

# Nealkoholna masna bolest jetre i hepatocelularni karcinom

---

Posavec, Lana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:202948>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

Lana Posavec

**NEALKOHOLNA MASNA BOLEST JETRE I HEPATOCELULARNI KARCINOM**

Diplomski rad

Rijeka, 2020.

**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

Lana Posavec

**NEALKOHOLNA MASNA BOLEST JETRE I HEPATOCELULARNI KARCINOM**

Diplomski rad

Rijeka, 2020.

Mentor rada: doc.dr.sc. Ivana Mikolašević, dr.med.

Diplomski rad ocjenjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof.dr.sc. Sandra Milić, dr.med. (predsjednik Povjerenstva)

2. doc.dr.sc. Vanja Licul, dr.med.

3. prof.dr.sc. Dražen Kovač, dr.med.

Rad sadrži 38 stranica, 2 slike, 0 tablica, 43 literaturnih navoda.

# ZAHVALA

*Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc. Ivani Mikolašević, dr.med. na pomoći oko pisanja diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se svojim roditeljima, posebice mami koja je i u najtežim trenucima bila podrška.*

*Zahvaljujem se sestri koja je bila uzor tijekom čitavog mog obrazovanja.*

*Zahvaljujem se cijeloj svojoj obitelji, prijateljima i poznanicima koji su bili uz mene.*

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. SVRHA DIPLOMSKOG RADA .....	3
3. NAFLD .....	4
3.1. Epidemiologija .....	4
3.2. Patogeneza .....	7
3.2.1. Inzulinska rezistencija .....	8
3.2.2. Mikrobiota crijeva.....	10
3.2.3. Genetika i epigenetika .....	11
3.3. Dijagnoza .....	12
3.3.1. Jetrena biopsija.....	13
3.3.2. Slikovne metode .....	14
3.3.3. Serumski biomarkeri .....	16
4. HEPATOCELULARNI KARCINOM .....	18
5. NAFLD U POVEZANOSTI S HCC-OM .....	20
6. LIJEČENJE .....	24
6.1. Liječenje NAFLD-a .....	24
6.2. Liječenje HCC-a .....	26
7. RASPRAVA.....	27
8. ZAKLJUČCI .....	29
9. SAŽETAK.....	30
10. SUMARRY.....	31
11. LITERATURA .....	32
12. ŽIVOTOPIS.....	38

## **POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA**

NAFLD- nealkoholna masna bolest jetre (eng. non alcoholic fatty liver disease)

NASH- nealkoholni steatohepatitis (eng. non alcoholic steatohepatitis)

HCC- hepatocelularni karcinom (eng. hepatocellular carcinoma)

CC- kriptogena ciroza (eng. cryptogenic cirrhosis)

ITM- indeks tjelesne mase

T2DM- šećerna bolest tipa 2 (eng. diabetes mellitus type 2)

CVD- kardiovaskularna bolest (eng. cardiovascular disease)

CKD- kronična bubrežna bolest (eng. chronic kidney disease)

IR- inzulinska rezistencija (eng. insulin resistance)

MetS- metabolički sindrom (eng. metabolic syndrome)

HCV- hepatitis C

HCB- hepatitis B

FFA- slobodne masne kiseline (eng. free fat acid)

ER- endoplazmatski retikulum (eng. endoplasmic reticulum)

HSC- jetrena zvjezdasta stanica (eng. hepatic stellate cell)

UPR- odgovor denaturiranog proteina (eng. unfolded protein response)

AGEs- napredni produkti gliakcije (eng. advanced glycation end products)

LPS- lipopolisaharid (eng. lipopolysaharide)

PRR- receptor za prepoznavanje uzorka (eng. pattern recognition receptor)

TLR- Toll-like receptor (eng. toll-like receptor)

NLR- NOD-like receptor (eng. nod-like receptor, NLR)

# 1. UVOD

Nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD) je najčešći uzrok kronične bolesti jetre diljem svijeta i prevalencija se povećava zbog sve veće epidemije pretilosti (1). To je izuzetno izazovna i multisitemna bolest koja zahvaća otprilike jednu četvrtinu opće populacije, te zbog toga ima velik socioekonomski utjecaj (2,3). NAFLD se sve više prepoznaje kao jetrena manifestacija metaboličkog sindroma (MetS) koji je karakteriziran abdominalnom ili centralnom pretilosti i inzulinskom rezistencijom (IR) što rezultira nastankom šećerne bolesti tipa 2 (T2DM), dislipidemije i hipertenzije (4,5). Nadalje, NAFLD je bolest koju karakterizira prekomjerna akumulacija masti u jetri odnosno steatoza. Uključuje čitav spektar masne bolesti jetre; u rasponu od jedonstavne steatoze do steatohepatitisa, pa sve do ciroze jetre i hepatocelularnog karcinoma (HCC). Spektar NAFLD-a uključuje NAFL koji se definira kao steatoza bez hepatocelularne ozljede i nealkoholni steatohepatitis (NASH) koji uključuje steatozu u koegzistenciji s upalom i ozljedom hepatocita (4,6). NAFLD je najčešći uzrok povišenja jetrenih enzima u Zapadnim zemljama (5).

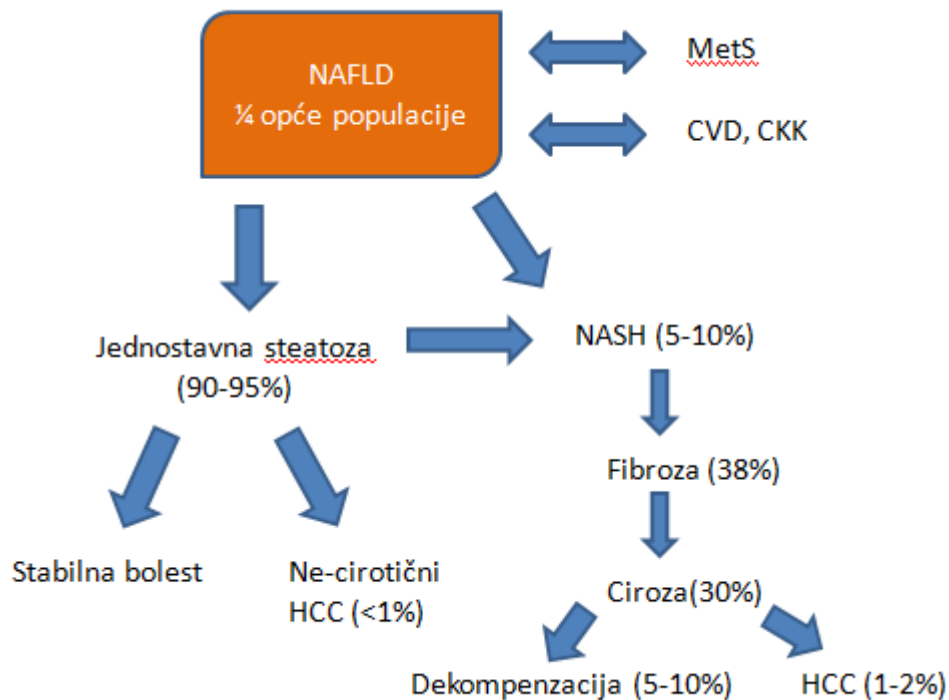
Dijagnoza NAFLD-a zahtjeva prisutnost više od 5% jetrene steatoze uz isključenje bolesti jetre druge etiologije kao što su kronične virusne jetrene bolesti, uporabe steatogenih lijekova (amiodaron ili tamoksifen), kronične jetrene bolesti (autoimuni hepatitis, hematokromatoza, Wilsonova bolest) i signifikantne konzumacije alkohola (7). Signifikantna konzumacija alkohola definira se kao konzumacija više od 21 pića u prosjeku u tjedan dana u muškaraca i više od 14 pića prosječno u tjedan dana u žena (4) ili kao dnevna konzumacija alkohola manja od 20g u žena i 30g u muškaraca (6). NAFLD je asimptomatska bolest u većine pacijenata i često slučajna prilikom testiranja na neke druge bolesti. Neki navode nespecifične simptome poput umora ili nešto specifičnije kao bol u gornjem desnom



kvadrantu. U fizikalnom pregledu često nema drugih znakova osim centralne pretilosti i hepatomegalije (8,9).

NASH je manja podgrupa i agresivniji tip NAFLD-a, te ova dijagnoza zahtjeva histološku potvrdu putem jetrene biopsije (4,7). NASH je definiran kao prisutnost steatoze s nekroinflamatornim promjenama poput hepatocelularnog baloniranja, lobularnom upalom te degeneracijom hepatocita s ili bez peri-sinusoidalne fibroze (3,4,10). NASH je kompleksna i heterogena bolest koja je modulirana brojnim čimbenicima kao što su metabolički, genetički, okolišni i mikrobn i čimbenici crijeva (9). Smatra se da je NASH potencijalni uzrok kriptogene ciroze (CC); termin koji se odnosi na neobjašnjivu kroničnu bolest jetre (11). Završni stadij NASH-a u vidu CC-a često ostaje neprepoznat zbog toga što steatoza i ozljeda hepatocita nestanu u ovoj fazi, te to se naziva „burn-out“ NASH. (6, 12) Pacijenti s CC-om imaju visoku prevalenciju metaboličkih faktora rizika koji su tipični za pacijente s NAFLD-om, te jetrene biopsije često pokazuje jednu ili više karakteristika NASH-a (4). Ovaj široki raspon jetrenih bolesti u NAFLD-u ne znači da su svi pacijenti sa steatozom pod rizikom od nastanka NASH-a, fibroze ili ciroze povezane s NASH-om. Većina pacijenata ima samo jednostavnu steatozu, dok manjina može razviti cirozu i umrijeti od njenih komplikacija kao što su portalna hipertenzija, zatajenje jetre i HCC (2, 8, 13) (Slika 1.).

Povećavanjem epidemije pretilosti i T2DM-a, prevalencija i utjecaj NAFLD-a se sve više povećava, što NASH čini potencijalno najčešćim uzrokom uznapredovale bolesti jetre u nadolazećim desetljećima (1). Postoje indikacije da će NAFLD postati dominantni uzrok HCC-a u Zapadnim zemljama što se povezuje sa sve većom prevalencijom NAFLD-a, koji pak je povezan sa sve većom epidemijom pretilosti i šećerne bolesti (14).



