

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

**ПРОЦЕНА УЗРОКА АБНОРМАЛНИХ РЕЗУЛТАТА ЛАБОРАТОРИЈСКИХ
ТЕСТОВА ОШТЕЋЕЊА ЈЕТРИНЕ ФУНКЦИЈЕ КОРИШЋЕЊЕМ
МАТЕМАТИЧКОГ МОДЕЛА**

Кандидат: Нарциса Петровић- Субић

Др. Мед. , Мр. Сци., Специјалиста клинички фармаколог

Ментор: Проф. Др. Слободан М. Јанковић

Предмет: Фармакологија

УВОД

Стопа смртности чији су узрок болести јетре је у евидентном порасту у великом броју земаља. Тако је у Великој Британији у периоду од 1970. до 2010. године стопа смртности чији су узрок различита обољења јетре повећана за 400% [1]. Код особа млађих од 65 година, пораст стопе смртности која се јавља као директна последица различитих болести јетре је већи од 500%, тако да се може рећи да обољења јетре представљају пети најчешћи узрок прераног морталитета [2]. У 2012. години, у Енглеској је забележено 57682 случајева хоспитализације и 10948 смртних случајева чији су директан узрочник била различита обољења јетре [1]. Међу обољењима јетре као најчешћи узрочници смртних случајева евидентирани су: алкохолна болест јетре, неалкохолни стеатохепатитиси, вирусни хепатитиси и аутоимуне болести јетре [3]. Тип обољења јетре везан је узрасну категорију оболелих. Неалкохолна масна болест јетре се јавља у свим узрастима, а нарочито забрињава пораст преваленце ове болести у дечијем узрасту, који прати пораст преваленце гојазности међу овом старосном категоријом. С друге стране, код деце се ређе јављају болести јетре које настају као последица злоупотребе дроге и алкохола [4]. Вирусни хепатитис који настаје као последица перинаталног преноса, веома често прелази у хроничну форму, што доприноси повећању броја оболелих код одраслих. Друге болести јетре, као што су билијарна атрезија или метаболички поремећаји, су присутни готово искључиво у детињству, али прогресивна болест јетре наставља да се развија током детињства и манифестује се и у одраслом добу [5]. Обзиром да је преваленца различитих обољења јетре у порасту, али и због чињенице да ова обољења прати висока стопа смртности, у свету се оснивају различите организације које за циљ имају оптимизацију алгоритама за дијагностиковање, превенирање и терапију болести јетре, као што су “*The Lancet Commission on Liver Disease*”, “*Alcohol Health Alliance*” или “*Obesity Health Alliance*” [6].

ОШТЕЋЕЊА ЈЕТРЕ

Оштећења јетре могу се према етиологији класификовати као [7]:

- Болести јетре изазване инфективним агенсима и паразитима (вируси, бактерије, паразити)
- Болести јетре изазване токсинима (лекови, индустријски токсини, токсини из окружења, алкохол)
- Имунолошке болести јетре (аутоимуне болести јетре)
- Тумори јетре (примарни малигни тумори, метастатски малигни тумори, бенигни тумори, лезије сличне туморима)
- Наследне болести јетре (Вилсонова болест, хемохроматоза, урођене грешке метаболизма, дефицијенција алфа-1-антитрипсина).

Хепатитис је запаљенски процес јетре са појавом инфламаторних и некротичних промена хепатоцита или билијарних ћелија, који доводи до поремећаја функције јетре. Узроци хепатитиса могу бити: инфекције (вируси, бактерије, паразити), ксенобиотици (лекови, алкохол, средства злоупотребе), аутоимуне или урођене болести (Вилсонова болест, хемохроматоза). Хепатитис се може манифестовати као: акутни, хронични, фулминантни, цироза и холестатски хепатитис [8].

Болести јетре изазване инфективним агенсима

Акутни хепатитис је најчешће изазван вирусном инфекцијом (хепатотропни вируси) или ксенобиотцима (лекови, алкохол, средства злоупотребе). Акутна оштећења хепатоцита настају директним деловањем цитопатогена (лекови или токсини), или индиректним деловањем (имунолошки поремећаји). Када је реч о вирусним хепатитисима, евидентирани су следећи вируси који могу да доведу до оштећења јетре: хепатитис А вирус (*HAV*), хепатитис Б вирус (*HBV*), хепатитис Ц вирус (*HCV*), хепатитис Д вирус (*HDV*), хепатитис Е вирус (*HEV*), хепатитис Г вирус (*HGV*). Остали вируси који могу изазвати хепатитис су: цитомегаловирус (*CMV*), Епштајн-Баров вирус (*EBV*) и Херпес симплекс вирус (*HSV*) [9].

Вируси хепатитиса А и Е узрокују инфекције које се манифестују као епидемије или спорадичне инфекције. Прецизан механизам оштећења јетре није познат, али када дође до инфекције, *HAV* или *HEV* се дистрибуирају преко јетре. Инфекција *HAV*-ом

или *HEV*-ом не прелази у хроничну болест код имунокомпетентних особа. *HAV* инфекција ретко може имати пролонгирани ток или рецидив и стопа смртности је ниска ако се ради о претходно здравим особама. За *HEV* инфекције је евидентирана смртност од 30 % код трудница. Акутни хепатитис А и хепатитис Е клинички се не разликују од других облика вирусног хепатитиса. Дијагноза захтева серолошку потврду [10-11].

Акутна хепатитис Б вирусна (*HBV*) инфекција може се манифестовати као субклинички хепатитис, клинички манифестни хепатитис или акутни фулминантни хепатитис. Хронична *HBV* инфекција може се манифестовати као неактивно стање, хронични хепатитис, цироза или хепатоцелуларни карцином. Евидентирано је око 350 милиона особа инфицираних хепатитис вирусом Б у свету, од којих преко 600 000 годишње умре због болести јетре повезаних са хепатитисом Б. Преваленца *HBV* инфекције повезана је са начином трансмисије и старосном доби пацијената [12-13].

Хепатитис Д се јавља као коинфекција са *HBV*-ом или суперинфекција код особа са хроничном *HBV* инфекцијом. *HDV* користи *HBV* за сопствену репликацију и директно је токсичан за хепатоците. Коинфекција са хепатитис вирусом Д погоршава прогнозу *HBV* [14].

Хепатитис Ц је обољење јетре изазвано вирусом хепатитиса Ц. Манифестује се у облику акутног и хроничног хепатитиса. Вирус хепатитиса Ц преноси се путем крви током употребе дрога у инјекцијама, небезбедне здравствене заштите, трансфузије крви и крвних деривата. Према подацима Светске здравствене организације, 71 милион људи има хроничну хепатитис Ц инфекцију. Значајан број оних који су хронично заражени ће развити цирозу или карцином јетре. Сваке године око 399 000 људи умире од хепатитиса Ц, углавном као последица цирозе и хепатоцелуларног карцинома [13].

Хронични хепатитис је запаљење јетре које траје дуже од шест месеци. Може прогредирати у цирозу. Према етиологији, разликују се следећи типови хроничног хепатитиса: хронични вирусни хепатитис (*HBV*, *HCV*), аутоимуни хепатитис, хепатитис изазван лековима, хепатитис у наследним болестима (хемохроматоза, Вилсонова болест, дефицијенција алфа-1-антитрипсина), примарна билијарна цироза, примарни склерозирајући холангитис и неалкохолни стеатохепатитис [16-17].

Имунолошке болести јетре

Имунолошке болести јетре су: аутоимуни хепатитис (*AIH*), примарна билијарна цироза (ПБЦ) и примарни склерозирајући холангитис (*PSC*)

Аутоимуни хепатитис (*AIH*) може се манифестовати као: хронична, акутна и асимтоматска болест. Хронични *AIH* је прогресивно инфламаторно обољења јетре са потенцијално прогресивним исходом, које може довести до акутног отказивања јетре. *AIH* се може дијагностиковати након искључења других болести јетре и у присуству типичних имунолошких, клиничких, хистолошких и биохемијских налаза. Већина пацијената има симптоме хроничне болести који могу довести и до декомпензоване цирозе; неки пацијенти имају слику акутног, ретко фулминантног хепатитиса са жутицом и повишеним нивоима аминотрансфераза, док су неки потпуно асимптоматични [18].

Примарна билијарна цироза је прогресивна аутоимуна болест коју карактерише деструкција интрахепатичних жучних канала. Чешће се јавља код жена средње животне доби [19].

Примарни склерозирајући холангитис је и холестатска и аутоимуна болест јетре. Карактерише је инфламација и прогресивна фиброза билијарног система које прогредирају до цирозе и тешког оштећења јетре. Чешћа је код млађих мушкараца [20].

Болести јетре изазване токсинима

У оквиру болести јетре које настају као последица дејства токсина разликујемо алкохолну болест јетре и болести јетре изазване ксенобиотицима (лековима, хемијским агенсима и другим страним супстанцама).

Алкохолна болест јетре (*ALD*) је главни узрок трансплантације јетре и водећи узрок mortalитета међу болестима јетре; она обухвата широк спектар оштећења, од стеатозе до стеатохепатитиса и цирозе. Иако већина конзумента алкохола развија стеатозу, код пацијената код којих су присутни фактори ризика (пол, генетски, метаболички и нутритивни фактори) долази до прогресије оштећења јетре. Алкохолна цироза се јавља код око 10% дугогодишњих алкохоличара. Биопсија јетре је златни стандард за процену озбиљности хепатостеатозе, но ултразвучна дијагностика као и употреба неинвазивних модела, показала се као врло осетљива за процену степена

стеатозе и фиброзе. Серумски параметри су широко коришћени за процену тежине *ALD*-а: неки параметри су повезани са функционалношћу јетре (нпр. албумин и билирубин), неки са интегритетом хепатоцита (нпр. трансаминазе), а неки са оксидативним стресом (гама-глутамил трансфераза [21-23]).

Познато је да преко 600 медицинских препарата и хемијских токсина, али и све већи број лековитих биљних препарата, могу изазвати различита оштећења јетре. Сматра се да различита обољења јетре чине 3-9% свих нежељених реакција на лекове. Спектар хепатотоксичности изазване лековима обухвата готово све облике болести јетре, и креће се од оштећења која личе на вирусни хепатитис до карцинома. Код огромне већина лекова који изазивају оштећење јетре до истог долази на непредвидљив начин и само код осетљивих појединаца (идиосинкразија или преосетљивост). Оштећења могу потицати од токсичних метаболита, који или делују на ћелијске протеине, доводећи на тај начин до некрозе (метаболичка идиосинкразија), или формирају антигенске (лек-хаптен) комплексе који стимулишу Т-лимфоците, доводећи тако до имунолошке реакције која изазива хепатичко оштећење (преосетљивост или алергија на лек). Веома мало медицинских препарата који су тренутно у примени изазива оштећење јетре као резултат својствене токсичности или токсичности једног или више њихових метаболита (предвидљива или својствена хепатотоксичност) [24]. Изузетак је парацетамол, који у случајевима предозирања може довести до центрилобуларне некрозе јетре, која настаје као последица накупљања токсичног метаболита N-ацетил-пара-бензохинона [25-26]. Ксенобиотици који изазивају оштећење јетре дају широк спектар лезија које подсећају на многа друга обољења јетре. Корисно је направити поделу акутних хепатоцелуларних оштећења на она која су углавном цитотоксична (хепатоцелуларна некроза), холестатска (повезана са прекинутим током жучи), или мешовита оштећења, са компонентама како хепатоцелуларне некрозе тако и холестазае [27].

Наследне болести јетре

У оквиру наследних болести јетре разликујемо: хемокроматозу, Вилсонову болест и урођену дефицијенцију алфа-1-антитрипсина.

Наследна хемокроматоза је аутозомно-рецесивна болест која се карактерише повећаном ресорпцијом гвожђа и његовим депоновањем у паренхимским органима,

укључујући и јетру. Узрок је мутација *HFE* гена који кодира *HFE* протеин, мембрански протеин који регулише ресорпцију гвожђа тако што утиче на интеракцију између рецептора и трансферина. Клиничке манифестације болести су: поремећај функције јетре, дијабетес мелитус и хиперпигментација коже [28].

Вилсонова болест је аутозомно-рецесивна болест метаболизма бакра. Настаје као последица мутације гена који кодира транспортни протеин бакар/АТП-азу, који омогућава транспорт бакра кроз ћелијске мембране, пре свега кроз мембрану хепатоцита. Услед овог поремећаја долази до смањења билијарне екскреције бакра и немогућности уградње бакра у церулоплазмин. Бакар се депонује у базалним ганглијама мозга, у јетри и у рожњачи ока. Код одраслих, болест развија неуропсихијатријску форму. У дечијем узрасту се јавља хепатична форма која може да буде у облику хроничног или фулминантног хепатитиса [29].

Урођена дефицијенција алфа-1-антитрипсина је наследна аутозомно-доминантна болест која доводи до недостатка алфа-1-антитрипсина. Алфа-1-антитрипсин (*AAT*) је инхибитор протеаза и припада групи инхибитора серин протеаза. *AAT* инхибира протеазе, међу њима и еластазе. Овај протеин има функцију да штити доње делове респираторног тракта од протеолитичког деловања еластазе (ослобађа се из активираних неутрофила). Најчесталије мутације које доводе до недостатка овог протеина у плазми су дефицијентне изоформе *Z* и *S*. Ове изоформе протеина се нормално синтетишу, али у ендоплазматичном ретикулуму молекули *AAT*-а међусобно полимеризују, што доводи до смањене секреције из хепатоцита и стварања инклузија, тако да је секреција протеина из хепатоцита значајно снижена. Последица задржавања протеина у хепатоцитима је снижена концентрација *AAT*-а у серуму (алфа-1-антитрипсин дефицијенција), а полимери *AAT*-а делују хепатотоксично [30]. Клинички се код одраслих много чешће манифестује емфизем који настаје због деструкције алвеола, док су поремећаји функције јетре ретки. У педијатријској популацији су повишене трансминазе, жутица је продужена и у серуму је смањена концентрација *AAT*-а [31].

Неалкохолна масна болест јетре (*NAFLD*) је стање које карактерише хепатична стеатоза у одсуству историје значајне употребе алкохола или друге познате болести јетре. Њена прогресивна форма назива се неалкохолним стеатохепатитисом (*NASH*) [32]. Неалкохолни стеатохепатитис се карактерише хистолошким налазом сличним као код алкохолних болести јетре (стеатоза, инфламација паренхима јетре, различити

степен фиброзе) [33]. Гојазност, дијабетес мелитус и хиперлипидемија су фактори ризика за настанак *NAFLD*-а [32]. Биопсија јетре је златни стандард за потврду дијагнозе, степена инфламације и фиброзе, као и за праћење тока болести и ефикасности лечења. Методе засноване на ултразвучном прегледу као и математички модели и калкулатори су неинвазивне алтернативе биопсији. У 15 до 20% случајева *NASH* прогредира у цирозу јетре. Хепатоцелуларни карцином и цироза као компликације *NASH*-а су све чешће индикације за трансплантацију јетре [33].

Цироза је хронична и прогресивна болест јетре. Основне промене које карактеришу цирозу су: хепатоцелуларна некроза, фиброза (стварање метаболички неактивног везивног ткива), трансформације ткива јетре у чворове (нодули). Формирање чворова у јетри утиче на циркулацију, повећава се притисак у порталној вени и јавља се портална хипертензија. Цироза представља терминалну фазу хроничног хепатитиса. Најчешћи узрочници су: прељезани акутни вирусни хепатитис (*HBV*, *HCV*), алкохолизам, метаболичке и билијарне болести, аутоимуни хепатитис, лекови/токсини, наследне болести јетре (дефицир алфа-1-антитрипсина, хемохроматоза, Вилсонова болест) и непознати узрочници [34].

Тумори јетре

Тумори јетре могу бити примарни и секундарни (метастатски). По понашању могу бити: бенигни (хепатоцелуларни аденом, туморске лезије, хемангиом, тумори холангиоцелуларног порекла) и малигни (хепатоцелуларни карцином, холангиокарцином, примарни лимфом јетре, ангиосарком, метастатски тумори јетре). Метастазе на јетри су чешће него примарни тумори јетре [35].

Примарни карцином јетре који потиче од хепатоцита је хепатоцелуларни карцином, док из ћелија епитела жучних канала настаје холангиоцелуларни карцином. Хепатохолангиоцелуларни карцином је мешовити тип примарног карцинома јетре. Узрочници примарног карцинома јетре су: цироза јетре, хепатитиси Б и Ц, токсична оштећења јетре, наследне метаболичке болести јетре и други [36].

ДРУГЕ БОЛЕСТИ ПОВЕЗАНЕ СА ПОРЕМЕЋАЈЕМ СЕРУМСКИХ ПАРАМЕТАРА ЈЕТРИНЕ ФУНКЦИЈЕ

Срчане болести

Повишене вредности аминотрансфераза у серуму нису специфичне за хепатобилијарне поремећаје. Такође се срећу код пацијената са озбиљним оштећењем срчаног и скелетног мишића. Код пацијената са инфарктом миокарда чешће је повећан ниво *AST*-а у односу на ниво *ALT*-а. Приметна повећања *AST*-а и *ALT*-а (>5000 IU/L) код пацијената са озбиљним срчаним болестима вероватно настају као последица исхемије јетре са центрилобуларном некрозом [37]. Све већи број клиничких студија се бави праћењем нивоа трансaminaза код болести срца [38-40]. Вредности серумских параметара јетрине функције су директно повезани са краткорочном и дугорочном прогнозом срчаних обољења код пацијената [37].

Гама-глутамил трансфераза (*GGT*) је присутна у ћелијским мембранама многих ткива. Мања активност *GGT*-а је откривена у панкреасу, јетри, слезини, срцу, мозгу и семеним везикулама. Објављене су клиничке студије у којима се гама-глутамил трансфераза користи као нови биомаркер за предвиђање инфаркта миокарда, možданог удара и морталитета који настаје као последица срчаних болести [41-43].

Вредности лабораторијских тестова јетре добијени током студије *Ripley TL* и сарадника [44] су употребљени у мултиваријабилном моделу за предвиђање дугорочног исхода болести. Показало се да највећу вредност имају повишене вредности укупног билирубина, које су независно од осталих параметара удружене са морбидитетом и морталитетом. Објављене су студије које доводе у везу и друге серумске параметре са предикцијом морбидитета и морталитета код пацијената са кардиоваскуларним обољењима.

Мишићна оштећења

Вредности *AST*-а и *ALT*-а код болести мишића су типично мање од 300 IU/L, али су забележени и случајеви где су вредности *AST*-а и *ALT*-а код пацијената са болестима мишића биле знатно изнад 300 IU/L. Осим у случајевима акутне рабдомиолизе, вредности ретко достижу опсег примећен код пацијената са акутним хепатоцелуларним поремећајима. Серумске активности *AST*-а и, повремено, *ALT*-а могу да се повећају након енергичног вежбања, уз ниво *AST*-а већи од 1000 IU/L. У

таквим случајевима однос *AST:ALT* је иницијално већи од 3:1, али се због краћег времена полуелиминације *AST*-а брзо изједначава на 1:1 [45]. У објављеним клиничким студијама евидентирана је висока корелација између нивоа креатин киназе и серумских трансминаза. Серумске трансминазе су повишене у 80% пацијената код којих су повишене и вредности креатин киназе, док је код 85% таквих пацијената нормализација вредности креатин киназе праћена истовременом нормализацијом вредности серумских трансминаза. [46].

Хипертиреозидизам

Хипертиреозидизам је болест коју карактерише прекомерно стварање тиреоидних хормона и то је једна од најчешћих ендокриних болести. Озбиљни поремећај јетрине функције у склопу хипертиреозе није чест, али тиреотоксикоза може довести до озбиљних дисфункција јетре, које су праћене жутицом, акутном инсуфицијенцијом јетре па чак и смрћу. Случајеви хипертиреозидизма праћени озбиљним поремећајима функције јетре се често објављују као дијагностички и терапијски изазов и зато третман хипертиреозе са дисфункцијом јетре захтева посебну пажњу и правовремену реакцију [45].

ДИЈАГНОСТИКА УЗРОКА ОШТЕЋЕЊА ЈЕТРЕ

Узроци болести јетре могу бити инфективни агенси, као и различити генетски, аутоимуни или метаболички поремећаји. Постављање дијагнозе захтева сет тестова и метода које треба спровести са циљем да се утврди оштећење и узрок болести. Пацијенти са симптомима као што је слабост, мучнина, повишена температура, жутица, бол у пределу јетре захтевају медицинску обраду [47].

Анамнеза и физички преглед

Лабораторијским и радиолошким испитивањима функције јетре предходи анамнестички преглед са посебним освртом на факторе ризика (употреба дрога или алкохола, породична анамнеза, трансфузија крви) и детаљан физички преглед који укључује и преглед абдомена, срца, плућа, коже, неуролошки преглед [47].

