

# Koncentracije parametrov testa ELF pri skupini odvisnikov od alkohola

Enhanced liver fibrosis test in a group of patients with alcohol abuse

Ivica Avberšek Lužnik, Branka Svetic, Karmen Janša

## Izvleček

<sup>1</sup> Oddelek za laboratorijsko diagnostiko, Splošna bolnišnica Jesenice, Jesenice, Slovenija

<sup>2</sup> Klinični laboratorij, Zdravstveni dom Medvode, Medvode, Slovenija

<sup>3</sup> Diabetična ambulanta, Splošna bolnišnica Jesenice, Jesenice, Slovenija

### Korespondenca/

#### Correspondence:

Ivica Avberšek Lužnik,  
e: ivica.avbersekluznik@gmail.com

### Ključne besede:

alkoholizem; fibroza jeter; neinvazivni biološki označevalci; poškodbe jeter; test ELF

### Key words:

alcoholism; liver fibrosis; noninvasive biomarkers of liver damage; ELF test

Prispelo: 1. 12. 2018

Sprejeto: 23. 10. 2018

**Izhodišče:** test ELF (angl. enhanced liver fibrosis test) predstavlja kombinacijo direktnih označevalcev fibroze jeter, ki tvorijo algoritem, s katerim je mogoče oceniti prisotnost in blago, zmerno ter težjo stopnjo fibroze jeter. Test vključuje tri biološke označevalce: hialuronsko kislino (HA), amino-terminalni del prokolagena tipa III (PIIINP) in tkivni inhibitor metaloproteinaze-1 TIMP-1). HA in PIIINP sta označevalca nastajanja depozitov matriksa – fibrogeneze, TIMP-1 pa predstavlja razgradnjo matriksa – fibrolizo. Raziskave so pokazale, da lahko naštetih trije označevalci ali test ELF služijo kot uporaben presejalni test pri zgodnjem diagnosticiranju biokemične poškodbe jeter pri avtoimunskih hepatitisih, pri hepatitisu C in drugih okvarah jeter, npr. okvarah zaradi alkoholizma. Namen naše raziskave je bil določiti vrednosti testa ELF pri treh različnih skupinah preiskovancev: kontrolni skupini, pri skupini s potrjeno diagnozo alkoholizma in pri skupini, ki akutno pije alkohol. Rezultate meritev ELF testa smo primerjali z rezultati uveljavljenih biokemičnih označevalcev alkoholizma.

**Metode:** V raziskavo smo vključili 113 preiskovancev, (71 moških, 42 žensk). Povprečna starost preiskovancev je znašala 43 let. Razdelili smo jih v tri skupine: MDPŠ so predstavljali preiskovanci (N = 39), ki so prišli na pregled v ambulanto medicine dela, prometa in športa, AZA je bila skupina 31 preiskovancev z akutnim alkoholnim opojem in DOA skupina 43 preiskovancev, ki so se zdravili zaradi diagnoze odvisnosti od alkohola. V serumskih vzorcih vseh treh skupin preiskovancev smo izmerili povprečni volumen eritrocitov (MCV), katalitične aktivnosti aspartat amino transferaze (AST), alanin amino transferaze (ALT), gama glutamilne transferaze (GGT) in parametre novejšega testa ELF za oceno stopnje z alkoholom povzročene jetrne fibroze. Blaga stopnja jetrne fibroze je pri vrednostih ELF pod 7,7, zmerna pri vrednostih od 7,7 do 9,8 in huda stopnja fibroze pri vrednostih nad 9,8. Za statistično analizo podatkov smo uporabili program SPSS 21.0 za Windowsovo okolje (SPSS, Inc. Chicago, USA).

**Rezultati:** Izmerjene povprečne vrednosti uveljavljenih bioloških označevalcev alkoholizma pri skupinah MDPŠ, AZA in DOA znašajo za MCV : 91,9; 90,9 in 95,3 fL, mediane katalitične aktivnosti za AST pa 0,30; 0,33 in 0,42  $\mu$ kat/L, za ALT 0,41; 0,34 in 0,56  $\mu$ kat/L in za GGT 0,37; 0,34 in 0,92  $\mu$ kat/L. Kruska-Wallisov test je pokazal statistično značilne razlike med skupinami preiskovancev za AST, GGT in MCV ( $p < 0,002$ ), medtem ko se aktivnost ALT ( $p = 0,052$ ) med skupinami razlikuje le na meji statistične značilnosti. V skupini MDPŠ je vrednost mediane testa ELF znašala 7,99 (6,99–10,18), v skupini DOA pa 9,47 (6,98–14,73). V skupini DOA smo dokazali statistično značilno korelacijo med AST, ALT, GGT in testom ELF ( $r = 0,524$ ; 0,306 in 0,632), v skupini MDPŠ pa je bila statistično značilna samo za MCV ( $r = 0,327$ ).

**Zaključek:** Rezultati meritev so pokazali, da so v skupini DOA statistično značilno višje vrednosti uveljavljenih bioloških označevalcev alkoholizma (MCV, AST, ALT in GGT) kot v kontrolni skupini MDPŠ. Mediana testa ELF pri skupini DOA kaže na prisotnost zmerne fibroze jeter, ob tem da območje vrednosti od 6,98 do 14,73 kaže, da so v skupini tudi posamezniki s hudo fibrozo. Iz rezultatov je razvidno, da povišane vrednosti jetrnih encimov AST, ALT in GGT ter korelacije med

njimi kažejo na poškodbo hepatocitov, vrednosti testa ELF pa opredeljujejo stopnjo in obseg fibroze jeter. Za oceno fibroze jeter se uporabljajo različni indeksi, med katerimi ima test ELF po izsledkih tujih raziskovalcev visoko diagnostično uporabnost. ELF ima kot neinvazivni test tudi vse možnosti za uporabo na primarni ravni zdravstvene obravnave bolnikov z alkoholno in nealkoholno okvaro jeter.