**Slika 1.** Razvoj NAFLD-a. *Modificirano prema: Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Metabolism 2016.* NAFLD-nealkoholna masna bolest jetre; MetS-metabolički sindrom; CVD-kardiovaskularna bolest; CKK-kronična bubrežna bolest; NASH- nealkoholni steatohepatitis; HCC-hepatocelularni karcinom

## 2. SVRHA DIPLOMSKOG RADA

Svrha rada je ustanoviti, prema trenutno dostupnoj literaturi, korelaciju između nealkoholne masne bolesti jetre i hepatocelularnog karcinoma. Također, pregledom literature potrebno je razmotriti epidemiologiju, mogućnosti dijagnostike, liječenja i preventivnih postupaka, odnosno probirnih testova za ove bolesti kako bi se učinkovitije prevenirale i liječile.

## 3. NAFLD

### 3.1. Epidemiologija

Razumijevanje epidemiologije NAFLD-a je esencijalno za razvijanje efektivnog liječenja i preventivne strategije (1). Smatra se da je NAFLD najčešći uzrok kronične bolesti jetre u SAD-u, te se bilježi povećanje prevalencije s 15% u 2005. godini na 25% u 2010. godini (7). Prevalencija NAFLD-a se kreće između 6,3% i 33% s medijanom od 20% u općoj populaciji (4). Isto tako bilježi se povećanje prevalencije NASH-a s 1,5% na 6,45%, dok ukupna prevalencija NASH-a među biopsiranim NAFLD pacijentima iznosi 59,10% (7). Prevalencija je veća u industrijaliziranim zemljama (8). U Aziji epidemiološke stope NAFLD-a se povećavaju zbog brzog povećanja ekonomije s 13% u 1999. godini na 30% u 2008. godini (15). Iako je prevalencija NAFLD-a visoka diljem svijeta, najviša je u Južnoj Americi (31%) i na Bliskom Istoku (32%), a najniža u Africi (14%) (7).

Smatra se da je NAFLD jetrena manifestacija MetS-a, te je upravo zbog toga prevalencija NAFLD-a najveća u populaciji s preegzistirajućim metaboličkim stanjima kao što su pretilost i T2DM, ali postoje izuzeci u Azijskim zemljama gdje se NAFLD javlja u ljudi koji nisu pretili (1,15). Povišen indeks tjelesne mase (ITM) je najveći faktor rizika za nastanak NAFLD-a. Prevalencija NAFLD-a u populaciji pretilih ljudi je 30-37%, dok je ukupna prevalencija pretilih s NAFLD-om globalno 51% i 82% u NASH pacijenata (1,7). Prevalencija NAFLD-a u pacijenata sa teškom pretilosti koji su podvrgnuti barijatrijskoj operaciji iznosi čak 90% i od toga 5% pacijenata je imalo neprepoznatu cirozu (4). Prevalencija MetS-a u pacijenata s NAFLD-om je 41% i 71% u NASH pacijenata, dok prevalencija hipertenzije u NAFLD i NASH pacijenata iznosi 39% i 68% (7). Visoke razine triglicerida i niske razine HDL-a su učestale u pacijenata s NAFLD-om. Prevalencija dislipidemije u pacijenata s NAFLD-om

iznosi 69%, a u pacijenata s NASH-om 72% (4,7). U populaciji pacijenata s T2DM-om i NAFLD-om prevalencija iznosi 23%, a u pacijenata s NASH-om i T2DM-om iznosi 47% (7). Prevalencija NAFLD-a raste s porastom godina, pa se tako javlja <30% u ljudi mlađih od 40 godina i >50% u ljudi starijih od 60 godina; najveća je među muškarcima između 40 i 65 godina. Očekuje se da će se ovakva distribucija NAFLD-a prema godinama mijenjati u budućnosti zbog sve veće prevalencije pretilosti (10-15%) u mladih ljudi (6,15). U starijih bolesnika s NAFLD-om češća je progresija bolesti u uznapredovalu fibrozu, te je povećana smrtnost (4).

Incidencija NAFLD-a još uvijek nije dobro istražena, limitirana je na mali broj studija, te je raznolika. Dvije Japanske studije su objavile da je stopa incidencije između 31 i 86 na 1000 ljudi/godina, dok studija provedena u Engleskoj govori o nešto nižoj incidencijskoj stopi od 29 na 100 000 ljudi/godina. Ova diskrepanca u stopama incidencije nalaže da su potrebne daljnje detaljnije studije (1,4).

Pacijenti s NAFLD-om imaju povećanu ukupnu smrtnost uspoređujući ih s općom populacijom, ali to ne vrijedi za sve bolesti unutar spektra NAFLD-a (4,13). Pacijenti s jednostavnom steatozom imaju sličnu ukupnu smrtnost kao opća populacija što se povezuje s jako sporom progresijom bolesti, dok pacijenti s NASH-om imaju povećanu smrtnost i to šest puta veću nego pacijenti s NAFLD-om (1,13,16). U proteklom desetljeću, uspostavilo se da NAFLD nije povezan samo sa jetrenim morbiditetom i mortalitetom, već da postoje dokazi da je NAFLD multisistemna bolest koja zahvaća ekstra-hepatične organe i regulatorne putove. Tako je dokazano da NAFLD povećava rizik od T2DM-a, kardiovaskularne bolesti (CVD), kronične bubrežne bolesti (CKD), kolorektalnog karcinoma, psorijaze, policistične bolesti jajnika, osteoporoze i opstuktivne apneje u spavanju (17,18). Postaje sve jasnije da su ove bolesti rezultat istog patofiziološkog procesa povezanog s MetS-om, te da su usko

povezane s IR-om, kroničnom sustavnom upalom i dislipidemijom (18). Upravo zbog toga ne čudi činjenica da je najčešći uzrok smrti u pacijenata s NAFLD-om i NASH-om CVD, iza koje slijede ekstra-hepatične malignosti. (4,9,16) NAFLD je nezavisni faktor CVD progresije i povezan je s povišenim rizikom od nastanka kardiovaskularne bolesti, neovisno od dobro definiranih faktora rizika. Rizik od CVD smrtnosti je povećan u pacijenata koji imaju NASH i uznapređovalu fibrozu naspram onih s jednostavnom steatozom (18). Treći po redu uzrok smrtnosti u pacijenti s NASH-om (ali ne i NAFLD-om) su jetrene bolesti poput zatajenja jetre, sepse, varikoznog krvarenja i HCC-a. (4,9,16) Procjenjuje se da jetrena-specifična smrtnost i ukupna smrtnost u NAFLD pacijenata iznosi 0.77 i 11.77 na 1000 ljudi-godina, dok u NASH pacijenata iznosi 15.4. i 25.56 na 1000 ljudi-godina (3). Također, T2DM je prepoznat kao nezavisni čimbenik rizika u smrtnosti povezane s jetrom i ukupne smrtnosti, te kao značajni faktor za nastanak jetrene fibroze i progresije u cirozu (16). Nadalje, T2DM je povezan s većom prevalencijom jetrenih malignosti u NAFLD pacijenata. Kao rezultat svega navedenog, T2DM povećava rizik od jetrene povezane smrtnosti u NAFLD pacijenata za 22 puta (18).

NASH je prepoznat kao jedan od vodećih uzroka ciroze u SAD-u, te NASH-povezana ciroza i NASH-povezan HCC kao druga najčešća indikacija za transplantaciju jetre (2,7,13). NAFLD-povezana jetrena bolest je trenutno najbrže rastuća indikacija za transplantaciju jetre i očekuje se da će postati glavna indikacija u skoroj budućnosti. To se povezuje sa sve većom prevalencijom MetS-a i NAFLD-a, a i manjom incidencijom ciroze/HCC-a-povezanog s hepatitisom C (HCV). Broj pacijenata koji imaju NAFLD/NASH i koji su na listu čekanja za transplantaciju se povećao za 170% između 2004. i 2013. godine (2). NASH pacijenti koji su na listi čekanja transplantata imaju brojne metaboličke komorbiditete (najčešće T2DM i pretilost), te CVD i CKD koji se povezuju s lošijim post-operativnim i dugoročnim ishodom, a uostalom dosta njih i nije na listi čekanja upravo zbog tih komorbiditeta (2,6) S druge strane,

povećavanje incidencije NAFLD-a/NASH-a u općoj populaciji doprinijeti će većem riziku da i donori imaju NAFLD što će utjecati na broj organa koji su prikladni za transplantaciju. Steatoza može uzrokovati nastanak ishemijsko-reperfuzijske ozljede što povećava rizik od odbacivanja i pogoršanja funkcije transplantata. Posljedično, liječnici će biti suočeni s još većim nedostatkom adekvatnih transplantata i biti primorani na prihvaćanje organa koji su lošije kvalitete, čime se povećava rizik od lošijih post-transplantacijskih ishoda (2).

### **3.2. Patogeneza**

Znanje o patogenezi NAFLD-a nije do kraja razjašnjeno; smatra se da je razvoj NAFLD-a kompleksan i multifaktorijalan. Koncept teorije višestrukih paralelnih udara („Multiple-parallel hit theory“) obuhvaća više čimbenika koji djeluju zajedno u genetički predisponiranog pojedinca u nastanku NAFLD-a. Takvi „udarci“ uključuju IR-u, lipotoksičnost koja je rezultat pojačanog dotoka slobodnih masnih kiselina (FFA) u jetru, disfunkciju masnog tkiva, okolišne faktore poput prehrane, pretilosti i mikrobiote crijeva, genetičke i epigenetičke faktore, stres endoplazmatskog retikuluma (ER), mitohondijsku disfunkciju, hipoksiju, apoptozu i u konačnici aktivaciju jetrenih zvjezdastih stanica (HSC) (8,19) (Slika 2.). Smatra se da je upala prvi „udarac“ u progresiji NASH-a u fibrozu (20). Tilg i *sur.* definiraju steatozu kao promatrača koji slijedi upalne događaje i određena je približnom procjenom udjela hepatocita koji sadrže kapljice masti (21). Svi ovi čimbenici u genetički i epigenetički predisponiranog pojedinca utječu na nastanak steatoze i pridonose stvaranju jetrenog upalnog okoliša koji dovodi do kronične upale jetre putem različitih signalnih putova s mogućnosti progresije u hepatocelularnu smrti (ili direktno toksično ili putem aktivacije

mehanizama apoptoze), aktivacije HSC-a i posljedičnog odlaganja depozita fibroznog matriksa (8).

