

Evaluation of multiple-scoring system for non-alcoholic fatty liver patients based on CK18 levels, lipid profile and liver enzymes

Teimouri N¹, Nayeri H^{2*}

1- Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I. R. Iran.

2- Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I. R. Iran.

Received July 7, 2015; Accepted November 11, 2015

Abstract:

Background: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), the most common liver disease is usually associated with conditions such as steatosis, steatohepatitis and cirrhosis. Liver biopsy, which is the reference, gold standard and invasive method for the diagnosis of the disease may have complications. Scoring systems are among the noninvasive diagnostic methods. Numerous noninvasive scoring systems based on routinely measured clinical and laboratory parameters were provided that identifies the steatosis and advanced fibrosis in patients with NAFLD. In this study, several scoring system in patients with NAFLD were evaluated.

Materials and Methods: This case-control study was carried out on sonographically established NAFLD (n=51) patients and healthy individuals (n=30). Anthropometric factors, biochemical tests and CK-18 fragment levels were evaluated. Then the scores for hepatic steatosis index, fatty liver index, aspartate aminotransferase (AST) to platelets ratio index (APRI) were calculated. In addition, the BARD and (non-alcoholic steatohepatitis (NASH) scores were calculated.

Results: In this study, as expected, except for FIB-4, there was no significant difference between the two groups.

Conclusions: Scoring systems examined in this study can help to predict the presence or absence of fibrosis and NAFLD or NASH.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease, Non-alcoholic steatohepatitis, Cytokeratin 18, Scoring system

*** Corresponding Author.**

Email: hnaieri@gmail.com

Tel: 0098 913 102 2278

Fax: 0098 313 742 0134

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2017; Vol. 21, No 1, Pages 57-65

Please cite this article as: Teimouri N, Nayeri H. Evaluation of multiple-scoring system for non-alcoholic fatty liver patients based on CK18 levels, lipid profile and liver enzymes. *Feyz* 2017; 21(1): 57-65.

ارزیابی بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی با چند سیستم نمره‌دهی بر اساس سطح CK18، پروفایل لیپیدی و آنزیم‌های کبدی

*^۱ناهید تیموری ، هاشم نیری

خلاصه:

سابقه و هدف: کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD)، بیماری شایع کبدی همراه با تغییراتی چون استاتاتوز، استاتوھپاتیت و سیروز می‌یاشد. نمونه برداری از کبد، روش مرجع، استاندارد و البته تهاجمی برای تشخیص این بیماری است که ممکن است دارای عوارض باشد. از روش‌های تشخیصی غیرتهاجمی سیستم‌های نمره‌دهی هستند. و چند سیستم نمره‌دهی بر اساس شاخص‌های بالینی و آزمایشگاهی ساده برای شناسایی استاتاتوز و فیروز پیشرفت در بیماران مبتلا به NAFLD ارائه شده است. این پژوهش به بررسی این سیستم‌ها در بیماران کبد چرب غیرالکلی پرداخته است.

مواد و روش‌ها: در مطالعه مورد-شاهدی حاضر ۵۱ بیمار مبتلا به NAFLD اثبات شده با سونوگرافی و ۳۰ فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. پارامترهای تن-سنجه و آزمایشات بیوشیمیایی و سطح قطعه سیتوکراتین-۱۸ (CK-18) اندازه‌گیری شد. برای این افراد شاخص استاتاتوز کبدی، ایندکس آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) (نسبت به پلاکت (APRI))، شاخص کبد چرب، نمره BARD تشکیل شده از ۳ متغیر نسبت ۲۸ AST/ALT ≥ 0.8 , BMI ≥ 28 , و وجود دیابت، نمره پیش‌بینی NASH (Nonalcoholic Steatohepatitis) که ترکیبی از ALT، پلاکت، قطعه (CK-18) (TG) و ۴-FIB است، با استفاده از فرمول محاسبه شد.

نتایج: همان‌گونه که انتظار می‌رفت ۴-FIB ارتباط معنی‌داری بین دو گروه نشان نداد، ولی سایر سیستم‌های نمره‌دهی در دو گروه تفاوت معنی‌داری نشان دادند.

نتیجه‌گیری: سیستم‌های نمره‌دهی مورد بررسی در مطالعه حاضر می‌توانند در پیش‌گویی NAFLD و NASH و وجود یا عدم وجود فیبرز کمک کننده باشند.

واژگان کلیدی: کبد چرب غیرالکلی، استاتوھپاتیت غیرالکلی، سیتوکراتین ۱۸، سیستم‌های نمره‌دهی

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶، صفحات ۵۷-۶۵

مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی یک بیماری مزمن کبدی با طیف وسیع از استاتاتوز ساده و استاتوھپاتیت غیرالکلی (Non-alcoholic Steatohepatitis; NASH) کارسینوما است [۱،۲]. در اکثر موارد بیماری کبد چرب غیرالکلی، یک بیماری خوش‌خیم و غیرپیش‌رونده به صورت استاتاتوز ساده است. البته NASH فرم تهاجمی تر کبد چرب غیرالکلی است که توسط استاتاتوز مشخص، آسیب کبدی، و التهاب لوبولار با یا بدون الگوی فیروز مشخص می‌شود [۱،۲،۳]. میزان فراوانی کبد چرب غیرالکلی بسته به روش مورد استفاده جهت تشخیص در مناطق مختلف جهان متفاوت گزارش شده است.