Лабораторијски тестови обухватају проверу вредности серумских параметара:

- *AST, ALT, GGT*, алкална фосфатаза, билирубин (коњуговани и некоњуговани), серумски протеини и албумин
- вредности фактора коагулације, *INR* (смањена продукција у случајевима хроничних болести јетре доводи до поремећаја коагулације) [48]
- тест комплетне крвне слике (укупан број леукоцита и еритроцита може бити смањен у одмаклим болестима јетре када може доћи до супресије коштане сржи) [47]
- панкреасна липаза (болести јетре могу бити удружене са болестима панкреаса) [49]
- вредност урее, креатинина, електролита (болести јетре могу бити праћене поремећајем функције бубрега) [47]
- вредност амонијака у крви (код пацијената са хепатичном енцефалопатијом повишене вредности амонијака то потврђују) [50]
- присуство аутоантитела у крви (у случају аутоимуног оштећења јетре)
- вирусолошка испитивања у случајевима вирусног хепатитиса [47].

Снимања и радиолошка испитивања се такође користе за откривање и праћење болести јетре. Она укључују:

- Ултразвучни преглед абдомена – ултразвучни таласи се широко користе као приступачна и неинвазивна метода која је посебно корисна код калкулоза у жучним путевима и других патолошких стања. Овом техником се може сагледати крвоток у систему порталне вене, што је значајно за дијагнозу опструкција и порталне хипертензије [51].
- *CT* – компјутеризована (аксијална) томографија – омогућава детаљнији преглед ткива јетре
- *MR* – магнетна резонанција - даје јасније податке о оштећењу јетриног ткива [52]
- *ERCP* – ендоскопска ретроградна холедопанкреатографија– ендоскопска метода прегледа жучних и панкреасних канала, која се користи код дијагнозе тумора, калкулоза жучних путева, опструкција, цисти [53].

Биопсија јетре је инвазивна дијагностичка метода која је индикована код неких болести за потврду дијагнозе, праћење терапије или прогнозу исхода. [54]

Коришћење лабораторијских испитивања је важна компонента процене пацијената са обољењем јетре. Све чешће, пораст ензима јетре откривен при рутинским скрининг тестовима пружа први доказ обољења јетре код иначе асимптоматичних пацијената. Код пацијената са претходно препознатом дисфункцијом јетре, лабораторијска испитивања могу да помогну у утврђивању етиологије обољења јетре и пруже вредне прогностичке информације. Ретко се деси да један тест пружи довољно информација за постављање дијагнозе или процену озбиљности обољења јетре. Комбинација тестова као што су серумски билирубин, албумин, аминотрансферазе и алкална фосфатаза се понекад називају "панел јетре". Ови тестови, у комбинацији са протромбинским временом могу да пруже почетне податке о етиологији и озбиљности обољења јетре. Код оштећења јетре изазваних лековима, случајеви кад је *ALT* више од двоструко изнад нормалне горње границе, а однос *ALT*-а и алкалне фосфатазе (*AP*) већи од 5, се сматрају примарно хепатоцелуларним оштећењима. Они случајеви где је *AP* више од двоструко изнад нормалне горње границе, а однос *ALT:AP* мањи од 2, се сматрају примарно холестатским оштећењима. Ако су *ALT* и *AP* више од двоструко изнад нормалне горње границе, а однос *ALT:AP* буде већи од 2 а мањи од 5, поремећај се сматра мешовитим, хепатоцелуларним/холестатским [55].

Једна од могућих класификација лабораторијских тестова: [25]

- Испитивања за откривање оштећења хепатоцита: ови тестови обухватају сва испитивања ензима, од којих су најкориснији аминотрансферазе и алкална фосфатаза.
- Испитивања биосинтетског капацитета јетре: ова група тестова обухвата факторе коагулације (протромбинско време/интернационални нормализовани однос (*INR*)), серумски албумин, церулоплазмин, феритин, алфа-1-антитрипсин и липопротеине. Ове супстанце се синтетишу у јетри и преносе у крвоток.
- Испитивања капацитета јетре да преноси органске ањјоне и метаболише лекове: у оквиру ове категорије тестова, најкориснији је серумски билирубин. Остала испитивања која процењују клиренс органских једињења из крвотока путем јетре укључују зелени индоцијанин, жучне киселине, кофеин, лидокаин и издисајне тестове. Ови тестови се ретко користе у клиничкој медицини али могу имати ограничену улогу у неким истраживачким студијама.
- Испитивања за откривање фиброзе јетре: ова категорија укључује патентиране тестове као што су *FibroSure*®, *FibroTest*® и *Enhanced Liver Fibrosis*® тест. Ова

испитивања се базирају на неколико биохемијских параметара, који се математички комбинују ради процене степена фиброзе.

- Испитивања која одражавају хронично запаљење или измењену имунорегулацију: она обухватају специфична аутоантитела и имуноглобулине, протеине које стварају Б лимфоцити, а не хепатоцити. Нека од ових испитивања су важна у дијагностиковању аутоимуних обољења јетре као што су аутоимуни хепатитис и примарна билијарна цироза.

Тестови за откривање оштећења хепатоцита (испитивања ензима у серуму)

Јетра садржи хиљаде ензима, од којих су неки присутни у серуму у веома малим концентрацијама. Већина ових ензима има непознату функцију у серуму. Дистрибуирају се у плазми и интерстицијалној течности и имају карактеристична полувремена елиминације, која се углавном мере данима. Мало се зна о њиховом катаболизму и клиренсу. Сматра се да пораст активности за дати ензим у серуму примарно одражава његову повећану брзину уласка у серум из оштећених ћелија јетре. Постоје две категорије ензима који указују на одређене болести јетре: ензими чији раст у серуму одражава генерализовано оштећење хепатоцита и ензими чији раст у серуму примарно одражава холестазу [57].

Ензими који показују присуство хепатоцелуларне некрозе

Аминотрансферазе

Серумске аминотрансферазе (раније зване трансминазе) су осетљиви показатељи оштећења ћелија јетре и од највећег су значаја у препознавању акутних хепатоцелуларних болести као што је хепатитис. Активности *ALT*-а, раније серумске глутаминско-пирувинске трансминазе, и аспартат аминотрансферазе (*AST*), раније серумске глутаминске-оксалоацетатне трансминазе, у серуму су најчешће одређивани параметри обољења јетре [56].

Обе аминотрансферазе се налазе у серуму у ниској концентрацији. Порекло ових ензима у серуму није са сигурношћу утврђено. Највероватније је да потичу из ткива богатих *ALT*-ом и *AST*-ом. *AST* се налази у јетри, срчаном мишићу, скелетном мишићу, бубрезима, мозгу, панкреасу, плућима, леукоцитима и еритроцитима. *ALT* је

присутна у највећој концентрацији у јетри. У ткивима, *ALT* је присутна у цитосолу, док се *AST* налази у цитосолу и митохондријама. Цитосолни и митохондријски облици *AST*-а су прави изоензими и имунолошки се разликују. Око 80% активности *AST*-а у људској јетри је митохондријски изоензим, док већи део *AST*-а у серуму здравих особа представља цитосолни изоензима. Ни *ALT* ни *AST* немају изоензиме који су специфични за одређено ткиво. Изоензимска анализа серумске *ALT* или *AST* је ретко корисна. Пацијенти са акутним инфарктом миокарда и хроничном алкохолном болешћу јетре могу бити изузеци. Знатна повећања митохондријске *AST* се јављају у серуму после обимне некрозе ткива. Због тога, процена митохондријске *AST* се посматра као тачан тест за откривање инфаркта миокарда, али није у широкој употреби. Ниво митохондријске *AST* је такође повишен код хроничне али не и акутне алкохолне болести јетре. Нивои *AST*-а и *ALT*-а су једнако повишени код већине хепатобилијарних поремећаја, где је ниво *ALT*-а углавном нешто виши од нивоа *AST*-а. *ALT* је осетљивији и специфичнији ензим за испитивање оштећења јетре у односу на *AST* и уобичајено се користи у епидемиолошким студијама за документовање инциденце вирусног хепатитиса [58].

Нивои аминотрансфераза су повишени у свим поремећајима јетре. Аминотрансферазе су повишене код свих врста акутног и хроничног хепатитиса, цирозе јетре, акутне и хроничне срчане инсуфицијенције, различитих инфекција, метастатског карцинома, грануломатозне и алкохолне болести јетре. Највећи раст се јавља у поремећајима повезаним са обимним хепатоцелуларним оштећењем, као што је хепатитис изазван лековима или вирусима, акутна исхемија и излагање хепатотоксинима. Вредности су уобичајено у опсегу од неколико стотина до неколико хиљада, иако вредности у опсегу од 10000 до 15000 IU/L могу да се јаве код ретких пацијената са вирусним хепатитисом. Нивои аминотрансфераза ретко иду изнад 500 IU/L код опструктивне жутице, вирусног хепатитиса код пацијената са синдромом стечене имунодефицијенције и цирозе [27].

Раст вредности *ALT*-а и *AST*-а у серуму је везан за оштећење ћелија богатих аминотрансферазама или за промене пропустљивости ћелијске мембране. Активност било ког ензима јетре у серуму одражава брзину ослобађања ензима из јетре у крвоток и клиренс ензима из крвотока. Активност *AST*-а и *ALT*-а у ћелијама јетре је преко 1000 пута већа од активности у серуму, тако да се, како ћелије јетре умиру, активност аминотрансфераза повећава у плазми. Акутно хепатоцелуларно оштећење које се деси

у кратком временском периоду, као што је некроза због тровања ацетаминофеном, доведиће до брзог повећања серумског нивоа ензима како ензимска активност умирућих ћелија улази у крвоток. Код пацијената са тровањем ацетаминофеном или исхемијским оштећењем, највиши ниво *AST*-а премашује ниво *ALT*-а у првих 24 сата. Када више нема даљег оштећења ћелија, серумска активност и *AST*-а и *ALT*-а ће се вратити у нормални опсег. Брзина смањења нивоа ензима зависи од клиренса из крвотока, на сличан начин као код елиминације лекова [60].

ALT и *AST* се катаболишу у јетри што доводи до полувремена елиминације у плазми од 47 ± 10 сати за *ALT* и 17 ± 5 сати за *AST*. Претпоставља се да се ензими катаболишу у ћелијама у ретикулоендотелијалном систему. Јетрини синусоиди су главно место за клиренс *AST*-а. Аминотрансферазе скоро да и нису присутне у урину и само мала количина је присутна у жучи. Стога је мало вероватно да билијарно или уринарно излучивање игра улогу у клиренсу *ALT*-а или *AST*-а [56].

Хронично оштећење јетре доводи до значајне променљивости брзине ослобађања ензима у крвоток. Многе студије су показале слабу корелацију између озбиљности некрозе или запаљења и нивоа *ALT*-а у серуму. Пошто је ниво *ALT*-а у плазми под утицајем како брзине ослобађања ензима у плазму тако и брзине клиренса *ALT*-а из плазме, оба параметра могу потенцијално да утичу на ниво *ALT*-а у плазми. Нажалост, има мало информација о утицају хроничне болести јетре на плазма клиренс аминотрансфераза. Ниво *ALT*-а у серуму варира значајно током времена код пацијената са хроничним вирусним хепатитисом, претпоставља се као резултат променљивих нивоа запаљења и/или некрозе у јетри. Ниво *ALT* код хроничног вирусног хепатитиса ретко прелази 500 IU/L. Иако је ниво *ALT*-а променљив код пацијената са хроничним хепатитисом, нема доследног и предвидивог опадања серумског нивоа, као што се може приметити након тровања ацетаминофеном или у случају исхемије. Ове произвољне флукуације у вредностима *AST*-а и *ALT*-а се лако могу разликовати од обимне некрозе настале због оштећења изазваног лековима или исхемијског оштећења што помаже у разликовању краткорочног акутног оштећења од оног које је више хронично [61].

Ензими за откривање холестазе

Алкална фосфатаза

Алкална фосфатаза је металоензим цинка који катализује хидролизу великог броја органских фосфатних естера. Алкалне фосфатазе различитих ткива су прави изоензими јер катализују исту реакцију, али се разликују по својим физичко-хемијским особинама. Већина изоензима алкалне фосфатазе од клиничког значаја (ензим јетре/костију/бубрега, такође познат као ткивно неспецифична алкална фосфатаза) је кодирана једним геном. Ови ензими имају исте имунолошке особине и редослед аминокиселина. Њихове јединствене физичко-хемијске особине су одређене различитим бочним ланцима угљених хидрата и липида, који се додају посттранслационом модификацијом. Други ген кодира цревну алкалну фосфатазу; трећи ген кодира плаценталну алкалну фосфатазу и изоензим који се ствара код неких карцинома, Реганов изоензим; а четврти ген кодира изоензим налик на плаценту [62].

Алкалне фосфатазе се налазе у мембрани коштаних остеобласта, каналикуларним мембранама хепатоцита, ћелијама слузокоже танког црева, проксималном тубулу бубрега, плаценти и белим крвним зрнцима. У костима је алкална фосфатаза задужена за калцификацију. Серумска алкална фосфатаза се код нормалних одраслих особа примарно добија из три извора: јетре, костију и интестиналног тракта. Јетра и кости су главни извори. Полувреме елиминације је 7 дана, а клиренс из серума не зависи од функционалног капацитета јетре или пролазности жучних путева. Места деградације су непозната [56].

У старосној групи од 15 до 50 година, средња активност серумске алкалне фосфатазе је нешто виша код мушкараца него код жена. Насупрот томе, међу особама старијим од 60 година, ензимска активност код жена је иста или већа него код мушкараца, а оба пола имају нешто више вредности него млађе одрасле особе. Код деце, активност алкалне фосфатазе у серуму је значајно повећана код оба пола, у доброј је корелацији са стопом раста костију и зависи од прилива ензима из коштаног ткива. Серумска алкална фосфатаза код здравих мушких адолесцената може достићи средње нивое који су три пута већи него код здравих одраслих особа, без указивања на присуство хепатобилијарне болести. Ензимска активност у серуму може се дуплирати у нормалној поодмаклој трудноћи, првенствено због прилива плаценталне фосфатазе [59]. Иако се повећање активности алкалне фосфатазе у серуму може видети у

различитим хепатобилијарним болестима, слична повећања се виде и код поремећаја костију које карактерише повећана активност остеобласта, а нормално се јавља током раста и трудноће. Интестинални тракт (повремено) и бубрези (ретко) могу бити извор повишених нивоа ензима у серуму [63-64].

Хепатобилијарна болест води до повећане активности алкалне фосфатазе у серуму која је праћена приметним повећањем активности ензима јетре [56].

Основни дијагностички значај одређивања вредности серумске алкалне фосфатазе је у препознавању холестатских поремећаја. Код око 75% пацијената са продуженом холестазом вредности алкалне фосфатазе су увећане четири или више пута. Таква повећања јављају се како код екстрахепатичких тако и код интрахепатичких опструкција. У основи нема разлике између вредности нађених у опструктивној жутици због карцинома, камена у холедохусу, склерозантног холангитиса или опструкције жучних путева. Вредности се слично повећавају код пацијената са интрахепатичком холестазом, код хепатитиса изазваног лековима, примарне билијарне цирозе, одбацивања трансплантиране јетре и стеатонекрозе изазване алкохолом. Вредности су такође веома повећане код хепатобилијарних компликација код пацијената са *AIDS*-ом (као што је нпр. примарни склерозантни холангитис због инфекције цитомегаловирусом или туберкулоза са хепатичким компликацијама) [65].

Гама-глутамилтрансфераза

Гама-глутамилтрансфераза (*GGT*) катализује трансфер гама-глутамил групе из гама-глутамил пептида као што је глутатион, у друге пептиде и L-амино киселине. *GGT* је присутан у ћелијским мембранама многих ткива, укључујући дукталну страну у проксималном тубулу бубрега, као и у цревима и пасеменику. Мања активност *GGT*-а је откривена у панкреасу, јетри, слезини, срцу, мозгу и семеним везикулама У јетри, *GGT* се налази на билијарним епителним ћелијама и на апексној мембрани хепатоцита. Иако је активност *GGT*-а у јетри релативно ниска у поређењу са бубрезима и другим ткивима, јетра је претежни извор ензима у серуму. Вредности ензима у серуму су углавном упоредиве за мушкарце и жене, иако су неки истраживачи открили више вредности овог ензима код мушкараца [66]. Деца изнад 4 године старости имају

серумске вредности здравих одраслих особа. Активност ензима у серуму не повећава се током нормалне трудноће. Нормални опсег је 0-30 IU/L [56].

Повећана активност *GGT*-а у серуму се евидентира код болести јетре, билијарног тракта и панкреаса. Абнормалне вредности се јављају у приближно истом спектру хепатобилијарних болести као и за алкалну фосфатазу, леуцин аминопептидазу и 5'-нуклеотидазу. Механизам који је у основи повећања *GGT*-а код хепатобилијарних болести остаје неодређен, али солубилизација и ослобађање *GGT*-а везаног за мембрану је један од могућих механизма. Алтернативно томе, смрт ћелија билијарног епитела је друга могућност [66].

Високе вредности *GGT*-а у серуму су такође нађене код пацијената који узимају лекове као што су барбитурати или фенитоин или код оних који узимају велике количине алкохола [67], чак и када су друге вредности ензима и билирубина у серуму нормалне. Изоловано повећање нивоа *GGT*-а, или повећање нивоа *GGT*-а које није у сразмери са другим ензимима као што је алкална фосфатаза или *ALT*, посебно код пацијената без симптома, може бити показатељ велике конзумације алкохола. Индуковање хепатичког микрозомалног *GGT*-а путем алкохола и других лекова може бити узрок ових запажања. Ипак, ово није једино објашњење, пошто ни повећани нивои *GGT*-а у серуму, нити историја недавног узимања алкохола, нису у корелацији са активношћу хепатичког *GGT*-а код пацијената са алкохолном болешћу јетре која је доказана биопсијом [67]. Активности алкалне фосфатазе и хепатичког *GGT*-а се слично повећавају код пацијената са алкохоличарским хепатитисом [68]. Са изузетком специфичности које *GGT* има приликом тестирања пацијената на конзумирање алкохола, мерење серумског *GGT*-а нуди мало предности над испитивањем аминотрансфераза и алкалне фосфатазе у процени пацијената са суспектном болешћу јетре. У проспективној студији са 1040 неселектованих болничких пацијената, 139 пацијената (13,4%) је имало повећану активност *GGT*-а у серуму. Само 32% ових пацијената су имали хепатобилијарну болест; осталих 68% имало је друге болести које нису укључивале јетру [69]. Клиничка вредност *GGT*-а лежи у његовој употреби у приписивању специфичности органа повећаној вредности алкалне фосфатазе, јер активност *GGT*-а није повећана код пацијената са обољењем костију.

Испитивања биосинтетског капацитета јетре

Албумин, који је квантитативно најважнији протеин плазме, се синтетише искључиво у јетри. Нормалне вредности у серуму варирају од 3,5 до 4,5 g/dL (35-45 g/L). Просечна одрасла особа има око 300-500 g албумина распоређеног у телесним течностима, и синтетише око 15 g/дневно (200 mg/kg/дан). Брзина синтетисања може се дуплирати у условима у којима се јавља брз губитак албумина или смањење концентрације албумина у серуму због разређивања, као што је случај приликом брзе акумулације асцитне течности [59]. Албумин има дуго полувреме елиминације од око 20 дана. Приближно 4% се распадне сваког дана, али мало се зна о месту распадања. Ниво у серуму у било ком тренутку одражава брзину синтезе и распадања и волумен дистрибуције. Синтеза албумина је регулисана променама у ухрањености, осмотском притиску, системском запаљењу и нивоима хормона [65]. Супстанце које стимулишу синтезу албумина доводе до тога да се индивидуални рибозоми везују за *iRNK* албумина ради формирања полизома, који синтетишу албумин ефикасније. Аминокиселине као што су триптофан, фенилаланин, глутамин и лизин функционишу на овај начин и повећавају *in vitro* синтезу албумина. Кортикостероиди и тиреоидни хормони стимулишу синтезу албумина повећањем концентрације *iRNK* албумина [59,65]. *In vitro*, алкохол смањује синтезу албумина тако што инхибира стварање полизома [68], док запаљење смањује синтезу албумина кроз инхибиторне утицаје интерлеукина 1 и фактора некрозе тумора [59,65].

Нивои серумског албумина теже нормали код пацијената са болешћу јетре као што је акутни вирусни хепатитис, хепатотоксичност везана за лекове и опструктивна жутица. Нивои албумина мањи од 3 g/dL повезани са хепатитисом требало би да изазову сумњу у хронични хепатитис. Хипоалбуминемија је чешћа међу особама са хроничним поремећајима јетре, као што је цироза и углавном одражава озбиљно оштећење јетре и смањену синтезу албумина. Изузетак су пацијенти са асцитесом, код којих синтеза може бити нормална или чак повећана, али су нивои у серуму ниски због повећаног волумена дистрибуције. Велики унос алкохола, хронично запаљење и недостатак протеина у исхрани могу инхибирати синтезу албумина [68].

