TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

KRONİK HEPATİT C'Lİ HASTALARDA KARACİĞER FİBROZİSİNİ GÖSTERMEDE KULLANILAN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER İLE KARACİĞER BİYOPSİSİNİN TANISAL DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Dılşa MIZRAK

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ramazan İDİLMAN

Bu tez Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 20050809020HPD proje numarası ile ve Ankara Tıplılar Vakfı tarafından desteklenmiştir

ANKARA
2008

ÖNSÖZ

İhtisas eğitimim süresince, bana tüm zorlukları kolaylaştırmayı öğreten, her konuda destek olan, bilgi ve deneyimlerini aktaran çok değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Ramazan İdilman'a,

Eğitim hayatıma olan katkılarından dolayı başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necati Örmeci olmak üzere, İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine,

Karaciğer Polikliniği'nin özverili elemanları Leyla Ağbulut ve Filiz Güzel'e,

Tez çalışmamın yürüyebilmesi için her türlü kolaylığı gösteren Uzm. Dr. Mehmet Bektaş'a,

Başta Senem Ceren Özen Karataylı olmak üzere Hepatoloji Enstitüsü'nün tüm çalışanlarına,

Tüm tez hastalarımın karaciğer biyopsilerini değerlendiren Uzm. Dr. Berna Savaş'a,

İstatistiklerimi yapmama yardımcı olan Beyza Doğanay'a,

Yardımları için sevgili arkadaşım Dr. Müyesser Saykı Arslan'a,

Başta Dr. Ahmet Kural olmak üzere tüm Referans Laboratuarı ekibine

ve tezimi maddi açıdan destekleyen Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Müdürlüğü ve Ankara Tıplılar Vakfı'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Tablolar Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
Hepatit C Virüs Enfeksiyonu	2
Karaciğer Fibrozisi	4
Hasar Progresyon Göstergesi Olarak Fibrozis	7
Fibrozis Miktarını Belirleme Neden Önemli?	8
Karaciğer Fibrozisini Belirlemede Kullanılan Yöntemler	9
Karaciğer Biyopsisi	9
Görüntüleme Yöntemleri Kullanılarak Uygulanan Testler	10
Panel Testler	10
Fibrozisin Serum Ekstrasellüler Matriks Belirteçleri	12
3. HASTALAR VE YÖNTEM	13
Hastalar	13
Yöntem	14
İstatistiksel Değerlendirme	16
4. BULGULAR	17
5. TARTIŞMA	23
6. SONUÇ	26
ÖZET	27
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	28
KAYNAKÇA	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	Alanin aminotransferaz
APRI	AST trombosit oran indeksi (AST to platelet ratio index)
AST	Aspartat aminotransferaz
AUROC	ROC eğrisi altında kalan alan (Area Under Receiver Operating Characteristic)
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CMV	Cytomegalovirüs
EBV	Epstain Barr virüsü
EM	Ekstrasellülermatriks
EVR	Erken virolojik cevap (Early Virologic Response)
GGT	Gamma glutamiltransferaz
HAV	Hepatit A virüsü
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
HSK	Hepatosellüler karsinom
HST	Hepatik stellat hücre
MMP	Matriks metalloproteinaz
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
NPD	Negatif prediktif değer
PPD	Pozitif prediktif değer
ROC	Receiver Operating Characteristic
RVR	Hızlı virolojik cevap (Rapid Virologic Response)
SVR	Uzamış virolojik cevap (Sustained Virologic Response)
TIMP	Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü (Tissue Inhibitor of MMP)
USG	Ultrasonografi

ŞEKİLLER

Şekil No		Sayfa
2.1	Farklı ülkelerde HCV prevelansı	3
2.2.1	Karaciğerin hasara cevabı	5
2.2.2	Karaciğer hasarını takiben HSH aktivasyonu	6
2.2.3	EM üretim ve yıkım yolağı	7
4.1	METAVIR fibrozis evrelemesine göre FibroTest ortalamaları	18
4.2	METAVIR fibrozis evrelemesine göre APRI ortalamaları	19
4.3	METAVIR fibrozis evrelemesine göre FIB-4 ortalamaları	19
4.4	İleri evre fibrozis tanısı için testlerin ROC eğrileri	20

TABLOLAR

Tablo No		Sayfa
3.2.1	Histolojik METAVIR ile FibroTest değerlerinin uyum skalası	15
4.1	Hastaların, METAVIR evrelemesine göre sayıları ve yüzdeleri	17
4.2	Testlerin %95 güven aralığı ile AUROC değerleri	20
4.3	Üç testin AUROC değerlerinin birbiri ile karşılaştırılması	21
4.4	Testlerin cut-off, sensitivite, spesifite, PPD, NPD'leri	21

1. GİRİŞ

Hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonu, ülkemizde ve batı toplumlarında kronik karaciğer hastalığının en önemli sebeplerinden birisidir. Kronik olarak enfekte olan hastaların %20-30'unda karaciğer sirozu ve %1-5'inde hepatosellüler karsinom (HSK), enfeksiyonun başlangıcından 20-30 yıl sonra, gelişmektedir. 2005 yılında yayınlanan bir rapora göre, batı toplumlarında HCV enfeksiyonu, en sık karaciğer nakil endikasyonudur.

Kronik HCV enfeksiyonu gibi karaciğer enfeksiyonlarının en önemli komplikasyonu, fibrozis ve sirozdur. Karaciğer fibrozisi, kronik hasarın bir sonucudur. Karaciğer hasarının direkt göstergesi olması dışında, hepatosellüler fonksiyon bozukluğu ve portal hipertansiyon patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle klinik olarak fibrozisin miktarı ve progresyon durumunu bilmek, hastalığın şiddetini ve prognozunu, tedavi kararını ve tedavi cevabını takip etmede en önemli veridir. Son yıllara kadar, kronik karaciğer hastalıklarının evre ve derecesini belirlemede altın standart olarak önerilen metot fibrozis miktarının histolojik olarak belirlenebildiği karaciğer biyopsisidir ve konsensus toplantılarında da HCV'li hastaların takibinde bu metot önerilmektedir.

Son zamanlarda, kronik HCV enfeksiyonu olan hastaların karaciğer biyopsisi yapılmadan da izlenebileceği ve bunu sağlamak üzere biyopsiye alternatif, fibrozis miktarını ölçen invaziv olmayan testlerin geliştirilmesi gerekliliği bildirildi. Karaciğer biyopsisine alternatif olabilecek çok sayıda biyokimyasal ve morfolojik fibrozis belirteçleri üzerinde çalışmalar yapıldı. AST-trombosit oran indeksi (APRI), Forns testi, FibroTest (Biopredictive SAS, Paris, France), elastografi (FibroScan, Echosens, Paris, France) ve FIB-4 indeksi, fibrozis belirteç testleri arasında sayılabilir.

Bu tez çalışmasının amacı, kronik HCV'li hastalarda karaciğer biyopsisi ile üç farklı fibrozis belirteç testinin (APRI, FibroTest, FIB-4) fibrozis miktarını belirlemedeki tanısal değerliliklerinin karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit C Virüs Enfeksiyonu

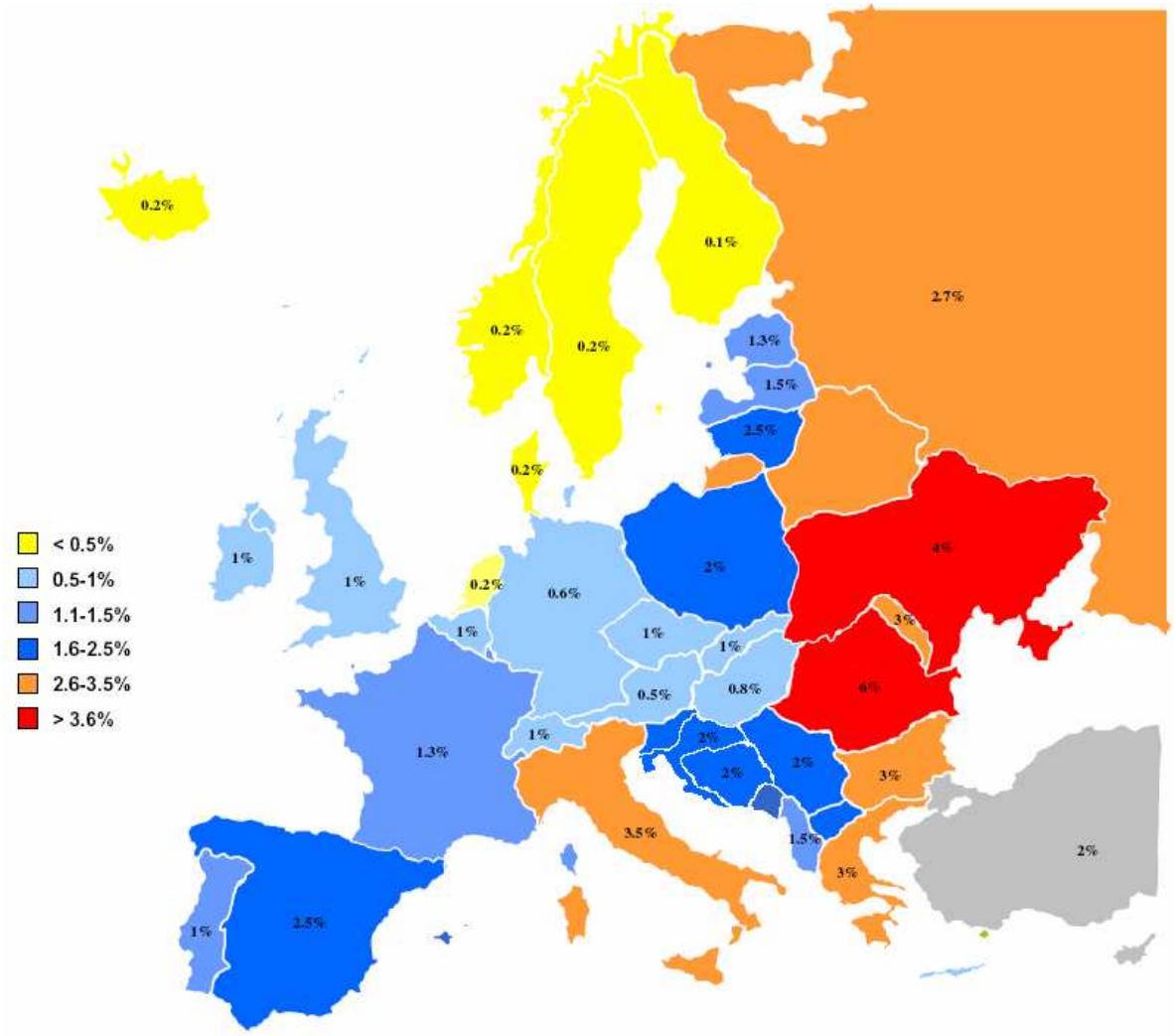
Hepatit C virüsü, 1989 yılında tanımlanan zarflı, küremsi bir RNA virüsüdür.[1] Virüs, Flaviviridae ailesi içinde yer alır ve flavivirüs ve pestivirüslere benzemektedir. Altı farklı genotipi olan bu virüsün, elliden fazla alt tipi tanımlanmıştır.[2] Genotipleri çok farklı coğrafik dağılım göstermektedir ve ülkemizde en sık görülen genotip 1'dir.