### Abstract

**Background:** Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test is a set of indirect markers of liver fibrosis that can be used for the assessment of the severity of liver fibrosis. ELF test includes three biomarkers: hyaluronic acid (a component of the extracellular matrix), TIMP-1 (an inhibitor of matrix metalloproteinases that break down collagen) and PIIINP (a marker of collagen synthesis at the site of disease process). These biomarkers or ELF test can be used in early diagnostic approaches of liver damage caused by viral infections or alcohol abuse. The main aim of our study was measuring ELF values in three groups of individuals: a control group, a group of alcoholics and a group of patients with acute alcohol intoxication. The results of ELF test were compared with established biochemical markers of alcoholism.

**Methods:** In the study 113 individuals (71 males, 42 females) with a mean age of 43 years were included. They were divided into three groups: OSM group consisted of individuals (N = 39) who were seen in the Occupational and Sports Medicine Clinic. The AAI group consisted of 31 individuals with acute alcohol intoxication, and the AD group consisted of 43 individuals who were undergoing treatment for alcohol dependence. We assessed the following parameters in the serum samples of all three groups of subjects: mean corpuscular volume (MCV), activity of aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), gama glutamyl transferase (GGT) and the parameters of novel ELF test for liver fibrosis stage assessment. ELF values are below 7.7 in the early stage of fibrotic process and above 9.8 in severe fibrosis. All statistical tests were conducted by SPSS 21.0 for Windows (SPSS, Inc. Chicago, USA).

**Results:** Mean values of the established biomarkers of alcoholism in OSM, AAI and AD groups for MCV were 91.9; 90.9 in 95.3, medianes of catalitic activity of AST were 0.30; 0.33 in 0.42  $\mu\text{kat/L}$ , for ALT 0.41; 0.34 in 0.56  $\mu\text{kat/L}$  and for GGT 0.37; 0.34 in 0.92  $\mu\text{kat/L}$ . Kruskal – Walliss test showed a statistical significance between groups for AST, GGT in MCV ( $p < 0.002$ ), while ALT ( $p = 0.052$ ) did not differ significantly. In OSM mediane ELF test is 7.99 (6.99–10.18), and in AD group 9.47 (6.98–14.73). In AD group a statistically significant correlation was between AST, ALT, GGT and ELF test ( $r = 0.524$ ; 0.306 in 0.632), in OSM the significance was proved only for MCV ( $r = 0.327$ ).

**Conclusion:** The results of the measurements show a statistically significant increase in the established markers of alcoholism (MCV, AST, ALT and GGT) in the AD group as compared to the OSM group. Median ELF test in the AD group indicates moderate liver fibrosis, however, considering the range of 6.98 to 14.73, some individuals in this group have severe fibrosis. The results show that increased values of AST, ALT and GGT and correlations between them indicate liver damage, while ELF test better predicts developing stage of liver fibrosis. Various scores and indexes are used for liver fibrosis assessment. ELF test is proposed as a very useful diagnostic test and probably has a high potential of applicability in the primary care of patients with alcoholic and nonalcoholic liver damage.

**Citirajte kot/Cite as:** Avberšek Lužnik I, Svetic B, Janša K. [Enhanced liver fibrosis test in a group of patients with alcohol abuse]. *Zdrav Vestn.* 2019;88(5–6):213–24.

**DOI:** 10.6016/ZdravVestn.2690

## 1 Uvod

Kronično uživanje čezmernih količin alkohola ima za posledico okvare jeter, in sicer od steatoze, steatohepatitisa, progresivnih stopenj fibroze, ciroze do hepatocelularnega karcinoma. Večina hudih odvisnikov od alkohola razvije steatozo, manjši delež teh pa steatohepatitis in cirozo jeter. Steatoza običajno ne kaže simptomov in se popravi po nekaj časa trajajoči popolni abstinenci. Dolgotrajno pitje alkohola pa vodi v vnetje jeter, infiltracijo polimorfonuklearnih celic, poškodbo hepatocitov in razvoj alkoholnega steatohepatitisa, 20–40 % bolnikov razvije fibrozo jeter, 10–20 % pa cirozo, ki je povezana s tveganjem za pridružene zaplete, kot so ascites, jetrna encefalopatija, odpoved ledvic, ... (1).

V zgodnji razvojni fazi poteka alkoholna jetrna bolezen (ALD) brez simptomov. Za odkrivanje služijo različne metode slikovne diagnostike (UZ, CT, MRI, FibroTest, Fibrometer, Hepascore, elastografija, ...) in indirektni ter direktni laboratorijski testi (2,3). Z naštetimi metodami lahko ločimo blago stopnjo od močno izražene fibroze jeter, vmesne stopnje pa ne. Enake omejitve so povezane tudi z uporabo laboratorijskih testov. Indirektni testi (gama-glutamilna transferaza, transaminaze, število trombocitov, albumin ...) odsevajo funkcijo jeter in potencialne vnetne procese, ne pa sprememb v matriksu in procesu fibrogeneze. Napovedni biološki označevalci pa izvirajo iz zunajceličnega obrata med fibrogenezo, za katero je značilen porast citokinov (tumorski rastni faktor  $\beta$ ), porast komponent zunajceličnega matriksa (hialuronska kislina), razgradnih deležev v % do produktov (prokolagen NC peptid) in encimov (tkivni inhibitor metaloproteinaze 1). Odlikuje jih visoka stopnja specifičnosti in občutljivosti (4,5). Ocena in odkrivanje fibroze in

ciroze jeter so bili tradicionalno potrjeni z biopsijo jeter, ki je danes kot zlati standard neustrezna metoda zaradi invazivnosti in neponovljivosti rezultatov (6,7). Neinvazivne metode so kljub različnim ocenjevalnim lestvicam in obrazcem bolj sprejemljive, varnejše, dostopnejše in primerne za sledenje razvoja fibroze skozi daljši čas, še vedno pa niso validirane v polnem diagnostičnem obsegu za odkrivanje različnih razvojnih stopenj fibroze in ciroze jeter (2).