### **3.2.1. Inzulinska rezistencija**

IR je kardinalna karakteristika NAFLD-a. Povećava jetrenu de novo lipogenezu iz glukoze i fruktoze te smanjuje inhibiciju lipolize u visceralnom i supkutanom masnom tkivu. Ovakvi događaji zajedno s konzumacijom hrane bogate mastima, posljedično povećavaju dotok FFA u jetru (8,21). Povećan dotok FFA u jetru u kombinaciji s hiperinzulinemijom rezultira nastankom jetrene IR i povećane sinteze triglicerida. Trigliceridi se akumuliraju kao kapljice masti u hepatocitima što rezultira nastankom masne jetre (22). Višak FFA se transformira u lipotoksične spojeve koji pogoršavaju funkciju ER i mitohondrija, potiču oksidativni stres, aktiviraju inflamosome i potenciraju apoptozu (19). Ako mitohondrijske i peroksisomalne funkcije ne mogu nadvladati pojačani dotok FFA, dolazi do kolapsa respiracijskog lanca s posljedičnom hipoksijom, disbalansom u homeostazi masti, stvaranjem toksičnih lipidnih produkata i hiperprodukcije reaktivnih kisikovih radikala (ROS). ROS zajedno s oksigeniranim LDL-om, može aktivirati Kupfferove stanice i HCS što dovodi do upale i fibroze (8). Oksigenirane FFA, također, mogu katalizirati lipidnu peroksidaciju koja je direktno citotoksična (19). Nadalje, FFA potiču nastanak supkliničke upale, potiču glukoneogenezu i sekreciju hepatokina fetuina-A. Ovaj protein se pojačano stvara u masnoj jetri te direktno inducira IR i pojačanu citokinsku ekspresiju (23). Nadalje, odgovor denaturiranog proteina (UPR) je mehanizam adaptacije organizma u cilju uspostavljanja homeostaze, te preveniranja ER stresa koji nastaje uslijed izloženosti toksičnim lipidnim produktima. UPR aktivacija uključuje adaptivne mehanizme (npr. redukcija sinteze proteina, povećan kapacitet tranzita kroz ER...) koji nastoje ukloniti defekt nakupljanja krivo smotanih i razmotanih polipeptidnih

lanaca u lumenu ER koji bi ako se ne uklone mogli uzrokovati inicijaciju apoptoze. U NAFLD, faktori koji induciraju UPR su hiperglikemija, mitohondrijsko oštećenje koje uzrokuje manjak ATP-a, hiperkolesterolemija te oksidativni stres. Također, UPR dovodi do aktivacije c-jun terminalne kinaze (JNK), aktivatora upale i apoptoze, čija aktivacija povećava mogućnost nastanka steatoze i NASH-a u animalnim modelima (8,21). Posljedično navedenim mehanizmima, povećan dotok FFA u jetru zajedno s manjkom adekvatne detoksifikacije rezultira nastankom fibroze neovisno o NASH-u (19).

Nadalje, IR uzrokuje disfunkciju masnog tkiva sa posljedičnom promjenom u produkciji i sekreciji adipokina (leptin, adiponektin) i upalnih citokina (TNF- $\alpha$ , IL-6) (8,20). NAFLD je povezan s povećanom koncentracijom leptina i manjkom adiponektina. Leptin je hormon s pro-upalnim i pro-fibrinogenim učinkom. U pretilih pacijenata koncentracija leptina je povećana kao posljedica leptinske rezistencije, te se zbog toga potiče fibrogenaza direktno putem HSC-a i/ili indirektno aktivacijom Kupfferovih stanica i sinusoidalnih endotelnih stanica putem up-regulacije kofaktora TGF- $\beta$ 1. Nadalje, leptin inducira proliferaciju i inhibira apoptozu HSC-a. Adiponektin je hormon koji poboljšava jetrenu i perifernu IR-u, te ima protu-upalni, hepatoprotektivni i antifibrinogeni učinak. Protu-upalni efekt ostvaruje putem blokade aktivacije NF- $\kappa$ B, inhibicije sekrecije pro-upalnih citokina poput TNF-alfa i IL-6, te modulacije HCS-a (8,19). U pretilih, smanjene koncentracije adiponektina i povećane koncentracije leptina dovode do nastanka jetrene steatoze, aktivacije upale i fibrogeneze. Također, povećane razine pro-inflamatornih citokina dovode do histoloških promjena koje su vidljive u NASH-u, poput hepatocitne nekroze, neutrofilne kemotaksije, aktivacije HCS-a i produkcije Mallorijeva hijalina. Nadalje, povišene razine TNF- $\alpha$  su uočene u pacijenata s NASH-om i koreliraju s težinom histološke jetrene ozljede (8). Hiperinzulinemija promovira pro-fibrogenske signale u HSC direktno ili putem kofaktora TGF-



β1. Dok s druge strane, hiperglikemija koja je česta u pacijenata s NAFLD-om, određuje priustnost ne-enzimatske glikacije i oksidacije proteina i lipida rezultirajući stvaranjem naprednih produkata glikacije (AGEs). HSC ima receptore za AGEs, te se time aktivira. Nadalje, AGEs mogu aktivirati fibrogenezu u in vitro uvjetima putem modulacije TNF-α-konvertrajućeg enzima. Ovi rezultati objašnjavaju zašto je stupanj IR povezan s uznapređovalom bolesti i s činjenicom da NAFLD pacijenti s T2DM imaju progresivniju bolest i brži nastup fibroze (19). S druge strane, osim oštećenja jetre, steatoza može pogoršati ili inducirati nastanak IR, pogoršati glikemijsku kontrolu u pacijenata s T2DM-om i uzrokovati naknadni razvoj MetS-a (6). Zaključno, IR je jedan od ključnih faktora za razvoj steatoze i progresije u NASH, kritična za nastanak lipotoksičnosti, oksidativnog stresa i aktivacije upalne kaskade (8).

### **3.2.2. Mikrobiota crijeva**

Mikrobiota crijeva igra jednu od glavnih ulogu u etiologiji i progresiji NASH-a kroz tzv. crijevno-jetrenu os (8,20). U stanju disbioze koja je vidljiva u stanjima IR i pretilosti, crijevna mikrobiota uzrokuje pojačanu propusnost crijeva proizvodeći pro-inflamatorne citokine (TNF-α, IL-1 i IL-6), pojačanu produkciju endotoksina lipopolisaharida (LPS), te uzrokuje promjene u energetske homeostazi. Barijera crijeva se pogoršava kada postoji povećan omjer Gram-negativnih bakterija naspram Gram-pozitivnih i Firmicutes naspram Bacteroides s up-regulacijom broja bakterija koje razgrađuju mukoza (19). LPS su jedni od glavnih toksičnih produkata bakterija koji uzrokuju sustavnu upalu, te pojačanu produkciju i porast dotoka FFA u jetru (8,20). Nadalje, LPS mogu aktivirati signalni put u jetri ovisan o NF-κB i receptorima za prepoznavanje uzorka (PRR) putem Toll-like receptora (TLRs) na površini stanične membrane ili putem NOD-like receptora (NLRs) u citosolu. Vezanje komponenta

LPS-a na TLRs uzrokuje aktivaciju upalne kaskade (stres-aktivacijske proteinske kinaze, JNK, p38, interferon regulacijski faktor 3...) koja djeluje na IR, pretilost, steatozu i razvoj i progresiju NASH-a (8,19). NLRs su povezani s inflammasomima, proteinskim kompleksima koji kada se aktiviraju stimuliraju staničnu apoptozu i otpuštanje pro-upalnih citokina iz upalnih stanica. Visoka aktivnost inflammasoma je pronađena u NAFLD pacijentima i povezana je s IR-om, visokim razinama FFA, hiperprodukcijom leptina i down-regulacijom sinteze adiponektina. Inflammasomi i absorbirani LPS mogu direktno utjecati na HCS i Kupfferove stanice tako što stimuliraju produkciju aktina, mijenjaju produkciju čimbenika rasta  $\beta 1$  (TGF  $\beta 1$ ) i kolagenskih vlakana, što u konačnici promovira nastanak i progresiju fibroze (19).

Povećan dotok FFA i posljedična lipotoksičnost, IR, periferna disfunkcija masnog tkiva i endotoksini LPS oslobođeni iz crijevne mikrobiote dovode do aktivacije i pojačane produkcije i oslobađanja pro-upalnih citokina, i sistemno i lokalno u jetri (8). Ekspresija pro-upalnih citokina IL-6 i TNF- $\alpha$  su povećane u adipocitima pretilih pacijenata i pacijenata s IR-om (21). Dva glavna upalna puta koja su uključena u stanje kronične upale u NAFLD-u su JNK-AP-1 i IKK-NF- $\kappa\beta$ . JNK je član mitogenih aktivirajućih proteinskih kinaza, koje su povezane s aktivacijom apoptoze i razvojem NASH-a. NF- $\kappa\beta$  je transkripcijski faktor i primarni regulator upalne aktivacije, te je njegova podjedinica IKK2 glavna komponenta koja je potrebna za njegovu aktivaciju u akutnom odgovoru na upalu. Perzistentna aktivacija NF- $\kappa\beta$  signalnog puta i pretjerana IKK2 ekspresija su prisutne u pacijenata s NASH-om, te dovode do kroničnog upalnog stanja i IR (8).

### **3.2.3. Genetika i epigenetika**

Genetski faktori i epigenetske modifikacije utječu na enzimске procese, dotok FFA, oksidativni stres, upalne procese, te na endotoksičnu i citokinsku produkciju (8,19,24).