HCV enfeksiyonu akut veya kronik hepatit şeklinde olabilir. Akut enfeksiyon genelde asemptomatiktir ve nadiren karaciğer yetmezliğine yol açar. Akut HCV hepatiti, %60-80 oranında kronikleşir. Kronik HCV enfeksiyonu yavaş seyirli bir hastalıktır ve kronik olarak enfekte hastaların %20-30'unda, 20-30 yıllık bir süre zarfında siroz gelişir.[3-6] Dünya nüfusunun %3'ü HCV ile enfektedir.[7] Batı toplumlarında en sık görülen kronik karaciğer hastalığı ve en sık karaciğer transplantasyon endikasyonudur. Ülkemizde ise kronik HBV enfeksiyonundan sonra ikinci en sık kronik hepatit etkenidir. Türkiye'de yapılan çeşitli kohort çalışmalarına göre HCV sıklığı %1-2.4 arasındadır (Şekil 2.1). Kan donörlerinde bu oran %1 civarında iken risk gruplarında, örneğin hemodiyaliz hastalarında %51.6'ya kadar çıkmaktadır.[8-13] Kronik enfeksiyonun bu yüksek prevelansının mekanizması tam olarak bilinmemektedir ancak virüsün genetik çeşitliliğinin ve hızlı mutasyonunun, immün sistem tarafından algılanmasını zorlaştırdığı düşünülmektedir.[14,15]

Kronik HCV enfeksiyonu olan hastaların büyük çoğunluğu asemptomatiktir veya bu hastaların ılımlı non-spesifik semptomları mevcuttur.[16] En sık görülen semptom yorgunluktur; diğerleri ise bulantı, iştahsızlık, miyalji, artralji ve kilo kaybıdır. Az sıklıkta görülen bu semptomlar hayat kalitesinde ciddi bozukluğa yol açarlar[17,18] ve başarılı tedavi ile tamamen kaybolabilirler.[19]

Kronik HCV enfeksiyonu olan hastaların serum transaminaz düzeylerinde büyük farklılıklar mevcuttur. Hastaların üçte birine yakınında

serum ALT düzeyi normal sınırlardadır.[20,21] Kalan hastaların büyük kısmında transaminaz düzeylerinde hafif yükselme varken sadece %25'inde serum



Şekil 2.1. Farklı ülkelerde HCV prevelansı. Esteban ve ark'dan alınmıştır[13]

ALT düzeyi, normal üst sınırın 2 kat üstündedir. Genel olarak serum transaminaz düzeyi ile karaciğer histolojisi arasında bir ilişki yoktur.[22,23] Ancak biyopside kronik persistan hepatit (minimal aktivite) saptanan hastaların serum transaminaz düzeylerinin, kronik aktif hepatit (az-orta aktivite) saptanan hastaların serum transaminaz düzeylerinden daha düşük olduğu gösterilmiştir.[24] Ayrıca serum ALT düzeyinin, tedaviye cevapta histolojik değişimle paralel değişim göstermediği ve interferon tedavisi ile histolojik düzelme sağlanan hastaların büyük kısmında serum ALT düzeyinin normal sınırlara düşmediği gösterilmiştir.[25]

Kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda hastalığın prognozunu belirlemek oldukça zordur ve birçok çalışmada hastalığın ilerleyici olmayabileceği gösterilmiştir.[26-28] Hastalığın progresyonunu belirleyen faktörlerin ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır, ancak hastanın yaşı, etnik grubu, cinsiyeti, hücresel immün cevap, virüsün genotipi, alkol kullanımı, viral koenfeksiyon durumu, çevresel faktörler ve coğrafya gibi çok farklı virüs ve konak bağımlı faktörün progresyonda etkili olduğu düşünülmektedir.

Hangi kronik HCV enfeksiyonu olan hastaya tedavi başlanması konusunda kesin bir kriter olmamakla birlikte sıklıkla, en önemli bağımsız prognostik faktör olan fibrozis miktarına göre bu karar verilmektedir. Genel olarak tedavi, karaciğer biyopsisi ile Metavir skoru≥2 veya Ishak skoru≥3 olan hastalara önerilmektedir.[29] Bu değerlerden daha az fibrozisi olan hastalarda tedavisiz de prognoz iyidir.[30] Ancak bu hastalarda, hastalığın progresyonunu izlemek için 4-5 yıllık aralıklarla karaciğer biyopsi tekrarı önerilmektedir.[31]

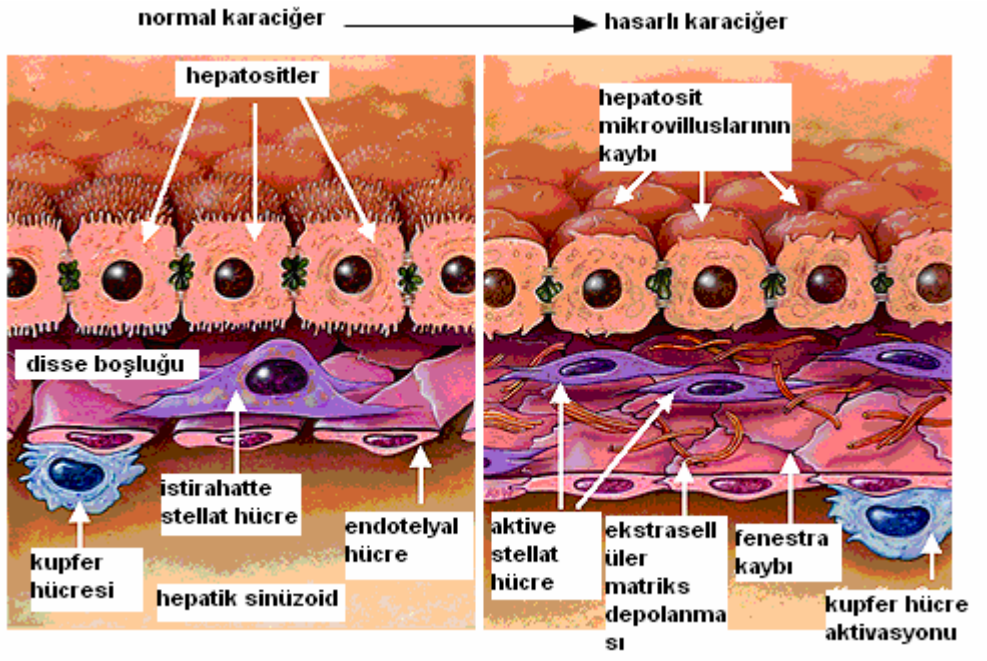
Son 10 yılda kronik HCV enfeksiyonunun tedavisinde önemli gelişmeler sağlanmıştır ve günümüzde standart tedavi olarak ribavirin ve pegylated interferon kullanılmaktadır. Bu tedavi ile genotip 1 ile enfekte olan hastaların yaklaşık %50'sinde ve genotip 2-3 ile enfekte hastaların %80'inden fazlasında uzamış virolojik cevap (SVR) elde edilebilmektedir.[29] Ayrıca viral kinetik hakkında elde edilen bilgiler doğrultusunda erken (EVR) ve hızlı (RVR) virolojik yanıt tanımlanmış ve tedavi etkinliği ve tedavi süresine, hastalar tedavi altındayken karar verme şansı doğmuştur. Bu tedaviye rağmen yanıt alınamayan hastaların olması, viral replikasyonda çok önemli olan viral enzimleri hedefleyen yeni tedavilerin (polimeraz ve proteaz inhibitörleri) geliştirilmesini sağlamıştır.

2.2. Karaciğer Fibrozisi

Fibrozis, hasarlı bölgedeki yara iyileşme cevabıdır. Ekstrasellüler matriks (EM) artışı ve subendotelyal bölgedeki disse boşluğunda düşük dansiteli tip IV kollojenin, yüksek dansiteli tip I kollojenle yer değiştirmesi ile karakterizedir (Şekil 2.2.1).[32] Fibrogenesis ise, EM üretimini ifade etmek için kullanılır. Kronik HCV enfeksiyonunu da içeren tüm kronik karaciğer

hastalıklarında, hastalığın nedenine ve konak ile ilişkili faktörlere bağlı olarak değişik oranlarda fibrozis meydana gelir. Ancak nedenden bağımsız olarak tüm kronik hastalıklarda niteliği benzerdir. Fibrozis gelişimi için, aylar-yıllar süren kronik bir hasar gerekir. Fibrozis, dinamik bir olaydır. Başlangıçta reversible olan kollajen fibriller, zamanla cross-bağlar oluşturarak degrade edici enzimlere dirençli hale gelmektedir. Fibrozisin ne zaman irreversible hale geldiği tam olarak bilinmemektedir ancak yapılan çalışmalar, erken evre sirozun bile reversible olabileceğini göstermektedir.[33] Dolayısıyla fibrogenesisin moleküler mekanizmalarını anlamak, birçok karaciğer hastalığının tedavisinde kullanılabilecek yeni yöntemlerin geliştirilmesini sağlayacaktır.