Enako kot slikovne metode tudi uporabnost bioloških označevalcev spremljajo omejitve, še posebej na ravni odkrivanja začetnih stopenj razvoja fibroze. Med posameznimi testi se je pri ALD najbolj obneslo določanje hialuronske kisline (8). Liber (9) je v svoji raziskavi ocenil uporabnost komponent zunajceličnega matriksa pri 247 bolnikih z ALD, Rosenberg (10) pa je na 1.021 bolnikih preizkusil test ELF. Test ELF (*angl.* enhanced liver fibrosis) ponuja obetajoče rezultate (10,11,12). Predstavlja kombinacijo neposrednih označevalcev fibroze, ki tvorijo algoritem, s katerim je mogoče oceniti prisotnost in stopnjo fibroze. Test vključuje tri kazalce: hialuronsko kislino (HA), amino-terminalni del prokolagena tipa III (PIIINP) in prokolagena tipa II (PIINP) ter tkivni inhibitor metaloproteinaze-1 (TIMP-1). HA, PIINP in PIIINP so označevalci nastajanja depozitov matriksa – fibrogeneze, TIMP-1 pa odseva razgradnjo matriksa – fibrolizo. Tudi drugi raziskovalci (13,14,15) so dokazali, da je test ELF primeren kot napovedni test razvoja fibroze pri kroničnih jetrnih boleznih in ga potrdili tudi kot uporaben nadomestni test za jetrno biopsijo. Glede na rezultate študij je test ELF uporaben za zgodnje odkrivanje jetrne okvare, ko jetrna biopsija še ni nujno potrebna. Po izsledkih Parkersa in sodelavcev (16) bi

bilo potrebno preučiti njegovo primer-  
nost za ugotavljanje tveganja za razvoj  
kronične jetrne bolezni pri bolnikih, ki  
imajo patološke vrednosti jetrnih testov  
zaradi čezmernega uživanja alkohola.

Ker je tudi v Sloveniji čezmerno  
uživanje alkohola pogosto, se za od-  
krivanje biokemične poškodbe jeter  
uporabljajo laboratorijski testi, ki se iz-  
vajajo tako na primarni kot na sekun-  
darni ravni zdravstvene obravnave. To  
so uveljavljeni označevalci alkoholizma:  
gama-glutamiltransferaza (GGT), as-  
part-aminotransferaza (AST), alanin-  
aminotransferaza (ALT) in povprečni  
volumen eritrocitov (MCV) v vzorcih  
odvzete krvi. Zato je bil namen naše  
raziskave izmeriti vrednosti novejšega  
testa ELF pri treh različnih skupinah  
preiskovancev: pri kontrolni skupini, pri  
skupini s potrjeno diagnozo alkoholiz-  
ma in pri skupini, ki je akutno pila alko-  
hol. Preizkusiti smo želeli laboratorijsko  
merjenje treh bioloških označevalcev fi-  
broze jeter, to je HA, PIIINP in TIMP-1, v  
nadaljevanju pa izvesti primerjavo rezul-  
tatov le-teh z meritvami GGT, AST, ALT  
in MCV. Pri nobeni skupini preiskovan-  
cev zaradi invazivnosti ni bila izvedena  
biopsija jeter, zato diagnostične uporab-  
nosti testa ELF nismo ocenili.

## 2 Materiali in metode

### 2.1 Preiskovanci

V raziskavo smo vključili 113 preisko-  
vancev, (71 moških, 42 žensk), ki so bili  
razdeljeni v tri skupine (MDPŠ, AZA,  
DOA). Povprečna starost vseh preisko-  
vancev je znašala  $43 \pm 13$  let. V kontrolni  
skupini (MDPŠ) je bilo 39 preiskovancev  
(25 moških, 14 žensk, povprečna starost  
 $38 \pm 11$  let). To skupino so sestavljali nak-  
ljučni udeleženci zdravniškega pregleda  
v ambulanti Medicine dela, prometa in  
športa v Zdravstvenem domu Domžale,

ki so privolili v sodelovanje in izpolni-  
li anketni vprašalnik. Izpolnjen anketni  
vprašalnik so oddali v za ta namen prip-  
ravljeno skrinjico, s čimer smo zagotovili  
popolno anonimnost pridobljenih po-  
datkov. Drugo skupino (DOA) je pred-  
stavljalo 43 preiskovancev (33 moških,  
10 žensk, povprečna starost 46 let) z di-  
agnozo odvisnosti od alkohola. Zdravili  
so se v Psihiatrični bolnišnici Begunje.  
V tretjo skupino (AZA) smo uvrstili 31  
preiskovancev (13 moških, 18 žensk, pov-  
prečna starost 52 let), ki so zaradi enkra-  
tnega alkoholnega opoja poiskali pomoč  
v Urgentni ambulanti Splošne bolnišnice  
Jesenice. Pri teh skupini preiskovancev  
so bile izmerjene koncentracije etanola v  
območju od 1,58 do 4,78 g/L (normalne  
vrednosti: 0,00 do 0,50 g/L). Raziskava  
je potekala v letu 2012. Za raziskavo smo  
pridobili dovoljenje Etične komisije v  
Splošni bolnišnici Jesenice dne 6. 4. 2012  
(št. 0305-30/2012/2). Preiskovanci so  
podpisali obrazec za prostovoljno vklju-  
čitev v raziskavo. Vsi vzorci, s katerimi  
smo rokovali, so bili dvojno šifrirani, s  
čimer smo zagotovili tajnost podatkov.