Genetički faktori bi mogli objasniti zašto određeni postotak pacijenata s NAFLD-om razvija NASH (21). Rizik od nastanka fibroze je genetski determiniran i nekoliko genetskih varijanta je povezano s progresijom fibroze. Zamjena izoleucina s metioninom na 148 kodonu PNPLA3 gena rezultira smanjenjem hidrolize triglicerida u hepatocitima, dok E167K varijanta TM6SF2 gena (zamjena glutamata s lizinom na kodonu 167) rezultira smanjenjem VLDL sekrecije iz jetre. Oba polimorfizma su povezana s većim rizikom od nastanka steatoze, NASH-a, ciroze i HCC-a (8,19,24). PNPLA3 deficijenti miševi ne razvijaju NAFLD i IR, te nemaju povišene jetrene transaminaze (21). Epigenetske modifikacije su stabilne promjene na transkripcijskoj razini i obuhvaćaju DNA metilaciju, histonske modifikacije i aktivnost mikroRNA. Pretpostavlja se da promjene epigenetskih faktora pridonose razvoju NAFLD-a, no potrebna su detaljnija istraživanja (8).

### **3.3. Dijagnoza**

Dijagnoza NAFLD-a je heterogena i počiva na različitim alatima za procjenu poput slikovnih metoda, jetrene biopsije te serumskih biomarkera (1,25). Glavni problem u postavljanju dijagnoze jest prepoznavanje razlike između NASH-a i jednostavne steatoze, te identifikacija uznapredovale fibroze (3). Ovi različiti entiteti se potvrđuju jetrenom biopsijom koja ostaje zlatni standard u postavljanju dijagnoze NAFLD-a, ali zbog svoje invazivnosti polako se napušta. Upravo zbog toga, posljednjih godina razvijaju se neinvazivne metode koje bi se zbog svoje dostupnosti mogle koristiti kao probirni testovi za NAFLD (1,3,25,26). Neinvazivne metode počivaju na dva različita pristupa: „biološki“ pristup koji je baziran na kvantifikaciji biomarkera u serumskim uzorcima i „fizikalni“ pristup baziran na mjerenju

jetrene tvrdoće, koristeći elastografske tehnike bazirane na ultrazvuku ili magnetnoj rezonanci (3).

### **3.3.1. Jetrena biopsija**

Jetrena biopsija je zlatni standard u postavljanju i potvrđivanju konačne dijagnoze NAFLD-a, te omogućuje dijagnostičku i prognostičku informaciju o fibrozi i potencijalnoj progresiji.

(6). Histološka analiza jetrenog bioptata je ključna za određivanje razlike između jednostavne steatoze i NASH-a, te za utvrđivanje stupnja i stadija bolesti (13,20).

„The NAFLD activity score“ (NAS) je sustav bodovanja prema kojem postoje tri histološke karakteristike NASH-a; steatoza, hepatocelularno baloniranje i lobularna upala (13). Iako NAS korelira sa prisutvom ili odsutvom NASH-a, dijagnozu NASH-a postavlja isključivo histopatolog po prisutstvu specifične histološke abnormalnosti (10,13). Nadalje, portalna upala i fibroza koje nisu dio NAS-a koreliraju sa lošijom prognozom bolesti (13). Procjena jetrene fibroze temelji se na Bruntovom sustavu stupnjevanja; gdje je F1 definiran kao perisinusoidalna ili periportalna fibroza, F2 kao perisinusoidalna fibroza s periportalnom ili portalnom fibrozom, F3 kao „bridging“ fibroza i F4 kao ciroza. Signifikantna fibroza je ako je  $\geq F2$ , a uznapredovala fibroza ako je  $\geq F3$  (27). Prisutnost signifikantne fibroze (ne NASH-a) je u čvrstoj poveznici s jetrenom-povezanim smrtnosti, te je signifikantna fibroza prepoznata kao jedan od glavnih uzroka ciroze u odraslih u SAD-u (10,13,28). Upravo zbog toga bitna je identifikacija takvih pacijenata kako bi se napravili probirni testovi za jetrene komplikacije; HCC i portalnu hipertenziju (6). Smatra se da stupnjevanje fibroze ima veću prediktivnu vrijednost od NAS-a (10). Prisutnost MetS-a snažan je prediktor za određivanje prisutstva NASH-a i može se koristiti u identificiranju pacijenata s trajno abnormalnim biokemijskim nalazima jetre koji bi dijagnostički i prognostički profitirali od jetrene biopsije (4,9).

Međutim, jetrena biopsija je skup, invazivan, slabo dostupan postupak koji ima brojne životno ugrožavajuće komplikacije poput post-intervencijskog krvarenja i u najgorem slučaju smrti. Također, sklona je pogreškama zbog uzimanja uzorka s mjesta na kojem nema steatoze (23,29). Nadalje, budući da je NAFLD bolest epidemijskih razmjera, isplativost ove metode u svrhu probira je nepraktična (3). Upravo zbog toga napori su uloženi kako bi se otkrile neinvazivne metode koje bi otkrile jetrenu fibrozu u pacijenata s NAFLD-om (29).

### **3.3.2. Slikovne metode**

Ultrazvuk je neinvazivna, dobro podnošljiva i široko dostupna metoda koja se koristi kao inicijalna slikovna pretraga u detekciji steatoze (4,25). Međutim, ima brojne nedostatke. Kvantificiranje steatoze pomoću ultrazvuka nije pouzdano i ovisi o osobi koja ga izvodi, te ultrazvuk ne može razlučiti da li se radi o jednostavnoj steatozi ili NASH-u (5,6). Ima ograničenu senzitivnost 60-94% i specifičnost 66-95% u otkrivanju steatoze, te nije pouzdan u detekciji steatoze <20-30% i među pojedincima koji imaju visok ITM (>40 kg/m<sup>2</sup>) i koegzistirajuću renalnu bolest. Probir asimptomatskih pacijenata zahtjeva metodu s većom senzitivnosti i specifičnosti, te zbog toga ultrazvuk nije u potpunosti pogodna metoda za probir pacijenata s NAFLD-om (3,23,25).

CT i MRI su metode koje su više senzitivnije od ultrazvuka, te nude bolju kvantitativnu procjenu triglicerida nakupljenih u jetri. Međutim, ove metode imaju brojne nedostatke; skupe su, nisu svugdje dostupne, CT dolazi s zračenjem i dalje ne mogu razlučiti da li se radi o steatozi ili NASH-u, te zbog toga nisu preporučeni u kliničkim istraživanjima (23,25).

Nadalje, ultrazvučna i MR elastografija se temelje na mjerenju tvrdoće tkiva kako bi se vizualizirale razlike u mehaničkim svojstvima tkiva. Najčešće korištena je tranzijentna elastografija (TE, Fibroscan) s kontroliranim atenuacijskim parametrom (CAP) bazirana na

ultrazvuku koja koristi smični val (eng. shear-wave) u procjeni steatoze i tvrdoće tkiva (fibroze). To je nova, neinvazivna, brza, pouzdana i ekonomski atraktivna tehnika koja je pokazala odličnu preciznost u identificiranju pacijenata s NAFLD-om i faktorima povezanim s NAFLD dijagnozom i progresijom (20,22,30). Omogućuje probir i praćenje pacijenata na prihvatljiv, neinvazivan način (22). TE je uređaj s mehaničkim vibratorom vezanim za ultrazvučni odašiljač koji prislonjen na interkostalni prostor odašilje mehanički impuls u jetru. Brzinu širenja detektira ultrazvučna sonda na temelju doplerskog učinka te izračunava vrijednost izraženu u kilopaskalima (kPa), prema jednadžbi za Youngov modul elastičnosti (LSM eng. Liver Stiffness Measurement). Budući da je fibrozno tkivo tvrđe od normalnog tkiva jetre, stupanj jetrene fibroze interferira s jetrenom tvrdoćom (30). TE je uspješna u identificiranju uznapredovale fibroze u pacijenata s hepatitisom B i C. Iako pokazuje visoku specifičnost i senzitivnost u identificiranju fibroze u pacijenata s NAFLD-om, ima visoku stopu pogreške u pretilih pacijenata i to onih u kojih je BMI veći od 28 kg/m<sup>2</sup> (4,29). To je savladano tako što se primjenjuje pretilost-specifična XL proba (22). Nadalje, TE je najdostupnija metoda, te metoda izbora u identificiranju pacijenata koji su pod rizikom od nastanka uznapredovale fibroze, odnosno onih koji imaju jednu ili više sastavnica MetS-a (3,22). Pacijenti s niskim rizikom od nastanka uznapredovale fibroze (LSM <8 kPa, negativna prediktivna vrijednost 94-100%) se trebaju osvrnuti na promjene životnog stila s reevaluacijom nakon godine dana. Pacijenti s umjerenim (LSM= 8-10kPa) ili visokim rizikom (LSM ≥10 kPa, pozitivna prediktivna vrijednost 47%-70%) od prisutnosti uznapredovale fibroze, trebaju se uputiti hepatologu, dijabetologu i nefrologu. Ako se TE s CAP-om koristi kao metoda probira, jetrena biopsija se može izbjeći u određenog broja pacijenata (3,22). Isto tako, potreban je probir pacijenata kojima je identificirana uznapredovala fibroza te rizik od nastanka portalne hipertenzije i HCC-a (3). Ubrzano se razvija i elastografija temeljena na

magnetnoj rezonanci. Njene prednosti naspram elastografije temeljene na ultrazvuku su: neovisnost o habitusu ispitanika, izostanak subjektivnosti te mogućnost prikazivanja cijelog organa. Najveći nedostatak je visoka cijena i slaba dostupnost (30).