در قسمت شمال ایران شیوع کبد چرب غیرالکلی و سندروم متابولیک به ترتیب $43/8$ و $29/6$ درصد گزارش شده است [۳]. در جنوب ایران میزان شیوع کشف شده با روش سونوگرافی در مطالعه سوادکوهی و همکاران $32/8$ درصد بوده است [۵]. در یک مطالعه در 2010 میزان استاتوھپاتیت غیرالکلی در سه منطقه جغرافیایی ایران $4/3$ درصد پیش‌بینی شده است [۶]. حدود 30 تا 40 درصد از بیماران NASH مبتلا به سیروز تحت دریافت پیوند کبد قرار می‌گیرند و یا از عوارض مربوط به کبد می‌میرند [۷]. بنابراین، تشخیص بیماران مبتلا به NASH از استاتاتوز ساده برای هدایت درمان و برای تعیین خطرات بالقوه پیشرفت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نمونه‌برداری از کبد، روش مرجع و استاندارد است؛ با این حال، یک روش تهاجمی است و ممکن است دارای عوارض باشد. علاوه بر این، نمونه‌برداری از کبد تنها نمونه یک بخش کوچک از کبد است که ممکن است دارای خطای نمونه‌گیری باشد. با توجه به شیوع بالای کبد چرب غیرالکلی در جمعیت و وجود درصد پایین مبتلایان به NASH، بیوپسی کبد ممکن است برای بسیاری از این بیماران مناسب نباشد. بنابراین، به آزمون‌های غیرتهاجمی قابل اعتماد جهت تشخیص یا حذف فیروز

^۱ کارشناس ارشد زیست شناسی سلوی و مولکولی-بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان

^۲ استادیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان

*^۳ نشانی نویسنده مسئول:

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه بیوشیمی، فلاورجان

تلفن: ۰۳۱ ۳۷۴۲۰ ۱۳۴، دورنويش: ۰۹۱۳۱ ۰۲۲۲۷۸

پست الکترونیک: hnaieri@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۸/۲۰، تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱۶

مناسب غیرتهاجمی برای تشخیص فیروز وسیع و سیروز در بیماران هپاتیت C باشد [۴]. ارزش APRI کمتر یا مساوی ۰/۳ و یا ۰/۵ در فیروز قابل توجه و سیروز است و مقدار بیشتر یا مساوی ۱/۵ نشان دهنده فیروز قابل توجه است. در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی مقدار APRI متناسب با درجه فیروز، تبایل به افزایش نشان می دهد که می تواند برای تشخیص این بیماری مفید باشد [۱۰،۹]. APRI از فرمول شماره ۲ به دست می آید:

(۲) $APRI = \frac{AST (IU/l)}{(upper\ limit\ of\ normal)} / platelet\ count (\times 10^9/l) \times 100$.

-۳- شاخص کبد چرب (Fatty liver index score; FLI) یک پیش‌بینی ساده و دقیق از استاتاتوز کبدی در جمعیت عمومی است. FLI یک الگوریتم براساس BMI، دور کمر، تری گلیسرید و GGT در تشخیص استاتاتوز کبدی است. این الگوریتم به منظور بررسی توسعه شاخص کبد چرب بوده، مقدار آن بین صفر و ۱۰۰ متفاوت است. $FLI < 30$ رد کبد چرب و $FLI \geq 60$ تایید کبد چرب است [۸] و براساس فرمول شماره ۳ [۱۱،۸]. یا فرمول شماره ۴ قابل محاسبه است [۸]:

(۳) $FLI = \left(e^{0.953 \times \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \log_e(ggt) + 0.053 \times \text{waist circumference} - 15.745} \right) / \left(1 + e^{0.953 \times \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \log_e(ggt) + 0.053 \times \text{waist circumference} - 15.745} \right) \times 100$

Fatty liver index score (13)

$$P = \frac{e^{0.953 \times \log_e(\text{triglycerides (mg/dL)}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \log_e(\gamma GT(u/L)) + 0.053 \times \text{waist (cm)} - 15.745}}{1 + e^{0.953 \times \log_e(\text{triglycerides (mg/dL)}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \log_e(\gamma GT (u/L)) + 0.053 \times \text{waist (cm)} - 15.745}}$$

-۴- شاخص استاتاتوز کبدی (Hepatic steatosis index; HSI) از فرمول زیر قابل محاسبه است:

$$P = \frac{e^{0.315 \times \text{BMI} + 2.421 \times \text{ALT-to-AST ratio} + 0.630 \times \text{Diabetes Mellitus (yes = 1/no = 0)}} - 9.960}{1 + e^{0.315 \times \text{BMI} + 2.421 \times \text{ALT-to-AST ratio} + 0.630 \times \text{Diabetes Mellitus (yes = 1/no = 0)}} - 9.960}$$

-۵- نمره BMI ≥ 28 ؛ ALT ≥ 0.8 و وجود دیابت ۱ نمره. محدوده نمره ممکن از ۰ تا ۴ امتیاز متغیر باشد [۳]. نمرات BARD برای ۰ یا ۱ از ارزش پیشگویی منفی بالا (۹۶ درصد) برای فیروز پیشرفتی برخوردار است. حد Cut off برای آن کمتر از ۲ در نظر گرفته شده است [۴].