### 2.2 Vzorci

Vsem preiskovancem je bil odvzem  
krvi iz vene opravljen na tešče, med 7.00  
in 10.00 uro. S tem so bili zagotovljeni  
enaki pogoji odvzema vsem, vključenim  
v študijo. Uporabili smo biološki mate-  
rial, ki je ostal po opravljenih rutinskih  
laboratorijskih testih za posameznega  
preiskovanca (MDPŠ), ki jih je odredil  
specialist v ambulanti Medicine dela,  
prometa in športa in lečeči zdravnik za  
preiskovance (DOA) iz Psihiatrične bol-  
nišnice Begunje in preiskovance (AZA)  
iz Splošne bolnišnice Jesenice. Kri za bi-  
okemijske preiskave iz seruma smo po  
20 minutah, ko je potekla koagulacija,  
centrifugirali 10 minut na 1500 x g, pri  
temperaturi 21 °C. Serume za oceno je-

trne fibroze s testom ELF smo do analize hranili pri  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 2.3 Laboratorijske meritve

Izmerili smo koncentracije naslednjih označevalcev odvisnosti od alkohola: povprečni volumen eritrocitov (MCV) v polni krvi in katalitično aktivnost encimov AST, ALT in GGT v serumu. Analize smo opravili na Oddelku za laboratorijsko diagnostiko Splošne bolnišnice Jesenice in v Diagnostičnem laboratoriju Zdravstvenega doma Domžale. MCV smo določali s kombinirano hematološko metodo impedančnega in laserskega zaznavanja velikosti krvnih celic. Katalitične aktivnosti vseh treh encimov (AST, ALT, GGT) smo določili s priporočenimi laboratorijskimi metodami IFCC. Parametri testa ELF (HA, PIIINP in TIMP-1) pa so bili izmerjeni na ADVIA Centaur<sup>®</sup> Siemens avtomatu z *invitro* diagnostičnim multivariantnim testom, ki omogoča enovito oceno prisotnosti oz. napredovanja jetrne fibroze pri bolnikih z znaki kronične jetrne bolezni. Ocena temelji na matematični enačbi (Tabela 1), ki povezuje logaritme izmerjenih serumskih koncentracij HA, PIIINP in TIMP-1. Koncentracija vseh parametrov je izražena v ng/ml, končne vrednosti testa ELF pa so absolutne številke brez enot.

**Tabela 1:** Enačba ocene

$$\text{ELF} = 2,278 + 0,851 \ln(C_{\text{HA}}) + 0,735 \ln(C_{\text{PIIINP}}) + 0,394 \ln(C_{\text{TIMP-1}}).$$

Izračun ELF	Stopnja jetrne fibroze (ELF)	Stopnja jetrne fibroze (Ishak lestvica)
< 7,7	nič do blaga	0–2
> 7,7 – < 9,8	zmerna	3–4
> 9,8	huda	5–6

Interpretacija izračuna stopnje jetrne fibroze s testom ELF je podana v primerjavi z Ishakovo lestvico ocene, ki so jo oblikovali po rezultatih jetrnih biopsij 1.021 bolnikov (starost med 18 in 75 let) s kronično jetrno bolezenjo različnih etiologij (10). Vzorce so razdelili na tri skupine glede na stopnjo jetrne fibroze po Ishakovi lestvici. Brez fibroze do blaga fibroza ustreza stopnji 0–2 po Ishakovi lestvici, zmerna fibroza stopnji 3–4 in huda fibroza stopnji 5–6. Z uporabo deskriptivne statistike za tri skupine bolnikov so določili dve mejni vrednosti – nizko in visoko. Nizka mejna vrednost loči stopnjo jetrne fibroze, ki jo določa Ishakova lestvica med 0–2 od stopnje 3–6 z občutljivostjo 88,6 % in specifičnostjo 34,6 %. Visoka mejna vrednost pa loči stopnje od 0–4 od stopenj 5 in 6 po Ishakovi lestvici s specifičnostjo 89,7 % in občutljivostjo 65,4 %. Natančnost metode ELF po proizvajalcu reagentnega kompleta določa koeficient variacije v seriji za vrednost testa ELF 8,95 in znaša 0,35 %, med serijami pa 0,45 %.

### 2.4 Statistična analiza

Rezultate biokemičnih meritev smo izrazili kot povprečno vrednost s standardnim odklonom (povpr; SD) in kot mediano z območjem (min – max) pri parametrih, katerih porazdelitev ni bila normalna. Za statistično analizo podatkov smo uporabili Kruskal-Wallisov test in Spearmanovo korelacijo. Meja statistične značilnosti (p) je bila pod 0,05. Uporabili smo statistični program SPSS 21.0 za okolje Windows (SPSS, Inc. Chicago, USA).

## 3 Rezultati

Osnovne demografske podatke preiskovancev vseh treh skupin (MDPŠ, AZA in DOA) vsebuje Tabela 2, v Tabeli

3 pa rezultati meritev uveljavljenih testov (MCV, AST, ALT, GGT) za oceno jetrne funkcije. S Kruskal-Wallisovim testom izvedena primerjava izmerjenih koncentracij označevalcev odvisnosti od alkohola med skupinami MDPŠ, AZA in DOA kaže statistično pomembne razlike pri vseh parametrih, razen pri ALT, kjer je katalitična aktivnost na meji statistično pomembne razlike ( $p = 0,052$ ). Mediane za MCV so pri preiskovancih MDPŠ in AZA značilno nižje kot pri preiskovancih DOA ( $p = 0,001$ ), enako tudi mediane katalitičnih aktivnosti za AST in GGT ( $p = 0,002$ ;  $p < 0,001$ ). Katalitične aktivnosti se gibljejo v intervalih, ki so v absolutnem obsegu najdaljši pri preiskovancih DOA (Tabela 3).