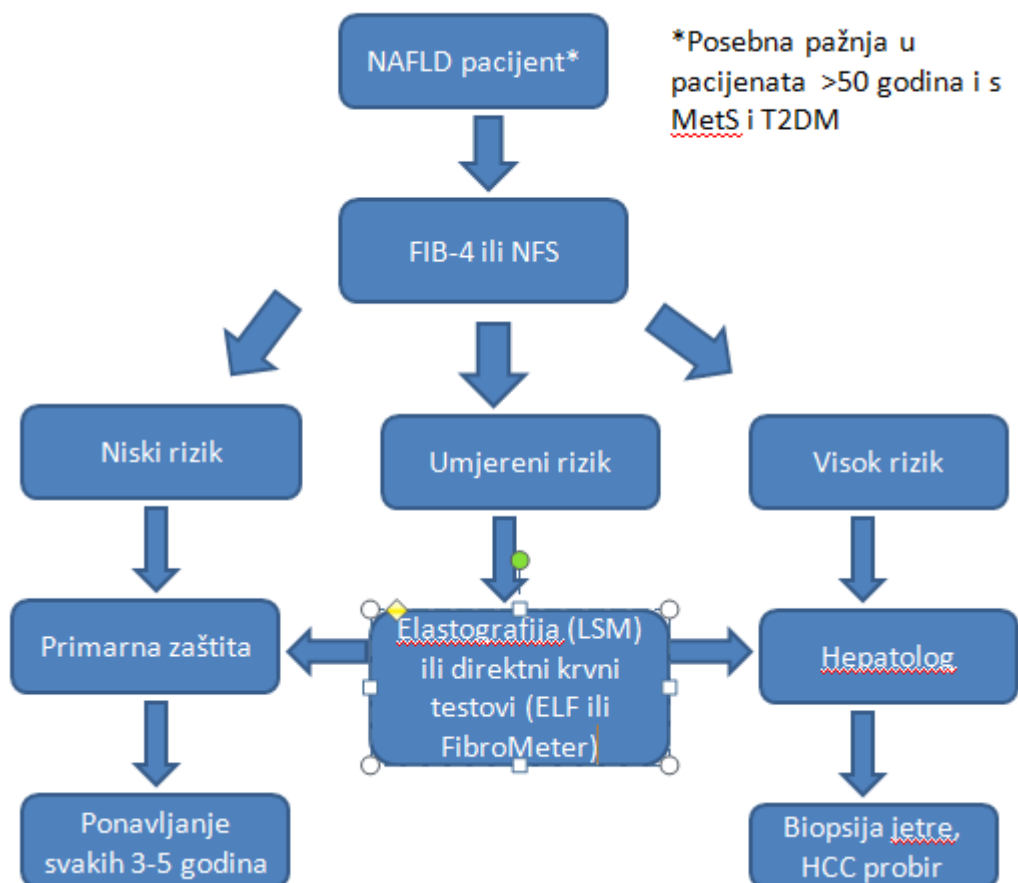
### **3.3.3. Serumski biomarkeri**

Trenutni serumski biomarkeri uključuju prediktivne modele za dijagnostiku i stupnjevanje steatoze (npr. „Fatty liver indeks“ (FLI)) ili stupnjevanje fibroze (npr. „NAFLD fibrosis stage“)), direktna mjerenja hepatocelularnog oštećenja (npr. cirkulatorni fragmenti keratina 18) u diferencijaciji između jednostavne steatoze i NASH-a, te direktna mjerenja fibroze (npr. PIIINP ili Pro-C3) za određivanje uznapredovale fibroze. Praktične prednosti analiziranja serumskih biomarkera uključuju visoku primjenjivost (>95%), dobru laboratorijsku mogućnost obrade te potencijalno široku dostupnost. S druge strane, nisu jetreno specifični što znači da različiti komorbiditeti mogu utjecati na rezultate (3).

Najbolje validirani testovi steatoze su „Fatty liver indeks“ (FLI), „SteatoTest“ i „NAFLD liver fat score“ koji također mogu predvidjeti metabolički, jetreni i CVD ishod i mortalitet (26). No, ovi testovi nisu pridobili veliku popularnost jer ne daju dodatne informacije od standardnih kliničkih, laboratorijskih i slikovnih metoda koje se rade rutinski(3). Nadalje, serološki biomarkeri za stupnjevanje fibroze koji se koriste u pacijenata s NAFLD-om kao alternativa invazivnoj jetrenoj biopsiji su: „NAFLD Fibrosis Score“ (NFS), „Enhanced Liver Fibrosis“ (ELF) panel, „Bard score“, APRI, FIB-4 (4,27)... Trenutno ne postoji savršeni marker koji bi odredio fibrozu u NAFLD pacijenata. Ovi testovi služe kao probir pacijenata koji su u riziku od nastanka NASH-a i temelje se na kombinaciji kliničkih karakteristika, rutinskih laboratorijskih mjerenja i serumskih markera fibroze (27,29). NFS se bazira na šest dostupnih varijabli; dob, ITM, hipertrigliceridemija, broj trombocita, albumin i AST/ALT omjer (29).

Klinički je bitan u identificiranju pacijenata s NAFLD-om koji imaju veću vjerojatnost od nastanka „bridging“ fibroze ili ciroze, te je trenutno najbolje validirani i može predvidjeti jetrene-povezane ishode (4,9). Niski rezultat testa je prediktor za odsustvo signifikantne fibroze sa 90% osjetljivosti i 60% specifičnosti, a visok rezultat testa je prediktor za prisutstvo signifikantne fibroze sa 67% osjetljivosti i 97% specifičnosti (29). ELF panel se sastoji u određivanju plazmatske koncentracije tri proteina -hijaluronske kiseline, TIMP-1 i PIIINP. Ima 80% senzitivnost i 90% specifičnost u detektiranju signifikantne i uznapredovale fibroze (4,27). Nadalje, FIB-4 je baziran na široko dostupnim i jednostavnim parametrima poput godina, transaminaza i broja trombocita. Među svim dostupnim serumskim biomarkerima, najbolje i konstantne rezultate pokazali su NFS i FIB-4, te se preporučuju kao prva linija u isključivanju uznapredovale fibroze (s negativnom prediktivnom vrijednosti >90) kada druge metode nisu dostupne (3). Jetreni enzimi AST i ALT su povišeni u gotovo svih pacijenata s NAFLD-om. U odsutnosti ciroze ALT je viši od AST-a, a u prisutnosti ciroze AST je viši od ALT-a čime je AST/ALT omjer >1 (27). Senzitivnost i specifičnosti povišenja ALT-a u dijagnozi NASH-a iznose 45% i 85% (9). U kliničkoj praksi, preporučuje se korištenje kombinacije tehnika elastografije i serumskih biomarkera. Kada postoji sukladnost ovih tehnika, daljnja testiranja nisu potrebna, a ako nisu sukladni, potrebno je razmotriti jetrenu biopsiju (27) (Slika 2.).





**Slika 2.** Predloženi dijagnostički alogritam za stratifikaciju pacijenata s NAFLD-om s obzirom na uznapredovalu jetrenu fibrozu. *Modificirano prema: Grgurevic I, Podrug K, Mikolasevic I, Kukla M, Madir A, Tsochatzis E. Natural history of nonalcoholic fatty liver disease: implications for clinical practice and an individualized approach. Can J Gastroenterol Hepatol 2020.* NAFLD-nealkoholna masna bolest jetre; MetS-metabolički sindrom; LSM-liver stiffness measurement; ELF-enhanced liver fibrosis score; NFS-nonalcoholic fatty liver disease fibrosis score; HCC-hepatocelularni karcinom

## 4. HEPATOCELULARNI KARCINOM

Rak jetre je peti po učestalosti rak u muškaraca i deveti u žena; od toga na hepatocelularni karcinom otpada više od 90% primarnog raka jetre (31,32). HCC je trenutno vodeći uzrok raka koji je povezan s pretilosti u muškaraca srednjih godina u SAD-u (33). Rak jetre je čak 2 do 3 puta češći u muškaraca nego u žena i incidencija se povećava porastom

dobi (34,35). U 2012. godini prema Svjetskoj Zdravstvenoj Organizaciji postoji otprilike 782 000 novih slučajeva i 746 000 smrti od raka jetre, što rak jetre čini drugi najčešći uzrok smrti od raka (nakon raka pluća) (31). U SAD-u 5-godišnje relativno preživljenje od raka jetre iznosi samo 14% (34). Altekruše i *sur.* objavili su da postoji povećanje grube stope incidencije HCC-a (6% godišnje) između 2000 i 2010 godine (35). U većini slučajeva, HCC se razvija iz cirotične jetre i ciroza je najsnažniji faktor rizika za nastanak HCC-a s incidencijom otprilike 2-4% po godini u cirotičnih pacijenata (36,37).

Incidencija i prevalencija HCC-a je varijabilna u različitim geografskim područjima te ovisi primarno o faktorima rizika koji vladaju u određenom području (36). Procjenjuje se da je najviša incidencija u zemljama u razvoju; više od 80% slučajeva se javlja u Istočnoj i Jugoistočnoj Aziji, Središnjoj i Zapadnoj Africi i Pacifičkim otocima, od toga 50% slučajeva se javlja samo u Kini sa stopom od 20 na 100 000 pojedinaca. Najčešći faktori rizika u ovim zemljama su povezani s HBV-om, HCV-om, konzumacijom alkohola i alfatoksinom B (31,34,35,38). U Zapadnim zemljama faktori rizika su više povezani s MetS-om, nego s ostalim faktorima rizika koji se javljaju u manje razvijenim zemljama (34). Zapadne zemlje imaju manju stopu incidencije HCC-a, iako epidemiološke stope HCC-a i HCC-povezane smrti rastu u zadnja tri do četiri desetljeća (35,38). HCV je najčešći etiološki čimbenik za nastanak HCC-a zaslužan za oko 30-50% slučajeva, slijedi alkoholom uzrokovane bolesti jetri (10-20%) i HBV-om (10-15%). Genetski poremećaji (Wilsonova bolest, manjak  $\alpha$ 1-antitripsina, hereditarna hemokromatoza) čine jako mali postotak bolesti koje su zaslužne za nastanak HCC-a. HCC koji nastaje u pozadini CC čini dodatnih 15%-50% slučajeva HCC-a u SAD-u (39). Kriptogeni HCC je u korelaciji s povećanom životnom dobi, MetS-om i manje agresivnim karakteristikama tumora- svim karakteristikama koje su povezane s NAFLD-povezanim HCC-om (33). Postoje indikacije da će NAFLD postati dominantni uzrok HCC-a u Zapadnim

zemljama; to je djelomično tako zbog povećane prevalencije NAFLD-a koji je povezan s epidemijom pretilosti i T2DM-om te njihovom povezanosti s kancerogenezom, a i činjenice da se smanjuje incidencija HCV-a zbog razvoja visoko efektivnih antiviralnih lijekova druge generacije (14,34).