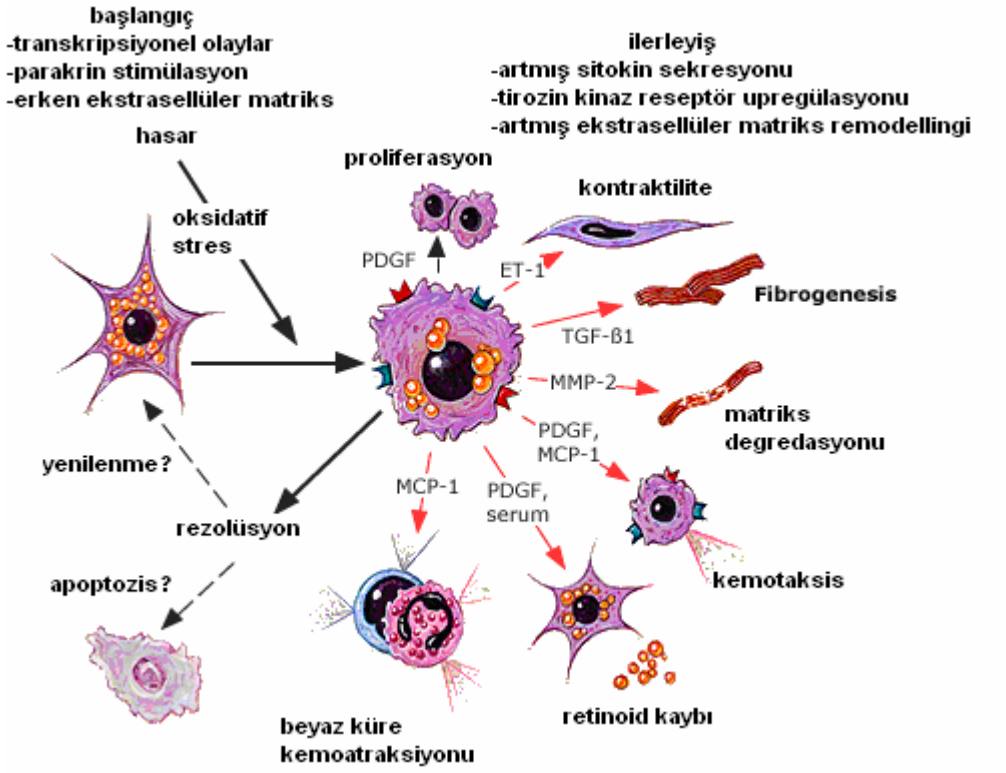
Fibrogenesis regülasyonu, multifaktöriyeldir ve inflamasyon en önemli faktördür.[34-36]



Şekil 2.2.1. Karaciğerin hasara cevabı. Frideman ve ark'dan alınmıştır[37]

Karaciğerde EM depolanmasında rol oynayan hücre tipleri arasında en çok, liposit, İto hücreleri veya perisinüzoidal hücreler olarak da adlandırılan hepatik stellate hücreler (HSH) üzerinde çalışılmıştır. Normal karaciğerde Disse boşluğunda yerleşmiş olan ve vitamin A depolayan bu hücreler,

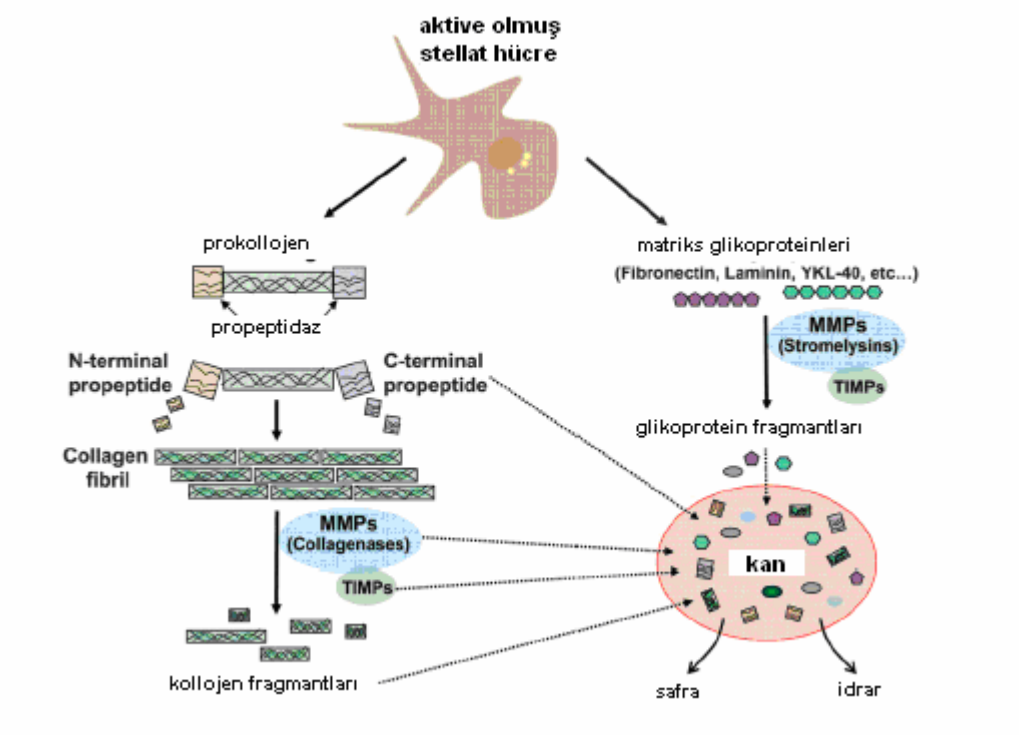
karaciğer hasarını takiben, inflamatuar sitokinlerle aktive olmakta ve kollajen, fibronektin, laminin ve proteoglikan gibi EM proteinleri üreten miyofibroblast fenotipine dönüşmektedir. Miyofibroblastlar, fibroblast ve düz kas hücresi özellikleri gösteren hücrelerdir. Özel reseptörleri ve ürettikleri hücresel sinyallerle, bulundukları ortamda koordinasyonu sağlarlar. Proliferasyon, kontraktilite, matriks degredasyonu, kemotaksis özellikleri dışında mediatörler (platelet derived growth factor beta), matriks metalloproteinazları (MMP) ve matriks metalloproteinazların doku inhibitörlerinin (TIMP) esas kaynağını oluşturmaktadırlar (Şekil 2.2.2).[37] Karaciğerdeki fibroblastik hücrelerin tek kaynağının HSH olmadığı, portal fibroblast ve kemik iliği kökenli hücrelerinde bu cevaba katıldığı gösterilmiştir.[38]



Şekil 2.2.2. Karaciğer hasarını takiben HSH aktivasyonu. Frideman ve ark'dan alınmıştır[37]

Hasar sonrası oluşturulan fazla miktardaki EM, tamir işlemi tamamlandıktan sonra yıkılmakta; bu işlem birçok spesifik MMP'ler tarafından

yapılmaktadır. MMP'lerin aktivasyonu ise TIMP'ler tarafından düzenlemektedir. Hasar devam ettiği sürece, hastanın MMP ve TIMP ekspresyon miktarı dalgalanma göstermekte ve fibrozisin monitorizasyonunda kullanılmaktadır (Şekil 2.2.3). Hasar cevabında interstitiyel kollojenler (tip I, III ve V) esas kollojenlerdir. Bu EM komponentleri ve onların yıkım ürünleri de fibrozis belirteçleri olarak incelenmektedirler (Şekil 2.2.3).[36]



Şekil 2.2.3. EM üretim ve yıkım yolağı. Rockey ve ark'dan alınmıştır[36]

Sonuç olarak, normal bir karaciğerde EM üretimi ile yıkımı arasında bir orantı vardır. EM üretim oranı yıkımından fazla ise fibrozis oluşmaktadır.

2.2.1. Hasar Progresyon Göstergesi Olarak Fibrozis

Karaciğerin fonksiyonel kapasitesi oldukça fazladır ve skar çok büyük olup, karaciğerin yapısını bozduğu zaman fark edilir. 1960'larda sağlıklı bir insanın karaciğerinde histolojik olarak fibrozis varlığının, subklinik hastalığın

göstergesi olduğu ve müdahale edilmediğinde son dönem karaciğer yetmezliğine gideceği gösterildi. Bu veri, hastalığın prognozu hakkında fikir yürütmek için histolojik olarak fibrozis miktarını belirleyen evreleme sistemlerinin geliştirilmesini sağladı.[39] Aynı dönemlerde inflamasyonun şiddeti ve hepatosit nekrozunu göstermek için aktivite indeksi geliştirildi. Fibrozis ile birlikte aktivite varlığının, tek başına fibrozisten daha kötü prognozlu olduğu görüldü. Son yıllarda fibrozis ve aktivite için histolojik skorlama sistemlerinin yenilenmesi ve standardize edilmesi, patoloji preparatlarını değerlendiren uzmanlar arasındaki görüş farklılıklarını kabul edilebilir derecede azalttı.[36,40-43]

Kronik HCV'li hastalarda yapılan çalışmalar, tek başına fibrozis varlığının kötü prognoza neden olmadığı ama fibrozis yaşının, progresyon oranının ve hasara yol açan faktör tipinin, klinik sonucu etkileyebileceğini gösterdi.[44]

2.2.2. Fibrozis Miktarını Belirlemek Neden Önemli?

1970'ler öncesinde karaciğer biyopsisi, tanısal amaçla oldukça sık kullanılan bir yöntemdi. Ancak özellikle hepatit B ve otoimmün karaciğer hastalıkları için olmak üzere karaciğer hastalıklarının tanısında serum belirteçlerinin kullanılmaya başlanmasıyla biyopsi yapılma oranları azaldı. Aynı dönemlerde, etkili tedavi yöntemlerinin yokluğu nedeniyle, prognoz saptama amaçlı olarak yapılan karaciğer biyopsisi sayısı da azdı. Ancak son 10 yılda, kronik HCV'li hastaların sayısındaki artış bu durumu tamamıyla değiştirdi.[36] Yapılan bir çalışmada, 1997 yılında Fransa'da yapılan tüm karaciğer biyopsilerinin %54'ünün kronik HCV'li hastalara ait olduğu ve çoğunun tedaviye başlama kararı için yapıldığı gösterildi.[45]

Son yıllarda kronik HCV tedavisinde çok önemli gelişmeler sağlanmasına rağmen, tedavinin olası toksisitesi, maliyeti ve sınırlı etkinliği nedeniyle hastalara seçici olarak tedavi uygulanmaktadır. Genel olarak tedaviden fayda görebilecek hastalar; karaciğer fonksiyonları iyi olup, biyopside fibrozis varlığı gibi hastalık progresyon kanıtı olan hastalardır.[36] Bu bakımdan ideal bir test, erken-orta ve ileri evre fibrozisi ayırabilir olmalıdır.