Med skupinama MDPŠ in DOA smo primerjali tudi izračunano vrednost za

test ELF, ki po metodah, opisanih v merilih, podaja oceno stopnje jetrne fibroze. Vrednosti testa ELF se med MDPŠ in DOA statistično značilno razlikujeta ( $p < 0,001$ ). V podskupini MDPŠ je vrednost mediane testa ELF 7,99 (6,99–10,18), kar odseva zmerno fibrozo. V skupini DOA pa je mediana 9,47 (6,98–14,73), ki sicer še predstavlja prisotnost zmerne fibroze jetrnega tkiva, se pa približuje mejni vrednosti 9,8 za hudo fibrozo jeter. Območje vrednosti testa ELF pri preiskovancih DOA vključuje vrednosti v razponu od 6,98 do 14,73, kar pomeni, da so med preiskovanci takšni, ki imajo zmerno fibrozo, in tudi tisti z vrednostmi nad 9,8, ki imajo zelo hudo fibrozo, po Ishakovi lestvici stopnji fibroze 5 in 6. Tabela 4 prikazuje vrednosti osnovnih jetrnih testov in parametrov

**Tabela 2:** Osnovne značilnosti preiskovancev.

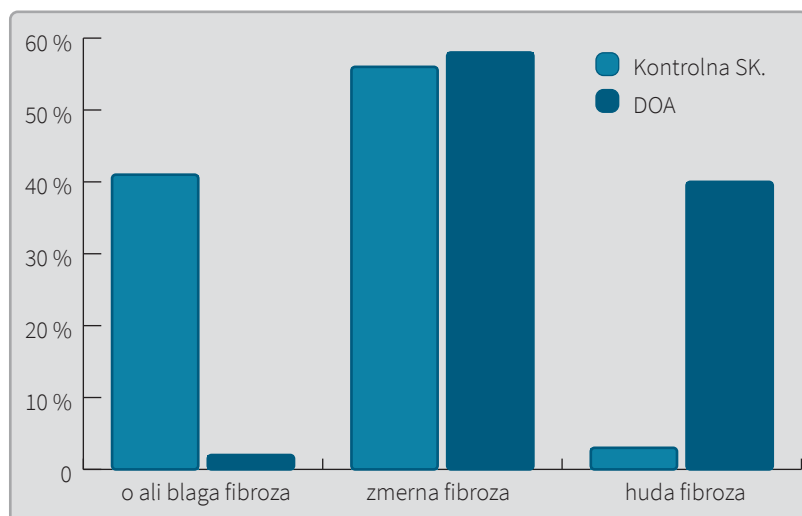
	MDPŠ	AZA	DOA	Vsi
Število (N)	39	31	43	113
Starost (leta)	38 ± 11	52 ± 18	46 ± 11	43 ± 13
Spol (m/ž)	25/14	13/18	33/10	71/42

MDPŠ – skupina, poimenovana Medicina dela, prometa in športa; AZA – skupina, poimenovana Akutna zastrupitev z alkoholom; DOA – skupina, poimenovana Sindrom odvisnosti od alkohola.

**Tabela 3:** Izmerjene vrednosti osnovnih označevalcev alkoholizma.

	MDPŠ	AZA	DOA	P
MCV (fL)	91,9 ± 4,2	90,9 ± 5,7	95,3 ± 7,3	0,001
AST (μkat/L)	0,30 (0,17–0,93)	0,33 (0,20–1,95)	0,42 (0,22–1,50)	0,002
ALT (μkat/L)	0,41 (0,16–2,51)	0,34 (0,17–3,36)	0,56 (0,24–4,22)	0,052
GGT (μkat/L)	0,37 (0,19–4,75)	0,34 (0,10–5,52)	0,92 (0,20–16,16)	0,001

MDPŠ – skupina, poimenovana Medicina dela, prometa in športa; AZA – skupina, poimenovana Akutna zastrupitev z alkoholom; DOA – skupina, poimenovana Sindrom odvisnosti od alkohola.



**Slika 1:** Vrednosti testa ELF v kontrolni skupini MDPŠ in skupini DOA.

Zmerna fibroza, definirana z vrednostmi od 7,7 do 9,8, je v enaki meri prisotna v kontrolni skupini in skupini z diagnozo odvisnosti od alkohola; razmerje med blago fibrozo ali brez fibroze (< 7,7) in hudo fibrozo (> 9,8) je med skupinama obratnosorazmerno.

testa ELF pri preiskovancih MDPŠ in DOA. Posamezne stopnje jetrne fibroze pri obeh skupinah pa so prikazane tudi grafično (Slika 1). Zmerno fibrozo, določeno s testom ELF, predstavljajo vrednosti med 7,7 in 9,8. Tako se mediana v podskupini MDPŠ približuje spodnji mejni vrednosti za zmerno fibrozo, v skupini DOA pa zgornji.

V Tabeli 5 so rezultati korelacije med uveljavljenimi označevalci alkoholizma

(AST, ALT, GGT in MCV) in posameznimi parametri testa ELF (HA, PIIINP in TIMP-1) in ELF izračunom za stopnjo jetrne fibroze. Uporabili smo Spearmanov korelacijski test za neparametrično porazdelitev spremenljivk. V skupini DOA AST značilno korelira s HA, PIIINP in izračunano vrednostjo ELF ( $p < 0,01$ ) ter s TIMP-1 ( $p < 0,05$ ). GGT značilno korelira z vsemi tremi parametri in izračunom ELF ( $p < 0,01$ ). ALT korelira samo s TIMP-1 in izračunano vrednostjo ELF ( $p < 0,05$ ).

Rezultati Spearmanove korelacije za skupino MDPŠ so v Tabeli 6. MCV in AST korelirata statistično značilno samo s HA ( $p < 0,05$ ), ostale korelacije med parametri so neznačilne.