## **5. NAFLD U POVEZANOSTI S HCC-OM**

Prevalencija NAFLD-povezanog s HCC-om se povećava diljem svijeta. 4-22% HCC-a u Zapadnim zemljama je povezano s NAFLD-om (33). Postojeće studije o HCC-u temelje se na velikim populacijskim studijama, velikim kohortnim studijama i bazi podataka o transplantacijama. Prema prvoj globalnoj, velikih razmjera HCC kohorti (BRIDGE studija) provedenoj od 2005. do 2012. godine u cilju određivanja globalnih obrazaca HCC-a među 18031 pacijenta, NAFLD povezan HCC utvrđen je kao najčešći uzrok (10-12%) u Sjevernoj Americi i Europi, dok je u Kini, Tajvanu, Južnoj Koreji i Japanu utvrđena nešto niža prevalencija (2-6%) (36). Nadalje, velika populacijska studija koju su objavili Younossi i *sur.* (7) govori o prevalenciji, incidenciji i faktorima rizika među 4929 HCC slučajeva. Broj HCC slučajeva je porastao s 670 (2004. godine) na 989 (2009. godine) u periodu praćenja od 6 godina s godišnjim povećanjem od 11%, retrospektivno. Slični trendovi su pronađeni u NAFLD-povezanim HCC-om i HCV-povezanim HCC-om s godišnjim povećanjem 9% i 13%, retrospektivno. Povećanje sugerira da NAFLD postaje važan uzrok HCC-a, te da ukoliko pacijent ima ovu dijagnozu potrebno je razmotriti testove za probir HCC-a. Godišnja incidencija HCC-a u NAFLD pacijenata je 0.44 (raspon od 0,29-0,66) na 1000 osoba-godina, dok kumulativna incidencija HCC-a u NASH-povezanoj cirozi iznosi 2.6% za razliku od HCV-

povezane ciroze kojoj je incidencija 4.0% u medianu praćenja od 3.2 godine (7,14). Hashimoto i *sur.* otkrili su da u medianu praćenja od 40.3. mjeseca 5-godišnja kumulativna incidencija HCC-a iznosi 8% među 118 pacijenata s dokazanom uznapredovalom fibrozom i bez HCC-a u početku istraživanja (40).

Unatoč visokoj prevalenciji, malen broj pacijenata s NAFLD-om razvije NASH s posljedično povećanim rizikom od nastanka jetrene fibroze, ciroze i HCC-a (8). NASH može progredirati u HCC što dokazuje progresivnu prirodu NASH-a (1,12). Postoji epidemiološki dokaz koji povezuje NAFLD i NASH s povećanim rizikom od nastanka HCC-a; rizik je ograničen na one pacijente koji imaju uznapredovalu fibrozu i cirozu (4,39). Prema tome, 2% NAFL-a unutar 8 godina, 13% NASH-a unutar 8 godina i 8% NAFLD-povezanih s uznapredovalom fibrozom/cirozom unutar 5 godina može progredirati u HCC (29,41). S druge strane, zabrinjavajuće je da HCC može nastati i iz ne-cirotične jetre u okvirima NAFLD-a u 35-50% slučajeva (9,42). Paradis i *sur.* objavili su u svojem istraživanju da su pacijenti koji imaju MetS skloni pojavi HCC-a bez signifikantne jetrene fibroze (43). Muški pacijenti razvijaju HCC u manje naprednom stadiju fibroze za razliku od ženskih, te je prevalencija ciroze puno manja u muških (39%), nego u ženskih (70%) pacijenata. Upravo zbog toga potrebno je raditi probir na HCC ne samo u pacijenata s uznapredovalom fibrozom te obratiti posebnu pozornost na muške pacijente (12). Trenutne smjernice ne preporučuju regularni probir na HCC u NAFLD pacijenata koji nemaju jetrenu cirozu ili uznapredovalu fibrozu. Prema nedavno objavljenim istraživanjima, NAFLD pacijenti koji nemaju cirozu mogu razviti HCC; iako, ni jedna studija još nije proučila cost-benefit probira u ovoj populaciji pacijenata. Jedan od primarnih ciljeva u zdravstvenoj zaštiti je povećati svijest o NAFLD/NASH-u i razviti i provoditi korisne programe probira u ovoj populaciji pacijenata (22). Probir bi se trebao provoditi neinvazivnim elastografskim metodama, te klasičnim ultrazvukom. TE je izuzetno točna u identificiranju

pacijenata s NAFLD-om koji imaju visok rizik u nastanku jetreno-povezanih komplikacija (HCC i portalna hipertenzija), te jetreno-povezane smrtnosti i transplantacije. No, točnu primjenu TE u probiru na HCC treba dodatno istražiti u nadolazećim studijama (3,22). S druge strane, ultrazvuk je poželjna metoda u probiru HCC-a zbog široke dostupnosti i neinvazivnosti. Ima 84% senzitivnost i 91% specifičnost u detektiranju HCC-a. Budući da većina HCC-a nastaje iz cirotične jetre koja ima grubu i nodularnu ehostrukturu, detekcija ranog stadija HCC-a ima nisku senzitivnost od samo 47%. Upravo zbog toga probir na HCC bi trebao provoditi iskusan stručnjak s visoko kvalitetnim uređajem. Kada se HCC detektira neinvazivnim metodama, jetrena biopsija potvrđuje dijagnozu i određuje stadij HCC-a (5,19).

Povećan rizik od HCC-a nije povezan samo s NAFLD-om, već sa metaboličkim faktorima koji su povezani s NAFLD-om (pretilost, T2DM, dislipidemija, IR) zbog čega ne čudi činjenica da se prevalencija HCC-a povećava kako se i povećava epidemija pretilosti (1,11,33). Fibroza je najvažnija histološka karakteristika jetrenog bioptata te je signifikantno povezana s ukupnom smrtnosti, smrtnosti povezane s jetrom, jetrenim komplikacijama i jetrenom transplantacijom (13). Povećana incidencija smrtnosti povezane s HCC-om je uočena u pacijenata koji imaju visok NAS bez fibroze i u onih s uznapredovalom fibrozom neovisno o NAS stupnju (10). Isto tako starija životna dob je dodatan faktor rizika u razvoju HCC-a (40).

Indirektni dokaz o povezanosti između NAFLD-a i HCC-a je dokazan u brojnim studijama pokazujući generalno visoku prevalenciju T2DM i pretilosti među pacijentima s NAFLD-povezanim HCC-om, nego u onih s HCC-om bilo kojeg drugog razloga (2.3-8.3 puta veći rizik od T2DM-a i 3.6-5.7 veći rizik od pretilosti u NAFLD/NASH/CC-povezanim HCC-om naspram HCV-povezanim HCC-om) (39). Rizik od HCC-a je dvostruko veći u pacijenata s T2DM-om nego u onih bez ove bolesti, te je ustanovljeno da T2DM povećava HCC rizik prije

razvoja ciroze. HCC smrtnost je značajno povećana u pretilih pacijenata u usporedbi s onima koji imaju normalan ITM (5). Većina pacijenata s NASH-om koji razviju HCC su muškarci koji su pretili, imaju T2DM i hipertenziju (12). Isto tako ovi pacijenti imaju i druge metaboličke komorbiditete poput CVD, te zbog toga nemaju mogućnost adekvatne terapije poput kirurške ili transplantacije jetre, te samim time imaju lošiju prognozu i povećanu 1-godišnju smrtnost (14). Nadalje, ako uspoređujemo pacijente s NASH-povezanim HCC-om i HCV/HBV-povezanim HCC-om, ustanovljeno je da su pacijenti s NASH-povezanim HCC-om stariji u trenutku postavljanja dijagnoze, bijelci su, imaju uznapredovale tumore koji su manje agresivni, imaju 5-mjesečno kraće vrijeme preživljavanja, razine alfa-fetoproteina često nisu povišene te umiru unutar prve godine (62%) i to većina od primarnog karcinoma jetre (84,3%). Ovi pacijenti imaju lošiju prognozu upravo zbog lošeg ili nikakvog probira, ultrazvuk često ne vidi manje tumore zbog pretilosti, te pacijenti bez ciroze mogu dobiti HCC (14). Zaključno, HCC se često ne vidi na rutinskom probiru te je vidljiv manjak efektivnog probira za HCC u pacijenata s NASH-om (14,22,33). Iako, neke studije pokazuju da pacijenti s NASH-povezanim cirozom imaju znatno manji rizik od nastanka HCC-a, nego oni s HCV cirozom (4). Isto tako dokazano je da su pacijenti s CC-om u riziku od nastanka HCC-a i to s prevalencijom od 7%, te da imaju preegzistirajuće metaboličke faktore rizika kao i pacijenti s NASH-om (11).