Örneğin; genotip 1 ile enfekte kronik HCV'li hastalarda birçok merkez, orta evre fibrozisi olanlarda tedaviyi uygulamayı tercih ederken, erken evre hastalıkta tedavi vermenin toksisite ve maliyet ile karşılaştırılınca kârlı olmadığı ve ileri evre hastalıkta doz bağımlı toksisite ve tedaviye uzamış cevabın az olması nedeniyle tedavinin çok etkili olmadığı gösterilmiştir.[46,47]

Birçok veri, fibrozisin dinamik bir süreç olduğunu, etkili ve zamanında müdahale ile geri dönüşebilir olduğunu göstermiştir.[48] Kronik HCV'nin başarılı tedavisi ile sadece klinik düzelme sağlanmayacak, histolojik fibroziste de azalma görülecektir. Dolayısıyla yeni geliştirilen ilaçların etkinliğini göstermede, fibrozis miktarındaki azalma standart veri olacak ve birincil tedaviye cevap vermeyen ancak tedaviyle fibrozis miktarında azalma saptananlar, uzun dönem tedavi için aday hastalar olacaktır.[36]

2.3. Karaciğer Fibrozisini Belirlemede Kullanılan Yöntemler

2.3.1. Karaciğer Biyopsisi

Günümüzde karaciğer fibrozisini değerlendirmede altın-standart yöntem olarak kabul edilen karaciğer biyopsi materyalinin histolojik olarak değerlendirilmesi, aslında birçok araştırmacıya göre altın değil gümüş standarttır.[49] Kronik karaciğer hasarı olan hastalarda sadece fibrozis varlığının değil, yaygınlığının bilinmesi de çok önemlidir. Bu yöntemin en önemli dezavantajları; örnekleme hatası, fibrozis evrelemesinde yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik, patologlar arasında uyumsuzluk, yöntemin yan etkileri ve maliyetidir.[34,50,51]

Standart bir karaciğer biyopsisi, karaciğerin 1/50.000'ini göstermektedir. Birçok biyopsi örneği, 20mm'den daha az uzunluktadır ve bilgisayar modeliyle yapılan bir çalışmada 25mm'lik bir karaciğer doku parçasının yaklaşık %25 örnekleme hata oranına sahip olduğu ve 40mm'nin optimal olacağı gösterilmiştir.[52] Patologlar arasındaki uyumsuzlukta önemli bir sorundur ve evreleme için kullanılan METAVİR, Ishak ve Knodell sistemleri yenilenerek bu uyumsuzluğun en aza indirilmesi sağlanmaya

çalışılsa da, en iyi uyum ancak %80 ile METAVİR evreleme sisteminde sağlanmıştır.[53-55]

Karaciğer biyopsisi yapılan hastaların yaklaşık %1'inde ciddi komplikasyon gelişmektedir.[56] İnvaziv bir işlemdir ve komplikasyon olarak ağrı, kanama, organ rüptürü (%0.3-0.5) ve ölüm (%0.01-0.1) görülebilmektedir.[45,57] Sonuç olarak, hastalar bu yöntemden kaçınmaktadır. İki çok merkezli HCV tedavi çalışmasında hastaların yaklaşık %33'ü tedavi sonrası karaciğer biyopsisi yapılmasını kabul etmemiştir.[58,59]

2.3.2. Görüntüleme Yöntemleri Kullanılarak Uygulanan Testler

Görüntüleme yöntemleri non-invaziv metotlardır ve temel olarak, karaciğerde oluşan yapısal değişikliği gösterirler. USG, BT ve MRG klinikte rutin olarak kullanılan yöntemlerdir ancak splenomegali, portal hipertansiyon ve düzensiz karaciğer konturları gibi ileri evre karaciğer hasar bulgularını gösterirler. Dolayısıyla hafif ve orta şiddette fibrozis varlığını gösteremezler.

Son yıllarda 'transient elastografi' olarak bilinen metod geliştirilmiştir (FibroScan; EchoSens, Paris, France).[60] Bu metotta, karaciğer parankimine gönderilen titreşimin oluşturduğu dalganın hızı ölçülerek, karaciğer parankiminde birikerek sertliğe yol açan EM miktarı ölçülmektedir.[61,62] Kolay uygulanabilir olması, biyopsi ile karşılaştırıldığında yaklaşık 100 kat daha fazla karaciğer parankimini taraması, komplikasyonsuz olması ve uygulayan kişiler arasında farklılığın az olması yöntemin avantajlarını oluştururken, orta derece fibrozisi ayırt etmede sensitivite ve spesifitesinin tam bilinmemesi, obez hastalarda uygulanmasının zor olması, fibrozis ve steatozu tam olarak ayıramaması, dezavantajlarını oluşturmaktadır.[63]

2.3.3. Panel Testler

FibroTest / FibroSure: Bu testte serumdaki 5 belirteç (α2-makroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, GGT ve total billirubin) patentli bir algoritma ile bir araya getirilerek, fibrozis evresi belirlenir. Test sonuçları METAVİR

evreleme sistemine uygun olarak F0-4 arasında bir değer almaktadır. Bu test, birçok çalışmada kullanılmış ve laboratuar tetkiklerinin analitik kriterlere uygun laboratuarda yapılması gerektiği üzerinde durulmuştur. İleri evre fibrozisi (≥ F2) belirlemede farklı sensitivite ve spesifite sonuçları bildirilmiştir.[64-66] Hemoliz, Gilbert sendromu, kolestaz ve akut inflamasyon yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmekte ve testin kullanılabilirliğini kısıtlamaktadır.

APRI (AST to platelet ratio index):
[(AST/normal üst sınır) / trombosit sayısı (10^9/L)] x 100 formülüyle hesaplanır. Bu testin ileri evre fibrozis için tanısal doğruluğu, birçok çalışmada gösterilmiştir.[67-69]

FIB-4: Yaş (yıl) x AST[U/L] / (trombosit sayısı[10^9/L] x (ALT[U/L])$^{1/2}$) formülüyle hesaplanan bir testtir. 1.45'in altındaki değerlerde ileri evre fibrozisi dışlamada negatif prediktif değeri %90 iken 3.25'in üzerindeki değerlerde ileri evre fibrozis tanısı için pozitif prediktif değeri %65 olarak bulunmuştur.[70,71]

Forns indeks: Yaş, GGT, kolesterol ve trombosit sayısı kullanılarak hesaplanan bir modeldir.[72]

FibroIndeks: Trombosit sayısı, AST ve gamma globulin kullanılarak hesaplanır[73], çok fazla çalışmada kullanılmamıştır.

Hepascore: Dört serum belirtecinin (α2-makroglobulin, hyalüronik asit, billirubin, GGT), yaş ve cinsiyet ile kombine edilmesiyle hesaplanan bir modeldir. İleri evre fibrozis için sensitivite ve spesifitesi düşüktür.[74]

FibroMeter: Trombosit sayısı, INR, AST, α2-makroglobulin, hyalüronik asit, üre ve yaş kullanılarak hesaplanan bir modeldir. İleri evre fibrozisin belirlenmesinde AUROC değeri 0.883 olarak saptanmıştır.[68]

2.3.4. Fibrozisin Serum Ekstrasellüler Matriks Belirteçleri

Fibrozis, fibrogenesis ve fibrolizis dengesinin bozulduğu dinamik bir süreçtir, bu nedenle dolaşımda EM bileşenlerinin saptanabileceği ve bu bileşenlerin düzeyinin fibrozis miktarını gösterebileceği düşünülmektedir. Bunlardan en sık çalışılmış olanlar hyalüronik asit, prokollojen peptitler, matriks metalloproteinazları ve inhibitörleri ve bir glikoprotein olan YKL-40'dır.[34,75] Ancak hiçbirinin sensitivite ve spesifitesi klinik kullanıma girecek kadar iyi bulunmamıştır. Bu belirteçlerin kombine edilmesiyle geliştirilen FIBROspect (Prometheus Laboratories, San Diego, California) gibi test panelleri de tedavi için esas adaylar olan orta evre fibrozisi olan hastaları belirlemede başarılı olamamış ve dolayısıyla klinik kullanıma girmemişlerdir.[76]

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak 2006 – Ocak 2008 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Karaciğer Hastalıkları İzlem Polikliniğine ardı sıra başvuran, kronik HCV enfeksiyonu varlığı kanıtlanmış 90 hasta dahil edildi. Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 02 Ocak 2006 tarih ve 84-2185 karar no'lu izin alınmış (Ek 1) ve Helsinki Kriterlerine uygun olarak yürütülmüştür. Tüm hastalardan çalışma öncesi imzalanmış aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

3.1. Hastalar

Çalışmaya kronik HCV enfeksiyonu kanıtlanmış 49 kadın, 41 erkek toplam 90 hasta dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. 18-75 yaş arası hastalar,
2. HCV pozitifliği kanıtlanmış, antiviral tedavi almamış hastalar,
3. Onam formunu kabul eden ve imzalayan hastalar.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

1. 18 yaş altı ve 75 yaş üstü hastalar,
2. Serum örneği, karaciğer biyopsisi ile aynı gün ve biyopsiden önce alınamayan hastalar,
3. akut-kronik hepatit B, akut HAV, CMV, EBV enfeksiyonu, otoimmün hepatit ve hemokromatozus gibi ek karaciğer hastalığı olan hastalar,
4. bilinen septik durumu olan hastalar,
5. transplantasyon yapılmış olgular,
6. HSK saptanan olgular.

3.2. Yöntem

Kan Örnekleri

76 yeni tanı almış kronik HCV hastasından rutin karaciğer biyopsisi öncesi aynı gün ve klinik olarak sirozu olan 14 hastadan 15ml venöz kan örneği alındı.

Rutin Biyokimyasal Testler ve Panel Testler

Her hastadan alınan kan örneğinden aynı gün tam kan, AST ve ALT Ankara Üniversitesi Merkez Laboratuarında çalışıldı.

FibroTest:

Biyopsi yapılmadan hemen önce alınan kan örneğinden hazırlanan serum (kan örneği 1000 devirde 10 dakika santirfürüj edilerek), analitik kriterlere uygun olduğu gösterilmiş olan, İstanbul Referans Laboratuarına kuru buzda saklanarak gönderildi, serumlarda

-α2-makroglobulin (gr/L),

-haptoglobin (gr/L),

-apolipoprotein A1(gr/L) ,

-GGT (IU/L),

-total billirubin (µmol/L)

düzeyleri çalışıldı ve yaş, cinsiyet ile birleştirilerek patentli yapay zeka algoritması ile FibroTest değeri belirlendi.

FibroTest sonucu artan fibrozis miktarına göre, 0.00-1.00 arasında bir değer almaktadır.

FibroTest sonucunda beklenen değerler, METAVİR skalası ile karşılaştırıldığında:

Tablo 3.2.1. Histolojik METAVIR ile FibroTest değerlerinin uyum skalası

METAVİR fibrozis aşamaları		**FibroTest**
Fibrozis yok	F0	0.00-0.27
Portal fibrozis	F1	0.28-0.48
Az sayıda septa ile köprüleşme fibrozisi	F2	0.49-0.58
Çok sayıda septa ile köprüleşme fibrozisi	F3	0.59-0.74
Siroz	F4	0.75-1.00

APRI (AST to platelet ratio index):

Tüm hastalar için, [(AST/normal üst sınır) / trombosit sayısı (10^9/L)] x 100 formülüyle hesaplandı. AST normal üst sınırı, kadın ve erkek hastalar için, 37U/L olarak alındı.

FIB-4:

Tüm hastalar için, yaş (yıl) x AST[U/L] / (trombosit sayısı[10^9/L] x (ALT[U/L])$^{1/2}$) formülüyle hesaplandı.

Karaciğer Biyopsisi ve Histolojik Değerlendirme

Siroz kliniği ile başvuran 14 hasta dışındaki tüm hastalara, USG eşliğinde, standart tekniklere uygun olarak subkutan karaciğer biyopsisi yapıldı ve Patoloji ABD'na gönderildi.

Patoloji ABD'de hemotoksilen eozin ve masson trikrom boyama yapıldıktan sonra biyokimyasal belirteç sonuçlarından habersiz, araştırmada görevli tek bir patolog tarafından METAVIR skorlama sistemine uygun olarak fibrozis evresi belirlendi.