-۶- شاخص FIB-4 با استفاده از فرمول شماره ۶ محاسبه می شود:

$$(۶) FIB-4 = \frac{\text{Age [yr]} \times \text{AST [U/L]}}{((\text{PLT} [10^9/\text{L}] \times (\text{ALT} [\text{U/L}])^{1/2})}$$

مبانی نظری برای این شاخص قبل توصیف شده است و پایه بند به

پیشرفتی در راستای کاهش نیاز به بیوپسی کبد نیاز می باشد [۴]. از روش های تشخیصی غیرتهاجمی سیستم های نمره دهی هستند. نمرات غیرتهاجمی برای پیش‌بینی دقیق استاتاتوز کبدی از سوی پزشکان مورد درخواست هستند [۸]. چند سیستم نمره دهی براساس شاخص های بالینی و آزمایشگاهی ساده برای شناسایی استاتاتوز و فیروز پیشرفتی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی (-Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) و سایر بیماری های کبدی ارائه شده است که نیاز به اعتبارسنجی خارجی دارد [۴]. در این پژوهش به بررسی چند سیستم نمره دهی پرداخته شده است: ۱- یکی از جدیدترین نمرات پیش‌بینی که ترکیبی از ALT، پلاکت، سیتوکراتین-۱۸ (CK-18) و تری گلیسرید (TG) است، برای پیش‌بینی NASH از طریق رگرسیون لجستیک در بیماران NAFLD ابداع شده و از طریق فرمول شماره ۱ قابل محاسبه است [۱]. نمره پیشگوئی جدید این سیستم $0/364$ بوده، حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگوئی مثبت و ظارتی شناسایی منفی آن به ترتیب $۸۹/۸۶$ و $۸۹/۸۶$ درصد است [۱]:

$$(۱) -12.764 + 0.075 \times ALT (IU/L) + 0.013 \times platelets (\times 10^9/L) + 0.012 \times CK-18 fragment levels (U/L) + 0.006 \times TG (mg/dL).$$

۲- یکی دیگر از آنها ایندکس آسپارتات آمینوتранسفراز (AST) نسبت به پلاکت (Aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index; APRI) است. APRI می تواند یک جایگزین

مقادیر HSI کمتر از $30/۰$ و یا کمتر از $36/۰$ ، رد کبد چرب غیرالکلی با حساسیت $۹۳/۱$ درصد و یا تشخیص کبد چرب غیرالکلی با ویژگی $۹۲/۴$ درصد است [۱۲]. روش دیگر محاسبه شاخص استاتاتوز کبدی (فرمول شماره ۵) توسط Lee و همکاران در 2010 ارایه شده است [۱۳].

(۵) $HSI = 8 \times (\text{ALT/AST ratio}) + \text{BMI} (+2, \text{if female} + 2, \text{if diabetes mellitus})$.

-۷- نمره BARD از ۳ متغیر تشکیل شده است: نسبت AST/-

و به طور نادر با خطر مرگ و میر همراه است [۱۸]. آزمایشات FBS، Chol، TG، HDL، LDL، AST، ALT، ALK، GGT، α -Amylase، Alb با کیت‌های شرکت پارس آزمون در همان روز با دستگاه Biotechnica مدل BT3500 ساخت کشور ایتالیا در یک آزمایشگاه انجام شد. در ابتدا غربالگری از نظر Ag HBS-Ag و HCV antibody انجام شد و سرم بیماران پس از سانتریفوژ جهت بررسی CK-18 در ۳۲-۳۲ درجه نگهداری شد. گروه شاهد نیز از میان افراد همسان‌سازی شده از نظر سن و جنس با گروه آزمون انتخاب شدند. شرط ورود این افراد به پژوهش، تشخیص کبد سالم توسط سونوگرافی و سطح طبیعی آنزیم‌های کبدی بود. سیتوکراتین ۱۸ فراگمن-۳۰ با استفاده از روش الیزا، و کیت PEVIVA M30-apoptosense ELISA kit شرکت از کشور سوئد اندازه‌گیری شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ انجام گرفت. تمام متغیرهای کمی به صورت میانگین و خطای استاندارد و متغیرهای کیفی به صورت تعداد و درصد بیان گردیدند. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی از آزمون‌های t و ANOVA استفاده گردید و برای انجام آزمون تعقیبی از Tukey استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معنی‌دار آماری به صورت $P < 0.05$ تعریف گردید.

نتایج

این مطالعه ۵۱ نفر از افراد بزرگسال با میانگین سنی 37.5 ± 10.2 سال مبتلا به NAFLD که ۸ نفر آنها (درصد ۱۵/۷) زن بودند، و ۳۰ نفر از افراد سالم با میانگین سنی 36.5 ± 11.2 سال که ۶ نفر آنها (درصد ۲۰/۰) زن بودند را شامل می‌شد. آزمون مجذور کای نشان داد که توزیع فراوانی جنس بین دو گروه اختلاف معنی‌دار ندارد ($P = 0.62$). تماهی توده بدن (BMI) در افراد مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به طور معنی‌داری ($P = 0.002$) پیشتر از افراد سالم بود (جدول شماره ۱). آنالیز رگرسیون لجستیک نشان داد از میان فاکتورهای تن‌سنجدی بهترین معیار پیشگوئی کننده کبد چرب، دور کمر می‌باشد که نمودی از چاقی شکمی است ($OR: 1.71$; $95\% CL: 1.23-3.74$). میانگین گلوکز خون ناشتا به طور معنی‌داری بالاتر از افراد سالم بود ($P = 0.01$)، ولی در هر دو گروه در محدوده طبیعی بود. میانگین تری‌گلیسیرید ($P = 0.04$) و نسبت HDL/LDL ($P = 0.03$) در گروه کبد چرب به طور معنی‌داری بالاتر از افراد سالم بود. میانگین HDL در گروه کبد چرب به طور معنی‌داری ($P = 0.04$) پایین‌تر از افراد سالم بود. میانگین کلسترول نیز در گروه کبد چرب غیرالکلی