## 4 Razpravljanje

Rezultati naše raziskave so skladno z drugimi raziskavami pokazali, da imajo preiskovanci skupine z diagnozo alkoholizma v primerjavi z zdravimi osebami kontrolne skupine statistično značilno višje vrednosti MCV, AST in GGT, ne pa ALT. Prav tako imajo tudi značilno višje vrednosti posameznih parametrov testa ELF. Po pričakovanju v skupini DOA vsi trije jetrni encimi, AST, ALT in GGT, značilno korelirajo s testom ELF, pri pre-

**Tabela 4:** Biološki označevalci alkoholizma in parametri testa ELF pri skupinah MDPŠ in DOA.

Skupina	MCV (fL)	AST $\mu$ kat/L	ALT $\mu$ kat/L	GGT $\mu$ kat/L	HA ng/mL	PIIINP ng/mL	TIMP-1 ng/mL	ELF
MDPŠ	91 $\pm$ 4,2	0,30 (0,17–0,97)	0,41 (0,16–0,51)	0,37 (0,19–4,57)	11,36 (3,06–86,53)	6,13 (3,06–11,40)	175,9 (117,2–861,7)	7,99 (6,99–10,18)
DOA	95,3 $\pm$ 7,3	0,42 (0,22–1,50)	0,56 (0,24–4,22)	0,92 (0,20–16,16)	54,30 (5,46–3321)	7,92 (4,25–49,00)	244 (149,9–618)	9,47 (6,98–14,73)
p	0,038	0,001	0,052	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

MDPŠ – skupina medicine dela, prometa in športa; DOA – sindrom odvisnosti od alkohola

iskovancih kontrolne skupine pa samo AST.

Zgodnje odkrivanje biokemične poškodbe hepatocitov zaradi čezmernega uživanja alkohola pomembno vpliva na začetek in uspešnost zdravljenja. V zadnjem desetletju je značilno porastla diagnostična uporaba bioloških označevalcev in slikovnih tehnik jetrnega tkiva, ki jih odlikujejo številne prednosti: neinvazivnost, visoka ponovljivost določitve, nizka cena in sorazmerno lahka dostopnost naročanja (16,17). Uveljavljeni laboratorijski testi (AST, ALT, GGT, MCV, albumin, število trombocitov, ...) za alkoholno poškodbo jeter sicer niso specifični, ker odsevajo tudi patološke spremembe zaradi vnetnih procesov, okvare zaradi delovanja toksičnih dejavnikov (zdravila, droge) ter okvare zaradi okužbe z virusi hepatitisov C, B, in A. Kombinacija dveh ali treh biolo-

ških označevalcev izboljša občutljivost, zmanjša pa specifičnost. Kljub temu jih je za presejalno testiranje funkcije jeter smiselno uporabiti pri bolnikih, ki so nagnjeni k tveganemu (akutnemu ali kroničnemu) uživanju alkohola. Ker so jetra glavna tarča toksičnega delovanja etanola, so zvišane aktivnosti GGT in/ali AST prvi klinični znak pretiranega uživanja alkohola (18,19,20).

Naši preiskovanci z diagnozo alkoholizma so imeli značilno višje vrednosti MCV, AST in GGT v primerjavi s preiskovanci kontrolne skupine. Dinievski in sodelavci (21) so pri odvisnikih od alkohola enako izmerili zvišane koncentracije indirektnih bioloških označevalcev (MCV, GGT, AST, ALT in glutamat laktatdehidrogenaza – GLDH). V nadaljevanju pa so rezultate raziskave uspešno nadgradili z izračuni diagnostične uporabnosti različnih kombinacij

**Tabela 5:** Korelacija med biološki označevalci alkoholizma in testom ELF v skupini DOA.

	HA	PIIINP	TIMP-1	ELF
MCV	0,241	0,021	0,126	0,200
AST	0,532**	0,491**	0,351*	0,524**
ALT	0,291	0,292	0,342*	0,306*
GGT	0,620**	0,517**	0,517**	0,632**

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; DOA – skupina, poimenovana Sindrom odvisnosti od alkohola.

**Tabela 6:** Korelacija med biološkimi označevalci alkoholizma in testom ELF v skupini MDPŠ.

	HA	PIIINP	TIMP-1	ELF
MCV	0,327*	-0,044	-0,122	0,311
AST	0,339*	-0,109	0,024	0,248
ALT	0,045	-0,010	0,000	-0,008
GGT	-0,312	0,013	-0,039	-0,277

\*  $p < 0,05$ ; MDPŠ – skupina, poimenovana Medicina dela prometa in športa.



bioloških označevalcev za diagnosticiranje alkoholizma. Dokazali so, da imata največjo diagnostično uporabnost GGT in GLDH (občutljivost 89,47 % in specifičnost 78,84 %). Mi zaradi pomanjkanja podatkov nismo imeli možnosti za analize z ROC in izračunavanje občutljivosti in specifičnosti kombinacij bioloških označevalcev. Podobno so Gough in sodelavci (22) leta 2015 dokazali na skupini zdravih preiskovancev (N = 210) in odvisnikov od alkohola (N = 272), da imajo odvisniki značilno višje vrednosti MCV, AST in GGT, ALT pa je lahko zvišan tudi pri zdravi populaciji, ki ima višji indeks telesne mase. Pri obeh skupinah preiskovancev so določali tudi CDT, ki je po pričakovanju zelo dobro koreliral s količino zaužitega alkohola pri odvisnikih. Mi CDT nismo določali, ker smo v raziskavo vključili parametre testa ELF (HA, PIIINP in TIMP-1). Rosenberg in sodelavci (10) so leta 2004 dokazali, da lahko s testom ELF z 90-odstotno občutljivostjo opredelijo različne stopnje fibroze alkoholnega in nealkoholnega izvora. Zato smo tudi mi pri skupini odvisnikov od alkohola in pri preiskovancih kontrolne skupine določili parametre testa ELF in s pripadajočim algoritmom izračunali stopnje fibroze pri obeh skupinah. Rezultati so pokazali pojavnost zmerne stopnje fibroze tudi pri kontrolni skupini in hudo stopnjo fibroze večinoma pri vseh preiskovancih z diagnozo alkoholizma. Z validacijo testa ELF se nismo ukvarjali, ker smo meritve izvajali po standardiziranem postopku s Siemensovo avtomatizacijo, ki zagotavlja visoko stopnjo ponovljivosti rezultatov. Diagnostično uporabnost testa ELF za oceno razvojne stopnje fibroze jeter nismo preizkušali zaradi nizkih raziskovalnih zmogljivosti.