Протромбинско време

Згрушавање је крајњи резултат сложеног низа ензимских реакција. Јетра је главно место синтезе протеина за згрушавање крви (фактора коагулације): фактор I (фибриноген), фактор II (протромбин), фактор III (ткивни тромбoplastин), фактор IV, фактор V (проакцелерин), фактор VI (акцеларин), фактор VII (проконвертин), фактор VIII (антихемофилијски глобулин А), фактор IX (антихемофилијски глобулин Б), фактор X (Стјуарт-Проверов фактор), фактор XI (антихемофилијски фактор Ц), фактор XII (Хагеманов фактор) и фактор XIII (фактор стабилизације фибрина), прекаликреин и кининоген велике молекулске масе [70-71].

Хепатичка синтеза биолошки активних облика фактора II, VII, IX и X захтева витамин К за гама-карбоксилацију остатака глутаминске киселине у овим протеинима. Одсуство витамина К, уношење антагониста витамина К или присуство одређених хепатичких поремећаја (хепатоцелуларни карцином) инхибира карбоксилацију која зависи од витамина К и омогућава ослобађање дес-гама-карбокси (абнормалног) протромбина у серум [72-73]. Здраве особе немају дес-гама-карбокси протромбин у серуму. Нивои дес-гама-карбокси протромбина у плазми нису у корелацији са нивоима алфа-фетопротеина код пацијената са утврђеним хепатоцелуларним карциномом, али ова два теста имају комбиновану осетљивост од 85%. Ниво дес-гама-карбокси протромбина може се вратити у нормалу уз одстрањивање хепатоцелуларног карцинома или лечење истог, а поново ће се повећати приликом поновног јављања тумора [74].

Испитивања способности јетре да преноси органске анјоне и метаболише органска једињења (билирубин)

Билирубин је тетрапиролски пигмент који се добија разлагањем феропротопорфирина IX (хема), интегралног дела протеина који садржи хем. Дневно се у организму произведе око 250-300 mg билирубина, од чега 70-80% настаје као последица распадања хемоглобина у еритроцитима који старе. Остатак долази из прерано уништених еритроидних ћелија у коштаном сржи и промета хемопротеина у ткивима у целом телу [59,65]. У првој фази долази до стварања билирубина у ретикулоендотелијалним ћелијама, првенствено у слезини и јетри. У првој реакцији, коју катализује микрозомни ензим хем оксигеназа, оксидативно се цепа алфа-мост

порфиринаске групе, отвара се прстен у хему и производе се еквимоларне количине биливердина и угљен-моноксида. У оквиру друге реакције, коју катализује цитосолни ензим биливердин редуктаза, долази до редукције централног метиленског моста биливердина, услед чега се биливердин претвара у билирубин [55].

Билирубин који је створен у ретикулоендотелијалним ћелијама је растворљив у мастима и скоро нерастворљив у води. Како би се транспортовао у крв, мора се растворити, што се постиже реверзибилним, нековалентним везивањем за албумин. Билирубин се затим транспортује у јетру, где њега, али не и албумин, преузимају хепатоцити помоћу посебног носача трансмембранског транспорта. Иако је идентификовано неколико потенцијалних транспортера, ниједан још увек није клониран. У хепатоцитима, билирубин се спаја са глутатион-С-трансферазама (раније познате као лигандини). Билирубин се затим раствара путем коњугације са глукуронском киселином; стварају се билирубин моноглукуронид и диглукуронид, оба под називом билирубини са директним дејством. Коњугација глукуронске киселине са билирубином се катализује путем ензимског система у ендоплазматичном ретикулуму хепатоцита који преноси глукуронску киселину из уридин-дифосфат глукуронске киселине до ацилних група бочних ланаца пропионске киселине билирубина. Коњугати билирубина се затим активно преносе из хепатоцита у каналикуларну жуч транспортом који зависи од аденозин трифосфата што је корак који ограничава брзину хепатичког излучивања билирубина. У овом процесу посредује протеин у каналикуларној мембрани жучи који се зове протеин вишеструке резистенције на лекове. Коњуговани билирубини се одводе из жучних путева у дванаестопалачно црево и преноси се дистално кроз црева. У дисталном илеуму и дебелом цреву, коњуговани билирубини се хидролизују у некоњугован билирубин помоћу бактеријских бета-глукуронидаза. Некоњуговани билирубин се редукује помоћу нормалних цревних бактерија како би формирао групу безбојних тетрапиурола који се зову уробилиногени. Приближно 80-90% ових производа се излучује у измет, било неизмењени или оксидовани у наранџасте деривате који се зову уробилини. Преосталих 10-20% уробилиногена се пасивно апсорбује, улази у крв порталне вене и поново се излучује путем јетре. Мали део, углавном мање од 3 mg/dL, избегава хепатичко преузимање, филтрира се кроз бубрежни гломерул и излучује се урином. Бубрежно излучивање уробилиногена је компликовано, делом јер је уробилиноген слаба киселина која се пасивно разлива преко бубрежног тубула када је у свом недисосованом облику [75].

Билирубин који је нормално присутан у серуму представља равнотежу између инпута из производње и отклањања пигмента путем јетре. Хипербилирубинемија може стога бити резултат бројних фактора: прекомерног стварања билирубина; поремећаја преузимања, коњугације или лучења билирубина; регургитације некоњугованог или коњугованог билирубина из оштећених хепатоцита или жучних путева. Повећање некоњугованог билирубина у серуму је резултат прекомерне производње или поремећаја преузимања или коњугације, док је повећање коњугованог билирубина изазвано смањеним излучивањем [56].

Појава некоњуговане хипербилирубинемije настаје услед превелике производње билирубина, смањеног исцрпљивања или коњугације јетре или као последица оба фактора. Присутна је код генетског дефекта УДП-глукуронилтрансферазе (Гилбертов синдром) [76], Криглер-Најаровог синдрома, реапсорпције великих хематома и неефикасне еритропоезе [56]. Високе вредности коњугованог билирубина у серуму се могу наћи код пацијената са вирусним хепатитисом, као и у случајевима хепатоцелуларног исхемијског или токсичног оштећења јетре. Хипербилирубинемija код акутног вирусног хепатитиса је директно пропорционална степену хистолошког оштећења хепатоцита и дужини трајања болести [77]. Паренхималне болести јетре или непотпуна екстрахепатична опструкција билијарних канала дају нижу вредност билирубина у серуму од оних које се јављају код малигне опструкције заједничког жучног канала, али ниво може да остане нормалан код инфилтративних болести попут тумора и гранулома [56]. Код здравих, асимптоматских трудница укупне и слободне концентрације билирубина биле су значајно ниже током сва три триместра, а у другом и трећем триместру су забележене смањене вредности коњугованог билирубина [78].

Моделовање у медицини

Предиктивни модели

Модел клиничког предвиђања може да се примени у различитим случајевима, као што је тестирање високо ризичних појединаца на асимптоматске болести, предвиђање морбидитета и морталитета, доношење одлука о терапији, као и праћење терапијског учинка. Моделирање предвиђања је сложен процес који захтева пажљиве статистичке анализе и компетентну клиничку процену. Нема јасних препорука о

развоју модела и валидацији али су кључни следећи процеси: начин одабира података, управљање варијаблима, фомирање модела и провера (валидација) модела. У клиничкој пракси се могу користити модели који поседују адекватну предиктивност. Модели се баве комбиновањем већег броја параметара са циљем да се дефинише релативни утицај појединачних варијабли. Клинички подаци засновани на доказима који су евидентирани кроз рандомизована контролисана испитивања, мета-анализе и прегледе објављених радова из клиничке области су извори потребних података [79].

Модели морају бити специфични како би обезбедили добру процену активности, али и релативно једноставни за кориснике. Модели који су комплексни за коришћење, одузимају превише времена или су скупи, не налазе широку примену у клиничкој пракси [79].

Иако тренутно нема консензуса о идеалном начину изградње модела предвиђања, Група за развој стратегије- *Prognosis Research Strategy (PROGRESS)*, предложила је низ мера за побољшање квалитета и подстицај развоја модела [80-81].

Процес формирања модела у медицини (медицински моделинг) се састоји из 5 фаза: (1) циљ дефинисања модела, (2) селекција података, (3) управљање варијаблима, (4) формирање модела и (5) провера модела и интерна и екстерна валидација. У оквиру прве фазе потребно је дефинисати циљ будућег медицинског модела. Циљ медицинског моделирања је развој тачног и корисног модела са већим бројем варијабли за клиничку примену. У следећој фази је потребно извршити селекцију улазних података за развој модела, при чему треба нагласити да не постоје општа правила за процену квалитета података, већ је потребно трагати за најприкладнијим скупом података. У оквиру треће фазе треба извршити процену и одабир најважнијих варијабли које ће поседовати задовољавајућу сензитивност. Укључивање више од 10 варијабли/питања може смањити ефикасност, предиктивност и погодност модела предвиђања. Након тога следи фаза у којој се врши формирање дефинисаног модела, при чему су доступне различите стратегије са статистичким алатима које омогућавају развој коначног модела предвиђања. Коначно, за саму имплементацију модела обично је потребна веб или компјутерска платформа. У супротном, у каснијој фази, истраживачи могу претворити модел у *user-friendly* формат категоризацијом неких варијабли, ако то не ремети предиктивни капацитет модела [79-81].

Неке од статистичких мера за евалуацију модела су [82]: (1) сензитивност и специфичност (*sensitivity and specificity*), (2) дискриминација (*ROC/AUC*) (*discrimination (ROC/AUC)*), (3) предиктивне вредности (позитивне и негативне), (4) коефицијент вероватноће (позитиван и негативан), (5) статистичка значајност (*p* вредност), (6) магнитуда удруживања (β коефицијент), (7) *Odds Ratio (OR)*.

Апликације на вебу или смартфону могу бити добри путеви за доступност модела широкој клиничкој пракси [82].

Рачунарски модели

Рачунарски модели имају примену у клиничкој пракси. Могу бити корисни за боље разумевање настанка болести, за процену клиничке ефикасности и економичности постојеће дијагностике, а користе се и током процеса развоја лекова и развоја нових дијагностичких метода. Омогућавају тумачење сложених података о процесима у организму.

Статистички модели су веома коришћени алати који су неопходни у дијагностици, и често се користе за повезивање клиничких тестова са исходима болести. Један пример је дијагностички калкулатор за Сјогренов синдром, системску аутоимуноу болест, који се заснива на клиничким и лабораторијским варијаблама [83].

Поред статистичких модела, и други типови модела су коришћени за повезивање клиничких мерења директно са резултатима болести. На пример, *ProstAsure Index* користи вештачку анализу неуронских мрежа за анализу серумских параметара у циљу постављања дијагнозе карцинома простате [84]. *Schneider* и сарадници су у студији [49] користили логички систем како би дијагностиковали туморе плућа на основу серумских маркера.

Други пример је група модела вероватноће, који су погодни за истраживање утицаја случајне варијације у датом биолошком систему. Модел специфицира биолошке процесе, укључујући и вероватноће које се дешавају у процесу. Пример оваквог модела је ензимска реакција у којој реагенси имају одређену вероватноћу да реагују са ензимом уместо фиксне брзине одигравања реакције [86].

Бајесовске мреже су модели који комбинују коришћење откривених података уз интегрирање биолошких знања у тумачење сложених процеса [51]. Бајесовске мреже се

могу користити за опис приближних односа између веза који представљају биолошке ентитете, као што су нивои *iRNK*, протеина или метаболита.

Имплементација модела

Најбоља стратегија за имплементацију модела зависи од врсте модела који се гради. За статистичке моделе, доступан је велики број пакета. За Бајесовске моделе, најчешће коришћен пакет је *Baies Net* за *MATLAB*, али постоје и друге опције. За *ODE* моделе постоји много различитих окружења за моделирање. Код биохемијских модела који се често се раде као *ODE*, истраживачи су се сложили са стандардним начинима формулисања својих модела, названих *SBML* и *CELLML*. Више општих окружења за моделовање као што су *Oktave*, *MATLAB*, *FreeMAT* и други омогућавају већу флексибилност у формулацији модела, али су такође сложеније за рад и захтевају вештине програмирања [88].

КАЛКУЛАТОРИ КОЈИ СЕ КОРИСТЕ У ДИЈАГНОСТИЦИ ОБОЉЕЊА ЈЕТРЕ

Код пацијената са идентификованом дисфункцијом јетре, процена узрока абнормалних тестова функције јетре обично је први корак ка препознавању етиологије болести јетре и утврђивања прогнозе. Код асимптоматских пацијената повишење јетрених ензима често је први доказ болести јетре [89]. Међутим, недостатак специфичности може ограничити дијагностичку вредност изолованих тестова функције јетре. Алкална фосфатаза се може повећати код поремећаја костију и јетре, а аминотрансферазе се могу повећати код многих болести срца, скелетних мишића као и код обољења јетре. Током хроничних болести, као што је алкохолна болест јетре, на серумски албумин могу утицати многи фактори који нису директно повезани са главним узрочником болести (нпр. неухрањеност, малапсорпција, хронична запаљења) [89-90]. Повећане серумске вредности гама-глутамил трансферазе могу одражавати болести јетре, билијарног тракта и панкреаса [91]. Продужено протромбинско време није специфично за обољења јетре и види се у различитим урођеним недостацима фактора коагулације, као и у стеченим условима. Тестови функције јетре такође имају недовољну сензитивност и код одређених болести јетре као што је цироза, рана фаза може бити присутна без абнормалности тестова функције јетре [92]. Једноставни тестови функције јетре не пружају довољно података и не могу дати специфичну

дијагнозу. Комбинација тестова и образаца абнормалности може да прикаже општу категорију дисфункције јетре [93-95].

Модел за крајње болести јетре (*Model for End-Stage Liver Disease- MELD*) је калкулатор који користи лабораторијске параметре (креатинин, билирубин, *INR*) како би пројектовао стање хроничне болести јетре у датом тренутку, као и потребу за трансплантацијом. Педијатријски модел за крајње болести јетре (*The pediatric end-stage liver disease (PELD) model*) представља модификовану формулу за децу до 12 година старости. Оригинална верзија је израђена на клиници Мајо, али има неколико адаптација [96-98].

FibroTest[®], *Fibrosure*[®] и побољшана фиброза јетре су математичке формуле које се користе за оцену фиброзе јетре. [99-101].

Израђен је модел где се вредности *ALT*-а, *AST*-а и креатин киназе користе за дијагностичке, диференцијалне дијагностичке и прогностичке сврхе код пацијената са неким облицима мишићне дистрофије, као што је Дишенова мишићна дистрофија [102].

Такође, у студији *Allen LA* и сарадника [103] вредности лабораторијских тестова функције јетре су коришћени у мултиваријабилном моделу за предвиђање дуготрајног исхода болести. Међутим, ниједан досадашњи калкулатор није развијен тако да омогући откривање етиолошког узрочника оштећења функције јетре.

Процена и праћење фиброзе и цирозе јетре су се традиционално обављале биопсијом јетре. Међутим, током последњих 20 година постало је очигледно да је овај "златни стандард" несавршен. У тражењу нових решења направљени су неинвазивни калкулатори, формуле и визуелне методе. Основне предности ових начина процене су боља толеранција, безбедност за пацијента, и могућност понављања. Већина ових метода је значајно јефтинија од поступка биопсије јетре. Сходно томе, њихова употреба расте, а у неким земљама број изведених биопсија, бар за рутинску процена хепатитиса Б и Ц, нагло је опао. И поред контроверзних ставова, има доказа да би неинвазивне методе могле бити једнако добре као биопсија јетре. Нови експериментални маркери и технике приказа могли би да донесу драматичне промене у дијагнози обољења јетре у блиској будућности [99-100].

Серумски параметри који се користе у форми калкулатора су ензими или друге молекули који се стварају у јетри или у другим ткивима и везани су за биохуморалне промене у процесу фиброзе и цирозе:

- *AST/ALT* однос, који се изражава кроз *De Ritis* индекс [104-105]
- *APRI* индекс, за чију калкулацију су потребни *AST* и број тромбоцита. Однос *AST*-а и броја тромбоцита је један од једноставнијих дијагностичких калкулатора, који се рачуна према следећој формули: $APRI = [AST \text{ вредност} / 40 / \text{број тромбоцита} (10^9/L)] \times 100$. Користи се за процену фиброзе код хепатитис Ц вирусне инфекције и неалкохолног стеатохепатитиса [106-107].
- *The Fibrosis-4 (Fib-4) Index -4*, у чију калкулацију улазе следећи параметри: *AST*, *ALT*, узраст и број тромбоцита. Примењује се за процену степена фиброзе код хепатитис Б вирусне инфекције и хепатитис Ц вирусне инфекције [108-110].
- *FibroTest®*, где се комбинује следећих пет параметара: алфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, хаптоглобин, гама-глутамилтрансфераза и билирубин. Развијен је и валидиран за процену хроничне хепатитис Ц вирусне инфекције [111-112].
- *PGA* и *PGAA* индекс (комбинација протромбинског времена (*PT*), гама-глутамил трансферазе (*GGT*), нивоа аполипопротеина А1 (*Apo-A1*) и алфа-2 макроглобулина (*A2M*)), нивоа серумске хијалуронске киселине (*HA*) [113]. *PGA* и *PGAA* индекс користе следеће тестове: *PT* (специфични тест за озбиљну болест јетре), *GGT* (осетљив тест алкохолне болести јетре), *Apo-A1* и *A2M* (тест за фиброзу јетре) у скали 0-4. *PGA* индекс се креће од 0 до 12. Када је $PGA \geq 2$, вероватноћа цирозе је 0%, а вероватноћа нормалне јетре или минималних промена 83%. Уколико је $PGA \geq 9$, вероватноћа нормалне јетре или минималних промена је 0%, а вероватноћа цирозе је 86%. *PGA* индекс може бити корисно за клиничаре опште праксе у идентификацији пацијената са високим ризиком за тешку алкохолну болест јетре [114].

Детаљнији приказ неких од наведених тестова укључујући податке за њихову сензитивност и специфичност је приказан у Табели 1.

Табела 1. Дијагностичка тачност утврђених серумских маркера [101].

Тест	Параметри	Прогноза	Сензитивност	Специфичност	AUROC
APRI	AST, број тромбоцита	Значајна фиброза	81	55	0.77
		Цироза	77	75	0.84
FIB-4	AST, број тромбоцита, ALT, узраст	Значајна фиброза	64	68	0.74
		Цироза	90	58	0.87
Fibrotest	алфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, хаптоглобин, GGT и билирубин	Значајна фиброза	92	38	0.79
		Цироза	83	76	0.86
Форнсов индекс	број тромбоцита, узраст, GGT, холестерол	Значајна фиброза	88	52	0.76
		Цироза	98	27	0.87
Hepascore	Билирубин, GGT, хијалуронан, алфа-2-макроглобулин, узраст, пол	Значајна фиброза	-	-	0.75
		Цироза	65	86	0.92
FibroMeter	Број тромбоцита, PT, AST, алфа-2-макроглобулин	Значајна фиброза	66	79	0.79
		Цироза	72	86	0.89
HA	хијалуронан	Значајна фиброза	69	81	0.82
		Цироза	62	87	0.90

Остали калкулатори који се користе за процену функције јетре у појединим суспектним болестима су:

- Мадријева дискриминативна функција за алкохолни хепатитис. У калкулацију ове функције су урачунати вредности протромбинског времена (пацијента и контроле) и вредности билирубина. Резултати изнад 32 указују на лошу прогнозу и да овим пацијентима може помоћи терапија кортикостероидима.
- Глазгов индекс алкохолног хепатитиса За израчунавање овог индекса су потребне вредности протромбинског времена, билирубина и податак о старости пацијента. Високи индекс указује на лошу прогнозу са могућим леталним исходом [115].
- Калкулатор за процену Вилсонове болести се израчунава на основу следећих података: присуство *Kayser-Fleischer* прстенова, присуство неуролошких

симптоми, ниво серумског церулоплазмина, ниво бакра у јетри, ниво барка у урину, генетска анализа [29].

Процена степена фиброзе методама снимања

Друге методе и технике које се користе у процени стања и степена оштећења јетре су:

- Магнетна резонанција (*MR*) је метода која се рутински користи и може да буде: конвенционална магнетна резонанција, *MR* еластографија, *T1* мапирање јетре [116].
- Компјутеризована томографија (*CT*) са техникама као што су: Префузиона *CT* или Фибро *CT* [117].
- Ултразвучна дијагностика (*УЗ*) која може да буде: Конвенционални *УЗ*, Контрастни *УЗ*, Еластографија, *Real-time* еластографија, *TE*, *SSWE*, *ARFI* [116].