سه مقطع زیر است: ۱) سن مربوط به طول مدت بیماری است و با فیبرоз شدید همراه است؛ ۲) افزایش در AST بیشتر از ALT است، کلیرانس AST نسبت به ALT با تأخیر بیشتری انجام می‌شود و هرچه فیبروز پیشرفت‌تر باشد آسیب به میتوکندری بیشتر است؛ و ۳) ترومبوسیتوپنی که به دلایل زیر اتفاق می‌افتد: (الف) با پیشرفت فیبروز و بدتر شدن فشارخون پورتال پلاکت‌ها در طحال بزرگ از بین می‌روند؛ و (ب) کاهش تولید Thrombopoietin به صورت ZFIB-4 کمتر از ۱/۴۵ عدم وجود سیروز؛ اعداد بین ۱/۴۵ تا ۳/۲۵ نامعین؛ و اعداد بالاتر از ۳/۲۵ نشان‌دهنده سیروز می‌باشد [۱۴]. هدف از این مطالعه مقایسه عملکرد تشخیصی تعدادی از تست‌های غیرتھاجمی ساده در شناسایی کبد چرب غیرالکلی در گروهی از افراد اثبات شده با سونوگرافی است.

مواد و روش‌ها

برای انجام مطالعه مورد-شاهدی حاضر از میان افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید صدوqi اصفهان در بازه زمانی بهمن ۱۳۹۲ تا آبان ۱۳۹۳، افراد میانسال زن و مرد دارای اضافه وزن که ظاهر بارزی از بیماری کبدی، سابقه‌ای از هپاتیت B و C، مصرف استروئید، الكل، دیابت، حاملگی، هیپوتیروئیدی، نارسائی کلیوی، فشارخون، بیماری‌های قلبی-عروقی و مصرف دخانیات نداشتند و قبل از درمان برای کبد چرب قرار نگرفته بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. جهت رعایت موازین اخلاقی افراد در جریان چگونگی انجام کار و دلایل آن به صورت شفاهی قرار گرفتند و در صورت داشتن رضایت کامل برای هر فرد پرسشنامه عمومی و پزشکی شامل سابقه بیماری، مصرف دارو و غیره تکمیل شد. سپس، جهت انجام سونوگرافی کبد و مجاری صفراوی معرفی شدند. از ۵۱ بیمار زن و مرد که سونوگرافی آنها وجود کبد چرب را تایید نمود، نمونه خون با رعایت ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتابی جهت انجام تست‌های بیوشیمی و شمارش پلاکت گرفته شد. داده‌های تن‌سنجدی مانند قد، وزن، اندازه دور کمر، دور مچ، دور باسن اندازه‌گیری شد. BMI با استفاده از فرمول (تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجلد قدر به مترمربع) و نسبت دور کمر به باسن (WHR) به دست آمد. در مطالعه حاضر برای تشخیص کبد چرب از روش سونوگرافی استفاده شد؛ زیرا اگرچه بیوسپی کبد استاندارد مرجع برای مرحله‌بندی بیماری و استاندارد طلایی برای تشخیص بافت-شناختی کبد در بیماران مبتلا به NAFLD است، دارای محدوده‌یت‌های نیز هست؛ از جمله اینکه گران و تھاجمی است، دارای خطاهای مربوط به نمونه‌برداری بوده و انجام آن با برخی عوارض

معنی داری بیشتر از افراد سالم بود، اما میانگین آلبومین ($P=0.81$), آلکالن فسفاتاز ($P=0.16$) و آمیلاز ($P=0.07$) بین دو گروه اختلاف معنی داری نداشت. میزان سیتوکراتین ۱۸ به عنوان مارکر آپوپتوز در بیماران کبد چرب، به طور معنی داری بالاتر از افراد سالم بود ($P=0.005$) (جدول شماره ۲).

بالاتر از افراد سالم بود ولی این اختلاف معنی دار نبود ($P=0.29$). میانگین LDL هم تفاوت معنی داری در دو گروه نداشت ($P=0.41$). میانگین آسپارتات آمینو ترانسفراز ($P=0.04$), آلانین آمینو ترانسفراز ($P=0.002$), AST/ALT ($P=0.001$), گاما گلو تامین ترانسفراز ($P<0.001$) در مبتلایان به کبد چرب به طور

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین سن، جنس و متغیرهای تن سنجی در دو گروه مطالعه

<i>P</i>	شاهد	NAFLD	متغیر
.062	۶/۲۴	۸/۴۳	جنس (مرد/زن)
.068	۳۶/۵±۱۱/۲	۳۷/۵±۱۰/۲	سن (سال)
*0.002	۷۷/۹±۱۲/۳	۸۵/۹±۱۰/۳	وزن (kg)
*0.002	۲۶/۳۶±۳/۱	۲۸/۵۳±۲/۸۱	(kg/m ²) BMI
.033	۱۷۱/۷±۸/۸	۱۷۳/۶±۸/۲	طول قد (سانتی متر)
*<0.001	۹۵/۲±۷/۴	۱۰۱/۵±۶/۸	دور کمر (سانتی متر)
*0.004	۱۰۵/۴±۶/۳	۱۰۹/۲±۵/۲	دور باسن (سانتی متر)
*0.004	۱/۱۱±۰/۰۷۹	۱/۰۷±۰/۰۵۷	دور کمر به باسن (WHR)

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین قند و پروفایل لیپیدی و آنزیم های کبد در دو گروه مطالعه