Iako riziko faktori NASH-a, osobitno pretilost i T2DM, mogu pridonositi razvoju HCC-a, točna patogeneza NASH-povezanog s HCC-om ostaje nerazjašnjena (1). Mogući mehanizmi uključuju hiperinzulinemiju uzrokovanu IR-om, povišene razine inzulinu sličnom faktoru rasta, povećana osjetljivost masne jetre na lipidnu peroksidaciju, produkcija ROS-a, naknadne DNA mutacije, neregulirana energija i hormonski disbalans u pretilosti i aberacije u regenerativni procesima koje se javljaju u cirozi (12). Akumulacija masti u hepatocitima inducira rak-povezano molekularno signaliziranje uključujući NF-kB i JNK te gena koji potiču

nastanak tumora (5). Deregulacija aktivnosti NF- $\kappa$ B ima značajan efekt u razvoju hepatičke steatoze, IR, upale, fibroze i karcinoma (33). Nadalje, upala i NF- $\kappa$ B aktivacija promoviraju kancerogenezu, te kroničnu upalno stanje NAFLD-a koji igraju bitnu ulogu u nastanku HCC-a (8). U okolišu koji promovira nastanak tumora, mitohondrijska disfunkcija i povećana oksidacija FFA u peroksisomima i mikrosomima, dovodi do stvaranja slobodnih kisikovih radikala i lipidne peroksidacije koje oštećuju DNA i posljedično potiču malignost (5). U nedavno objavljenoj studiji genetske ili prehranom uzrokovane pretilosti, u eksperimentalnim modelima razvoj HCC-a potaknut je oslobađanjem TNF- $\alpha$  i IL-6 iz masnog tkiva. Ovi citokini potiču maligni rast tumora induciran od strane dietilnitrozamina u miševima (36). Nemogućnost suzbijanja štetnih procesa, poput oksidativnog stresa, ER stresa, lipotoksičnosti, te apoptotičkih puteva doprinosi nastanku jetrenog oštećenja, progresivne fibroze koja može uzrokovati nastanak ciroze i HCC-a (9). Iako postoje brojni preklinički modeli koji su počeli identificirati mehanizme uključene u NAFLD-povezanu hepatokancerogenezu, dodatna istraživanja su potrebna kako bi poboljšali prevenciju, dijagnostiku i liječenje ove sve veće epidemije (33).

## **6. LIJEČENJE**

### **6.1. Liječenje NAFLD-a**

Liječenje pacijenata s NAFLD-om sastoji se od liječenja bolesti jetre te stanja povezana s metaboličkim komorbiditetima poput pretilosti, dislipidemije, hipertenzije, IR i T2DM-a. Kako pacijenti s NAFLD-om bez NASH-a imaju odličnu prognozu što se tiče jetrenog stajališta, liječenje usmjereno prema jetrenoj bolesti je limitirano na one s NASH-om (4). Glavni cilj liječenja NASH-a je spriječiti i prevenirati progresiju u cirozu i HCC (20). Iako

postoje određene obećavajuće terapijske mogućnosti, nijedna još nije odobrena. Nekoliko različitih pristupa se provodi kako bi se NAFLD liječio i prevenirao (9,23).

Prva linija terapije je promjena životnih navika (23). Brojne studije ukazuju da promjena životnih navika (hipoklorična prehrana, povećanje tjelesne aktivnosti) smanjuju aminotrasferaze i poboljšavaju jetrenu steatozu, nekrozu, upalu, ali ne i fibrozu (4). Gubitak kilograma od 3-10% je povezan s regresijom jetrene steatoze i smanjenjem koncentracija serumskih aminotransferaza. Također, zabilježena su i metabolička poboljšanja u vidu poboljšanja krvnog tlaka, koncentracije glukoze i kolesterola (15,20). Gubljenje tjelesnih kilograma i poboljšanje jetrene histologije je proporcionalno s količinom izgubljenih kilograma. Mediteranska prehrana je povezana s redukcijom masti u jetri i poboljšanjem inzulinske osjetljivosti bez promjena u gubitku kilograma (9).

Druga linija terapije odnosi se na farmakološku terapiju (6). Trenutno odobreni lijekovi koji se već koriste u liječenju T2DM-a također se razmatraju u liječenju NASH-a, budući da ove bolesti dijele slične karakteristike poput pretilosti i IR (20). Metformin nema značajni efekt na jetrenu histologiju i nije preporučen u liječenju jetrene bolesti u ljudi s NASH-om, iako se pokazalo da reducira rizik od HCC-a u pacijentima sa T2DM. Daljnja istraživanja su potrebna zbog neslaganja u literaturi (4,15, 34). Pioglitazon se može koristiti u pacijenata s NASH-om jer je povezan s značajnom redukcijom jetrene steatoze, upale, IR i jetrenih enzima i to u otprilike 40% pacijenata. Iako, treba naglasiti da većina pacijenata koji su sudjelovali u istraživanju nemaju T2DM i da dugogodišnja sigurnost i efektivnost pioglitazona u pacijenata s NASH-om još nije ustanovljena (4,6,9,15). Nadalje, vitamin E suprimira pro-upalne citokine i inducira izlučivanje adiponektina (21). Dokazano je da vitamin E u dnevnoj dozi od 800 IUZ/dan poboljšava jetrenu histologiju u pacijenata s NASH-om, osim u onih s fibrozom. Treba biti preporučen kao prva linija farmakoterapije (4,6).



Probiotici i prebiotici zajednički znani kao sinbiotici, reguliraju jetrenu upalu tako što balansiraju produkciju pro- i anti-upalnih citokina, poboljšavaju jetrenu funkciju i smanjuju sadržaj jetrenih masnih kiselina. Učinkovitost ove terapije treba se potvrditi u randomiziranim studijama (20). Trenutno postoje klinička istraživanja molekula koje ciljaju različite regulatorne putove poput metaboličke homeostaze, upale, oksidativnog stresa i fibroze. Ove molekularne terapije su pokazale učinkovitost u poboljšanju jetrenih funkcija, iako dugogodišnji efekti ostaju nerazjašnjeni, te je potrebno provesti dodatna istraživanja (17,20).

## 6.2. Liječenje HCC-a

HCC ima lošu prognozu i ograničene terapijske mogućnosti (33). Trenutno ne postoje istraživanja koja bi dokazala da bi bilo kakva intervencija uključujući farmakološku prevenciju nastanak HCC-a (5). Potencijalna kurativna terapija HCC-a uključuje operaciju (resekcija ili transplantant), radiofrekventnu ablaciju (RFA) i perkutanu injekciju etanola (PEI); otprilike 30-40% HCC pacijenata koji su dijagnosticirani u ranom stadiju (stadij 0 i stadij A) su pogodni za ove terapije. Za pacijente sa stadijem B preporučena je transarterijska kemoembolizacija. Otprilike 25-70% pacijenata s HCC-om su otkriveni u uznapredovalom stadiju, te su tada terapijske opcije limitirane na kemoterapiju koja pruža minimalni klinički benefit (36). Eksperimentalna istraživanja nalažu kako statini imaju potencijalni efekt u prevenciji nastanka raka (5). El-Serag i *sur.* u svojem istraživanju pokazali su da statini značajno smanjuju rizik od HCC-a u pacijenata s T2DM-om (37). Vjeruje se da statini imaju antikancerogeni učinak, da inhibiraju angiogenezu, sprečavaju apoptozu i inhibiraju metastaziranje. Određena istraživanja nalažu da Aspirin također može djelovati protektivno u jetrenoj kancerogenezi (34).

Kako bi se poboljšao ishod pacijenata s HCC-om potrebno se fokusirati na identifikaciji pacijenata koji su pod visokim rizikom od nastanka ove bolesti (36). Potrebno je napraviti probir na HCC u pacijenata s NAFLD-om kako bi se smanjila loša prognoza koji ovi pacijenti imaju. Isto tako, daljnje istraživanja o kancerogenezi HCC-a su ključna (14). Trenutno, ne postoje dobro definirani faktori rizika i biomarkeri, niti strategije intervencija i liječenja HCC-a u NAFLD-u (5). Preporučuje se probir NAFLD pacijenata s uznapredovalom fibrozom (F3 i F4) na HCC, te isto tako i u pacijenta s cirozom bilo kojeg uzroka (9,14). Nekoliko parametara poput serumske koncentracije albumina i gradijent jetrenog venskog tlaka u cirozi mogu predvidjeti vjerojatni nastanak zatajenja jetre i HCC-a (9).

## **7. RASPRAVA**

Budući da postoje čvrsti dokazi u povezanosti NAFLD-a i metaboličkih stanja, potrebna je promjena nomenklature (kao npr. metabolička masna bolest jetre ili metabolički steatohepatitis) kako bi se odbacila negativna definicija „nealkoholna“ i kako bi se ova stanja stavila u poveznicu s IR-om koja igra veliku ulogu u nastanku NAFLD-a/NASH-a (6).

Niska svijest pacijenata (a i doktora) o progresivnom tijeku NAFLD-a, zajedno s manjkom pouzdanih dijagnostičkih testova i probira, te asimptomatski tijek bolesti objašnjava zašto razvoj progresivnog NASH-a ostaje neprimijećen sve do razvoja ciroze (9). Neinvazivne dijagnostičke strategije bi trebale biti usmjerene u probir velikog broja pacijenata s NASH-om i pridruženim metaboličkim faktorima (6). Upravo bi novije elastografske metode bazirane na ultrazvuku i magnetnoj rezonanci mogle odigrati važnu ulogu u probiru pacijenata s NAFLD-om i onih koji imaju rizik od nastanka HCC-a (3,22).

Napori trebaju biti uloženi u sprečavanju progresije jednostavne steatoze u NASH, fibrozu, cirozu i HCC (11). Prisutnost fibroze identificira pojedince s NAFLD-om koji moraju postići adekvatnu tjelesnu težinu, optimizirati metaboličku kontrolu i trebaju biti uključeni u klinička testiranja u cilju preveniranja fibroze ili reduciranja progresije fibroze (13). Budući da je sve više dokaza o tome da je NAFLD multisistemna bolest, sve više autora predlaže da se u ovih pacijenata rade probiri na CVD,CKD i T2DM koristeći jednostavne metode koje su široko dostupne. Za probir pacijenata s T2DM potrebno je koristiti serumske koncentracije glukoze i odrediti razine HbA1c. Za CKD serumske koncentracije kreatinina i analiza urina. I konačno za CVD potrebna su periodična mjerenja (barem jednom godišnje) arterijskog talaka, lipidnog profila, mjerenje tjelesne težine i određivanje centralne pretilosti (18). Upravo zbog toga je potrebna bolja suradnja između hepatologa i specijalista endokrinologa, nefrologa nutricionista i kardiologa kako bi se poboljšao klinički ishod ovih pacijenata (6).