Upoštevali smo izsledke raziskav, ki so jih za izračun različnih indeksov fibroze pri različnih boleznih jeter izvedle druge

raziskovalne skupine. Za oceno stopnje in obsega fibroze jeter, ki spremlja okužbe z virusi hepatitisov B in C, okvare jeter zaradi čezmernega pitja alkohola in zamaščenost jeter nealkoholnega izvora (NAFLD), Cales in sodelavci (23) priporočajo uporabo indeksov FibroMeters. Ti temeljijo na rezultatih krvnih testov, vrednosti indeksov pa na algoritmih, ki jih podpira ekspertni sistem, zaradi česar imajo visoko diagnostično uporabnost za specifične stopnje in vrste jeterne okvare. Umut Emre Aykut in sodelavci (24) so primerjali rezultate več lestvic: NAFLD lestvico FibroMeter™, NAFLD lestvico Fibrosis (NFSA) in elastografijo za odkrivanje fibroze pri osebah z NAFLD. Ugotovili so, da se diagnostična uporabnost NAFLD in lestvice NFSA ne razlikuje značilno, je pa nižja od diagnostične uporabnosti metode z elastometrijo jeter. V nadaljevanju so Boursier J. (25) ter Castera L. (26) in sodelavci uporabili neinvazivne indekse bioloških označevalcev za oceno fibroze po okužbi s hepatitisom C. Ti raziskovalci menijo, da imajo fibrozni indeksi prav tako kot elastometrija jeter svoje prednosti in pomanjkljivosti, pri nejasni oceni prizadetosti mikroarhitekture jetrnega tkiva pa še vedno priporočajo izvedbo biopsije jeter. Mark CC Cheah in sodelavci (27) so preučevali indekse fibroze pri NAFLD in nealkoholnem steatohepatitisu (NASH). Pojav fibroze pri NAFLD in pri NASH pomeni slabo napoved izida bolezni, zato je potreba po natančni opredelitvi razvojne stopnje fibroze še toliko večja. Med fibrozni indeksi navajajo tudi diagnostično uporabnost testa ELF, ki ima pri stopnji več kot 0,365 za napredovane stopnje fibroze površino pod krivuljo 0,90. Večjo površino pod krivuljo od testa ELF za razvito stopnjo fibroze ima samo Fibrometer, ostale lestvice (BARD, BAAT, FIB-4, APRI, FibroTest, NAFLD-NFS) pa izkazujejo nižje površine pod

krivuljo in s tem tudi manjšo diagnostično uporabnost.

Diagnostično uporabnost testa ELF so drugi raziskovalci proučevali pri bolnikih z zamaščenimi jetri nealkoholnega izvora (NFLD), pri bolnikih z okužbo s hepatitisom C in/ali B (28,29,30). V raziskavi na bolnikih s kroničnim hepatitisom C so primerjali ELF test z že uveljavljenim razmerjem AST/trombociti (*angl.* AST to platelet ratio index, APRI) pri ugotavljanju stopnje kronične jetrne bolezni (10). Vsi bolniki so imeli opravljen histološki pregled jetrne biopsije, ovrednoten po Ishakovi lestvici. Napovedna vrednost za jetrno cirozo je znašala 86 % za APRI, 91 % za test ELF. Pri naših preiskovancih biopsija jeter ni bila opravljena, smo pa ocenili korelacijo med uveljavljenimi označevalci alkoholizma (AST, ALT, GGT in MCV) in posameznimi parametri testa ELF (HA, PIIINP in TIMP-1) ter izračunom ELF za stopnjo jetrne fibroze. Iz rezultatov je razvidno, da povišane oz. mejne vrednosti jetrnih encimov AST in GGT pri odvisnikih od alkohola pomenijo napovedni dejavnik za nastanek jetrne fibroze. Za oceno prisotnosti fibroze lahko uporabimo različne fibrozne indekse in/ali test ELF že v zgodnejši fazi bolezni in kasneje, da bi se pri nadaljevanju zdravljenja izognili jetrni biopsiji, ki predstavlja značilno invazivnejši in dražji poseg za vrednotenje jetrne funkcije. Vloga testa ELF pri ločevanju bolnikov brez jetrne fibroze in bolnikov pri katerih je stopnja jetrne fibroze že napredovala, pa je danes predmet številnih raziskav (14,15). V našem primeru smo potrdili, da zvišane aktivnosti jetrnih encimov tudi v kontrolni skupini preiskovancev predstavljajo tveganje za razvoj jetrne fibroze. Parkes in sodelav-

ci (16) trdijo, da test ELF lahko napove klinični izid bolezni enako dobro kot biopsija ter služi kot uporabno orodje za napoved izida v klinični praksi pri bolnikih s kronično jetrno boleznijo iz različnih vzrokov.

Fibrozni indeks po algoritmu, ki so ga izdelali raziskovalci pod vodstvom Paula Angulo (20), ima opredeljeno spodnjo mejo (-1,455), pri kateri fibroza ni prisotna, in zgornjo mejo (0,676), ki potrjuje prisotnost že razvite fibroze. Slovenska raziskovalca, Joško Osredkar in Monika Nikolić (31), sta pri skupini 136 bolnikov izračunala fibrozni indeks po tem modelu in dokazala, da je imela podskupina bolnikov s holangitisom (N = 17) vrednost tega indeksa -1,46, bolniki z alkoholno cirozo (N = 89) so imeli fibrozni indeks 1,94, bolniki z alkoholnim hepatitisom (N = 6) pa 2,73 in bolniki z neopredeljeno cirozo (N = 21) indeks 0,81. Fibrozni indeks po Angulu je primarno namenjen oceni stopnje fibroze pri zamaščenosti jeter nealkoholnega izvora, zato ga zaradi pomanjkanja podatkov (telesna teža) pri naših preiskovancih, ki so imeli potrjeno diagnozo odvisnosti od alkohola, nismo računali.