<i>P</i>	شاهد	NAFLD	متغیر
*0.01	۸۶/۴±۱۰/۳	۹۲/۵±۹/۹	FBS (mg/dL)
.029	۱۸۲/۹±۲۵/۹	۱۸۶/۹±۳۱/۷	Total cholesterol (mg/dL)
*0.04	۱۳۰/۲±۲۲/۰	۱۵۷/۷±۵۰/۵	Triglyceride (mg/dL)
.041	۱۱۲/۰±۲۲/۰	۱۱۰/۳±۲۲/۷	LDL (mg/dL)
*0.04	۵۱/۵±۲۵/۵	۴۲/۹±۱۱/۷	HDL (mg/dL)
*0.03	۰/۵۴±۰/۱۰۷	۰/۳۹۱±۰/۷۷	HDL/LDL
*0.04	۲۵/۳±۱۵/۹	۳۱/۴±۱۵/۵	AST (IU/L)
*0.002	۲۷/۹±۱۲/۱	۵۲/۴±۴۱/۹	ALT (IU/L)
*<0.001	۲۱/۱±۱۱/۹	۴۳/۳±۲۰/۸	GGT (IU/L)
.007	۷۷/۴±۲۶/۷	۶۲/۷±۲۰/۷	Amylase (IU/L)
.016	۲۰۵/۵±۱۱۷/۵	۲۴۵/۳±۲۰/۲/۴	ALK (IU/L)
.081	۴/۷۳±۰/۲۸	۴/۷۲±۰/۳۳	Albumin (mg/dL)
*<0.001	۰/۸۸±۰/۴۸	۰/۶۸±۰/۲۹	AST/ALT
*0.005	۱۴۷/۳±۳۳/۶	۲۴۳/۵±۱۴۰/۴	Ck18 (U/L)

جدول شماره ۳- نتایج نمرات موجود برای پیش بینی تشخیص کبد چرب غیر الکلی

<i>P3</i>	<i>P2</i>	<i>P1</i>	C گروه میانگین (انحراف معیار)	B گروه میانگین (انحراف معیار)	A گروه میانگین (انحراف معیار)	متغیر
*0.03	*<0.001	.018	(۳/۸۷)۴۲/۸۹	(۴/۱۸)۶۰/۶	(۱/۱۳)۶۸/۳	FLI (fatty liver index)
*0.037	*<0.001	*0.180	(۴/۰۷)۷۲/۸۲	(۳/۶۸)۸۱/۱۷	(۱/۲۸)۹۳/۲۷	HIS (Hepatic steatosis index)
*<0.001	*<0.100	*0.080	(۰/۲۳)-۵/۲	(۰/۳۰)-۵/۰	(۰/۸۲)۰/۴۲	AST×PLT×CK18
.030	.073	.018	(۰/۰۷)۰/۷۳	(۰/۰۳)۰/۶۲	(۰/۰۷)۰/۷۶	FIB4
.0365	*0.04	*0.01	(۰/۰۲)-۰/۳۱	(۰/۰۲)-۰/۲۶	(۰/۰۴)-۰/۴۷	PARI

P1 (گروه سونو مثبت و آنزیم بالا با گروه فقط سونو مثبت)، P2 (گروه سونو مثبت و آنزیم بالا با گروه نرمال)، P3 (گروه سونو مثبت با گروه نرمال)

به عنوان روشی غیرتهاجمی تشخیص فیبروز بهتر از سایر روش‌ها بوده است [۱۵]. در یک پژوهش منتشر شده در سال ۲۰۱۲ در کودکان مبتلا به NAFLD تایید شده با بیوپسی، FIB-4 بالاترین دقت تشخیصی را در میان سایر نمرات غیرتهاجمی فیبروز کبدی در افتراق فیبروز قابل توجه (مرحله ۲ یا بیشتر) از فیبروز خفیف نشان داد [۱۶]. ارزیابی FIB-4 در بیماران کبد چرب در ژاپن سطح زیر منحنی ۰/۸۷ را نشان داد [۱۷]. FIB در بیماران با HCV و شروع درمان با داروهای ضد ویروسی بررسی شده و به عنوان یک نشانگر غیرتهاجمی مورد استفاده برای تشخیص وجود فیبروز کبد در مبتلایان به HCV معتبر است [۱۴، ۱۸]. در مطالعه Shokla و همکاران یک نمره با استفاده از نشانگر ساده از جمله A1، آبوجات، GGT و پلاکت بررسی شد و نشان داد که با عدم وجود فیبروز کبد در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی در ارتباط است [۱۹]. HSI ابزاری ساده و کارآمد برای غربالگری NAFLD است و این امکان را فراهم می‌سازد که افراد نیازمند به اصلاح شیوه زندگی و کاندید برای اولتراسونوگرافی با آن مشخص شوند. در مطالعه Lee و همکاران سطح زیر منحنی آن ۰/۸۱۲ بوده است [۱۳]. FLI توسط Bedogni و همکاران به عنوان یک تست ساده و دقیق در پیش‌بینی استاتاتوز کبدی در جمعیت عمومی معروفی شد و بر اساس یک الگوریتم پیچیده با استفاده از تست‌های ساده و با دقت ۸۴ درصد می‌تواند کبد چرب را پیش‌گویی نماید [۲۰، ۱۱]. در مطالعه McPherson و همکاران APRI، APRI، BARD، FIB-4 و ALT/AST در بیماران کبد چرب غیرالکلی مورد بررسی قرار گرفت و سطح زیر منحنی برای BARD برابر ۰/۷۷ و برای APRI برابر ۰/۶۷ بودست آمد. همچنین، مطالعه ایشان نشان داد که نسبت FIB-4 و ALT/AST نمرات قابل اعتمادی برای فیبروز هستند [۴]. NAFLD یک اپیدمی مهم و چالش برانگیز است. روش‌های غیرتهاجمی دقیق جدید که قابل اعتماد و برآhardtی در دسترس باشد تا حد زیادی بمنظور تعیین نیاز استراتژی درمان، پاسخ به درمان و پیش‌آگهی مورد نیاز است. روش‌های تشخیص متعددی برای تشخیص FLD وجود دارند که برخی از آن‌ها عبارت‌اند از: تاریخچه بیماری، تجزیه و تحلیل بیوشیمی، تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی (بیوپسی کبد) و روش‌های Transient تصویربرداری مثل سونوگرافی، الاستوگرافی گذرا (Elastography; TE) و مارکر آرایی (Elastography; TE) با توجه به مراجعه تعداد زیادی از بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی که برای ارزیابی به درمانگاه مراجعه می‌نمایند، استفاده از آزمایشات غیرتهاجمی می‌تواند باعث کاهش قابل ملاحظه انجمام بیوپسی و