3.3. İstatistik Değerlendirmeler

Sonuçlar, ortalama±SD ve ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi. Her formülün tanısal doğruluğunu değerlendirmek için ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) ve %95 güven sınırları Hanley ve McNeil[77]'e göre hesaplandı. Üç testin AUROC'ları ikişerli olarak Hanley and McNeil[78]'e göre karşılaştırıldı. ROC eğrileri temel alınarak, her üç test için ileri derecede fibrozis ile hafif derecede fibrozisi ayırmada, youden indeks kullanılarak, cut-off noktaları saptandı. İstatistiksel hesaplamalar SPSS 11.5 for Windows programı (SPPS Inc., Chicago, IL) ve MedCalc 9.1.0.1 for Windows programı kullanılarak yapıldı. 0.05 altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya kronik HCV enfeksiyonu kanıtlanmış 49 kadın (%54.4), 41 erkek (%45.6) toplam 90 hasta dahil edildi. 90 hastanın 14'ünde klinik olarak siroz mevcuttu ve bu hastalara karaciğer biyopsisi yapılmadı.

Çalışmaya dahil edilen 90 hastanın ortalama yaşı 52.39±11.90 yıl idi.

Hastaların; ortalama AST değeri 56.72±49.42 IU/L, ortanca AST değeri 42.00 (10-346), ortalama ALT değeri 67.72±65.58 IU/L, ortanca ALT değeri 49.50 (5-431), ortalama trombosit sayısı 209.52±84.44 $x10^9$/L, ortanca trombosit sayısı 204.00 (52-474) olarak saptandı.

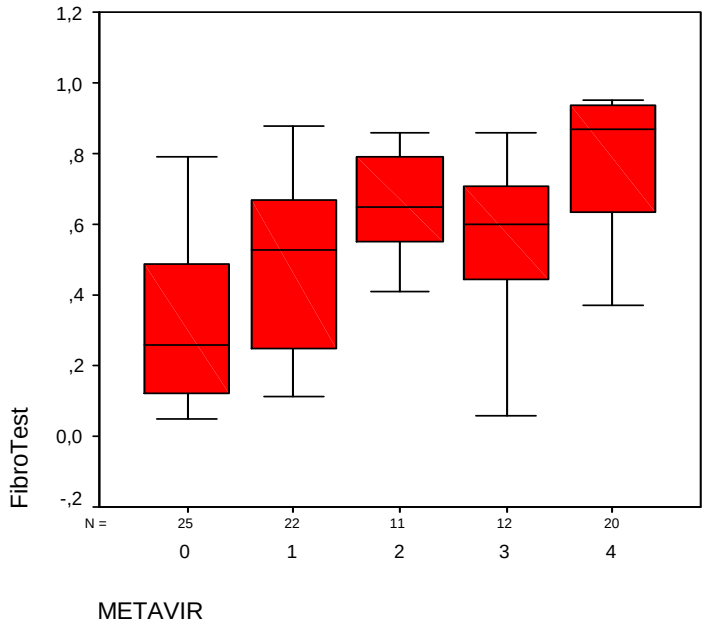
Karaciğer biyopsilerinin, METAVİR evrelemesine göre sınıflaması (karaciğer biyopsisi yapılmayan 14 hastada siroz kliniği olduğu için METAVİR evreleri 4 olarak kabul edildi):

Tablo 4.1. Hastaların, histolojik METAVIR evrelemesine göre sayıları ve yüzdeleri

METAVİR evresi	hasta sayısı (n)	hasta yüzdesi (%)
0	25	27.8
1	22	24.4
2	11	12.3
3	12	13.3
4	20	22.2

Non-invaziv testlerin hafif derece ve ileri derece fibrozisi ayırmada ki tanısal değerliliğini belirlemek üzere METAVİR evre 0-1-2 fibrozis yok veya hafif derece fibrozis ve METAVİR evre 3-4 ileri derece fibrozis olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre 58 (%64.4) hasta hafif derecede fibrozis ve 32 (%35.6) ileri derecede fibrozis olarak sınıflandı.

Hastaların fibrotest değerleri 0.05-0.95 aralığında saptandı. Şekil 4.1'de görüldüğü üzere ortalama değerler fibrozis derecesi ile orantılı olarak artma gösterdi. Buna göre METAVİR F0'da ortalama fibroTest skoru 0.34±0.24 iken F1'de 0.48±0.25, F2'de 0.66±0.16, F3'de 0.55±0.24 ve F4'de 0.79±0.18 olarak bulundu.

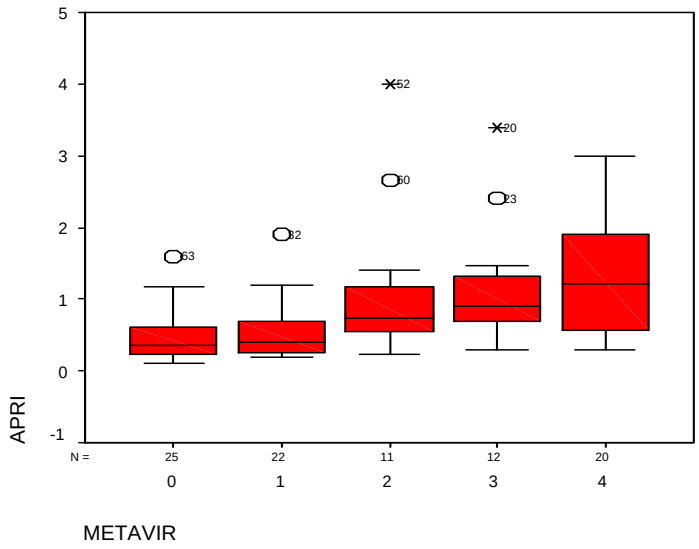


Şekil 4.1. METAVIR fibrozis evrelemesine göre FibroTest ortalamaları

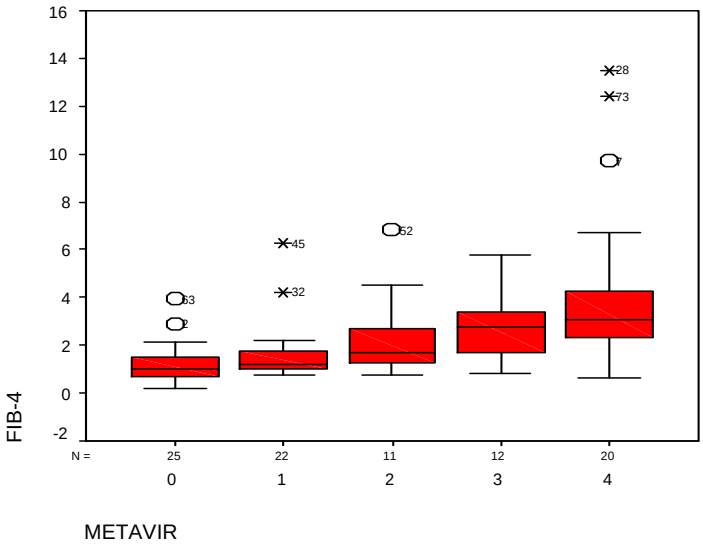
APRİ, 0.10-4.00 ve FIB-4, 0.19-13.50 arasında değişen değerler aldılar. Ortalama değerler fibrozis derecesi ile orantılı olarak artma gösterdi.

Buna göre APRİ için METAVİR F0'da ortalama APRİ değeri 0.48±0.35 iken F1'de 0.55±0.39, F2'de 1.17±1.15, F3'de 1.18±0.89 ve F4'de 1.41±0.92 olarak bulundu (Şekil 4.2).

FIB-4 için METAVİR F0'da ortalama FIB-4 değeri 1.25±0.86 iken F1'de 1.63±1.27, F2'de 2.36±1.88, F3'de 2.81±1.48 ve F4'de 4.30±3.55 olarak bulundu (Şekil 4.3).

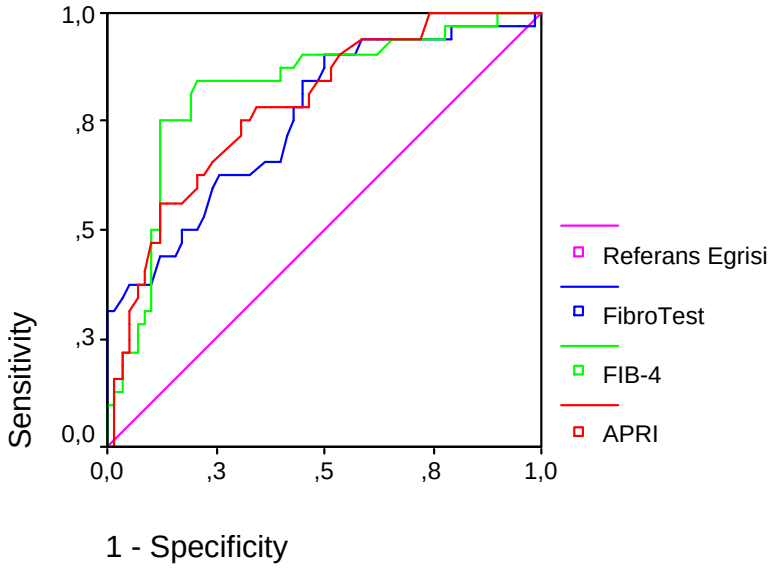


Şekil 4.2. METAVIR fibrozis evrelemesine göre APRI ortalamaları



Şekil 4.3. METAVIR fibrozis evrelemesine göre FIB-4 ortalamaları

FibroTest, APRİ ve FIB-4 için ROC eğrileri şekil 4.4'de görülmekte.



Şekil 4.4. İleri evre fibrozis tanısı için testlerin ROC eğrileri

İleri evre fibrozisi, ayırt etmede FibroTest, FIB-4 ve APRİ'nin ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) değerleri sırayla 0.756, 0.823 ve 0.784 olarak bulundu (tablo 4.2) ve her üç testte ileri derece fibrozisi ayırmada tanısal değerlilik açısından etkili bulunurken, üç testin AUROC değerleri birbirileri ile karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı farklılık saptanmadı (tablo 4.3).

Tablo 4.2. Üç non-invasive testin %95 güven aralıkları ile AUROC değerleri

test	AUROC±SE	%95 güven aralığı	p
APRI	0.784±0.049	0.687-0.881	<0.001
FIB-4	0.823±0.048	0.728-0.918	<0.001
FibroTest	0.756±0.054	0.651-0.861	<0.001

Tablo 4.3. Üç non-invasive testin AUROC değerlerinin tanısal değerlilik açısından birbirileri ile karşılaştırılması

APRİ ≈ FIB-4	
p	0.388
APRİ ≈ FibroTest	
p	0.647
FIB-4 ≈ FibroTest	
p	0.178

ROC eğrileri temel alınarak, her üç test için ileri derecede fibrozis ile hafif derecede fibrozisi ayırmada, Youden indeks (Sensitivite+Spesivite-1) kullanılarak, cut-off noktaları saptandı.

APRİ için cut-off noktası %56 sensitivite ve %87 spesifite ile 0.97 bulunurken, ileri evre fibrozis tanısını ekarte etmek için negatif prediktif değeri %78 bulundu.