НЕРЕШЕНИ ПРОБЛЕМИ У ДИЈАГНОСТИЦИ УЗРОКА ОШТЕЋЕЊА ЈЕТРЕ

Болест јетре се развија тихо, не мора бити знакова или симптома све док се не развију компликације или портна хипертензија. У овој касној, често претерминалној фази, тестови функција јетре- билирубин, албумин, протромбински време (*INR*) и број тромбоцита могу бити абнормални. У болестима јетре праћеним некрозом и запаљењем ензими су повишени, док код апоптозних обољења, укључујући масне инфилтрације јетре (алкохолне или неалкохолне), ензими јетре могу бити нормални или повишени. Лабораторијски тестови јетрине функције проверавају се рутински и у примарној и секундарној здравственој заштити са циљем (1) искључивања болести јетре, (2) за праћење потенцијалних штетних ефеката лекова на јетру, или (3) у склопу испитивања општег стања пацијента [118]. Ови тестови, међутим, често имају резултат чији је клинички значај нејасан. У многим случајевима постоји недовољна повезаност између симптома и вероватноће обољења јетре [119]. Честа су накнадна испитивања серумских параметара јетрине функције код иначе асимптоматских појединаца, а већина пацијената упућених у болницу са абнормалним тестовима јетре нема доказа о значајној болести јетре [6]. Тако је у току 2016. године у Универзитетску болницу у Бирмингему стигло 130849 захтева за тестирање функције јетре, а резултати су показали да је код чак 38636 налаза пронађена најмање једна вредност неког од параметара функције јетре која је била изван референтног опсега. Слично, у студији

Donnan PT, et al [121] која је спроведена у Шкотској је показано да су за период од 10 година тестови функције јетре рађени код 25% популације старије од 16 година, при чему је око трећина испитаника имала најмање једну абнормалну вредност. Иако абнормалне вредности *AST*-а и *ALT*-а имају висок ниво предикције на обољење јетре ($HR=4,2$), стопа детекције је била изузетно ниска, а само код 3,9% особа са абнормалном вредношћу дијагностикована је значајна болест јетре у року од 5 година од теста.

Лабораторијска испитивања имају важну улогу у процени озбиљности обољења јетре, као што је то случај при коришћењу протромбинског времена за идентификовање акутне инсуфицијенције јетре код пацијената са акутним обољењем или оштећењем јетре. Код хроничних обољења, као што је алкохолна болест јетре, уобичајена испитивања као што је одређивање вредности серумског албумина нису довољно специфична, јер поред оштећења функције јетре, повишене вредности серумског албумина могу бити последица потхрањености, малапсорпције или неког хроничног запаљења. Лабораторијским тестовима често недостаје специфичност, што може да ограничи њихову примену при постављању дијагнозе. Повишене вредности алкалне фосфатазе јављају се код болести јетре, али и болести костију. Повишене вредности трансаминаза евидентирају се код различитих обољења јетре, али и код кардиоваскуларних болести и код оштећења скелетних мишића. Добијене вредности ензима јетре нису у корелацији са степеном фиброзе или степеном оштећења метаболичке функције јетре, па тако пацијенти са цирозом могу бити без абнормалних вредности јетриних тестова [6].

Постоји слаба корелација између обима некрозе ћелија јетре и раста нивоа трансаминаза у серуму код хроничних болести јетре. Слично томе, апсолутни раст нивоа трансаминаза је од мале вредности у предвиђању исхода акутних хепатоцелуларних поремећаја. Брза смањења нивоа аминотрансферазе у серуму су углавном знак опоравка од болести, али могу бити и лош прогностички знак код акутне инсуфицијенције јетре. Повећана активност трансаминаза је међу првим лабораторијским абнормалностима које се откривају у раним фазама вирусног хепатитиса. Код пацијената са жутицом због хепатитиса, раст нивоа серумског билирубина углавном заостаје за повећањем нивоа трансаминаза за око 1 недељу. Стога, нивои трансаминаза често опадају како се повећава ниво билирубина. Нивои трансаминаза стабилно опадају током опоравка од вирусног хепатитиса. Секундарна

повећања нивоа трансаминаза или упоран раст могу указати на поновно јављање акутног хепатитиса или развој хроничног активног хепатитиса [58, 59, 61].

Однос *AST:ALT* може бити од помоћи за препознавање алкохолне болести јетре. Ако је *AST* мањи од 400 IU/L и ако је однос *AST:ALT* преко 2, онда то указује на алкохолну болест јетре [68]. Увећан однос примарно одражава ниску активност *ALT*-а у серуму код пацијената са алкохолном болешћу јетре. Ово је секундарно у односу на недостатак пиридоксал 5'-фосфата код пацијената са алкохолном болешћу јетре. Синтеза *ALT*-а у јетри захтева пиридоксал 5'-фосфат више него синтеза *AST*-а. Измењен однос *AST:ALT* у серуму чини се да одражава измењене односе у јетри. Повећање вредности *ALT*-а и *AST*-а у серуму које је мање од очекиваног код алкохолне болести јетре не може се објаснити само кроз призму смањених концентрацијама у јетри. Ово постаје очигледно кад пацијент са алкохолном болешћу јетре има истовремено и срчану инсуфицијенцију, вирусни хепатитис или хепатотоксичност изазвану лековима, нарочито парацетамолом. У таквим ситуацијама, нивои *AST*-а и *ALT*-а у серуму могу да скоче и до више хиљада 400 IU/L. Упркос упечатљивом расту, однос *AST:ALT* остаје повећан и типичан за алкохолну болест јетре [56].

Повишене вредности трансаминаза у серуму нису специфичне за хепатобилијарне поремећаје. Такође се срећу код пацијената са озбиљним оштећењем срчаног и скелетног мишића. Ниво *AST*-а је чешће повећан код пацијената са инфарктом миокарда него ниво *ALT*-а. Приметна повећања *AST*-а и *ALT*-а (>5000 IU/L) код пацијената са озбиљним срчаним болестима вероватно настају као последица исхемије јетре са центрилобуларном некрозом [37]. Вредности *AST*-а и *ALT*-а код болести мишића су мање од 300 IU/L. Осим у случајевима акутне рабдомиолизе, вредности трансаминаза ретко достижу опсег примећен код пацијената са акутним хепатоцелуларним поремећајима [45]. Сем тога, нивои трансаминаза могу бити лажно повишени или снижени под неким околностима. Лекови као што је еритромицин [121] и парааминосалицилна киселина [122] могу да дају лажно повећане вредности трансаминаза ако се користе старији колориметријски тестови. Супротно томе, ниске вредности *AST*-а могу да се јаве код пацијената са уремијом [123].

Алкалне фосфатазе се могу наћи у мембрани коштаных остеобласта, каналикуларним мембранама хепатоцита, ћелијама слузокоже танког црева, проксималном тубулу бубрега, плаценти и белим крвним зрнцима. Мања повећања активности алкалних фосфата, до три пута већа од горње границе, су неспецифична и

могу се јавити код свих врста поремећаја јетре (укључујући вирусни хепатитис, хронични хепатитис, цирозу и инфилтрирајуће болести јетре), али и код конгестивне болести срца [65]. Умерена повећања нивоа алкалне фосфатазе хепатичког порекла могу се јавити у поремећајима који не укључују директно јетру, као што су Хоџкинова болест, мијелоидна метаплазија, конгестивна срчана инсуфицијенција, абдоминалне инфекције и остеомијелитис. Неке породице такође могу имати повећане нивое серумске алкалне фосфатазе који су генетског порекла [123-125].

Албумин, који је квантитативно најважнији протеин плазме, се синтетише искључиво у јетри. Хипоалбуминемија није специфична за болест јетре и може се јавити код недостатка протеина у исхрани из било ког разлога, као што је ентеропатија са губитком протеина, хронична инфекција или нефротски синдром [65].

Продужено протромбинско време није специфично за болести јетре и среће се код различитих урођених недостатака фактора коагулације и у стеченим стањима, укључујући уношење лекова који утичу на протромбински комплекс. Када су претходно наведени услови искључени, продужено протромбинско време може бити последица било хиповитаминозе К – која се среће код пацијената са продуженом опструктивном жутицом, стеаторејом, недостатком у исхрани или узимањем антибиотика који мењају интестиналну флору, било лоше искоришћености витамина К због болести паренхима јетре [72-74].

Укупни ниво серумског билирубина није осетљив показатељ дисфункције јетре и може погрешно да одрази степен оштећења јетре. Хипербилирубинемија може проћи неоткривена у случајевима умереног до озбиљног оштећења јетреног паренхима или делимично или кратко опструираниг холедохуса. Овај недостатак осетљивости је делом објашњен праћењем промена које се дешавају када се инфузије некоњугованог билирубина примене код здравих особа и код пацијената са некомпликованом хемоллизом. Ова запажања сугеришу да је капацитет људске јетре да уклони билирубин из серума пре појаве хипербилирубинемије најмање двоструко већи од дневног оптерећења пигментом. Концентрација билирубина у серуму може понекад да се пролазно смањи уз присуство супстанци као што су салицилати, сулфонамиди или слободне масне киселине у серуму, које ометају везивање билирубина за албумин у плазми и појачавају трансфер пигмента у ткива [56,75,77,78]. Насупрот томе, повећање концентрације албумина у серуму може изазвати привремени трансфер билирубина из ткива у крвоток [77].

ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

А: Главни циљеви

Израда и анализа математичког модела за процену узрока абнормалних лабораторијских тестова оштећења јетрине функције

Б: Радна хипотеза испитивања

1. Модел за процену узрока абнормалних вредности тестова функције јетре који буде израђен у овој студији ће на валидационој групи пацијената показати сензитивност већу од 80% и специфичност већу од 70%.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

ВРСТА СТУДИЈЕ

Испитивање узрока абнормалних резултата лабораторијских тестова оштећења функције јетре коришћењем математичког модела. Модел је пробабилистичког карактера, где су улазни параметри уношени у виду дистрибуције највероватнијих вредности са унапред одређеним карактеристикама. Излази из модела су добијени на основу статистичке анализе великог броја (више од 1000) појединачних резултата модела добијених случајним узорковањем вредности улазних варијабили.

Модел абнормалних тестова функције јетре за одређену етиологију оштећења јетре добијен је из дистрибуције стварних вредности преузетих из медицинске литературе о пацијентима чија је етиологија оштећења јетре доказана поузданим дијагностичким тестовима (златни стандарди за сваку специфичну дијагнозу). Спроведено је свеобухватно и систематско претраживање литературе у *MEDLINE* бази података о абнормалним серумским параметрима функције јетре. Резултати претраге укључивали су 5867 публикација из категорије клиничких испитивања, серија случајева или студија случаја. Модел је заснован на насумично изабраном узорку од 1100 публикација чији су резултати додатно пондерисани према величини узорка пацијената. Излазне варијабле модела су добијене на основу анализе великог броја (више од 1000) резултата појединачних модела добијених случајним узорковањем вредности улазних варијабли (*bootstrapping*). Улазне варијабле су: серумске вредности аланин-аминотрансферазе (И/Л), аспартат-аминотрансферазе (И/Л), билирубина (mmol/L), алкалне фосфатазе (И/Л), гама-глутамил трансферазе (И/Л) и албумина (g/L), као и протромбинско време по *Quicku*), подаци о дуготрајном узимању алкохола, интравенском уносу лекова или дрога, трансфузији крви и деривата крви, присуству гојазности, дијабетеса, хиперлипидемије, интензивном физичком напору, сниженом нивоу тиреостимулишућег хормона и употреби лекова и препарата на бази биљака.

Модел даје излаз у облику највероватнијег етиолошког оштећења јетре или дијагнозе рангиране вероватноћом узрочности: акутни хепатитис, хронични хепатитиси, стеатохепатитиси, неалкохолни стеатохепатитиси, урођене и стечене болести депоновања, алкохолна болест јетре, аутоимуне болети јетре, метаболичке

болести, токсични и медикаментозни хепатитиси, миопатије, срчане болести, хипертиреоидизам.

Модел функционише по принципу подударности степена позитивности параметара клиничког стања болесника који има лезију јетре са степеном у коме су такве промене параметара описане у научној медицинској литератури. Параметри клиничког стања се вреднују бинарно (1- има значајне промене и 0- нема значајне промене), као и вредности параметара у оквиру одређеног описаног клиничког ентитета (1- описана је значајна промена, 0- није описана значајна промена). У зависности од тога колики проценат од укупног броја публикованих студија, које описују одређену промену параметра, је утврдио да се параметар мења и обрнуто, тј. да ли прелази одређени процентуални праг (позитивног или негативног налаза), том параметру се додељује вредност 1 (преко прага позитивних вредности), 0 (преко прага негативних вредности) или се уопште не додељује. Најзад, комбинација вредности појединачних параметара болесника се пореди са оствареном комбинацијом вредности параметара описаних у литератури за одређену дијагнозу, па модел даје резултат да клиничка слика одговара одређеној дијагнози, тј. указује на дијагнозу која се највише слаже са клиничком сликом болесника. Модел је сачињен у програму *Microsoft Excel*, верзија 2007, уз употребу Булових оператора, функција "*if-than*" и других општих функција тог програма.

После постављања модела, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на узорку пацијената са оштећењем јетре чија је етиологија установљена златним стандардом дијагностике (биопсија или друго) у оквиру ретроспективне, опсервационе, пресечне (cross-section) студије.

ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

Модел се односио на пацијенте оба пола, старости од 18 до 65 година година.

Укључујући критеријуми:

1. Пацијенти са абнормалним вредностима тестова функције јетре код којих је постављена дефинитивна дијагноза узрока абнормалних вредности на отпусној листи и/или на извештају одговарајућег специјалисте (група са утврђеним узроком);

2. Пацијенти са абнормалним вредностима тестова функције јетре код којих није постављена дефинитивна дијагноза узрока абнормалних вредности на отпусној листи и/или на извештају одговарајућег специјалисте (група без утврђеног узрока);

Искључујући критеријуми:

1. Пацијенти са некомплетном медицинском документацијом код којих се не могу проценити вредности улазних варијабли у модел;
2. Пацијенти са нормалним вредностима тестова функције јетре
3. Пацијенти млађи од 18 година
4. Труднице и жене у лактацији
5. Пацијенти који нису потписали информативни пристанак

УЗОРКОВАЊЕ

У оквиру модела вршено је узорковање вредности улазних варијабли по принципу генерисања случајних бројева.

Пацијенти су укључени у валидациону групу по принципу „згодног“ узорка, с обзиром да због ограничених ресурса истраживача није могуће изабрати прост или кластер случајан узорак. Међутим, узорак је био консекутиван, тј. сви пацијенти који су били третирани на месту истраживања током времена испитивања били су укључени у студију. Студија валидације модела је спроведена од 1. септембра 2015 до 28. фебруара 2016. године на Војномедицинској академији у Београду. Подаци су сакупљани из медицинске документације. Анонимност коришћених података обезбеђена је протоколом и процедурама студије. Пацијенти су били укључени у валидациону групу по принципу "згодног" узорка, јер због ограничених ресурса истраживача није било могуће изабрати једноставни или кластер случајни узорак. Студију је одобрио Стручни одбор здравствене институције у којој је спроведена студија, а студија је спроведена у складу са смерницама Хелсиншке декларације.

ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ

Улазне варијабле које су мерене у студији: серумске вредности аланин-аминотрансферазе *ALT* (U/L) и аспартат-аминотрансферазе *AST* (U/L), серумски билирубин (mmol/L), алкална фосфатаза (U/L), гама-глутамилтрансфераза (U/L), серумске вредности албумина (g/L), протромбинско време по *Quicki*, дуготрајно узимање алкохола, интравенски унос лекова или дрога, трансфузија крви и деривата крви, гојазност, дијабетес, хиперлипидемија, употреба лекова и препарата на бази биљака, снижен ниво *TSH*, интензиван физички напор.

Излазне варијабле су највероватнији узроци, односно дијагнозе, поређани по вероватноћи узрочности: акутни хепатитис, хронични хепатитиси, стеатохепатитиси, неалкохолни стеатохепатитиси, урођене и стечене болести депоновања, алкохолна болест јетре, аутоимуне болести јетре, метаболичке болести, токсични и медикаментозни хепатитиси, миопатије, срчане болести, хипертиреозидизам.

СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Пошто се провера овог модела спроводи као одређивање његове сензитивности и специфичности, величина групе се израчунава на основу жељене снаге студије, вероватноће грешке првог типа, претпостављене сензитивности или специфичности и граница поверења за претпостављени вредност (нивоа и ширине). У овом случају жељена снага студије је 80%, вероватноћа грешке првог типа (алфа) је 0.05, претпостављена вредност сензитивности је 80%, ниво граница поверења $1.96 * SE$, а ширина интервала поверења $\pm 10\%$. На основу ових параметара, уз коришћење *Hulley* таблица (12) излази да је потребна величина узорка пацијената са абнормалним вредностима тестова функције јетре и познатим узроком 61 пацијент. У групи пацијената са абнормалним вредностима тестова функције јетре и непознатим узроком, код којих је очекивана вредност сензитивности 70%, уз исте остале параметре потребан је 81 пацијент.

СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Вредности излазних варијабли су обрађиване статистички, уз употребу дескриптивне статистике (средња вредност, стандардна девијација, медијана и опсег). Схематски приказ за одређивање сензитивности и специфичности модела дат је у Табели 2.

Табела 2: Схематски приказ за одређивање сензитивности и специфичности модела

		Утврђен узрок абнормалних вредности функције јетре		Укупно
		Да	Не	
Модел указује на узрок абнормалних вредности тестова јетрене функције	Да	а	б	а + б
	Не	ц	д	ц + д
Укупно		а + ц	б + д	а + б + ц + д

Прорачун је вршен према следећим формулама:

- Сензитивност = $a/(a+c) = 731/809 = 90\%$
- Специфичност = $d/(b+d) = 1500/1770 = 85\%$
- Однос могућности (*likelihood ratio LR*) за позитиван исход теста = $OM^+ = \text{сенз}/(1-\text{спец}) = 90\%/15\% = 6$
- Однос могућности (*likelihood ratio LR*) за негативан исход теста = $OM^- = (1-\text{сенз})/\text{спец} = 10\%/85\% = 0.12$
- Позитивна вредност предвиђања = $a/(a+b) = 731/1001 = 73\%$
- Негативна вредност предвиђања = $d/(c+d) = 1500/1578 = 95\%$
- Преваленца = $(a+c)/(a+b+c+d) = 809/2579 = 32\%$
- Однос пре теста (*pre-test odds*) = $\text{преваленца}/(1-\text{преваленца}) = 31\%/69\% = 0.45$
- Однос после теста (*post-test odds*) = однос пре теста \times однос могућности

- Вероватноћа после теста=однос после теста/(однос после теста+1)

Сви подаци резимирани су адекватним методама дескриптивне статистике. Бројеви и проценти су коришћени за категоријне варијабле, док је старост у годинама као континуирана варијабла представљена као опсег (минималне-максималне вредности), медијана и интерквартилни опсег, јер дистрибуција није била нормална према *Kolmogorov-Smirnov*-ом тестирању. Разлика између мушкараца и жена у старосном опсегу (групама) испитана је помоћу *Mann-Whitney U* теста. Криве пријемник-оператер (*ROC*) су конструисане на основу процента преклапања између шаблона абнормалног теста јетре за одређену дијагнозу и стварне абнормалне вредности тестова јетре код пацијената. Површине испод кривих (*AUC*) и граничне вредности (*Manhattan distance*) показале су одговарајућу осетљивост и специфичност, позитивне и негативне предиктивне вредности (*PPV* и *NPV*), позитивне и негативне односе вероватноће (*LRs*); такође, израчунате су и *pre-test* и *post-test* за сваку релевантну дијагнозу. Релативни допринос улазних параметара у најчешћим дијагнозама тестиран је логистичком регресијом. Ниво значајности постављен је на 0,05. Све анализе извршене су коришћењем *SPSS* софтверског пакета верзија 20.0 (*SPSS Inc., Chicago, Illinois, US*) и онлине калкулатора *Manhatann* (доступно на: <http://molpath.charite.de/cutoff/>).

РЕЗУЛТАТИ

Основне карактеристике пацијената

У делу студије који је проверавао дијагностичку вредност конструисаног модела у стварним условима учествовало је укупно 145 пацијената и то 90 пацијената мушког пола (62,1%) и 55 пацијената женског пола (37,9%). Подаци о старости учесника у студији према полу приказани су у Табели 3.

Табела 3: Старост учесника у студији према полу

Пол	М ± SD	U тест	p
Мушки	47,7±13,5	2212,500	0,284
Женски	49,6±13,3		

Легенда: М – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност *Mann-Whitney*-евог U теста; p – ниво значајности

Не постоји статистички значајна разлика у старости пацијената мушког и женског пола (p=0,284). Дистрибуција клиничких дијагноза (потврђених применом „златног стандарда“) приказана је у Табели 4.

Табела 4: Број пацијената са потврђеном одговарајућом клиничком дијагнозом.