همان‌طور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است، بیماران به سه گروه تقسیم شدنند: گروه اول: سونوگرافی آنها وجود کبد چرب را نشان داده و همچنین سطح آنژیم ALT کبدی و یا سطح AST و ALT هردو بالا هستند (گروه A); گروه دوم: سونوگرافی آنها کبد چرب را نشان داده، ولی سطوح آنژیمی آنها طبیعی بود (گروه B); و گروه شاهد: سونوگرافی و سطوح آنژیمی آنها هردو طبیعی بود (گروه C). در این سه گروه نمرات APRI پیش‌گویی به تفکیک محاسبه شد. نمره پیش‌گویی جدید و در این مطالعه تفاوت معنی‌دار بین سه گروه نشان داد. همان‌طور که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌کنیم و قابل انتظار است هردو گروه اول و دوم میزان FLI بیشتر از ۶۰ است و در گروه شاهد به طور معنی‌دار کمتر است. در این مطالعه HSI از فرمول دوم محاسبه شد و تفاوت معنی‌دار در مقادیر HSI بین سه گروه مشاهده شد. نمره BARD اکثر افراد مورد مطالعه ۱ بود، زیرا هیچ‌کدام مبتلا به دیابت نبودند و میانگین نسبت AST/ALT آنها کمتر از ۰/۸ بود. همچنین، در این مطالعه میانگین نمرات فیبروز ۰/۷۶ بود (عدم وجود فیبروز) و تفاوت معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد (جدول شماره ۳).

بحث

پژوهش حاضر به ارزیابی چند سیستم نمره‌دهی شامل نمره پیش‌گویی جدید (AST \times PLT \times CK18)، APRI، شاخص کبد چرب، شاخص استاتاتوز کبدی، BARD و FIB4 پرداخته و نشان داد که این سیستم‌ها می‌توانند در تشخیص کبد چرب غیرالکلی به عنوان یک روش غیرتهاجمی سودمند باشند. مطالعات متعددی با پانل‌های مختلف غیرتهاجمی برای پیش‌بینی و یا تشخیص NASH انجام شده است. در مطالعه Coa و همکاران (۲۰۱۳) یک سیستم نمره‌دهی جدید که شامل ALT، پلاکت، قطعات CK-18 و TG بود برای تشخیص NASH در بیماران کبد چرب غیرالکلی به کار گرفته شد و دقت تشخیص این مدل بهتر از استفاده از قطعات CK-18، TG، ALT، پلاکت یا TG به‌نهایی بود. سطح تشخیص سیستم ۰/۳۶۱ درصد و ویژگی آن ۸۶ درصد بود. بنابراین، این مدل می‌توانست به عنوان یک آزمون غیرتهاجمی نوظهور جایگزینی برای بیوپسی کبد در تشخیص NASH درنظر گرفته شود [۱]. این پانل در مطالعه حاضر در هر سه گروه از بیماران متفاوت معنی‌داری را نشان داد. FIB-4 عبارت است از ۴ نمره شامل سن، میزان AST، میزان NAFLD و شمارش پلاکت‌ها که در بزرگسالان مبتلا به ALT

ته و چربی داخل شکمی، نشان‌دهنده پتانسیل خطر بیشتر ابتلا به کبد چرب غیرالکلی در نوجوانان چاق است، زیرا مشاهده شده است که تری گلیسیرید بالا و چربی تنه در نوجوانان چاق مبتلا به کبد چرب غیرالکلی دو برابر بیشتر از همتایان سالم آنهاست [۲۹]. یافته‌های این مطالعات نشان می‌دهد که سیتوکراتین ۱۸–۱۸ فراگمنت M30 در بیماران با اضافه وزن و نه چاقی مفرط و درجات پایین کبد چرب (گرید I) می‌تواند ابزار مناسبی برای غربالگری افراد NAFLD باشد. هم‌چنین، بیان شده است که بین CK-18 با AST، ALT، GGT، ALK و آمیلاز و AST/ALT رابطه معکوس وجود دارد [۳۰]. نتایج نشان می‌دهد که بیماران دارای NASH سطوح بالاتری از قطعه CK-18 دارند که با شدت استناتوز، بالونی، التهاب لوپولار و مرحله فیروز در بیماران کبد چرب غیرالکلی همبستگی نشان می‌دهد. هم‌چنین، قطعه CK-18 سرم می‌تواند به عنوان یک نشان‌گر برای پیش‌بینی شدت کبد چرب غیرالکلی عمل نماید، ولی مطالعه Coa و همکاران نشان داد که نشان‌گر آپوپتوز بهنهایی نمی‌تواند به اندازه کافی جهت پیش‌بینی NASH دقیق باشد، زیرا آپوپتوز تنها یکی از مکانیسم‌های پیچیده NASH است [۱]. Feldstein و همکاران از اندازه‌گیری سطح قطعه CK-18 در خون، به عنوان یک مارکر آپوپتوز سلول‌های کبدی و یک تست قابل اعتماد برای تشخیص NASH در کودکان مشکوک به NAFLD استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که سطح سیتوکراتین ۱۸–۱۸ پلاسما به مقدار فراوانی در کودکان مبتلا به NASH در مقایسه با استناتوز کبدی بالاتر است، CK-18 دارای دقت بسیار عالی برای تشخیص NASH در بیوبسی بوده، و سطح CK-18 با ویژگی‌های اصلی بافت‌شناسی از NASH و مرحله فیروز مرتبه می‌باشد [۲۳]. چند گروه تحقیقاتی دقت و صحت قطعات CK-18 برای پیش‌بینی حضور NASH در افراد بزرگسال را مورد بررسی قرار داده و نتیجه گرفته‌اند که سطح CK-18 به عنوان تنها آزمون غیرتهاجمی و امیدوار‌کننده‌ترین تست برای تشخیص NASH بزرگسالان و برای تشخیص و مدیریت کبد چرب غیرالکلی است [۳۱، ۵۱، ۵۲]. محدودیت ما در این مطالعه عدم استفاده از بیوبسی کبد به عنوان روش استاندارد و در نتیجه عدم توانایی تشخیص بین NAFLD و NASH بود. و تشخیص NAFLD توسط سونوگرافی داده شد. محدودیت دیگر بررسی تعداد کم بیماران به‌علت هزینه‌ها بود.