FIB-4 için cut-off değer, %84 sensitivite ve %79 spesifite ile 1.89, negatif prediktif değer ise %90 bulundu.

FibroTest için cut-off değer, %90 sensitivite ve %50 spesifite ile 0.44, negatif prediktif değer ise %90 bulundu.

Bu cut-off noktaları ve ileri derecede fibrozisi ayırmada sensitivite, spesifite, PPD ve NPD tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. İleri evre fibrozis tanısı için 3 testin Youden indeks ile saptanan cut-off değerleri, saptanan cut-off değeri için sensitivite, spesifite, PPD ve NPD'leri

test	cut-off değeri	sensitivite (%)	spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)
APRI	0.97	56	87	72	78
FIB-4	1.89	84	79	69	90
FibroTest	0.44	90	50	50	90

Bu cut-off değerleri kullanıldığında;

APRİ ile 90 hastanın 69'u (%76.7), FIB-4 ile 90 hastanın 73'ü (%81.1) ve FibroTest ile 90 hastanın 58'i (%64.4) histolojik METAVİR evrelemesi ile karşılaştırıldığında doğru olarak ileri veya hafif evre fibrozis tanısı aldılar.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada tedavi almamış kronik hepatit C'li hastalarda karaciğer fibrozis derecesinin belirlenmesinde kullanılabilirliği gösterilmiş üç farklı non-invaziv testin tanısal değerliliğini, günümüzde hâlâ altın standart olarak nitelenen karaciğer biyopsisi ile karşılaştırdık.

Çalışmamız; tek merkezli olması ve tüm laboratuar testlerinin aynı laboratuarda ve taze kan örneğinde çalışılması, biyopsi ile aynı gün çalışılması, üç farklı fibrozis belirteç testinin karşılaştırılması ve ülkemizde bu konuda yapılan ilk çalışma olması açısından önemlidir.

Son 10 yıldır[79] hepatoloji alanında en çok çalışılan konulardan biri olmasına rağmen hâlâ, fibrozis derecesi tanısında, güvenle kullanılabilecek bir non-invaziv test mevcut değildir. Tüm bu çalışmalarda, testin anlamlı fibrozisi (köprüleşme fibrozisinin varlığı ile karakterize) tanıma gücüne bakılmaktadır, çünkü tedavi ve takip edilmesi hedeflenen grup bu hastalardır.[80] Birçok non-invaziv testin tanısal değerliliği, ileri vakalar için çok yüksek iken sınırdaki vakalar için çok düşüktür. Aslında altın standart olarak kabul edilen tanı yönteminin de tanısal değerliliği tartışmalı olduğu için, konu daha karmaşık bir hale gelmekte ve tanısal değerlilik sınırları tam olarak çizilememektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda güvenilir test, prediktif değerleri %90 üstünde olan test olarak tanımlanmıştı.[81,82] Bizim amacımız da, kronik HCV'li hastalarımızda, karaciğer biyopsisine alternatif bir non-invaziv test saptamak ve tanısal değerliliğini biyopsi ile karşılaştırmaktı.

Çalışmamızda üç farklı test kullandık. Bunlardan birincisi, üzerinde çok çalışılmış ve kronik HCV enfeksiyonu dışında HBV enfeksiyonu, NAYK ve alkolik karaciğer hastalığında da tanısal değerliliği gösterilmiş olan FibroTest, diğer ikisi ise klinikte kolayca ve düşük maliyetle uygulanabilecek olan APRİ ve FIB-4 idi.

FibroTest, karaciğer biyopsisinin en sık kullanılan alternatifidir. Eylül 2002-Nisan 2007 tarihleri arasında 190.000 adet FibroTest istemi yapılmıştır.[83] Fibrozisi olmayan vakalar ile siroz olan vakalarda tanısal değerliliği çok iyi iken, en önemli dezavantajı, tedavi planlanmasında kritik olan köprüleşme fibrozisi varlığı ile yokluğu arasında ayırım yapmada tanısal

değerliliğinin çok düşük olmasıdır.[80,84] Bu, karaciğer biyopsisinin histolojik değerlendirilmesinde de ortaya çıkan ve biyopsinin tanısal değerliliğini azaltan bir sorundur.[85] Ancak bizim çalışmamızda, şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'de görüldüğü üzere, FibroTest için METAVIR F1, F2, F3'de ortalamaların birbirine çok yakın olması hatta F3 ortalamasının, F2'den az olması, ancak APRİ ve FIB-4 ortalamaları için aynı sorunun olmaması, biyopsiden çok FibroTestin sınırlılığını göstermektedir. Poynard ve ark tarafından yapılan 2431 HCV'li hastayı kapsayan meta-analizde de benzer sonuç elde edilmiş ve FibroTestin orta derecede fibrozis ile karakterize gri zonları ayırt etmede başarısız olduğu gösterilmiştir.[83] Cales ve ark'ın yaptığı 1056 HCV'li hastayı içeren meta-analizde de FibroTest için siroz tanısında AUROC değeri 0.882 iken ileri evre fibrozis tanısı için bu değer 0.837'ye düşmüştür.[86] Bizim çalışmamızda 0.756 gibi daha düşük bir AUROC değeri alması hasta sayısının az olmasına bağlanabilir. Ancak bu test aynı zamanda çalışmamızda 90 hastanın sadece 58'ine (%64.4) hafif veya ileri evre fibrozis şeklinde doğru tanı koydurmuştur. FibroTestin diğer bir dezavantajı, parametrelerinin analitik kriterlere uygun bir laboratuarda çalışılması gerekliliğidir. Bu testin maliyetinin, tanısal değerliliği farklı olmayan diğer non-invaziv testlere göre daha yüksek olması da diğer bir dezavantajıdır. 50 farklı ülkede kullanılabilir olan testin maliyeti günümüzde, 100-300 Euro arasında değişmektedir.[83]

Çalışmamızda kullandığımız bir başka non-invaziv test olan APRİ, hastanın sadece, rutin olarak çalışılan, AST değeri ve trombosit sayısı bilinerek hesaplanabilecek, kolay ve hızlı uygulanabilir, maliyeti düşük bir testtir. İlk defa Wai ve ark tarafından tanımlanan testin, ileri evre fibrozis tanısı için AUROC değeri 0.80 olarak hesaplanmıştı.[67] Yine bu çalışmada cut-off değer 1.5 olarak alındığında ileri derecede fibrozis için PPD'i %88 olarak bulmuşlardı. Shaheen ve ark'nın meta-analizinde ise APRİ'nin ileri evre fibrozisi göstermedeki değerliliği AUROC 0.76 ile bizim çalışmamızdan ve diğer çalışmalardan daha düşük saptanmıştır.[87] Yine bu meta-analizde cut-off değeri 0.5 olarak alındığında PPD %59 ve NPD %75 olarak saptanmıştır, cut-off değeri 1.5'a çıkarıldığında da PPD %80'e ulaşamamıştır. Bizim çalışmamızda APRİ için saptadığımız cut-off değeri olan 0.97'de de PPD %72 olarak bulunmuştur ve tek merkezli bir çalışma olan Wai ve ark

çalışması ile sonuçlar benzerdir. Cales ve ark'nın beş farklı non-invaziv testi karşılaştırdığı çalışmada ise APRİ için AUROC, 0.82 olarak bulunmuştur ve bu çalışmada da bizim çalışmamızda kullandığımız testler arasında AUROC açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.[86] APRİ testinin ileri evre fibrozis tanısı için bizim saptadığımız AUROC değeri 0.78 ile diğer iki non-invaziv test arasında idi ancak tablo 4.3'te görüldüğü üzere tanısal değerliliği açısından diğer testlerden farkı saptanmadı.

Son olarak değerlendirdiğimiz bir başka non-invaziv test, hastanın rutin olarak bakılan AST, ALT, trombosit sayısının, yaşı ile kombine edilerek hesaplanan FIB-4 testi idi. Bu test ilk defa Sterling ve ark'ı tarafından tanımlandı ve AUROC değeri 0.76, cut-off değeri 1.45 olarak alındığında HIV/HCV koenfekte hastalarda, ileri evre fibrozis tanısını dışlamak için NPD'i %90, cut-off değeri 3.25 alındığında ileri evre fibrozis tanısı için PPD %65 olarak bulundu.[71] Daha sonra yapılan başka bir çalışmada ise sadece HCV ile enfekte 847 hastada tanısal değerliliği biyopsi ve FibroTest ile karşılaştırıldı.[70] Ancak bu çalışmada FIB-4 için yeni cut-off değeri belirlenmemiş ve daha önce saptanan <1.45 ve >3.25 cut-off değerleri olarak alınmış. Bu çalışmada ileri evre fibrozisi tanımlamada FİB-4 için AUROC 0.85 olarak saptanmış ve bu değer bizim saptadığımız 0.82 ile (Şekil 4.4) uyumlu bulunmuş. Bizim FİB-4 için saptadığımız 1.89 cut-off değerinde PPD %69 ve NPD %90 iken, Vallet-Pichard ve ark'ın[70] iki farklı cut-off değeri kullanması PPD'i %82.1'e ve NPD'i %94.7'e kadar yükseltmiş. Bu çalışmada hastaların %93.3'ü doğru tanı alırken, bizim çalışmamızda da en doğru tanı %81.1 ile FİB-4 testi ile konuldu.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı hasta sayısının az olması ve bu nedenle testlerin sadece hafif ve ileri evre fibrozisi ayırmadaki tanısal değerliliklerinin karşılaştırılmasıdır. Tüm diğer çalışmalarda olduğu gibi karşılaştırmanın yapıldığı altın standart olarak tanımlanan testin, tanısal değerliliğinin şüpheli olması ve biyopsi uzunluklarının doğru tanı için önerilen 25mm'den az olması diğer bir kısıtlılığı oluşturmaktadır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada kronik HCV'li hastalarda fibrozis derecesinin belirlenmesinde karaciğer biyopsisi ile FibroTest, APRI ve FIB-4 fibrozis belirteç testlerinin tanısal değerliliği karşılaştırıldı.

Hastalar, hafif derecede fibrozis (METAVIR evre 0-1-2) ve ileri derecede fibrozis (METAVIR evre 3-4) olmak üzere iki grup şeklinde sınıflandırıldılar.