Дијагноза	Број пацијената	%
Акутни хепатитис	17	11,7
Алкохолна болест јетре	10	6,9
Хронични хепатитис	41	28,3
Аутоимуна болест јетре	12	8,3
Неалкохолни стеатохепатитис	15	10,3
Метаболичка болест јетре	3	2,1
Токсични и медикаментозни хепатитис	33	22,8
Срчане болести	5	3,4
Хипертиреоидизам	7	4,8
Миопатија	2	1,4

Дистрибуција потврђених клиничких дијагноза према полу представљена је у Табели 5.

Табела 5: Дистрибуција потврђених клиничких дијагноза према полу (n=145)

Дијагноза	Мушки пол		Женски пол		χ^2 тест (p)
	n	%	n	%	
Акутни вирусни хепатитис	16	94,1	1	5,9	16,733 (0,053)
Алкохолна болест јетре	8	80,0	2	20,0	
Хронични вирусни хепатитис	23	56,1	18	43,9	
Аутоимуна болест јетре	4	33,3	8	66,7	
Не алкохолни стеатохепатитис	11	73,3	4	26,7	
Метаболичка болест јетре	2	66,7	1	33,3	
Токсични и медикаментозни хепатитис	20	60,6	13	39,4	
Срчане болести	2	40,0	3	60,0	
Хипертиреоидизам	2	42,9	4	57,1	
Миопатија	1	50,0	1	50,0	
Легенда: χ^2 – вредност χ^2 теста; p – ниво значајности					

Просечне вредности концентрација аланин-аминотрансферазе укупно и према полу приказане су у Табели 6.

Табела 6: Просечне вредности концентрација аланин-аминотрансферазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M \pm SD	M \pm SD	M \pm SD	
Аланин-аминотрансфераза (I/L)	497,0 \pm 1057,5	600,3 \pm 1264,1	328,1 \pm 549,2	2433,500 (0,866)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; I/L – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација аланин-аминотрансферазе између пацијената мушког и женског пола ($p=0,866$). Просечне вредности концентрација аспартат-аминотрансферазе укупно и према полу приказане су у Табели 7.

Табела 7: Просечне вредности концентрација аспартат-аминотрансферазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Аспартат-аминотрансфераза (U/L)	393,5±878,3	471,6±1064,3	265,9±404,4	2384,500 (0,712)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; U/L – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација аспартат-аминотрансферазе између пацијената мушког и женског пола ($p=0,712$). Просечне вредности концентрација билирубина укупно и према полу приказане су у Табели 8.

Табела 8: Просечне вредности концентрација билирубина укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Билирубин (mmol/L)	64,7±92,2	64,4±86,3	65,2±101,7	1848,000 (0,539)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; mmol/L – милимол по литру; p – ниво значајности				

Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација билирубина између пацијената мушког и женског пола ($p=0,539$). Просечне вредности концентрација алкалне фосфатазе укупно и према полу приказане су у Табели 9.

Табела 9: Просечне вредности концентрација алкалне фосфатазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Алкална фосфатаза (I/L)	315,8±242,0	279,8±169,5	367,9±314,0	1207,000 (0,120)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; I/L – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација алкалне фосфатазе између пацијената мушког и женског пола (p=0,120). Просечне вредности концентрација гама-глутамилтрансферазе укупно и према полу приказане су у Табели 10.

Табела 10: Просечне вредности концентрација гама-глутамилтрансферазе укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Гама-глутамилтрансфераза (I/L)	145,6±313,5	146,7±347,2	143,7±248,7	1716,500 (0,607)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог U теста; I/L – интернационалне јединице по литру; p – ниво значајности				

Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима концентрација гама-глутамилтрансферазе између пацијената мушког и женског пола (p=0,607). Просечне вредности серумског албумина укупно и према полу приказане су у Табели 11.

Табела 11: Просечне вредности серумског албумина укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
-----------	--------	-----------	------------	------------

	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Серумски албумин (g/L)	34,1±6,6	33,8±7,1	34,5±5,8	446,500 (0,531)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог <i>U</i> теста; g/L – грама по литру; p – ниво значајности				

Не постоји статистички значајна разлика у средњим вредностима серумског албумина између пацијената мушког и женског пола (p=0,531). Просечне вредности протромбинског времена укупно и према полу приказане су у Табели 12.

Табела 12: Просечне вредности протромбинског времена укупно и према полу

Параметар	Укупно	Мушки пол	Женски пол	U тест (p)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Протромбинско време (s)	1,14±0,14	1,16±0,16	1,10±0,08	303,500 (0,164)
Легенда: M – средња вредност; SD – стандардна девијација; U – вредност <i>Mann-Whitney</i> -евог <i>U</i> теста; s – секунда; p – ниво значајности				

Заступљеност фактора ризика у вези са животним навикама у испитиваној популацији приказани су у Табели 13.

Табела 13: Фактори ризика у вези са животним навикама

Дијагноза	Број пацијената	%
Дуготрајно узимање алкохола	4	2,8
Унос лекова или дрога (ксенобиотица)	5	3,4
Гојазност	8	5,5
Дијабетес	10	6,9
Интензиван физички напор	2	1,4

Табела 14: Фактори ризика у вези са животним навикама према полу (n=145)

Дијагноза		Мушки пол		Женски пол		χ^2 тест (p)
		n	%	n	%	
Дуготрајно узимање алкохола	Не	86	95,6	55	100	2,514
	Да	4	4,4	0	0	(0,113)
Унос лекова или дрога (ксенобиотица)	Не	85	94,4	55	100	3,165
	Да	5	5,6	0	0	(0,075)
Гојазност	Не	82	91,1	55	100	5,174
	Да	8	8,9	0	0	(0,023)*
Дијабетес	Не	80	88,9	55	100	6,564
	Да	10	11,1	0	0	(0,010)*
Интензиван физички напор	Не	88	97,8	55	100	1,239
	Да	2	2,2	0	0	(0,266)
Легенда: χ^2 – вредност χ^2 теста; p – ниво значајности; * - статистички значајно						

Статистички значајна разлика уочена је у оквиру појаве гојазности (p=0,023) и дијабетеса (p=0,010). Сви фактори ризика у вези са животним навикама су уочени код пацијената мушког пола.

Формирање модела

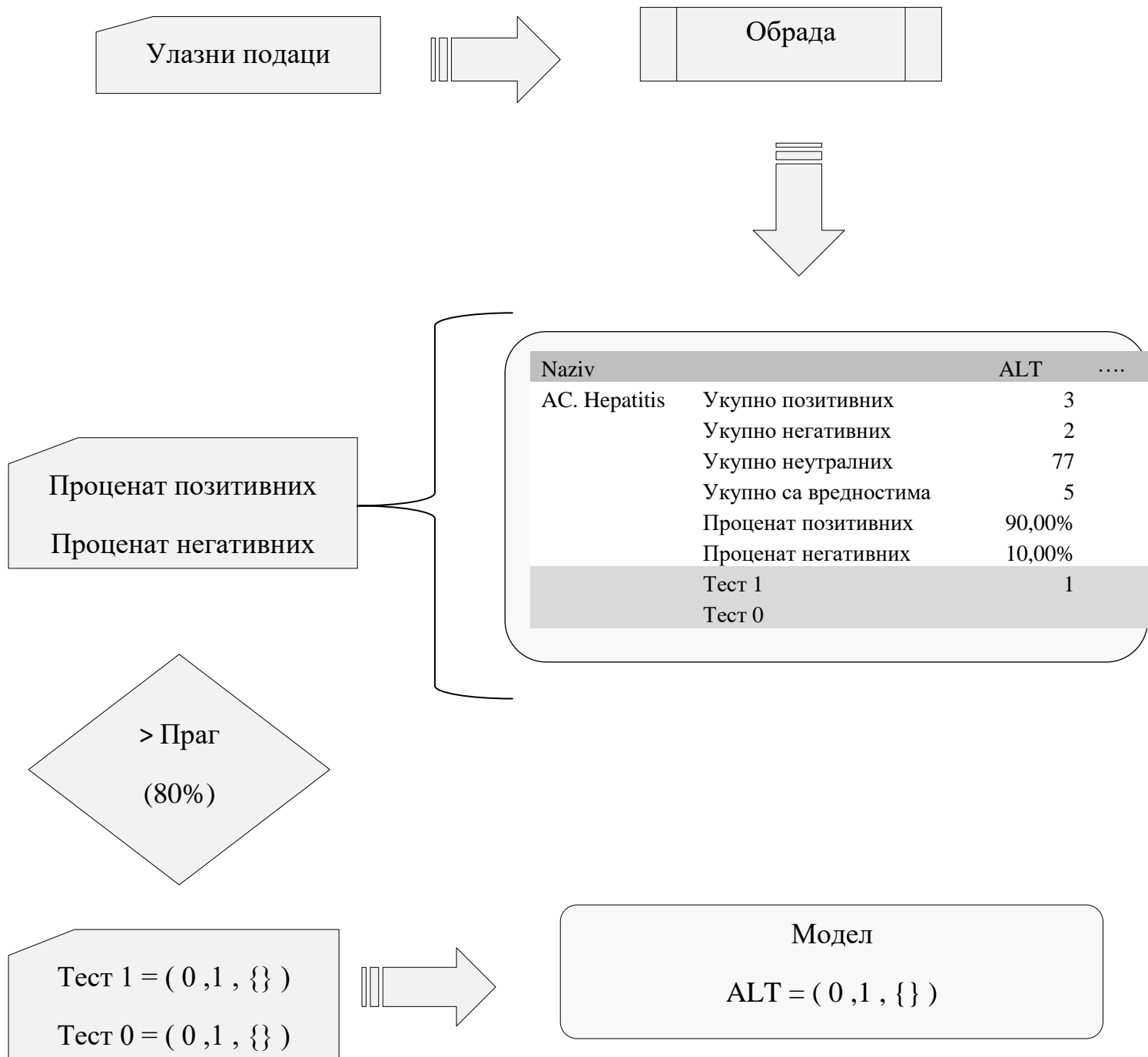
Формирање модела описано је детаљно, по фазама. Формирање модела за сваку од дијагноза према унетим подацима из литературе. Улазни параметри коришћени за конструисање модела приказани су у Табели 15, док су дијагнозе за које су конструисани модели приказане у Табели 16.

Табела 15: Улазни параметри коришћени за конструисање модела

Вредности параметара функције јетре	Скраћеница	Вредности
Референца	Ref	Референца податка
Серумске вредности аланин-аминотрансферазе (U/L)	ALT	(0,1)
Серумске вредности аспартат-аминотрансферазе (U/L)	AST	(0,1)
Серумски билирубин (mmol/L)	BIL	(0,1)
Алкална фосфатаза (U/L)	AP	(0,1)
Гама-глутамил-трансфераза (U/L)	GGT	(0,1)
Серумске вредности албумина (g/L)	SALB	(0,1)
Протромбинско време по Quicku (sec)	PROT	(0,1)
Дуготрајно узимање алкохола	ALKO	(0,1)
Унос лекова или дрога (ксенобиотика)	DRUGS	(0,1)
Гојазност	GOJAZNOST	(0,1)
Дијабетес	DIJABETES	(0,1)
Липидемија	HIPERLIP.	(0,1)
Ниво ТСХ	TSH	(0,1)
Интензиван физички напор	F NAPOR	(0,1)
Дијагноза	Dijagnoza	Дијагноза из табеле (1)

Табела 16: Дијагнозе за које су конструисани модели

Дијагноза	Скраћеница
Акутни вирусни хепатитис	AC. Hepatitis
Хронични вирусни хепатитис	CHR. Hepatitis
Неалкохолни стеатохепатитис	NASH
Алкохолна болест јетре	ALK.bolest jetre
Аутоимуна болест јетре	Autoim.bolest jetre
Наследна метаболичка болест јетре	Metabol.bolest jetre
Токсични и медикаментозни хепатитис	Toks.Imedicam.hepat
Миопатија	Miopatije
Срчана болест	Srcane bolesti
Хипертиреодизам	Hipertireodizam



Слика 1: Алгоритам израде модела предвиђања узрока абнормалних тестова оштећења функције јетре

Опис модела

На основу улазних параметара за сваку дијагнозу се рачунају следећи подаци по параметрима:

Укупно позитивних	Број позитивних дијагноза за сваки параметар унетих вредности
Укупно негативних	Број негативних дијагноза за сваки параметар унетих вредности
Укупно неутралних	Број дијагноза које немају параметар у унетим референцама
Укупно са вредностима	Укупан број дијагноза са параметрима (Укупно позитивних +Укупно негативних)
Процент позитивних	Укупно позитивних / Укупно са вредностима
Процент негативних	Укупно негативних / Укупно са вредностима

Уколико проценат позитивних или негативних прелази задати праг (80%), у модел се уписује 1 или 0, уколико су ови проценти испод задатог прага не уписује се никаква вредност у модел.

Скраћеница	Процент позитивних	Процент негативних	Вредност
ALT	60%	40%	{}
AST	20 %	80%	{}
BIL	80 %	20 %	{}
AP	0 %	100%	0
GGT	100%	0 %	1
SALB	0 %	100%	0
PROT	0%	0 %	{}
ALKO	0%	0 %	{}
DRUGS	0%	0 %	{}
GOJAZNOST	50 %	50 %	{}
DIJABETES	0%	0 %	{}
HIPERLIP.	0%	0 %	{}
TSH	0%	0 %	{}
F NAPOR	0%	0 %	{}
Модел дијагнозе	AP=0 GGT=1 SALB=0		

Предвиђање болести функционише по принципу проналажења модела који највише одговара унетим улазним параметрима.

Улазни параметри:

Модел дијагнозе

Скраћеница	Вредности
ALT	(0 ,1 ,{ })
AST	(0 ,1 ,{ })
BIL	(0 ,1 ,{ })
AP	(0 ,1 ,{ })
GGT	(0 ,1 ,{ })
SALB	(0 ,1 ,{ })
PROT	(0 ,1 ,{ })
ALKO	(0 ,1 ,{ })
DRUGS	(0 ,1 ,{ })
GOJAZNOST	(0 ,1 ,{ })
DIJABETES	(0 ,1 ,{ })
HIPERLIP.	(0 ,1 ,{ })
TSH	(0 ,1 ,{ })
F NAPOR	(0 ,1 ,{ })

Улазни параметри

Скраћеница	Вредности
ALT	(0 ,1 ,{ })
AST	(0 ,1 ,{ })
BIL	(0 ,1 ,{ })
AP	(0 ,1 ,{ })
GGT	(0 ,1 ,{ })
SALB	(0 ,1 ,{ })
PROT	(0 ,1 ,{ })
ALKO	(0 ,1 ,{ })
DRUGS	(0 ,1 ,{ })
GOJAZNOST	(0 ,1 ,{ })
DIJABETES	(0 ,1 ,{ })
HIPERLIP.	(0 ,1 ,{ })
TSH	(0 ,1 ,{ })
F NAPOR	(0 ,1 ,{ })

Први корак је налажење вредности које се подударају у моделу дијагнозе и у унетим улазним параметрима

Модел дијагнозе	Вредност	Операција	Улазни параметар	Вредност
ALT	{}	=	1	False
AST	{}	=		False
BIL	{}	=		False
AP	0	=	0	True
GGT	1	=	0	False
SALB	0	=	0	True
PROT	{}	=	0	False
ALKO	{}	=	0	False
DRUGS	{}	=	1	False
GOJAZNOST	{}	=		False
DIJABETES	{}	=	1	False
HIPERLIP.	{}	=		False
TSH	{}	=	1	False
F NAPOR	{}	=		False
Σ Слаже се	2			

Следећи корак је дефинисање укупног броја постојећих параметара у моделу и унетих улазних параметара за који тражимо дијагнозу. Овде користимо функцију OR (ИЛИ).

Модел дијагнозе	Вредност	Операција	Улазни параметар	Вредност
ALT	{}	OR	1	True
AST	{}	OR		{}
BIL	{}	OR		{}
AP	0	OR	0	True
GGT	1	OR	0	True
SALB	0	OR	0	True
PROT	{}	OR	0	True
ALKO	{}	OR	0	True
DRUGS	{}	OR	1	True
GOJAZNOST	{}	OR		{}
DIJABETES	{}	OR	1	True
HIPERLIP.	{}	OR		{}
TSH	{}	OR	1	True
F NAPOR	{}	OR		{}
Σ Укупан број параметара	9			

На основу броја параметара који се слажу и укупног броја параметара, одређује се проценат подударања модела и унетих улазних параметара.

$$\% \text{ podudaranja} = \frac{\sum \text{Sláže se}}{\sum \text{Ukupan broj parametara}} * 100$$

Дијагноза се предвиђа тако што се узима максимална вредност процента подударања за све моделе дијагноза и улазних параметара.

$$\text{Дијагноза} = \text{MAX} (\% \text{ подударања (модел, улазни параметри) })$$

Модел

После постављања модела, његова дијагностичка вредност је проверена у стварним условима, на горе представљеном узорку пацијената са оштећењем јетре чија је етиологија установљена златним стандардом дијагностике (биопсија или друго). У табелама од 17-26 представљени су математички модели за обрађене болести.

Табела 17: Модел за акутни хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	8	6	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	112	114	112	118	118	120	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	8	6	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1									
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1									
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1													

Табела 18: Модел за хронични хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	35	30	16	0	0	9	6	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	84	90	103	120	120	110	113	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	36	30	17	0	0	10	7	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	97,22	100,00	94,12	0,00	0,00	90,00	85,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	2,78	0,00	5,88	0,00	0,00	10,00	14,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1			1	1							
Тест 0														
Модел	1	1	1			1	1							
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 SALB=1 PROT =1													

Табела 19: Модел за неалкохолни стеатохепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	11	11	0	2	2	0	0	0	0	11	9	11	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	109	109	120	118	118	120	120	120	120	109	111	109	120	120
Укупно са вредностима	11	11	0	2	2	0	0	0	0	11	9	11	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1		1	1					1	1	1		
Тест 0														
Модел	1	1		1	1					1	1	1		
Модел текст	ALT=1 AST=1 AP=1 GGT=1 GOJAZNOST=1 DIJABETES=1 HIPERLIP.=1													

Табела 20: Модел за алкохолни хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	12	12	7	2	12	4	2	11	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	108	108	113	118	108	116	118	109	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	12	12	7	2	12	4	2	11	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1	1	1	1						
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1	1	1	1						
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 SALB=1 PROT =1 ALKO=1													

Табела 21: Модел за аутоимуноу болест јетре

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJAB ETES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	18	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	102	105	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	18	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1												
Тест 0														
Модел	1	1												
Модел текст	ALT=1 AST=1													

Табела 22: Модел за метаболичку болест јетре

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	6	6	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	114	114	118	118	118	119	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	6	6	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1	1								
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1	1								
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 SALB=1													

Табела 23: Модел за токсични и медикаментозни хепатитис

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	13	13	5	9	11	0	0	0	13	0	0	0	0	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	107	107	115	111	109	120	120	120	107	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	13	13	5	9	11	0	0	0	13	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1				1					
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1				1					
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 DRUGS=1													

Табела 24: Модел за миопатију

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	116	116	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	116
Укупно са вредностима	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1												1
Тест 0														
Модел	1	1												1
Модел текст	ALT=1 AST=1 F NAPOR=1													

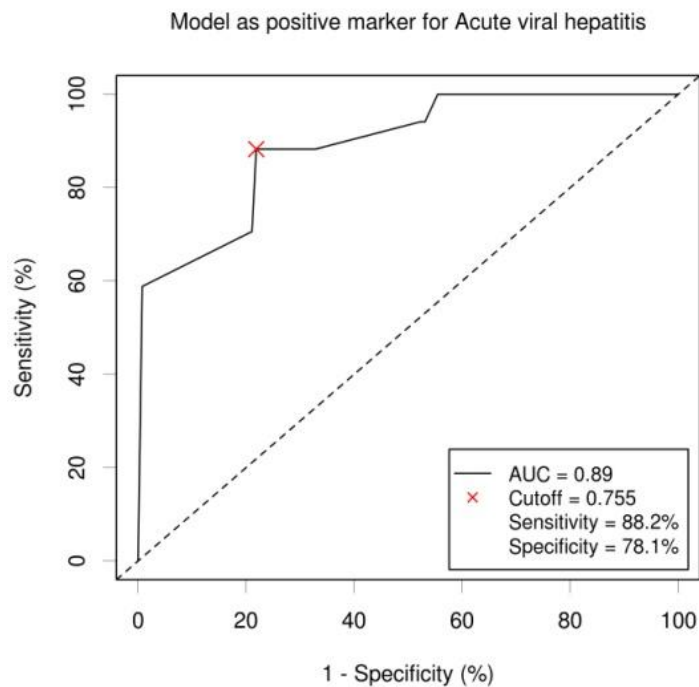
Табела 25: Модел за срчане болести

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJABE TES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	5	6	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно негативних	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	114	114	117	117	117	119	120	120	120	120	120	120	120	120
Укупно са вредностима	6	6	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Процент позитивних (%)	83,33	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Процент негативних (%)	16,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1	1								
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1	1								
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 SALB=1													