نتیجه گیری

سیستم‌های نمره‌دهی مورد بررسی در مطالعه حاضر

صرفه جویی در هزینه‌ها شود. بنابراین، به نظر می‌رسد بیوبسی کبد برای تمام بیمارانی که نمره آزمایشات غیرتهاجمی آنها بالاتر از حد Cut off بوده و نیز برای افرادی که در آنها تشخیص قطعی وجود ندارد و یا مشکوک به یک بیماری دیگر همراه استند، مناسب است [۲۲]. مطالعات اخیر نشان داده که بیماران مبتلا به استناتوز ساده ممکن است به NASH پیشرفت نمایند [۱]. مطالعات طولی بلندمدت نشان می‌دهد که بیماران NASH مرگ-ومیر بالاتری دارند و در مقایسه با بیماران با استناتوز ساده به احتمال بیشتر به عوارض مرتبط به کبد مبتلا می‌شود. از آنجاکه هیچ سطحی از ALT برای پیش‌بینی بهینه NASH و فیروز پیشرفته وجود ندارد [۲۴، ۲۳]، تشخیص سریع و دقیق NASH و پیگیری منظم در پیش‌بینی توسعه کبد چرب غیرالکلی ضروری به نظر می‌رسد. تجزیه و تحلیل روابط بین نشان‌گرهای زیستی بالینی و کبد چرب غیرالکلی در تعدادی از مطالعات انجام شده است [۲۵]. سونوگرافی یک روش غیرتهاجمی، ارزان و به طور گسترده در دسترس، برای تشخیص استناتوز کبدی با حساسیت مفید از ۹۴–۶۰ درصد و ویژگی از ۶۶–۹۵ درصد است؛ هم‌چنین، منجر به برآوردهای ذهنی از نفوذ چربی در کبد در یک سیستم نمره‌دهی سه نقطه‌ای یا بیشتر (خفیف، متوسط و شدید) می‌شود. این روش دارای محدودیت‌هایی از جمله حساسیت کم برای استناتوز خفیف، ناتوانی برای افتراق فیروز خفیف از استناتوز و عدم تعیین دقیق کمیت نفوذ چربی و وابستگی آن به اپلتور و نظر مشاهده‌گر تا ۷۲ درصد و هم‌چنین کاربرد کم برای بیماران چاق و کسانی که بیش از حد گاز در روده دارند، می‌باشد [۲۶، ۲۷]. الاستوگرافی گذرا یک ابزار جدید است که برای مطالعه غیرالکلی نتایج متضاد را طراحی شده، ولی در تشخیص کبد چرب غیرالکلی نتایج متفاوت را مستند کرده است. عیب TE این است که در افراد با BMI بالا موارد اشتباه آن زیاد است، زیرا انجام TE در مورد افراد چاق دشوار است؛ چربی زیرجلدی بافت با کاهش نفوذ امواج الاستیک، سبب کاهش میزان موقوفیت انجام آن می‌شود [۲۸، ۲۷، ۲۶]. با دنباله گرفتن عملکرد تشخیصی پارامترهای غیرتهاجمی مختلف برای تشخیص فیروز کبد در NAFLD، محققان سعی در تدوین و فرموله کردن مدارک الگوریتم ترتیبی، انتخاب ابزار تشخیصی دارای بهترین عملکرد تشخیصی، و کاهش موارد مثبت و منفی کاذب دارند [۲۷]. در مطالعه حاضر دور کمر و BMI قوی‌ترین پیش‌بینی از کبد چرب را نشان داد (OR=۱/۱۷۱) که این یافته به شدت از این فرضیه که چاقی مسئول اصلی بیماری کبد چرب است، پشتیبانی می‌نماید. این یافته با یافته‌های Bedogni و همکاران مشابه دارد [۱۸]. بیان شده است که میزان بالاتر چربی

تشکر و قدردانی

با تشکر از دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و سرکار
خانم دکتر رازی و مدیریت و پرسنل آزمایشگاه شهید صدوقی
اصفهان که نهایت همکاری با این پژوهش را داشتند.