Za oceno fibroze jeter se uporabljajo različni indeksi in lestvice, med katerimi ima test ELF po izsledkih tujih raziskovalcev visoko diagnostično uporabnost. Kot neinvazivni test ima tudi vse možnosti, da se uporablja na primarni ravni zdravstvene obravnave oseb z alkoholno in nealkoholno okvaro jeter. Na tem področju so odprte dodatne raziskovalne možnosti za ciljno načrtovane primerjalne študije testa ELF z različnimi fibroznimi indeksi in rezultati elastografije pri okvarah jeter zaradi različnih vzrokov.

## Literatura

1. Mathurin P, Batailler R. Trends in the management and burden of alcoholic liver disease. *J Hepatol.* 2015 Apr;62(1 Suppl):S38–46.
2. Lombardi R, Buzzetti E, Roccarina D, Tsochatzis EA. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol.* 2015 Oct;21(39):11044–52.
3. Karanjia RN, Crossey MM, Cox IJ, Fye HK, Njie R, Goldin RD, et al. Hepatic steatosis and fibrosis: non-invasive assessment. *World J Gastroenterol.* 2016 Dec;22(45):9880–97.
4. Chrostek L, Panasiuk A. Liver fibrosis markers in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul;20(25):8018–23.
5. Grigorescu M. Noninvasive biochemical markers of liver fibrosis. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2006 Jun;15(2):149–59.
6. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003 Dec;38(6):1449–57.
7. Guido M, Ruggie M. Liver biopsy sampling in chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis.* 2004 Feb;24(1):89–97.
8. Parkes J, Guha IN, Harris S, Rosenberg WM, Roderick PJ. Systematic review of the diagnostic performance of serum markers of liver fibrosis in alcoholic liver disease. *Comp Hepatol.* 2012 Dec;11(1):5.
9. Lieber CS, Weiss DG, Paronetto F; Veterans Affairs Cooperative Study 391 Group. Value of fibrosis markers for staging liver fibrosis in patients with precirrhotic alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 2008 Jun;32(6):1031–9.
10. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al.; European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology.* 2004 Dec;127(6):1704–13.
11. Guéchet J, Laudat A, Loria A, Serfaty L, Poupon R, Giboudeau J. Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem.* 1996 Apr;42(4):558–63.
12. Niemelä O, Risteli L, Parkkinen J, Risteli J. Purification and characterization of the N-terminal propeptide of human type III procollagen. *Biochem J.* 1985 Nov;232(1):145–50.
13. Walsh KM, Timms P, Campbell S, MacSween RN, Morris AJ, Morris AJ. Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases -1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as noninvasive markers of liver disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis. *Dig Dis Sci.* 1999 Mar;44(3):624–30.
14. Trépo E, Potthoff A, Pradat P, Bakshi R, Young B, Lagier R, et al. Role of a cirrhosis risk score for the early prediction of fibrosis progression in hepatitis C patients with minimal liver disease. *J Hepatol.* 2011 Jul;55(1):38–44.
15. Guéchet J, Trocmé C, Renversez JC, Sturm N, Zarski JP; ANRS HC EP 23 Fibrostar Study Group. Independent validation of the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score in the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort of patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med.* 2012 Jan;50(4):693–9.
16. Parkes J, Roderick P, Harris S, Day C, Mutimer D, Collier J, et al. Enhanced liver fibrosis test can predict clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *Gut.* 2010 Sep;59(9):1245–51.
17. Stevenson M, Lloyd-Jones M, Morgan MY, Wong R. Non-invasive diagnostic assessment tools for the detection of liver fibrosis in patients with suspected alcohol-related liver disease: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2012;16(4):1–174.
18. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2015 Nov;21(41):11567–83.
19. Sharma S, Khalili K, Nguyen GC. Non-invasive diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014 Dec;20(45):16820–30.
20. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 1999 Dec;30(6):1356–62.
21. Dinevski D, Povalej P, Kravos M. Intelligent data analysis for the diagnosis of alcohol dependence syndrome. *J Intern Med research.* 2011;988 -1000.
22. Gough G, Heathers L, Puckett D, Westerhold C, Ren X, Yu Z, et al. The utility of commonly used laboratory tests to screen for excessive alcohol use in clinical practice. *Alcohol Clin Exp Res.* 2015 Aug;39(8):1493–500.
23. Calès P, Boursier J, Oberti F, Hubert I, Gallois Y, Rousselet MC, et al. FibroMeters: a family of blood tests for liver fibrosis. *Gastroenterol Clin Biol.* 2008 Sep;32(6 Suppl 1):40–51.
24. Aykut UE, Akyuz U, Yesil A, Eren F, Gerin F, Ergelen R, et al. A comparison of FibroMeter™ NAFLD Score, NAFLD fibrosis score, and transient elastography as noninvasive diagnostic tools for hepatic fibrosis in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol.* 2014 Nov;49(11):1343–8.
25. Boursier J, de Ledinghen V, Zarski JP, Rousselet MC, Sturm N, Foucher J, et al. A new combination of blood test and fibroscan for accurate non-invasive diagnosis of liver fibrosis stages in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2011 Jul;106(7):1255–63.

26. Castera L, Vilgrain V, Angulo P. Noninvasive evaluation of NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 Nov;10(11):666–75.; advance online publication. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.175>.
27. Cheah MC, McCullough AJ, Goh GB. Current Modalities of Fibrosis Assessment in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol*. 2017 Sep;5(3):261–71.
28. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):455–60.
29. Gangadharan B, Antrobus R, Dwek RA, Zitzmann N. Novel serum biomarker candidates for liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem*. 2007 Oct;53(10):1792–9.
30. Friedrich-Rust M, Rosenberg W, Parkes J, Herrmann E, Zeuzem S, Sarrazin C. Comparison of ELF, FibroTest and FibroScan for the non-invasive assessment of liver fibrosis. *BMC Gastroenterol*. 2010 Sep;10(1):103.
31. Osredkar J. M.Nikolič. Pomen izračuna fibroznega indeksa pri različnih jetrnih obolenjih. *Gastroenterolog*. 2012;1:22–33.