. Hormonal Regulation of Nitric Oxide (NO) in Cardio-metabolic Diseases. *Current pharmaceutical design*. 2017;23(10):1427-34.
244. Strijdom H, Chamane N, Lochner A. Nitric oxide in the cardiovascular system: a simple molecule with complex actions. *Cardiovascular journal of Africa*. 2009;20(5):303-10.
245. Stanimirović J, Obradović M, Gluvcic Z, Isenović ER. The role of liver in glucose and lipid metabolism in obesity. *Medical investigation*. 2019;52(3):1-6.
246. Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *British journal of pharmacology*. 2003;138(4):532-43.
247. Heusch P, Aker S, Boengler K, Deindl E, van de Sand A, Klein K, et al. Increased inducible nitric oxide synthase and arginase II expression in heart failure: no net nitrite/nitrate production and protein S-nitrosylation. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2010;299(2):H446-53.
248. Stanimirovic J, Obradovic M, Zafirovic S, Resanovic I, Bogdanovic N, Gluvcic Z, et al. Effects of altered hepatic lipid metabolism on regulation of hepatic iNOS. *Clinical Lipidology*. 2015;10(2):167-75.
249. Ghasemi A, Zahediasl S, Azizi F. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population. *Clinical biochemistry*. 2010;43(1-2):89-94.
250. Watanabe T, Akishita M, Toba K, Kozaki K, Eto M, Sugimoto N, et al. Influence of sex and age on serum nitrite/nitrate concentration in healthy subjects. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2000;301(1-2):169-79.
251. Higashino H, Miya H, Mukai H, Miya Y. Serum nitric oxide metabolite (NO(x)) levels in hypertensive patients at rest: a comparison of age, gender, blood pressure and complications using normotensive controls. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2007;34(8):725-31.
252. Olszanecka-Glinianowicz M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Zurakowski A. Serum concentrations of nitric oxide, tumor necrosis factor (TNF)-alpha and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity. *Metabolism: clinical and experimental*. 2004;53(10):1268-73.

253. Gruber HJ, Mayer C, Mangge H, Fauler G, Grandits N, Wilders-Truschning M. Obesity reduces the bioavailability of nitric oxide in juveniles. *International journal of obesity* (2005). 2008;32(5):826-31.
254. Shirpoor A, Norouzi L, Nemati S, Khadem Ansari MH. Protective effect of vitamin E against diabetes-induced oxidized LDL and aorta cell wall proliferation in rat. *Iranian biomedical journal*. 2015;19(2):117-23.
255. Mohamed J, Nazratun Nafizah AH, Zariyantey AH, Budin SB. Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University medical journal*. 2016;16(2):e132-41.
256. Kanmani S, Kwon M, Shin MK, Kim MK. Association of C-Reactive Protein with Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus, and Role of Obesity and Hypertension: A Large Population-Based Korean Cohort Study. *Scientific reports*. 2019;9(1):4573.
257. Wang X, Bao W, Liu J, Ouyang YY, Wang D, Rong S, et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes care*. 2013;36(1):166-75.
258. Kato K, Otsuka T, Saiki Y, Kobayashi N, Nakamura T, Kon Y, et al. Elevated C-reactive Protein Levels Independently Predict the Development of Prediabetes Markers in Subjects with Normal Glucose Regulation. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2021;129(4):289-95.
259. Mitrovic B, Gluvic Z, Macut D, Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, et al. Effects of Metformin-Single Therapy on the Level of Inflammatory Markers in Serum of Non-Obese T2DM Patients with NAFLD. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*. 2022;22(1):117-24.
260. Obradovic M, Zaric B, Sudar-Milovanovic E, Perovic M, Resanovic I, Gluvic Z, et al. Role of eNOS and iNOS in pathophysiological conditions. The book entitled: *Horizons in World Cardiovascular Research*. Volume 15 (Edited by Eleanor H. Bennington). Nova Science Publishers, New York; pp. 65-91. ISBN 978-1-53614-185-6. 2018.
261. Gluvic ZM, Obradovic MM, Sudar-Milovanovic EM, Zafirovic SS, Radak DJ, Essack MM, et al. Regulation of nitric oxide production in hypothyroidism. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2020;124:109881.
262. Singh S, Kuftinec GN, Sarkar S. Non-alcoholic Fatty Liver Disease in South Asians: A Review of the Literature. *Journal of clinical and translational hepatology*. 2017;5(1):76-81.
263. Bellentani S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2017;37 Suppl 1:81-4.
264. Farrell GC, Wong VW, Chitturi S. NAFLD in Asia--as common and important as in the West. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2013;10(5):307-18.
265. Hossain P, Kawar B, El Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge. *The New England journal of medicine*. 2007;356(3):213-5.
266. Di Mauro S, Scamporrino A, Filippello A, Di Pino A, Scicali R, Malaguarnera R, Purrello F, Piro S. Clinical and Molecular Biomarkers for Diagnosis and Staging of NAFLD. *International journal of molecular science*. 2021;22(21):11905.
267. Gluvic Z, Tomasevic R, Bojovic K, Obradovic M, Isenovic ER. Non-alcoholic fatty liver disease: a multidisciplinary clinical practice approach—the institutional adaptation to existing Clinical Practice Guidelines. *Emergency and Critical Care Medicine*. 2021;2(1):12-22.
268. Adams LA, Harmsen S, St Sauver JL, Charatcharoenwitthaya P, Enders FB, Therneau T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease increases risk of death among patients with