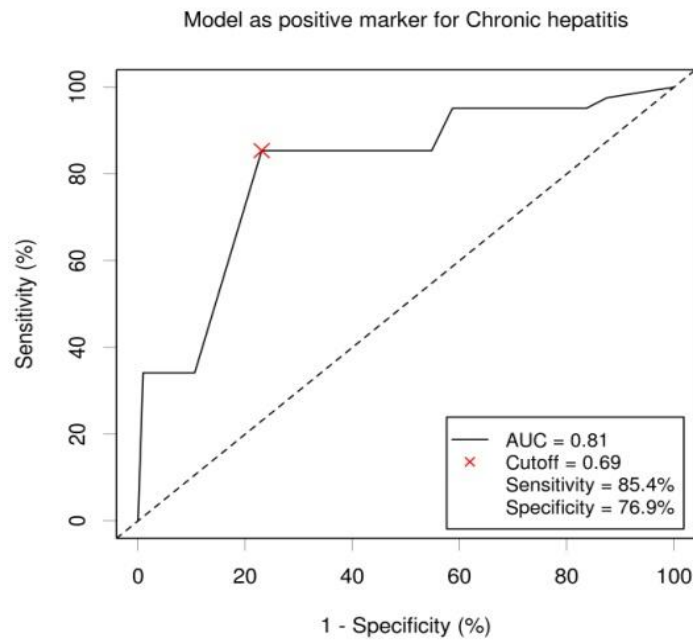
Табела 26: Модел за хипертиреозидизам

	ALT	AST	BIL	AP	GGT	SALB	PROT	ALKO	DRUGS	GOJAZ NOST	DIJAB ETES	HIPERLIP	TSH	F NAPOR
Укупно позитивних	5	5	5	3	3	0	2	0	0	0	0	0	5	0
Укупно негативних	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно неутралних	115	115	115	117	117	120	118	120	120	120	120	120	115	120
Укупно са вредностима	5	5	5	3	3	0	2	0	0	0	0	0	5	0
Процент позитивних (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Процент негативних (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Тест 1	1	1	1	1	1		1						1	
Тест 0														
Модел	1	1	1	1	1		1						1	
Модел текст	ALT=1 AST=1 BIL =1 AP=1 GGT=1 PROT =1 TSH=1													

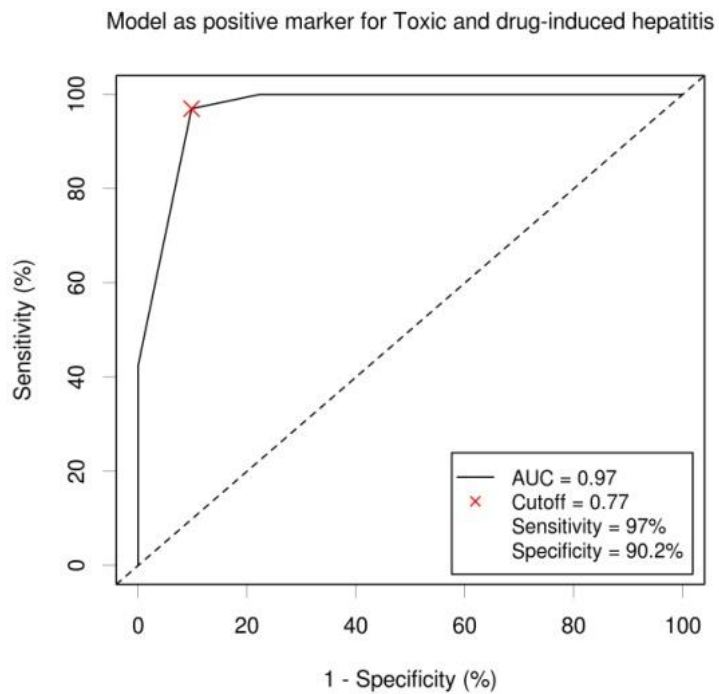
Стварна клиничка дијагноза (утврђена "златним стандардом") у узорку изражена је као број/процент укупног броја: акутни хепатитис (17/11.7%), хронични хепатитис (41/28.3%), токсични и медикаментозни хепатитис (33/22.8%), неалкохолни стеатохепатитис (15/10.3%), алкохолни хепатитис (11/7.6%), аутоимунски хепатитис (11/7.6%), метаболичка болест јетре (3/2.1%), хипертироидизам (7/4.8%), хронична срчана инсуфицијенција (5/3,4%) и миопатије (2/1,4). ROC криве за три најважније дијагнозе су приказане на сликама 2-4.



Слика 2. ROC крива за акутни хепатитис (AH)



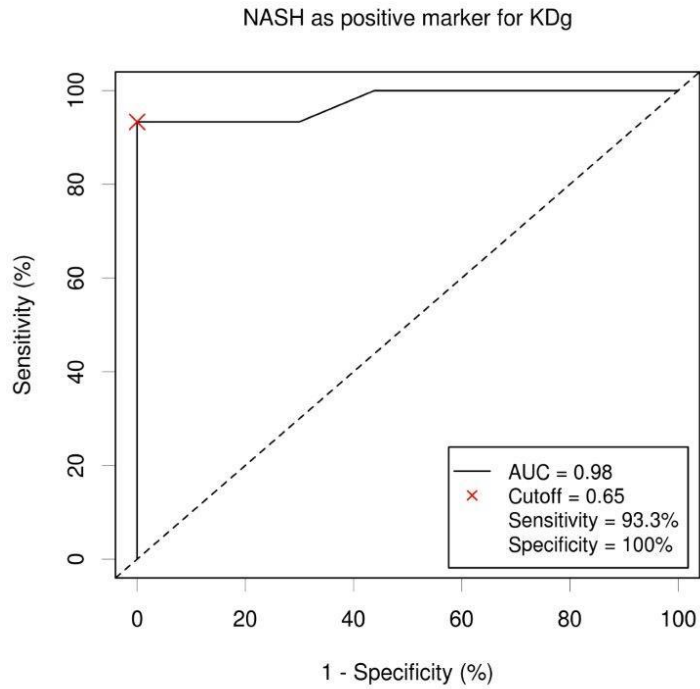
Слика 3. *ROC* крива за хронични хепатитис (*HH*)



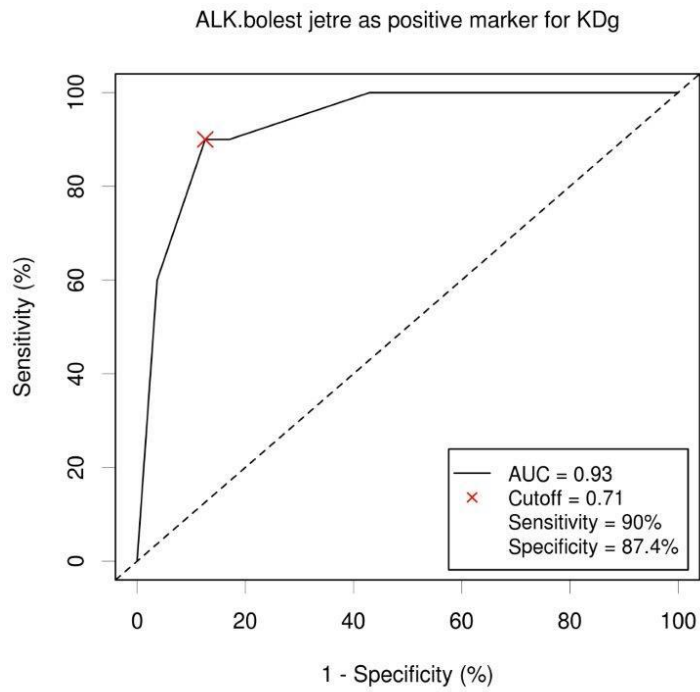
Слика 4. *ROC* крива за токсични и медикаментозни хепатитис (*ТМН*)

ROC криве за преостале три дијагнозе, то јест за неалкохолни стеатохепатитис (*NASH*), алкохолни хепатитис (*ALH*) и аутоимуни хепатитис (*AIH*), такође су показале сличне

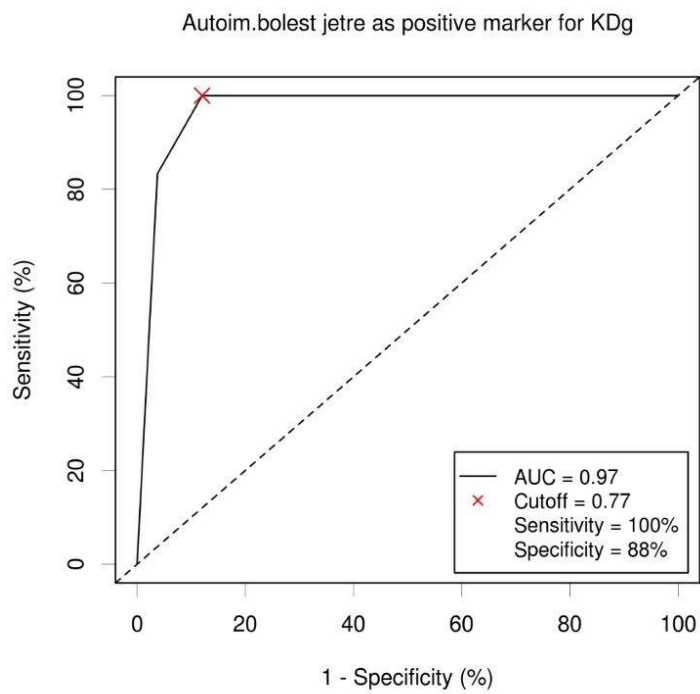
резултате: AUC 0,98, 0,93, 0,97; граничне вредности 0,65, 0,71, 0,77; сензитивност 93,3%, 90%, 100%, односно специфичност 100%, 87,4% и 88%.



Слика 5. ROC крива за неалкохолни стеатохепатитис ($NASH$)



Слика 6. ROC крива за алкохолни хепатитис (ALH)



Слика 7. ROC крива за аутоимуни хепатитис (AIH)

За све тестиране дијагнозе, калкулатор је показао веома значајну разлику између површине испод криве, вредности *ROC* криве и вредности од 0,5 ($p < 0,001$) а уочен је висок степен сензитивности (више од 90%, осим модела за хронични вирусни хепатитис), као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност калкулатора да открије етиологију оштећења јетре. Додатни резултати валидације калкулатора приказани су у Табели 27.

Табела 27: Резултати валидације калкулатора за шест најчешћих етиологија оштећења јетре, засновани на граничним вредностима добијеним од *ROC* кривих.

Дијагностичка вредност	Стварна дијагноза ¹					
	<i>AH</i>	<i>HH</i>	<i>TMH</i>	<i>NASH</i>	<i>ALH</i>	<i>AIH</i>
Позитивна предиктивна вредност	0.36	0.59	0.75	1.00	0.35	0.42
Негативна предиктивна вредност	0.98	0.93	0.99	0.99	0.99	1.00
Преваленција	0.12	0.28	0.23	0.10	0.07	0.08
Позитивни однос вероватноће	4.03/0.55	3.70/1.46	9.90/2.96	∞	7.14/0.54	8.33/0.72
Негативни однос вероватноће	0.15/0.02	0.19/0.07	0.03/0.01	0.07/0.01	0.11/0.01	0.00/0.00
<i>Pre-test</i> шансе	0.13	0.39	0.29	0.12	0.07	0.09
<i>Post-test</i> шансе	0.53	1.43	2.87	∞	0.50	0.75
Легенда: ¹ – Дијагноза потврђена тестом који је златни стандард за ту болест, <i>AH</i> – акутни хепатитис; <i>HH</i> – хронични хепатитис; <i>TMH</i> – токсични и медикаментозни хепатитис, <i>NASH</i> – неакохолни стеатохепатитис, <i>ALH</i> – алкохолни хепатитис; <i>AH</i> – аутоимуни хепатитис						

Бинарни модел логистичке регресије за хепатитис изазван токсинима и лековима (*TMH*) (Cox & Snell R Square = 0,202; Nagelkerke R Square = 0,326; Hosmer and Lemeshow Test $p = 0,050$) није открио значајан допринос улазних параметара за дијагнозу, иако су старост и *AST* показали су снажну тенденцију ($p < 0,1$). С друге стране, бинарни модел логистичке

регресије за хронични хепатитис (CH) (Cox & Snell R Square = 0,466; Nagelkerke R Square = 0,640; Hosmer and Lemeshow Test $p = 0,180$) показали су значајан допринос AST-а (odds ratio = 1,005 [1,000 – 1,009], $p = 0,036$) and ALT-а (odds ratio = 0,984 [0,970 – 0,997], $p = 0,021$), иако у супротним правцима. Бинарни модел логистичке регресије за алкохолни хепатитис (ALH) (Cox & Snell R Square = 0,193; Nagelkerke R Square = 0,699; Hosmer and Lemeshow Test $p = 1,000$) није открио значајан допринос било ког улазног параметра за дијагнозу.

ДИСКУСИЈА

Валидација модела на скупу узорака пацијената дала је задовољавајуће резултате. С обзиром на релативно ниску преваленцију тестираних дијагноза оштећења јетре код наших пацијената, добијене позитивне и негативне предиктивне вредности указују на добре перформансе модела за готово све етиологије, осим за неалкохолни стеатохепатитис (Табела 27). Коефицијенти вероватноће, као и *post-test odds* вредности, показују да модел значајно повећава вероватноћу којом нека етиологија одговара неком образцу резултата тестова јетре код појединачних пацијента, а посебно када су у питању хронични вирусни хепатитис и токсични и медикаментозни хепатитис (Табела 27).

У оквиру нашег истраживања формиран су модели за следеће болести јетре: акутни хепатитис, хронични хепатитис, неалкохолни стеатохепатитис, алкохолну болест јетре, аутоимуноу болест јетре, токсични и медикаментозни хепатитис. У оквиру сваког од наведених модела ми смо приказали факторе предвиђања односно предиктивне факторе, чија повишена вредност указује на присуство болести за коју је модел конструисан. У практичном смислу модел означава оне тестове односно параметре функције јетре чије вредности требају да буду повишене да би се могло претпоставити да се код одређеног пацијента може поставити дијагноза обољења за које је модел конструисан.

У оквиру модела за акутни хепатитис који смо развили у оквиру овог истраживања, као предиктивни фактори издвојили су се аланин-аминотрансфераза, аспартат-аминотрансфераза, билирубин, алкална фосфатаза и гама-глутамил трансфераза. Уколико су вредности наведених параметара код одређеног пацијента повишене, а уколико су са друге стране вредности осталих параметара чији смо потенцијални утицај на настанак болести јетре изучавали у оквиру овог истраживања (вредности серумског албумина, протеина, тиреостимулишућег хормона, конзумирање алкохола, лекова, присуство гојазности, дијабетеса, хиперлипидемије, повећан физички напор) у границама референтних вредности, онда можемо претпоставити да пацијент има дијагнозу акутног хепатитиса. Предиктивни фактори који су приказани у оквиру нашег модела за акутни хепатитис су у складу са општим клиничким сазнањима везаним за акутни хепатитис. Познато је да су вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а и билирубина повишени код пацијената са акутним хепатитисом [31,40,59]. Ипак, одређени број студија наводи да се

код пацијената са акутним хепатитисом, пре свега вирусног порекла, могу учити и одређени поремаћаји у хематолошком профилу [127-128], тако да би за развој потпунијег дијагностичког модела за акутни хепатитис било потребно у обзир узети и вредности хематолошких параметара.

Када је у питању модел за хронични хепатитис, може се приметити да у односу на модел акутног хепатитиса постоји разлика у томе што су се за хронични хепатитис као статистички значајни параметри показале и повишене вредности протеина и серумског албумина, поред повишених вредности *ALT*-а, *AST*-а и билирубина, које су заједничке и за акутни и за хронични хепатитис. Узрочници акутног и хроничног хепатитиса су бројни, па се самим тим и разликују дијагностичке препоруке за ове болести. Уколико се сумња на вирусне хепатитисе, онда се као златни стандард за постављање дијагнозе хепатитиса намећу серолошки тестови [129-131]. Постоји велики број калкулатора за класификацију и одређивање стадијума оштећења јетре код пацијената са хроничним вирусним хепатитисом: индекс хистолошке активности Кнодела, бодовни систем Шауера, Исаков систем, *METAVIR* систем и Исаков модификован индекс хистолошке активности [132]. *METAVIR* систем служи за процену степена фиброзе јетре (скала од 0 до 4) и степена некроинфламације (скала од 0 до 3). Интересантно је да је управо примена *METAVIR* система показала да не постоји корелација између фиброзе и некроинфламације јетре. *METAVIR* систем има значајних ограничења, јер зависи од квалитета биопсије. Поред тога, може постојати значајна хетерогеност или варијабилност инфламације и фиброзе у различитим регионима јетре, при чему се помоћу *METAVIR* теста добијају резултати за само један регион јетре. На тај начин се може преувеличати или потценити количина фиброзе и/или инфламације [133]. Исаков скор омогућава прецизније дефинисање степена фиброзе јетре у односу на све остале системе, с обзиром да Исаков систем разликује 7 степена фиброзе (скала од 0 до 6), за разлику од осталих система и калкулатора који разликују 5 степена фиброзе (скала од 0 до 4) [134]. Постоје и комерцијални модели серумских маркера, који се користе за откривање фиброзе јетри, као што су: *FibroTest*® (вишепараметарски тест који укључује хаптоглобин, билирубин, гама-глутамил трансферазу, аполипопротеин А1 и алфа-макроглобулин) или *Enriched Liver Fibrosis*® (*ELF*) тест [135].

Када је реч о златном стандарду за постављање дијагнозе хепатичке фиброзе и хепатичке инфламације, дуго времена је биопсија сматрана златним стандардом. У савременој ери, биопсија је веома безбедна процедура са стопом од 0,3% озбиљних компликација, као што су постпроцедурални бол и крвављење, које је прате. Ипак, међу клиничарима широм света постоји жеља за проналаском неинвазивних серумских маркера или калкулатора заснованих на вредностима серумских параметара, који ће омогућити прецизну и безбедну дијагнозу обољења јетре. Ови тестови морају бити поуздани, тачни, једноставни за извођење и морају бити спровођени методама које се могу поновити на идентичан начин. Идеалан маркерски тест би био у стању да прецизно утврди болести и да буде осетљив на промене фиброзе изазване терапијом или природном прогресијом болести [136]. Коришћење биопсије код пацијената са хроничним вирусним хепатитисима има значајна ограничења. Тако је студија коју су спровели *Regev A* и сарадници [137] показала да код пацијената са хроничним хепатитисом Ц перкутана биопсија не може бити златни стандард, будући да цироза јетре није била примећена код чак 30% пацијената који су је заправо имали. Многи различити маркери серумске фиброзе су проучавани код обољења јетре, укључујући појединачне маркере екстрацелуларног матрикса, као што је хијалуронска киселина, али и комбинације екстрацелуларних маркера и маркера функције јетре. Готово сви ови маркери имају *ROC* подручја за постављање фиброзе од 0,8 или веће. Тако се *FibroTest*® заснива на алгоритму пет маркера фиброзе и додатком аланин-аминотрансферазе као маркера упале. Иако овај индекс не мери директне маркере производње или уклањања екстрацелуларног матрикса, студије истраживачке групе на челу са *Poynard*-ом [138-140] су показале да *FibroTest*® пружа линеарну биохемијску процену фиброзе јетре. *FibroTest*® је валидиран за откривање фиброзе код многих обољења јетре и има укупну површину испод *ROC* криве од 0,8 [141]. Компоненте екстрацелуларног матрикса имају значајну улогу у фибрози јетре. Оне не само да могу да одражавају обим фиброзе јетре, већ су такође укључене и у запаљенске процесе. Тако је описан директан имунолошки утицај хијалуронске киселине који она остварује кроз регулисање запаљенског процеса и ослобађање инфламаторних цитокина [142]. Супротно томе, различити цитокини играју улогу у активирању хепатичких ћелија за производњу екстрацелуларног матрикса [143]. Штавише, апоптоза хепатоцита, која има улогу у запаљенском оштећењу јетре, је механички повезана са активацијом ћелија јетре и

повећаном фиброгенезом [144]. Активирани хепатичке стелатне ћелије не само да регулишу фиброзу помоћу секреције компоненти екстрацелуларног матрикса, већ и индукују инфламаторни одговор експресијом проинфламаторних цитокина и рецептора [145-146]. На тај начин постоји више путева интеракције између продукције компоненти екстрацелуларног матрикса и запаљенских реакција, због чега је важно да се приликом дијагностиковања фиброзе јетре у обзир узме и мерење компоненти екстрацелуларног матрикса.