Buna göre;

1. FibroTest'e bakıldığında; AUROC değeri 0.756, ileri evre fibrozis tanısı için cut-off değeri %90 sensitivite ve %50 spesifite ile 0.44 olarak bulundu. İleri evre fibrozis tanısını dışlamak için NPD'i %90, ileri evre fibrozis tanısı için PPD'i %50 bulundu. FibroTest ile çalışmaya dahil edilen 90 hastanın 58'i (%64.4) hafif veya ileri derecede fibrozis olarak doğru tanı aldı.
2. APRI için; AUROC değeri 0.784, ileri evre fibrozis tanısı için cut-off değeri %56 sensitivite ve %87 spesifite ile 0.97 olarak bulundu. İleri evre fibrozis tanısını dışlamak için NPD'i %78, ileri evre fibrozis tanısı için PPD'i %72 bulundu. APRI ile çalışmaya dahil edilen 90 hastanın 69'u (%76.7) hafif veya ileri derecede fibrozis olarak doğru tanı aldı.
3. FIB-4 için; AUROC değeri 0.823, ileri evre fibrozis tanısı için cut-off değeri %84 sensitivite ve %79 spesifite ile 1.89 olarak bulundu. İleri evre fibrozis tanısını dışlamak için NPD'i %90, ileri evre fibrozis tanısı için PPD'i %69 bulundu. FIB-4 ile çalışmaya dahil edilen 90 hastanın 73'ü (%81.1) hafif veya ileri derecede fibrozis olarak doğru tanı aldı.

Sonuç olarak, FibroTest, APRI ve FIB-4 fibrozis belirteç testlerinin karaciğer fibrozis derecesini belirlemedeki tanısal değerliliği yüksektir. Bu testler, birbirileri ile karşılşatırıldığında tanısal değerlilikleri arasında anlamlı farklılık yoktur. FibroTest, APRI ve FIB-4 fibrozis belirteç testleri, kronik hepatit C'li hastalarda fibrozis derecesini belirlemede karaciğer biyopsisine alternatif olarak önerilebilir.

7. ÖZET

KRONİK HEPATİT C'Lİ HASTALARDA KARACİĞER FİBROZİSİNİ GÖSTERMEDE KULLANILAN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER İLE KARACİĞER BİYOPSİSİNİN TANISAL DEĞERLİLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Mızrak, D., Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Tezi, Ankara, 2008. Bu çalışmanın amacı, tedavi almamış kronik hepatit C'li hastalarda karaciğer fibrozis derecesinin belirlenmesinde üç farklı non-invaziv test ile karaciğer biyopsisinin tanısal değerliliğinin karşılaştırılmasıdır. Çalışmaya toplam 90 hasta dahil edildi. APRI, FibroTest ve FIB-4, karaciğer biyopsisi ile aynı gün çalışıldı. APRI: [(AST/normal üst sınır) / trombosit sayısı (10^9/L)] x 100 formülüyle hesaplandı. FibroTest; analitik kriterlere uygun bir laboratuvarda çalışılan α2-makroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, GGT ve total billirubinin patentli bir algoritma ile kombine edilmesiyle, FIB-4 ise; yaş (yıl) x AST[U/L] / (trombosit sayısı[10^9/L] x (ALT[U/L])$^{1/2}$) formülüyle hesaplandı. Karaciğer biyopsilerinin tümü aynı patolog tarafından, METAVIR evreleme sistemine göre analiz edildi. METAVIR evre 0-1-2 hafif evre fibrozis ve METAVIR evre 3-4 ileri evre fibrozis olarak sınıflandı. Üç metodun tanısal değerliliği ROC eğrisi ile tanımlandı ve birbiriyle karşılaştırıldı. METAVIR evrelemesine göre örneklerin %64.4'ü hafif evre fibrozis ve %35.6'sı ileri evre fibrozis tanısı aldı. APRI değerleri 0.1-4 arasında, FibroTest değerleri 0.05-0.95 ve FIB-4 değerleri 0.19-13.5 arasında değerler aldılar. İleri evre fibrozis tanısı koymaya yönelik her test için saptanan cut-off değerleri; APRI için %56 sensitivite ve %87 spesifite ile 0.97, FibroTest için %90 sensitivite ve %50 spesifite ile 0.44 ve FIB-4 için %84 sensitivite ve %79 spesifite ile 1.9 olarak bulundu. İleri evre fibrozis tanısı için APRI, FibroTest ve FIB-4 için PPD'ler sırayla %72, %50 ve %69.2 olarak bulunurken, hafif evre fibrozis için NPD'ler sırayla %78.4, %90.6 ve %90.2 olarak bulundu. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; APRI, FibroTest ve FIB-4 kronik hepatit C'li hastalarda fibrozis derecesinin belirlenmesinde kolay uygulanabilir, doğruluğu yüksek, kabul edilebilir testlerdir.

Anahtar Sözcükler: HCV; karaciğer biyopsisi; FibroTest; APRİ; FIB-4

8. SUMMARY

COMPARİSON OF BİOCHEMİCAL MARKERS WİTH LİVER BİOPSY TO ASSESS THE DEGREE OF HEPATİC FİBROSİS İN CHRONİC HEPATİTİS C

Mizrak, D., Ankara University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2008. The aim of this study was to investigate three non-invasive tests for assessing liver fibrosis in treatment-naïve chronic hepatitis C and to compare results with those of liver biopsy. A total of 90 individuals with chronic hepatitis C were enrolled. APRI (AST-to-platelet ratio index), FibroTest (Biopredictive SAS, Paris, France), and FIB-4 calculation were performed on the same day as the liver biopsy. APRI was calculated as AST / upper normal X 100 / platelets. FibroTest was calculated by using γ-glutamyltransferase, haptoglobin, α2-macroglobulin, bilirubin, and apolipoprotein A1. FIB-4 calculated from the formula: age X AST / (platelets X $ALT^{1/2}$). All liver biopsies were analyzed by the same pathologist, and fibrosis was assessed using the METAVIR index. No/moderate fibrosis was defined METAVIR score 0-1-2 and severe fibrosis was defined as METAVIR score of 3-4. Receiver operating characteristic (ROC) curves was used to describe and compare the performance of diagnostics value of 3 methods. According to the METAVIR score, 64.4% of samples showed no/moderate fibrosis and the remaining 35.6% of samples showed severe fibrosis. APRI scores ranged from 0.1 to 4.0, FibroTest score ranged from 0.05 to 0.95, and FIB-4 values ranged from 0.19 to 13.5. Cut-off value to enable the correct identification of samples with severe fibrosis was 0.97 with 56% sensitivity and 87% specificity for APRI, 0.44 with 90% sensitivity and 50% specificity for FibroTest, and 1.9 with 84% sensitivity and 79% specificity for FIB-4. There were no significant difference between areas under the ROC curve for FibroTest and for APRI ($p>0.05$), for FIB-4 and for APRI ($p>0.05$), for Fibrotest and for FIB-4 ($p>0.05$). The positive predictive value for extended fibrosis for APRI was 72.0%, for FibroTest 50.0% and for FIB-4 69.2%. The negative predictive value for no fibrosis and/or moderate fibrosis was 78.4%

for APRI, 90.6% for FibroTest, and 90.2% for FIB-4. Based on the results of this study, the three non-invasive tests (FibroTest, APRI and FIB4) are simple, accurate and reasonable methods for assessing the liver fibrosis in individuals with chronic hepatitis C.
Key words: HCV; liver biopsy; FibroTest; APRI; FIB-4

9. KAYNAKLAR

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 1989 April 21; 244:359-62.

2. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Brechot C, Brouwer JT, Chan SW, Chayama K, Chen DS. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. Hepatology 1994 May; 19:1321-4.

3. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. Ann Intern Med 2000 Feb 15; 132:296-305.

4. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, Ninno ED, Morabito A, Colombo M. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. Hepatology 2006 Jun; 43:1303-10.

5. Seeff LB, Hollinger FB, Alter HJ, Wright EC, Cain CMB, Buskell ZJ, Ihsak KG, Iber FL, Toro D, Samanta A, Koretz RL, Perrillo RP. Long-term mortality and morbidity of transfusion-associated non-A, non-B, and type C hepatitis: A National Heart, Lung, and Blood Institute collaborative study. Hepatology 2001 Feb; 33:455-63.

6. Zarski JP, Mc Hutchison J, Bronowicki JP, Sturm N, Garcia-Kennedy R, Hodaj E, Truta B, Wright T, Gish R. Rate of natural disease progression in patients with chronic hepatitis C. J Hepatol 2003 Mar; 38:307-14.

7. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. Hepatology 1997 Sep; 26:62S-65S.

8. Tahan V, Ozdogan O, Tozun N. Epidemiology of viral hepatitis in the Mediterranean basin. Rocz Akad Med Bialymst 2003; 48:11-17.

9. Turunc T, Sezgin Uncu H, Demiroglu YZ, Arslan H. Kan donörlerinde HBV ve HCV prevelansı. Viral Hepatit Derg 2003; 8(3):166-170.

10. Sümbül M. HCV enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve korunma. Viral Hepatit 2007. F Tabak, İ Balık ve E Tekeli Ed. Oban Maatbası 2007,s:208-219.

11. Şencan İ, Şahin İ, Kaya D, Bahtiyar Z. Yeni kurulan bir Tıp Fakültesi Hastanesinin çalışanlarında HBV ve HCV prevelansı. Viral Hepatit Derg 2003; 8(1):47-50.

12. Kadanalı A, Pirioğlu S, Özden K. Hemodiyaliz hastalarında HbsAg, AntiHbs, Anti HBc Total, Anti HbcIgM, anti HCV ve anti HAV lgG sıklığı. Viral Hepatit Derg 2004; 9(1):41-45.

13. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. J Hepatology 2008 Jan; 48:148-62.

14. Gonzalez-Peralta RP, Qian K, She JY, Davis GL, Ohno T, Mizokami M, Lau JY. Clinical implications of viral quasispecies heterogeneity in chronic hepatitis C. J Med Virol 1996 Jul; 49:242-7.

15. Farci P, Shimoda A, Coiana A, Diaz G, Peddis G, Melpolder JC, Strazzera A, Chien DY, Meroz SJ, Balestrieri A, Purcell RH, Alter HJ. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. Science 2000 Apr; 288:339-44.

16. Merican I, Sherlock S, McIntyre N, Dusheiko GM. Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. Q J Med 1993 Feb; 86:119-25.

17. Foster GR, Goldin RD, Thomas HC. Chronic hepatitis C virus infection causes a significant reduction in quality of life in the absence of cirrhosis. Hepatology 1998 Jan; 27:209-12.

18. Spiegel BM, Younossi ZM, Hays RD, Revicki D, Robbins S, Kanwal F. Impact of hepatitis C on health related quality of life: a systematic review and quantitative assessment. Hepatology 2005 Apr; 41:790-800.

19. Ware JE Jr, Bayliss MS, Mannoccchia M, Davis GL. Health-related quality of life in chronic hepatitis C: impact of disease and treatment response. Hepatology 1999 Aug; 30:550-5.

20. Barrera JM, Bruguera M, Ercilla MG, Gil C, Celis R, Gil MP, del Vale Onorato M, Rodes J, Ordinas A. Persistent hepatitis C viremia after acute self-limiting posttransfusion hepatitis C. Hepatology 1995 Mar; 21:639-44.

21. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gibble J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L, Cheung L, DiBisceglie A, Hoofnagle J, Shih JW. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. N Engl J Med 1996 Jun; 334:1691-6.

22. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 1995 Aug; 90:1250-7.

23. McCormick SE, Goodman ZD, Maydonovitch CL, Sjogren MH. Evaluation of liver histology, ALT elevation, and HCV RNA titer in

patients with chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 1996 Aug; 91:1516-22.

24. Shakil AO, Conry-Cantelina C, Alter HJ, Hayashi P, Kleiner DE, Tedeschi V, Krawczynski K, Conjeevaram HS, Sallie R, Di Bisceglie AM. Volunteer blood donors with antibody to hepatitis C virus: Clinical, biochemical, virologic, and histologic features. The Hepatitis C Studt Group. Ann Intern Med 1995 Sep; 123:330-7.

25. Bonis PA, Tong MJ, Blatt LM, Conrad A, Coriffith L. A predictive model for the development of hepatocellular carcinoma, liver failure or liver transplantation for patients presenting to clinic with chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 1999 Jun; 94:1605-12.

26. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. Lancet 1997 Mar; 349:825-32.

27. Barrett S, Goh J, Coughlan B, Ryan E, Stewart S, Cockram A, O'Keane JC, Crowe J. The natural course of hepatitis C virus infection after 22 years in a unique homogenous cohort: Spontaneous viral clearance and chronic HCV infection. Gut 2001 Sep; 49:423-30.

28. Rodger AJ, Roberts S, Lanigan A, Bowden S, Brown T, Crofts N. Assessment of long-term outcomes of community-acquired hepatitis C infection in a cohort with sera stored from 1971 to 1975. Hepatology 2000 Sep; 32:582-7.

29. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. Hepatology 2004 Apr; 39:1147-71.

30. Salomon JA, Weinstein MC, Hammitt JK, Goldie SJ. Cost-effectiveness of treatment for chronic hepatitis C infection in an evolving patient population. JAMA 2003 Jun 9; 290:228-37.

31. Wong JB, Koff RS. Watchful waiting with periodic liver biopsy versus immediate empirical therapy for histologically mild chronic hepatitis C. A cost-effectiveness analysis. Ann Intern Med 2000 Nov 7; 133:665-75.

32. Albanis E, Friedman SL. Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy. Clin Liver Dis 2001 May; 5(2):315-34.

33. Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible? N Engl J Med 2001 Feb 8; 344:452-4.

34. Albanis E, Friedman SL. Diagnosis of Hepatic Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C. Clin Liver Dis 2006 Nov; 10:821-33.

35. Gutierrez-Reyes G, Gutierrez-Ruiz MC, Kershenobich D. Liver Fibrosis and Chronic Viral Hepatitis. Arch Med Res 2007 Aug; 38:644-51.

36. Rockey DC, Bissell M. Noninvasive Measures of Liver Fibrosis. Hepatology 2006 Feb; 43:S113-20.

37. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. J Biol Chem 2000 Jan 28; 275:2247-50.

38. Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Rugge M, Wright NA, Alison MR. A significant proportion of miyelofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. Gastroenterology 2004 Apr; 126(4):955-63.

39. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity an asymptomatic chronic active hepatitis. Hepatology 1981 Sep-Oct; 1:431-5.

40. Ludwig J, Batts KP, Moyer TP, Poterucha JJ. Advances in liver biopsy diagnosis. Mayo Clin Proc 1994 Jul; 69:677-8.

41. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. Hepatology 1996 Aug; 24:289-93.

42. Brunt EM. Grading and staging in histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond. Hepatology 2000 Jan; 31:241-6.

43. Rousselet MC, Michalak S, Dupre F, Croue A, Bedossa P, Saint-Andre JP, Cales P. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. Hepatology 2005 Feb; 41:257-64.

44. Fattovich G,Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, Nevens F, Solinas A, Mura D, Brouwer JT, Thomas H, Njapoum C, Casarin C, Bonetti P, Fuschi P, Basho J, Tocco A, Bhalla A, Galassini R, Noventa F, Schalm SW, Realdi G. Morbidity and mortality in compansated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. Gastroenterology 1997 Feb; 112:463-72.

45. Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEF). Hepatology 2000 Sep; 32:477-81.

46. Wright TL. Treatment of patients with hepatitis C and cirrhosis. Hepatology 2002 Nov; 36:S185-94.

47. Arenas JI, Vargas HE. Hepatitis C virus antiviral therapy in patients with cirrhosis. Gastroenterol Clin North Am 2004 Sep; 33:549-62.

48. Rockey DC. Antifibrotic therapy in chronic liver disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2005 Feb; 3:95-107.

49. Reuben A. Just a second. Hepatology 2003; 38(5):1316-20.

50. Guido M, Rugge M. Liver biopsy sampling in chronic viral hepatitis. Semin Liver Dis 2004 Feb; 24(1):89-97.

51. Maharaj B, Maharaj RJ, Leary WP, Coopan RM, Naran AD, Pirie D, Pudifin DJ. Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver. Lancet 1986 Mar 8; 1(8480):523-5.

52. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology 2003; 38(6):1449-57.

53. Scheuer PJ, Standish RA, Dhillon AP. Scoring of chronic hepatitis. Clin Liver Dis 2002 May; 6(2):335-47.

54. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. Hepatology 1994 Jun; 19(6):1513-20.

55. METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. Hepatology 1994 Jul; 20(1 Pt 1):15-20.

56. Froehlich F, Lamy O, Fried M, Gonvers JJ. Practice and complications of liver biopsy. Results of a nationwide survey in Switzerland. Dig Dis Sci 1993 Aug; 38(8):1480-4.

57. Gilmore IT, Burroughs A, Murray-Lyon IM, Williams R, Jenkins D, Hopkins A. Indications, methods, and outcomes of percutaneous liver biopsy in England and Wales: an audit by the British Society of gastroenterology and Royal College of Physicians of London. Gut 1995 Mar; 36(3):437-41.

58. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadoni G, Bodenheimer H Jr, Bernstein D, Rizetto M, Zeuzem S, Pocnos PJ, Lin A, Ackrill AM. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. Ann Inter Med 2004 Mar 2; 140(5):346-55.

59. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL Jr, Haussinger D, Drago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman , Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2002 Sep 26; 347(13):975-82.

60. Wells RG. The role of matrix stiffness in hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. J Clin Gastroenterol 2005 April; 39(4 Suppl 2):S158-61.

61. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Ledinghen V. Prospective comparison of transient elastography, FibroTest, APRI, and liver biopsy fort he assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. Gastroenterology 2005 Feb; 128(2):343-350.

62. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier G, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. Ultrasound Med Biol 2003 Dec; 29(12):1705-13.

63. Foucher J, Castera L, Bernard PH, Adhoute X, Lharie D, Bertet J, Couzigou P, de Ledinghen V. Prevalance and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006 Apr; 18(4):411-2.

64. Castera L, Foucher J, Bertet J, Couzigou P, de Ledinghen V. FibroScan and FibroTest to assess liver fibrosis in HCV with normal aminotransferases. Hepatology 2006 Feb; 48(2):373-4.

65. Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, Antoniotti G, Benchetrit D, Cart-Lamy P, Delaporte G, Doutheau D, Klump T, Sala M, Thibaud D, Trepo E, Thabut D, Myers RP, Poynard T. A prospective assessment of the inter-laboratory variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) in patients with chronic liver disease. Comp Hepatol 2002 Dec 30; 1(1):3.

66. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers RP, Albrecht J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized rial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. Hepatology 2003 Aug; 38(2):481-92.

67. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleish JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. Hepatology 2003 Aug; 38(2):518-26.

68. Cales P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, Gallois Y, Ternisien C, Chevailler A, Lunel F. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. Hepatology 2005 Dec; 42(6):1373-81.

69. Parise ER, Oliveira AC, Figueiredo-Mendes C, Lanzoni V, Martins J, Nader H, Ferraz ML. Noninvasive serum markers in the diagnosis of structural liver damage in chronic hepatitis C virus infection. Liver Int 2006 Nov; 26(9):1095-9.

70. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, Fontaine H, Pol S. FIB-4: an Inexpensive and Accurate Marker of Fibrosis in HCV Infection. Comparison with Liver Biopsy and FibroTest. Hepatology 2007 Jul; 46(1):32-6.

71. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, S Sulkowski M, Torriani FJ, Diettrich DT, Thomas DL, Messinger D, Nelson M. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. Hepatology 2006 Jun; 43(6):1317-25.

72. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. Hepatology 2002 Oct; 36(4 Pt 1):986-92.

73. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Hepatology 2007 Feb; 45(2):297-306.

74. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, Kench J, Farrell G, McCaughan GW, Jeffrey GP. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. Clin Chem 2005 Oct; 51(10):1867-73.

75. Stauber RE, Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. World J Gastroenterol 2007 Aug; 13(32):4287-94.

76. Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hezode C, Oh E, Smith KM, Pawlotsky JM, McHutchison JG. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. J Hepatol 2004 Dec; 41(6):935-42.

77. Hanley J.A., McNeil B.J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology 1982 Apr; 143(1):29-36.

78. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. Radiology 1983 Sep; 148(3):839-43.

79. Oberti F, Valsesia E, Pilette C, Rousslet MC, Bedossa P, Aube C, Gallois Y, Rifflet H, Maiga MY, Penneau-Fontbonne D, Cales P. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. Gastroenterology 1997 Nov; 113(5):1609-16.

80. Sebastiani G, Alberti A. Non invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for iver biopsy. World J Gastroenterol 2006 Jun 21; 12(23):3682-94.

81. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. Lancet 2001 Apr 7; 357(9262):1069-75.

82. Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, Trocme C, Renversez JC, Faure P, Morel F, Zarski JP. Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. J Hepatol 2007 May; 46(5):775-82.

83. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebrec D, Zoulim F, Bourliere M, Cacoub P, Messous D, Munteanu M, de Ledinghen V. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. BMC Gastroenterology 2007 Oct 15; 7:40.

84. Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, Jenckes MW, Chander G, Ghanem KG, El-Kamary SS, Sulkowski M, Bass EB. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: A systematic review. Hepatology 2002 Nov; 36:S161-72.

85. Poynard T, Halfon P, Castera L, Le Bail B, Munteanu M, Messous D, Ratziu V, Benhamou Y, Bourliere M, De Ledinghen V. Variability of the area under the receiver operating characteristic curves in the diagnostic evaluation of liver fibrosis markers: impact of biopsy lenght and fragmentation. Aliment Pharmacol Ther 2007 Mar 15; 25(6):733-9.

86. Cales P, Ledinghen V, Halfon P, Bacg Y, Laroy V, Boursier J, Foucher J, Bourliere M, de Muret A, Sturm N, Hunault G, Oberti F. Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C. Liver International 2008 May 19; [Epub ahead of print].

87. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic Accuracy of the Aspartate Aminotransferase-to-Platelet Ratio Index for the Prediction of Hepatitis C-Related Fibrosis: A Systematic Review. Hepatology 2007 Sep; 46(3):912-21.