Također, potrebno je napraviti probire na HCC u pacijenata s NAFLD-om, te otkriti točan patogenetski mehanizam koji predisponira nastanak HCC-a u NAFLD pacijenata (14). Preporučuje se probir NAFLD pacijenata s uznapredovalom fibrozom (F3 i F4) na HCC, te isto tako i u pacijenta s cirozom bilo kojeg uzroka (9,14). Pacijenti koji su na listi čekanja za transplantaciju jetre bi trebali biti testirani na HCC u cilju otkrivanja i liječenja tumora. (32)

## 8. ZAKLJUČCI

U današnjem, sjedilačkom načinu života, sve se više uviđa problematika metaboličkih bolesti, u prvom redu pretilosti i šećerne bolesti. Ova stanja povezana su s brojnim medicinskim problemima, pa tako i s NAFLD-om i rizikom od nastanka HCC-a. Budući da je NAFLD usko povezan sa sastavnicama metaboličkog sindroma, ključ uspjeha u liječenju ovih pacijenata je u primarnoj prevenciji odnosno promjeni životnih navika ljudi (povećanje tjelesne aktivnosti, adekvatna prehrana, prestanak pušenja...) i sekundarnoj prevenciji u vidu liječenja komponenta metaboličkog sindroma. Također, liječnici svih specijalnosti moraju biti svjesni da je NAFLD multisistemna bolest i bolest progresivne prirode koja nosi rizik od nastanka hepatocelularnog karcinoma koji ima lošu prognozu i ishod. Upravo zbog toga nužno je raditi probir pacijenata na NAFLD i to putem uspješnih neinvazivnih elastografskih metoda. Nadalje, ukoliko pacijent ima NAFLD i druge sastavnice metaboličkog sindroma, liječnici bi ga trebali uputiti hepatologu na probir na hepatocelularni karcinom, imajući na umu da može nastati i iz ne-cirotične jetre.

## 9. SAŽETAK

NAFLD je najčešći uzrok kronične bolesti jetre diljem svijeta, te zahvaća otprilike jednu četvrtinu populacije. U NAFLD-u dolazi do prekomjerne akumulacije masti u jetri. Uključuje čitav spektar masne bolesti jetre; u rasponu od jedonstavne steatoze do steatohepatoze pa sve to ciroze jetre i HCC-a. NAFLD se sve više prepoznaje kao jetrena manifestacija metaboličkog sindroma koji je karakteriziran abdominalnom ili centralnom pretilosti i inzulinskom rezistencijom što rezultira nastankom šećerne bolesti tipa 2, dislipidemije i hipertenzije. Koncept teorije višestrukih paralelnih udara („Multiple-parallel hit theory“) obuhvaća više čimbenika koji djeluju zajedno u genetički predisponiranog pojedinca u nastanku NAFLD-a. Takvi „udarci“ uključuju Inzulinsku rezistenciju, lipotoksičnost, disfunkciju masnog tkiva, okolišne faktore poput prehrane, pretilosti te mikrobiote crijeva. Dijagnoza NAFLD-a je heterogena i počiva na različitim alatima za procjenu poput slikovnih metoda, jetrene biopsije te serumskih biomarkera. Povećavanjem epidemije pretilosti, prevalencija i utjecaj NAFLD-a se sve više povećava, što NASH čini potencijalno najčešći uzrokom uznapredovale bolesti jetre u nadolazećim desetljećima. Postoje indikacije da će NAFLD postati dominantni uzrok HCC-a u Zapadnim zemljama, te vodeći uzrok za transplantaciju jetre.

## **10. SUMARRY**

NAFLD is the most common cause of chronic liver disease worldwide and affects around one quarter of population. NAFLD is a condition characterized by excessive fat accumulation. It includes the full spectrum of fatty liver disease; ranging from simple steatosis to steatohepatitis all the way to liver cirrhosis and HCC. NAFLD is increasingly recognized as a hepatic manifestation of metabolic syndrome characterized by abdominal or central obesity and insulin resistance resulting in the development of type 2 diabetes, dyslipidemia and hypertension. The concept of "Multiple-parallel hit theory" encompasses several factors that work together in a genetically predisposed individual that is developing NAFLD. Such "hits" include Insulin resistance, lipotoxicity, adipose tissue dysfunction, environmental factors such as diet, obesity, and intestinal microbiota. The diagnosis of NAFLD is heterogeneous and relies on a variety of assessment tools such as: imaging methods, liver biopsy, and serum biomarkers. As the obesity epidemic increases, the prevalence and impact of NAFLD is increasing simultaneously, making NASH potentially the most common cause of advanced liver disease in the coming decades. There are indications that NAFLD will become the dominant cause of HCC in Western countries and the leading cause for liver transplantation.

## 11. LITERATURA

1. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:274-285.
2. Mikolasevic I, Filipec-Kanizaj T, Mijic M, Jokopcic I, Milic S, Hrstic, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and liver transplantation - Where do we stand? *World J Gastroenterol* 2018;24(14):1491-1506.
3. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive assessment of liver disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2019;156:1264-1281.
4. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt E, 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* 2012;55:2005-2023.
5. Stickel F, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for hepatocellular carcinoma: mechanisms and implications. *Gut* 2010;59(10):1303-1307.
6. 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;53:372-384.
7. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016;64(1):73-84.
8. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism* 2016;65(8):1038-48.

9. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA* 2015;313(22):2263-2273.
10. 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* 2015;61(5):1547–1554.
11. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002;123:134-140.
12. Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Aii S, Imai Y, et al. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:428-433.
13. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2015;149:389-397.
14. Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology* 2015;62(6):1723- 1730.
15. Farrell GC, Wong VW, Chitturi S. NAFLD in Asia--as common and important as in the West. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:307-318.
16. 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). *Dig Dis Sci* 2013;58:3017-3023.
17. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* 2015;62:S47-S64.



18. Mikolasevic I, Milic S, Turk Wensveen T, Grgic I, Jakopcic I, Stimac D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease - A multisystem disease? *World J Gastroenterol* 2016;22(43):9488-9505.
19. Grgurevic I, Podrug K, Mikolasevic I, Kukla M, Madir A, Tsochatzis EA. Natural history of nonalcoholic fatty liver disease: implications for clinical practice and an individualized approach. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2020;2020:9181368.
20. Borrelli A, Bonelli P, Tuccillo FM, Goldfine ID, Evans JL, Buonaguro FM, et al. Role of gut microbiota and oxidative stress in the progression of non-alcoholic fatty liver disease to hepatocarcinoma: Current and innovative therapeutic approaches. *Redox Biology* 2018;15:467-479.
21. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010;52:1836-46.
22. Mikolasevic I, Orlic L, Franjic N, Hauser G, Stimac D, Milic S. Transient elastography (FibroScan®) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease- Where do we stand? *World J of Gastroenterol* 2016;22(32):7236-7251.
23. Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol* 2009;51:433-445.
24. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008;40(12):1461-5.

25. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol* 2009;51(6):1061-7.
26. 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. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;40:1209–1222.
27. Kaswala DH, Lai M, Afdhal NH. Fibrosis assessment in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in 2016. *Dig Dis Sci* 2016;61:1356-1364.
28. Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N, Makhlof H, Younoszai Z, Agrawal R, et al. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver-related mortality. *Hepatology* 2011;53:1874-1882.
29. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45(4):846-854.
30. Zavidic T, Lovrinic D. Tranzijentna elastografija-budućnost dijagnostike oštećenja jetre ili samo pokušaj? *Acta Med Croatica*, 69 (2015) 381-388.
31. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127(12):2893-2917.
32. European Association for The Study Of The Liver, European Organisation for Research And Treatment of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-43.
33. Michelotti GA, Machado MV, Diehl AM. NAFLD, NASH and liver cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 656-65.

34. McGlynn KA, Petrick JL, London WT. Global epidemiology of hepatocellular carcinoma: an emphasis on demographic and regional variability. *Clin Liver Dis* 2015;19:223-38.
35. Altekruse SF, Henley SJ, Cucinelli JE, McGlynn KA. Changing hepatocellular carcinoma incidence and liver cancer mortality rates in the United States. *Am J Gastroenterol* 2014;109:542-553.
36. Park J, Chen M, Colombo M, Roberts LR, Schwartz M, Chen PJ, et al. Global patterns of hepatocellular carcinoma management from diagnosis to death: the BRIDGE Study. *Liver Int* 2015;35(9):2155-66.
37. El-Serag HB, Johnson ML, Hachem C, Morgana RO. Statins are associated with reduced risk of hepatocellular carcinoma in a large cohort of patients with diabetes. *Gastroenterol* 2009;136(5):1601-08.
38. Venook AP, Papandreou C, Furuse J, de Guevara LL. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist* 2010;15(Suppl 4):5-13.
39. White DL, Kanwal F, El-Serag HB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:1342–1359.
40. Hashimoto E, Yatsuji S, Tobari M, Taniai M, Torii N, Tokushige K, et al. Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2009;44[Suppl XIX]:89-95.
41. Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO, Ehman RL. Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology* 2011;259:749-756.

42. Mittal S, El-Serag HB, Sada YH, Kanwal F, Duan Z, Temple S, et al. Hepatocellular carcinoma in the absence of cirrhosis in US veterans is associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14(1):124-31.
43. Paradis V, Zalinski S, Chelbi E, Guedj N, Degos F, Vilgrain V, et al. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology* 2009;49(3):851-9.

## 12. ŽIVOTOPIS

Lana Posavec rođena je 15. travnja 1995. u Čakovcu. Pohađala je Osnovnu školu Nedelišće (2002.-2010. godine). Srednjoškolsko obrazovanje nastavlja u Gimnaziji Josipa Slavenskog Čakovec, smjer opća gimnazija, koju završava 2014. godine. Nakon toga upisuje Medicinski fakultet u Rijeci koji završava u roku. Na petoj godini ostvaruje izvrstan uspjeh, te dobiva Dekanovu nagradu za izvrsnost (2018./2019. godine). Tijekom čitavog školovanja, bavi se rukometom. U počecima u rodnom gradu za klub „ŽRK Zrinski“ iz Čakovca, a nakon toga na fakultetu nastavlja igrati za „ŽRK Senia“ iz Senja. Redovito sudjeluje na sportsko-edukacijskom natjecanju „Humanijada“ na kojem ostvaruje zlatna odličja u rukometnom natjecanju.