Неалкохолна масна јетра је једно од најчешћих обољења јетре које укључује стеатозу, стеатохепатитис и неалкохолни стеатохепатитис и може напредовати до цирозе, отказивања јетре или хепатоцелуларног карцинома. Биопсија јетре је златни стандард за дијагностиковање неалкохолног стеатохепатитиса [147-148]. Пошто је биопсија инвазивна, ризична и повезана са грешкама код гојазних пацијената, утврђене су неинвазивне алтернативе [149]. У оквиру нашег математичког модела за неалкохолни стеатохепатитис, ми смо показали да се као значајни предиктивни фактори удружени са појавом овог обољења издвајају абнормалне вредности *AST*-а, *ALT*-а, *GGT*-а, *AP*-а као и присуство дијабетеса, гојазности и хиперлипидемије код пацијената.

Студија [150] је имала за циљ успостављање неинвазивног модела за предвиђање неалкохолног стеатохепатитиса код пацијената са комбинованим хроничним хепатитисом Б и неалкохолном масном болешћу јетре. Успостављен је нови модел који комбинује ниво цитокератина 18 (*CK 18 M30*), контролисаног атенуацијског параметра (*CAP*), серумски ниво глукозе и ниво *HBVDNA* користећи логистичку регресију. *AUROC* која предвиђа неалкохолни стеатохепатитис је 0,961 (95% интервал поверења: 0,920-1,00, вредност прекидања је 0,218), са осетљивошћу од 100% и специфичношћу од 80,6%. Овај неинвазивни модел могао би да постане део клиничке праксе за предвиђање неалкохолног стеатохепатитиса код пацијената са комбинованим хроничним хепатитисом Б и неалкохолном масном болешћу јетре [150]. Он нам пружа увид у неке савремене биомаркере и тестове које је потребно узети у обзир приликом дијагностиковања неалкохолног стеатохепатитиса. Тако је овим моделом потврђена значајна улога цитокератина 18 у дијагностиковању неалкохолног стеатохепатитиса. Цитокератин 18 је главни интермедијерни протеин повезан са структурним променама карактеристичним за апоптозу у јетри [151]. Постоје докази да је апоптоза хепатоцита најважнији

патофизиолошки механизам који прати неалкохолни стеатохепатитис [147]. Интересантно је и да је *CK 18 M30* у корелацији са *NAS* скором (*NAFLD Activity Score*), који по неким ауторима представља златни стандард за дијагнозу неалкохолног стеатохепатитиса [152]. Познато је да се дијагноза неалкохолног стеатохепатитиса поставља када су поред хепатичне стеатозе, присутни и инфламаторни инфилтрати, као и балонирање и повреда јетре. *NAS* скор је развијен управо како би се обезбедио нумерички резултат за пацијенте који највероватније имају неалкохолни стеатохепатитис. *NAS* скор представља збир засебних резултата за стеатозу (0-3), хепатоцелуларно балонирање (0-2) и лобуларну упалу (0-3), при чему већина пацијената са неалкохолним стеатохепатитисом има скор ≥ 5 [153]. Поред *CK 18 M30*, други важан предиктивни фактор математичког модела који су развили *Liang J* и сарадници [150] је и контролисани атенуацијски параметар (*CAP*). *CAP* је неинвазивни дијагностички метод за детекцију и квантификацију стеатозе [154]. *CAP* је параметар који се последњих 10 година имплементира у оквиру неинвазивне методе која је позната као транзијентна еластографија [155]. Транзијентна еластографија је неинвазивна, безболна и краткотрајна метода (до десетак минута) која се може понављати неограничени број пута и која је економски исплативија од биопсије. Примена транзијентне еластографије у којој је имплементиран и *CAP* омогућава истовремену детекцију и фиброзе и стеатозе јетре [156].

У оквиру нашег математичког модела за неалкохолни стеатохепатитис, као важни предиктивни фактори издвојили су се и гојазност, дијабетес и хиперлипидемија. Гојазност се повезује са читавим спектром поремећаја јетре, а нарочито је јасна корелација између гојазности и неалкохолне масне болести јетре, која је праћена накупљањем триглицерида у хепатоцитима (стеатоза) са или без инфламације и фиброзе (стеатохепатитис) [157]. Механизам настанка неалкохолне масне болести јетре и неалкохолног стеатохепатитиса је комплексан и веома често подразумева садејство фактора који су познати под називом *метаболички синдром*, а који поред гојазности подразумевају и присуство инсулинске резистенције односно дијабетес мелитуса, хиперлипидемије и кардиоваскуларних болести [158]. Дислипидемије које се јављају код пацијената са неалкохолним стеатохепатитисом и неалкохолном масном болешћу јетре се поред повећане интрахепатичке концентрације триглицерида, одликују и различитим променама нивоа *LDL* и *HDL* холестерола [159-160]. С обзиром на поменуто улогу коју гојазност, дислипидемије и дијабетес мелитус имају у

патогенези неалкохолног стеатохепатитиса, можемо закључити да математички модел за неалкохолни стеатохепатитис развијен у оквиру овог истраживања садржи већину познатих предиктивних фактора на основу којих се може поставити дијагноза ове болести.

Постојећи неинвазивни модели и калкулатори за неалкохолни стеатохепатитис комбинују клиничке податке (старост, степен гојазности и дијабетес, породичну историју, однос $AST:ALT >1$), мере еластичности и променљиве крвних тестова (показатеље метаболизма колагена, апоптозе ћелије (*СК 18 М30*), инсулинску резистенцију (адипонектин и резистин) или маркере оксидативног стреса (тиоредоксин, липидопероксиди), али још увек нису досегли широко клиничко прихватање [150,161-162]. У оквиру Табеле 28 приказане су формуле појединих калкулатора и математичких модела за дијагнозу неалкохолног стеатохепатитиса, при чему се за све ове калкулаторе може рећи да је пре доношења дефинитивног закључка о њиховој ефикасности потребна дуготрајнија примена на већем броју пацијената

Табела 28. Формуле неинвазивних калкулатора за откривање неалкохолног стеатохепатитиса или узнапредовале фиброзе [38]

Калкулатор	Формула
<i>NAFIC</i> калкулатор	Феритин > 200 (жене) или 300 (мушкарци) ng/mL = 1 поен Инсулин > 10 μ J/mL = 1 поен Тип IV колаген 7s > 5.0 ng/mL = 2 поена Скала: 0-4
Модификовани <i>NAFIC</i>	Феритин > 200(жена) или 300(мушкараца) ng/mL = 1 поен Инсулин > 10 μ J/mL = 1 поен > 15 μ J/mL = 2 поена Тип IV колаген 7s > 5.0 ng/mL = 2 поена Скала: 0-5
<i>FIB-4</i> индекс	$(\text{Узраст [број година]} \times AST [U/L]) / (\text{број тромбоцита } [\times 10^9/L] \times \sqrt{ALT [U/L]})$
<i>PAAR</i> индекс	Тромбоцити < 19.5 $\times 10^4 / \mu L$ = 1 поен AST/ALT однос (<i>AAP</i>) ≥ 0.8 = 1 поен Скала 0-2
<i>PLALA</i> калкулатор	Тромбоцити < 15.3 $\times 10^4 / \mu L$ = 1 поен Албумин < 4.0 g/dL = 1 поен AST/ALT однос (<i>AAP</i>) > 0.9 = 1 поен Скала 0-3

Основни етиолошки фактори код алкохолног хепатитиса су оксидативни стрес, метаболички поремећаји и инфламаторни одговори [163-165]. Модификације ензима јетре су типичне код злоупотребе алкохола [166]. У калкулатору који је настао у овој студији бележе се абнормалне вредности *AST*-а, *ALT*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина, серумског албумина и протромбинског времена, код пацијената са доказаном злоупотребом алкохола. Типичан образац лабораторијских абнормалности код алкохолне болести јетре којег су приметили други аутори били су повишени *AST* и *ALT* (однос *AST: ALT* је већи од 2); *AP* и *GGT* су повишене до различитог нивоа; вредности серумског албумина, серумског билирубина и протромбинско време обично су нормални до појаве значајног оштећења јетре [167-168].

У већини случајева, алкохолна болест јетре је клинички нечујна болест са мало или без имало симптома код пацијената у раној фази болести и са компензованом цирозом јетре. Према томе, дијагноза зависи од анамнезе, лабораторијских испитивања и примене одређених инвазивних или неинвазивних техника. Код неких пацијената са алкохолном болешћу јетре могу бити присутни симптоми као што су билатерална хипертрофија паротидне жлезде, губитак мишића, неухрањеност и знаци периферне неуропатије, мада су овакви пацијенти најчешће асимптоматски и нерадо признају да абнормални тестови функције њихове јетре потичу због проблема који имају са злоупотребом алкохола [169]. Лабораторијски тестови који се могу користити за дијагностиковање алкохолне болести јетре подразумевају мерење *GGT*-а, *AST*-а, *ALT*-а, средње корпускуларне запремине еритроцита, док се низак ниво серумских албумина и тромбоцита, односно повишен ниво билирубина и повишен *INR* могу очекивати у узнапредовалој фази болести. Код тешких форми болести могу се очекивати повишени нивои триглицерида и мокраћне киселине, што проводи појаву гихта код ових пацијената [170]. Клинички, *GGT* је најчешће коришћени маркер који открива претходно конзумирање алкохола код пацијената, али овај тест има ниску специфичност јер његови резултати могу бити абнормални и код бројних других обољења јетре. Такође, код пацијената са алкохолном болешћу јетре однос *AST:ALT* је често већи од 1, па и од 2, али се такав однос може сусрести код свих пацијената са узнапредовалом цирозом, без обзира на етиологију [171]. Биопсија јетре се не препоручује рутински код пацијената са раним или циротичним стадијумом алкохолне болести јетре. Међутим, биопсија може бити корисна за искључивање неалкохолних

етиологија хепатитиса или онда када неинвазивне алатке не пруже јасан резултат. Биопсије се углавном изводе перкутано, али могу захтевати и трансјугуларни пут код пацијената са оштећеном коагулационом функцијом због ниског броја тромбоцита или пролонгираног протромбинског времена [172].

За процену фиброзе јетре код алкохолног хепатитиса постоји доста неинвазивних метода и калкулатора, међутим ови калкулатори углавном нису валидирани за дијагнозу алкохолног хепатитиса. Тестови као што су *FibroTest*®, *Enriched Liver Fibrosis*® и *FibroMeter* такође нису довољно валидирани за алкохолну болест јетре. Заједничко за ове тестове је да су корисни у разликовању благе и тешке фиброзе, али имају ограничену ефикасност у интермедијерним фазама фиброзе [173].

У клиничкој пракси су у употреби калкулатори који се најчешће баве прогнозом mortalитета код алкохолног хепатитиса, користећи вредности лабораторијских параметара. Мадрејева дискриминативна функција (*Maddrey Discriminant Function-MDF*) је прогностички калкулатор који се користи код алкохолног хепатитиса. Данас се углавном користи модификован калкулатор, који је настао као унапређење примарне верзије. *MDF* калкулатор функционише по следећој формули: $4.6 \times (PT \text{ пацијента} - \text{референтно } PT) + \text{укупни билирубин (mg/dL)}$. Код пацијената са алкохолним хепатитисом, *MDF* већи од 32 уз хепатичну енцефалопатију прогнозира mortalитет који је већи од 50 % у року од 28 дана. Међутим, познати су и фатални исходи код пацијената са вредностима *MDF* скорa мањим од 32. Ова ниска специфичност је указала на потребу за алтернативним калкулаторима [164]. Модел за крајњи стадијум болести јетре (*Model For End-Stage Liver Disease- MELD*) је поуздан калкулатор ризика смртности код пацијената са терминалним обољењем јетре. *MELD* резултат ≥ 21 (у року од 24 сата од презентације) је добар предиктор mortalитета од 90 дана код пацијената са акутним хепатитисом [174]. Резултати *MELD* скорa и модификованог *MDF* скорa (израчунати у року од 24 сата од презентације) су еквивалентни у предвиђању смртности од 30 и 90 дана код пацијената са акутним хепатитисом [164]. Глазгов индекс алкохолног хепатитиса (*GASH*) је систем бодовања заснован на старости, серумском билирубину, вредностима урее и азота у крви, протромбинском времену и периферном броју леукоцита [175]. Вредности *GASH* ≥ 9 су значајан предиктор mortalитета. *GASH* скор тачнији је од *MDF* скорa у предвиђању смртности од 28 и 84 дана, али је еквивалентан *MELD* скору у предвиђању смртности од

28 дана код пацијената са алкохолним хепатитисом [164]. *Lille* модел се заснива на функцији која укључује старост, бубрежну инсуфицијенцију, албумин, протромбинско време, билирубин и промену вредности билирубина на седми дан, како би се предвидео шестомесечни морталитет код пацијената са тешким алкохолним хепатитисом који су примали кортикостероидну терапију [176-177].

Модел за аутоимуне болести јетре који смо конструисали у нашем истраживању као предиктивне факторе је издвојио абнормалне вредности *ALT*-а и *AST*-а. Повишење јетрених трансминаза (мање од 500 ИЈ/Л) са нормалном алкалном фосфатазом је типично за АИХ. Абнормални ниво алкалне фосфатазе, који је несразмеран елевацији трансминаза је неуобичајен и захтева истраживање других узрока болести јетре, као што је болест изазвана лековима, примарна билијарна цироза и примарни склерозни холангитис. Дијагноза аутоимуног хепатитиса заснива се на клиничким, биохемијским налазима, присуству хистолошке слике, аутоантитела и абнормалних вредности серумских глобулина [178]. Савремени дијагностички системи су кодирани и користе метод рангирања тежине болести на основу бодова како би допунили клиничку процену у тешким случајевима [179-181]. Међународна група за аутоимуни хепатитис предложила је бодовни систем за који постоји неколико адаптација. Систем је намењен углавном у истраживачке сврхе, али може бити користан (посебно у тешким случајевима) у рутинској клиничкој пракси. Важно је напоменути да је систем бодовања дизајниран да се примењује у почетним фазама болести. Његова употреба у другим ситуацијама, као што је сумња на поновну појаву аутоимуног хепатитиса након трансплантације јетре или за поновно процењивање дијагнозе код пацијената са дуготрајном болести, није потврђена. Поред тога, мора се напоменути да су додељене вредности потпуно произвољне. Оне су квалитативне по природи и не одражавају укупну тежину болести. Дијагностички критеријуми за аутоимуни хепатитис захтевају присуство компатибилности између лабораторијских налаза (абнормални налази *AST*-а, *ALT*-а, повишене вредности *GGT*-а), серолошких тестова (позитивна *ANA*, *SMA* или анти- *LKMI*) и хистолошких налаза (инфекција хепатоцита са или без инфилтрације плазма ћелија). Болести које могу да подсећају на аутоимуни хепатитис такође морају да буду искључене, а то подразумева искључивање вирусног и алкохолног хепатитиса, Вилсонове болести, наследне хемохроматозе и других обољења [179]. Према овом систему бодовања, оцењују се четири

различите клиничке категорије и то на основу налаза аутоантитела, имуноглобулина, вирусних маркера и хистолошких налаза. Овај савремени систем бодовања је значајно поједностављен у односу на стари, оригинални систем бодовања у оквиру којег је испитивано 13 клиничких категорија [182]. Оригинални систем бодовања има већу сензитивност за аутоимуни хепатитис (100% наспрам 95% колико износи сензитивност ревидираног система бодовања), али поједностављени систем бодовања има већу специфичност (90% наспрам 73% колико износи специфичност оригиналног система бодовања). Овакви системи бодовања имају и значајна ограничења, будући да се они неадекватно користе за утврђивање присуства аутоимуног хепатитиса код пацијената са примарном билијарном цирозом јетре [183-184]. Поред тога, ови системи бодовања су коришћени, али нису и валидирани код пацијената тешким акутним (фулминантним) отказивањем јетре [185] и код пацијената са дисфункцијом графта након трансплантације јетре [186].

Вилсонова болест је аутозомно-рецесивни метаболички поремећај који настаје због мутације *ATP7B* гена, услед чега долази до акумулирања бакра у погођеним ткивима (јетри и мозгу) изнад нормалних метаболичких потреба [29]. У оквиру калкулатора који смо развили у нашој студији, предиктивни фактори Вилсонове болести су абнормалне вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина и серумског албумина. Ипак, дијагноза Вилсонове болести се у практичном смислу поставља на основу дијагностичких критеријума које је развила радна група на 8. међународном скупу о Вилсоновој болести у Лајпцигу 2001. године. Лајпцишки критеријуми укључују корнеалне Кајзер-Флајшерове кругове, неуролошке сметње, податке о нивоу церулоплазмина, *Coombs*-ов тест, ниво бакра у урину и јетри, као и мутацијске анализе [187-188]. Типично, дијагноза Вилсонове болести се поставља када су присутни Кајзер-Флајшерови прстенови и када је ниво серумског церулоплазмина мањи од 0,1 g/L. Када нису присутни Кајзер-Флајшерови прстенови (што је уобичајено у хепатичкој манифестацији Вилсонове болести), ниво церулоплазмина нису увек поуздани, јер могу бити ниски и код неких других обољења (аутоимуни хепатитис, тешка хепатичка инсуфицијенција, целиакија). На основу Лајпцишких критеријума, дијагноза Вилсонове болести се поставља уколико је укупна вредност скорa најмање 4, док се за вредност скорa од 3 поена може посумњати на Вилсонову болест, али су у том случају неопходна додатна тестирања. Највећу вредност у

оквиру овог скорa (4 поена) носи доказано присуство мутације *ATP7B* гена на оба хромозома, док по 2 поена доноси присуство Кајзер-Флајшерових прстенова, неуролошких симптома, повећан ниво бакра у јетри и урину, као и снижен ниво серумског церулоплазмина. Најмању вредност у оквиру овог скорa има позитиван *Coombs*-ов тест (1 поен).

Користећи добро утврђене серумске параметре у нашој студији, приметили смо да абнормалне вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина и анамнестички податак о узимању одређеног лека код пацијента могу бити предиктивни фактори у математичком моделовању хепатитиса узрокованог лековима. Дијагноза болести јетре изазване лековима заснива се на анамнези, анализама крви и ако је применљиво, биопсији јетре. Не постоје специфични лабораторијски тестови, хистолошке промене или клинички знаци и симптоми који омогућавају дијагнозу медикаментозног и токсичног хепатитиса. Знаци и симптоми разликују се зависно од лека, пацијента и степена оштећења [189]. У већини случајева, оштећења јетре изазвана лековима настају као последица идиосинкратске реакције коју изазива препоручена доза лека, а у мањем проценту је реч о токсичном оштећењу јетре које се јавља као последица предозирања одређеним леком [190]. У случајевима када оштећење јетре изазове лек примењен у препорученој дози, количине токсичних метаболита су немерљиве па се зато ти метаболити не могу користити као дијагностички биомаркери [191]. С друге стране, најчешћи пример оштећења јетре у случају предозирања је центрилобуларна некроза коју узрокују токсичне дозе парацетамола [192]. Највећи проблем код медикаментозног хепатитиса је чињеница да се он често не препознаје као такав, већ се дуго времена трага за другим потенцијалним узроцима оштећења јетре [193-194]. Пропуштене дијагнозе медикаментозног хепатитиса се доста често описују у литератури и могу се појавити на било ком нивоу, а најчешће настају као резултат недовољно добро дефинисаних критеријума и система. Са циљем отклањања дијагностичких недостатака и ограничења код медикаментозног хепатитиса, развијен је *RUCAM/CIOMS* систем за квантитативно процењивање узрочности у случајевима сумње на оштећење јетре индуковано лековима или биљним препаратима [195]. *RUCAM/CIOMS* систем је међународни пројекат који подлеже честим ревизијама, а оригинална верзија овог калкулатора за дијагностиковање медикаментозног хепатитиса има сензитивност 86%, специфичност 89%, позитивну предиктивну вредност 93% и

негативну предиктивну вредност 78 % [196]. Иако се може рећи да *RUCAM/CIOMS* систем представља златни стандард за дијагностиковање медикаментозног хепатитиса, важно је напоменути да и такав калкулатор има значајних ограничења. Та ограничења се пре свега односе на произвољно оцењивање, нарочито у случајевима када је присутна и злоупотреба алкохола; такође, овај скор се не може применити за испитивање токсичног утицаја лека на јетру у случајевима када већ постоји неко хронично обољење јетре [197].

Поред *RUCAM/CIOMS* система, постоји још један званични калкулатор који се може користити за дијагнозу медикаментозног и токсичног хепатитиса. То је *LTKB* база (*Liver Toxicity Knowledge Base*) коју је развила Америчка савезна управа за храну и лекове (*Food and Drug Administration*) [198]. На основу дневне дозе, липофилности и формирања реактивних метаболита, развијен је бодовни алгоритам за болести јетре индуковане лековима. Он даје скалу за процену озбиљности ризика од медикаментозног оштећења јетре, повезаног са оралним лековима који се примењују код људи [199]. Специфичност овог система је велика, али његову примену ограничава ниска сензитивност [198]. Због недостатка сензитивних и специфичних клиничких тестова за дијагнозу, предвиђање и праћење оштећења јетре изазваних лековима, Европска агенција за лекове (*EMA*) је отпочела пројекат за утврђивање нових биомаркера како би се омогућила ранија дијагноза, прецизније предвиђање исхода и прогнозе код болести јетре изазваних лековима [200].