- diabetes: a community-based cohort study. *The American journal of gastroenterology*. 2010;105(7):1567-73.
269. Chalasani N, Deeg MA, Crabb DW. Systemic levels of lipid peroxidation and its metabolic and dietary correlates in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *The American journal of gastroenterology*. 2004;99(8):1497-502.
 270. Odegaard AO, Jacobs DR, Jr., Sanchez OA, Goff DC, Jr., Reiner AP, Gross MD. Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. *Cardiovascular diabetology*. 2016;15:51.
 271. Fleischman A, Shoelson SE, Bernier R, Goldfine AB. Salsalate improves glycemia and inflammatory parameters in obese young adults. *Diabetes care*. 2008;31(2):289-94.
 272. Tapashetti RP, Guvva S, Patil SR, Sharma S, Pushpalatha HM. C-reactive Protein as Predict of Increased Carotid Intima Media Thickness in Patients with Chronic Periodontitis. *Journal of international oral health : JIOH*. 2014;6(4):47-52.
 273. Nisar M, Iqbal MU. Influence of hs-CRP, IL-6 and TNF- α and it's role in dyslipidemia and type 2 diabetes in population of Karachi, Pakistan. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2021;34(3(Special)):1217-25.
 274. Drag MH, Kilpeläinen TO. Cell-free DNA and RNA-measurement and applications in clinical diagnostics with focus on metabolic disorders. *Physiological genomics*. 2021;53(1):33-46.
 275. Sun C, Fan JG, Qiao L. Potential epigenetic mechanism in non-alcoholic Fatty liver disease. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(3):5161-79.
 276. Mitrovic B, Obradovic MM, Gluvcic Z, Radunovic M, Rizzo M, Banach M, Isenovic E. Non-alcoholic Fatty Liver Disease, Metabolic syndrome, and Type 2 diabetes mellitus: Where do we stand today? *Archives of Medical Science*. 2022. doi:10.5114/aoms/150639.
 277. B. Mitrovic, Z. Gluvcic, A. Klisic, M. Obradovic, D. Macut, R. Tomasevic, E.R. Isenovic. A non-invasive method for estimating the severity of liver steatosis and the risk of fibrosis in non-obese type 2 diabetes patients with NAFLD. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2022;18(4):480–487.
 278. Wu YL, Kumar R, Wang MF, Singh M, Huang JF, Zhu YY, et al. Validation of conventional non-invasive fibrosis scoring systems in patients with metabolic associated fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*. 2021;27(34):5753-63.

BIOGRAFIJA

Dr Bojan Mitrović je rođen 31. jula 1984. godine u Loznici gde je završio osnovnu školu i gimnaziju i maturirao 2003. godine. Iste godine je upisao Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu na kom je diplomirao 2011. godine. Završni akademski specijalistički rad iz oblasti endokrinologije, pod nazivom "Ispitivanje uticaja supstitucije levotiroksinom na kvalitet života obolelih od primarne hipotireoze" odbranio je 2014. godine. Specijalizaciju iz interne medicine započeo je 2015. godine, a specijalistički ispit sa odličnom ocenom položio 2020. godine. Od juna meseca 2013. godine zaposlen je na Klinici za internu medicinu KBC Zemun, Odeljenje intenzivne terapije a na mesto šefa imenovan je 2020. godine. Autor je i koautor brojnih stručnih radova i publikacija.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Бојан Ч. Митровић

Број индекса 2016/5007

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Однос између испољености стеатозе у неалкохолној масној болести јетре, неинвазивних скорова стеатозе и фиброзе јетре и концентрација Ц-реактивног протеина и азот-оксида код негојазних особа оболелих од типа 2 дијабетеса на третману различитим режимима оралних антихипергликемика

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

У Београду, 12.06.2023.

Потпис аутора

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора _____Бојан Ч. Митровић_____

Број индекса _____2016/5007_____

Студијски програм _____ендокринологија_____

Наслов рада _____Однос између испољености стеатозе у неалкохолној масној болести јетре, неинвазивних скорова стеатозе и фиброзе јетре и концентрација Ц-реактивног протеина и азот-оксида код негојазних особа оболелих од типа 2 дијабетеса на третману различитим режимима оралних антихипергликемика_____

Ментор

Др Ђуро Маџут, редовни професор Медицинског факултета, Универзитета у Београду

Коментор

Др Зоран Глувић, доцент Медицинског факултета, Универзитета у Београду

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања 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, 12.06.2023.

Изјава о коришћењу

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

Однос између испољености стеатозе у неалкохолној масној болести јетре, неинвазивних скорова стеатозе и фиброзе јетре и концентрација Ц-реактивног протеина и азот-оксида код негојазних особа оболелих од типа 2 дијабетеса на третману различитим режимима оралних антихипергликемика

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, 12.06.2023.

Потпис аутора

1. Ауторство - Дозвољавате 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. Дозвољавате 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 прераде. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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 прераде. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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.