FLI .HIS .APRI .FIB4
NAFLD و TG .PLT .ALT
و NASH و وجود یا عدم وجود فیبرز حتی در بیماران با مرحله
یک و دو کمک کننده باشند.

References:

- [1] Cao W, Zhao C, Shen C, Wang Y. Cytokeratin 18, Alanine Aminotransferase, Platelets and Triglycerides Predict the Presence of Nonalcoholic Steatohepatitis. *PloS One* 2013; 8(12): e82092.
- [2] Amirkalali B, Poustchib H, Keyvani H, Khansari MR, Ajdarkosh H, Maadi M, et al. Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Its Predictors in North of Iran. *Iran J Public Health* 2014; 43(9): 1275-83.
- [3] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatol* 2012; 55(6): 2005-23.
- [4] McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 2010; 59(9): 1265-9.
- [5] Savadkoohi F, Hosseini Tabatabaei MT, Shahabi Nezhad S. The frequency of fatty liver in sonography of patients without liver diseases background and its correlation with blood cholesterol and triglyceride. *Zahedan Univ Med Sci* 2003; 5(2): 9-15.
- [6] Sohrabpour A, Rezvan H, Amini-Kafabadi S, Dayhim M, Merat S, Pourshams A. Prevalence of Nonalcoholic Steato hepatitis in Iran: A Population based Study. *Middle East J Digestive Dis* 2010; 2(1): 14-9.
- [7] McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8(3): 521-33.
- [8] Koot GP, van der Baan-Slootweg OH, Bohte A E, Nederveen AJ, van Werven JR, Merkus MP, et al. Accuracy of prediction scores and novel biomarkers for predicting nonalcoholic fatty liver disease in obese children. *Obesity* 2013; 21(3): 583-90.
- [9] Loaeza-del-Castillo A, Paz-Pineda F, Oviedo-Cárdenas E, Sánchez-Avila F, Vargas-Vorácková F. AST to platelet ratio index (APRI) for the noninvasive evaluation of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2008; 7(4): 350-7.
- [10] Yang HR. Noninvasive diagnosis of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Pediatrics* 2013; 56(2): 45-51.
- [11] Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006; 2: 6-33.
- [12] Francque SM, Verrijken A, Mertens I, Hubens G, Van Marck E, Pelckmans P, et al. Noninvasive assessment of nonalcoholic fatty liver disease in obese or overweight patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10(10): 1162-8.
- [13] Lee JH, Kim D, Kim HJ, Lee CH, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2010; 42(7): 503-8.
- [14] Mascolini M. FIB-4 Predicts Major Liver Complications and Death in HCV+ People Starting ART. *20th International AIDS Conference*, 2014 July 20-25. Melbourne, Australia
- [15] Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ, et al. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7(10): 1104-12
- [16] Yang HR, Kim HR, Kim MJ, Ko JS, Seo JK. Noninvasive parameters and hepatic fibrosis scores in children with nonalcoholic fatty liver. *World J Gastroenterol* 2012; 18(13): 1525-30.
- [17] Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, Fujii H, et al. Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD). Validation of the FIB4 index in a Japanese nonalcoholic fatty liver disease population. *BMC Gastroenterol* 2012; 12(1): 2.
- [18] Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 2007; 46(1): 32-6.
- [19] Shukla A, Kapileswar S, Gogtay N, Joshi A, Dhore P, Shah C, et al. Simple biochemical parameters and a novel score correlate with absence of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Indian J Astroenterol* 2015; 34(4): 281-5.
- [20] Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 33.
- [21] Razavizade M, Jamali R, Arj A, Talari H. Serum parameters predict the severity of

- ultrasonographic findings in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary Pancreatic Dis Int* 2012; 11(5): 513-20.
- [22] Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu Yao C, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: A multicenter validation study. *Hepatology* 2009; 50(4): 1072-8.
- [23] Feldstein AE, Alkhouri N, De Vito R, Alisi A, Lopez R, Nobili V. Serum Cytokeratin-18 Fragment Levels Are Useful Biomarkers for Nonalcoholic Steatohepatitis in Children. *Am J Gastroenterol* 2013; 108(9): 1526-31.
- [24] Verma S, Jensen D, Hart J, Mohanty SR. Predictive value of ALT level for nonalcoholic steatohepatitis(NASH) and advance fibrosis in Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Liver International* 2013; 33(9): 1398-405.
- [25] Diab DL, Yerian L, Schauer P, Kashyap SR, Lopez R, Hazen SL, et al. Cytokeratin 18 fragment levels as a noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6(11): 1249-54.
- [26] Jamali R. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Diagnosis and Evaluation of Disease Severity. *Thrita* 2013; 2(4): 43-51.
- [27] Festi D, Schiumerini R, Marzi L, Di Biase AR, Mandolesi D, Montrone L, et al. Review article: the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease—availability and accuracy of non-invasive methods. *Alimentary Pharmacol Therapeutics* 2013; 37(4): 392-400.
- [28] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. 2012. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 55(6): 2005-23
- [29] Monteiro PA, Mota J, Silveira LS, Cayres SU, Antunes B, Fernandes RA, et al. Morphological and metabolic determinants of nonalcoholic fatty liver disease in obese youth: a pilot study. *BMC Res Notes* 2013; 6(1): 89.
- [30] Yilmaz Y. Systematic review: caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18—the promises and challenges of a biomarker for chronic liver disease. *Alimentary Pharmacol Therapeutics* 2009; 30(11-12): 1103-09.
- [31] Wieckowska A, Feldstein AE. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive. Seminars in liver disease. *Hepatology* 2008; 28(4): 386.