Поред званичних иницијатива које за циљ имају развој калкулатора за дијагностиковање токсичног и медикаментозног хепатитиса, слична иницијатива је присутна и у ширим научним круговима. Тако су *Reimen CH* и сарадници [201] развили математички модел за процену оштећења јетре у случајевима предозирања парацетамолом. Неки од предиктивних фактора њиховог модела (*AST* и *ALT*) су заједнички са моделом који смо развили у нашој студији. Поред абнормалних вредности трансаминаза, *Reimen CH* и сарадници су открили да важан предиктивни фактор јесте и вредност *INR*-а. Овај модел је показао максималну сензитивност од 100%, специфичност од 91%, позитивну предиктивну вредност од 67% и негативну предиктивну вредност од 100%.

У калкулатору који је настао у овој студији, код болести мишића као што је идиопатска инфламаторна миопатија или оштећења мишића индукована вежбањем, бележи се: значајно повећање вредности серумских трансминаза- *AST*-а и *ALT*-а. И други аутори су се бавили испитивањем односа серумских вредности *AST*-а, *ALT*-а и креатин киназе у процесу дијагностиковања идиопатке инфламаторне миопатије. Ти радови су показали значајну корелацију између вредности креатин киназе и серумских трансминаза. Серумске трансминазе су повишене код 80% пацијената у време болести а нормализују се код 85 % пацијената истовремено са креатин киназом. Препознавање узрока абнормалности серумских трансминаза код идиопатске инфламаторне миопатије је важно за клиничку праксу јер се на тај начин избегавају непотребне биопсије јетре, одлагање праве дијгнозе и постављање погрешне дијагнозе болести јетре. [202]. Серумске вредности трансминаза нису довољно специфичан тест за постављање дијагнозе идиопатске инфламаторне миопатије, па се зато у те сврхе користе и методе мишићне биопсије, имунохистохемијске методе и електромиографија [203], мада је потребно нагласити да не постоји златни стандард за постављање дијагнозе миопатија.

Оштећења мишића услед вежбања су битан аспект истраживања у домену спортске медицине. У циљу избегавања инвазивних дијагностичких техника као што је биопсија, користе се серумски параметри који служе за процену степена оштећења, периода опоравка или потребе за терапијом. Тако је у студији *Kanda K, et al* [46] анализиран серум спортиста након серије вежби, при чему су мерене вредности креатин киназе, *AST*-а, *ALT*-а, лактат дехидрогеназе, алдолазе, као и вредности параметара попут интерлеукина 17 и 23, фактора раста нерава, растворљивог ендотелијалног селектина и других. Резултати ове студије су недвосмислено потврдили да не постоје довољно специфични биомаркери за дијагностиковање оштећења мишића изазваних вежбама. Из тог разлога су у неким истраживањима вршене и анализе урина у потрази за специфичним биомаркерима који би могли указати на оштећења мишића индукована претераним физичким напором [204].

У оквиру модела за срчане болести развијеног у оквиру овог истраживања, као предиктивни фактори издвојене су абнормалне вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а, билирубина и серумских албумина. Модел који је унет у наш калкулатор не прави разлику између различитих болести срца. Из литературних података је познато да су код пацијената који пате од кардиоваскуларних болести повишене вредности серумског *AST*-а,

ALT-а и/или *AP*-а, *GGT*-а и билирубина. У великом броју спроведених студија је документована значајна корелација између повишених нивоа ових серумских параметара и краткорочног и дугорочног исхода болести [37-38, 205-208]. Тако су *Bozkus F* и сарадници у студији [205] показали да се *GGT*, поред тога што се све чешће користи као биомаркер за предвиђање инфламације, инфаркта миокарда и изненадне срчане смрти, може користити и у процени стања хроничне опструктивне болести плућа као маркер оксидативног стреса. Такође је у оквиру ове студије показано да постоји висок степен корелације између високих серумских нивоа *GGT*-а и кардиоваскуларних догађаја код пацијената са хроничном опструктивном болешћу плућа. Слично, показано је да су серумске трансминазе у преко 95 % случајева повезане са значајно већом учесталошћу mortalитета код пацијената са инфарктом миокарда са СТ елевацијом [208].

Дисфункција јетре је честа код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, па је тако дефинисан и кардиохепатички синдром, односно стање које се карактерише развојем конгестивне хепатопатије и цирозе јетре код пацијената са узрапредовалом срчаном инсуфицијенцијом [209]. Из тог разлога се модели за процену функције јетре могу користити у сврху процене прогнозе и ризика од mortalитета код пацијената са кардиоваскуларним болестима. Тако се унапређена верзија *MELD* система- *MELD-XI* систем, који у оквиру своје калкулације урачунава и вредности *INR*-а, користи за процену функције јетре код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, при чему су високе вредности овог скорa независан предиктор не само срчане смрти, већ и целокупног mortalитета код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом [206]. Повезаност абнормалних вредности тестова функције јетре и појаве кардиоваскуларних болести уочена је и у студији коју су спровели *Lazo M* и сарадници [38]. Показано је да, у случајевима минималног конзумирања алкохола, постоји снажна повезаност између нивоа ензима јетре (*ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а) и минутног пораста срчаног тропонина. Такође, серумске вредности *ALT*-а, *AST*-а, *GGT*-а, *AP*-а и билирубина су биле нарочито високе у групи пацијената који су имали озбиљне кардиоваскуларне нежељене догађаје, при чему је логистичка регресиона анализа показала да највећа корелација постоји у случају алкалне фосфатазе. С друге стране, између нивоа ензима јетре и *NT-proBNP*-а постоји инверзна повезаност која проистиче из метаболичких ефеката натриуретских пептида.

Абнормални биохемијски тестови функције јетре чести су код пацијената са тиреотоксикозом [210], чак и пре примене антитиреоидних лекова за које је познато да могу довести до погоршања функције јетре [211-213]. Вишеструки механизми укључени су у развој хепатичке дисфункције код пацијената са тиреотоксикозом, као што су вишак тиреоидног хормона, повишени титри антитела на тиреоидне рецепторе, релативна хепатична аноксија и осетљивост на оксидативни стрес, срчана инсуфицијенција, антитиреоидни лекови и пратећа болест јетре [214]. Као највероватнији узрок оштећења функције јетре код пацијената са хипертиреозом, наводи се апоптоза хепатоцита која је индукована прекомерном концентрацијом тријодтиронина [214-215]. С друге стране, *He K* и сарадници су у студији [216] показали да се код Гравесове болести оштећења јетре јављају као последица повишеног нивоа антитела усмерених против тиреоидних рецептора. У оквиру нашег истраживања, ми смо развили калкулатор за хипертиреозу, који као предиктивне факторе обухвата абнормалне вредности *AST*-а, *ALT*-а, *GGT*-а, *AP*-а, *TSH*-а, билирубина, серумских албумина и продужено протромбинско време. Може се рећи да је наш математички модел за хипертиреозу у складу са познатим чињеницама да се код пацијената са хипертиреозом често срећу повишене вредности серумских трансаминаза и албумина [210], гама-глутамил трансферазе [217], алкалне фосфатазе [218], билирубина [219], као и продужено протромбинско време [210]. Постоји широк спектар инциденце ових абнормалности у објављеној литератури. У неким случајевима биохемијска абнормалност може доминирати у клиничком налазу и компликовати ток примарне болести [220-221].

ОГРАНИЧЕЊА СТУДИЈЕ

Главно ограничење наше студије био је релативно мали број пацијената са одређеним дијагнозама, тако да је валидација могла бити спроведена за ограничени етиолошки спектар. Поред тога, ниска преваленција одређених дијагноза могла је довести до прецењивања дијагностичке тачности калкулатора у том погледу. Потребне су додатне студије како би се добила потпуна слика о дијагностичкој вриједности овог калкулатора.

ЗАКЉУЧАК

Валидација модела на скупу узорака пацијената дала је задовољавајуће резултате. С обзиром на релативно ниску преваленцију тестираних дијагноза оштећења јетре код наших пацијената, добијене позитивне и негативне предиктивне вредности указују на добре перформансе модела за готово све етиологије, осим за неалкохолни стеатохепатитис. Коефицијенти вероватноће, као и *post-test odds* вредности, показују да модел значајно повећава вероватноћу којом нека етиологија одговара неком образцу резултата тестова јетре код појединачних пацијента, а посебно када су у питању хронични вирусни хепатитис и токсични и медикаментозни хепатитис.

За следеће дијагнозе модел је показао задовољавајућу дијагностичку тачност: хронични хепатитис, неалкохолни стеатохепатитис, алкохолну болест јетре, аутоимуноу болест јетре, и токсични и медикаментозни хепатитис. У оквиру сваког од наведених модела смо приказали предиктивне факторе, чија повишена вредност указује на присуство болести за коју је модел конструисан. У практичном смислу модел означава оне тестове, односно параметре функције јетре, чије вредности требају да буду повишене да би се могло претпоставити да се код одређеног пацијента може поставити дијагноза обољења за које је модел конструисан.

Модели за метаболичку болест јетре, миопатију, срчане болести и хипертиреозидизам нису могли бити тестирани (валидирани) због недовољног броја пацијената.

За све тестиране дијагнозе, модел је показао веома значајну разлику између површине испод ROC (Receiver-operator curves) крива и вредности од 0,5 ($p < 0,001$), а уочен је и висок степен сензитивности (више од 90%, осим калкулатора за хронични

хепатитис) као и релативно висока специфичност (више од 75%), што указује на добру способност калкулатора да открије етиологију оштећења јетре.

Модел је показао највећу осетљивост за токсични и медикаментозни хепатитис, аутоимуни хепатитис и неалкохолни стеатохепатитис, док је специфичности била највиша код аутоимуног хепатитиса и токсичног и медикаментозног хепатитиса.

У закључку, модел је показао задовољавајућу осетљивост и специфичност код одређених, важних, етиологија оштећења јетре. Јасно је да модел није замена за детаљне дијагностичке алгоритме и методе које су већ коришћене за проналажење узрока оштећења јетре, али би могао бити корисно средство за брзу оријентацију при првом сусрету са пацијентом чији су лабораторијски тестови функције јетре абнормални. Клиничари не треба да се ослањају на овај модел ради дефинитивне етиолошке дијагнозе оштећења јетре; требало би да се сматра помоћним средством за брзо скенирање таквих пацијената и усмеравање даље дијагностике, укључујући по потреби, златни стандард.

Потребне су додатне студије како би се добила потпуна слика о дијагностичкој вредности метода, обзиром да потпунији подаци о лабораторијским параметрима могу повећати прецизност процене дијагностичке тачности и њен опсег.

У будућности овај калкулатор би требао постати доступан клиничарима као бесплатна апликација на паметним телефонима, тако да ће их моћи лако и брзо користити код првог сусрета са пацијентом са абнормалним тестовима функције јетре.

ЛИТЕРАТУРА

1. Williams R, Aspinall R, Bellis M, Camps-Walsh G, Cramp M, Dhawan A, et al. Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis. *Lancet* 2014;384(9958):1953-97.
2. Murray CJ, Richards MA, Newton JN, Fenton KA, Anderson HR, Atkinson C, et al. UK health performance: findings of the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2013;381(9871):997-1020.
3. Armstrong MJ, Houlihan DD, Bentham L, Shaw JC, Cramb R, Olliff S, et al. Presence and severity of non-alcoholic fatty liver disease in a large prospective primary care cohort. *J Hepatol* 2012;56(1):234-40.
4. Armstrong MJ, Hazlehurst JM, Parker R, Koushiappi E, Mann J, Khan S, et al. Severe asymptomatic non-alcoholic fatty liver disease in routine diabetes care; a multi-disciplinary team approach to diagnosis and management. *QJM* 2014;107(1):33-41.
5. Della Corte C, Mosca A, Vania A, Alterio A, Alisi A, Nobili V. Pediatric liver diseases: current challenges and future perspectives. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;10(2):255-65.
6. Newsome PN, Cramb R, Davison SM, Dillon JF, Foulerton M, Godfrey EM, et al. Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *Gut* 2018;67(1):6-19.
7. Soloway RD, Summerskill WH. Chronic active liver disease: classification and treatment. *Postgrad Med* 1973;53(1):88-94.
8. Mondelli MU, Bortolotti F, Pontisso P, Rondanelli EG, Williams R, Realdi G, et al. Definition of hepatitis B virus (HBV)-specific target antigens recognized by cytotoxic T cells in acute HBV infection. *Clin Exp Immunol* 1987;68(2):242-50.
9. Svirtlih N, Delic D, Simonovic J, Dokic L, Gvozdencovic E, Dulovic O, et al. Characteristics of patients dying from acute viral hepatitis in Serbia. *Turk J Gastroenterol* 2011;22(2):152-7.
10. Seo YS, Lee KG, Jung ES, An H, Park S, Keum B, et al. Dynamic changes in liver stiffness during the course of acute hepatitis A. *Scand J Gastroenterol* 2010;45(4):449-56.
11. Lin S, Yang L, Zhang YJ. Hepatitis E Virus: Isolation, Propagation, and Quantification. *Curr Protoc Microbiol* 2018;48:15L.1.1-15L.1.15.

12. Bhat M, Ghali P, Deschenes M, Wong P. Prevention and Management of Chronic Hepatitis B. *International Journal of Preventive Medicine* 2014;5 (Suppl 3):S200-S207.
13. Trépo C, Chan HL, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014;384(9959):2053-63.
14. Sy BT, Ratsch BA, Toan NL, Song le H, Wollboldt C, Bryniok A, et al. High prevalence and significance of hepatitis D virus infection among treatment-naïve HBsAg-positive patients in Northern Vietnam. *PLoS One* 2013;8(10):e78094.
15. Manns MP, Buti M, Gane E, Pawlotsky JM, Razavi H, Terrault N, et al. Hepatitis C virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17006.
16. Tang CM, Yau TO, Yu J. Management of chronic hepatitis B infection: current treatment guidelines, challenges, and new developments. *World J Gastroenterol* 2014;20(20):6262-78.
17. Fujiwara S, Yokokawa Y, Morino K, Hayasaka K, Kawabata M, Shimizu T. Chronic hepatitis E: a review of the literature. *J Viral Hepat* 2014;21(2):78-89.
18. Czaja AJ. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis: Current Status and Future Directions. *Gut and Liver* 2016;10(2):177-203.
19. Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ; American Association for Study of Liver Diseases. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009;50(1):291-308.
20. Silveira MG, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Canadian Journal of Gastroenterology* 2008;22(8):689-698.
21. . Saberi B, Dadabhai AS, Jang Y-Y, Gurakar A, Mezey E. Current Management of Alcoholic Hepatitis and Future Therapies. *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2016;4(2):113-122.
22. O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ; Practice Guideline Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010;51(1):307-28.
23. Frazier TH, Stocker AM, Kershner NA, Marsano LS, McClain CJ. Treatment of alcoholic liver disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2011;4(1):63-81.
24. Lee WM. Drug-induced Acute Liver Failure. *Clinics in liver disease* 2013;17(4):10.

25. Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pyrsopoulos N. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2016;4(2):131-142.
26. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*. 2010;(196):369-405.
27. Leise MD, Poterucha JJ, Talwalkar JA. Drug-induced liver injury. *Mayo Clin Proc* 2014;89(1):95-106.
28. Crownover BK, Covey CJ. Hereditary hemochromatosis. *Am Fam Physician* 2013;87(3):183-90.
29. Liu J, Luan J, Zhou X, Cui Y, Han J. Epidemiology, diagnosis, and treatment of Wilson's disease. *Intractable Rare Dis Res* 2017;6(4):249-255.
30. Townsend SA, Edgar RG, Ellis PR, Kantas D, Newsome PN, Turner AM. Systematic review: the natural history of alpha-1 antitrypsin deficiency, and associated liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2018;47(7):877-885.
31. Mitchell EL, Khan Z. Liver Disease in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Current Approaches and Future Directions. *Curr Pathobiol Rep* 2017;5(3):243-252.
32. Streba LAM, Vere CC, Rogoveanu I, Streba CT. Nonalcoholic fatty liver disease, metabolic risk factors, and hepatocellular carcinoma: An open question. *World Journal of Gastroenterology : WJG* 2015;21(14):4103-4110.
33. Marra F, Lotersztajn S. Pathophysiology of NASH: perspectives for a targeted treatment. *Current Pharmaceutical Design* 2013;19(29):5250-5269.
34. Li X, Wang Z, Wang L, Pan M, Gao P. Liver cirrhosis: a risk factor for gallstone disease in chronic hepatitis C patients in China. *Fan. H, ed. Medicine* 2017;96(26):e7427.
35. Coletta M, Nicolini D, Benedetti Cacciaguerra A, Mazzocato S, Rossi R, et al. Bridging patients with hepatocellular cancer waiting for liver transplant: all the patients are the same? *Transl Gastroenterol Hepatol* 2017;2:78.
36. Woodrell CD, Hansen L, Schiano TD, Goldstein NE. Palliative Care for People With Hepatocellular Carcinoma, and Specific Benefits for Older Adults. *Clin Ther*. 2018. pii: S0149-2918(18)30092-4.

37. Huseynov A, Baumann S, Becher T, Koepf J, Lang S, Jabbour C, et al. Liver and cholestatic parameters as prognostic biomarkers of in-hospital MACE in patients with STEMI. *Eur J Clin Invest* 2016;46(8):721-9.
38. Lazo M, Rubin J, Clark JM, Coresh J, Schneider AL, Ndumele C, et al. The association of liver enzymes with biomarkers of subclinical myocardial damage and structural heart disease. *J Hepatol* 2015;62(4):841-7.
39. Çağlı K, Başar FN, Tok D, Turak O, Başar Ö. How to interpret liver function tests in heart failure patients? *Turk J Gastroenterol* 2015;26(3):197-203.
40. Samsky MD, Dunning A, DeVore AD, Schulte PJ, Starling RC, Tang WH, et al. Liver function tests in patients with acute heart failure and associated outcomes: insights from ASCEND-HF. *Eur J Heart Fail* 2016;18(4):424-32.
41. Ndrepepa G, Kastrati A. Gamma-glutamyl transferase and cardiovascular disease. *Annals of Translational Medicine* 2016;4(24):481.
42. Jiang S, Jiang D, Tao Y. Role of gamma-glutamyltransferase in cardiovascular diseases. *Experimental & Clinical Cardiology* 2013;18(1):53-56.
43. Mason JE, Starke RD, Van Kirk JE. Gamma-glutamyl transferase: a novel cardiovascular risk biomarker. *Prev Cardiol* 2010;13(1):36-41.
44. Ripley TL, Chonlahan JS, Germany RE. Candesartan in heart failure. *Clinical Interventions in Aging* 2006;1(4):357-366.
45. Khemichian S, Fong T-L. Hepatic Dysfunction in Hyperthyroidism. *Gastroenterology & Hepatology* 2011;7(5):337-339.
46. Kanda K, Sugama K, Sakuma J, Kawakami Y, Suzuki K. Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. *Exerc Immunol Rev* 2014;20:39-54.
47. Wolf PL. Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 1999;14(1):59-90.
48. Wei Y, Li J, Zhang L, Zheng D, Shi B, Cong Y. Assessment of validity of INR system for patients with liver disease associated with viral hepatitis. *J Thromb Thrombolysis* 2010;30(1):84-9.

49. Pezzilli R, Andreone P, Morselli-Labate AM, Sama C, Billi P, Cursaro C, et al. Serum pancreatic enzyme concentrations in chronic viral liver diseases. *Dig Dis Sci* 1999;44(2):350-5.
50. Tarantino G, Citro V, Esposito P, Giaquinto S, de Leone A, Milan G, et al. Blood ammonia levels in liver cirrhosis: a clue for the presence of portosystemic collateral veins. *BMC Gastroenterology* 2009;9:21.
51. Gerstenmaier JF, Gibson RN. Ultrasound in chronic liver disease. *Insights into Imaging* 2014;5(4):441-455.
52. Rofsky NM, Fleishaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR* 1995;16(1):16-33.
53. Navaneethan U, Njei B, Zhu X, Kommaraju K, Parsi MA, Varadarajulu S. Safety of ERCP in patients with liver cirrhosis: a national database study. *Endoscopy International Open* 2017;5(4):E303-E314.
54. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis. Liver biopsy is not always necessary. *Prescrire Int* 2010;19(105):38-42.
55. Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests . *The Pan African medical journal* 2009;3:17.
56. Schiff ER, Maddrey WC, Reddy R. Schiff's diseases of the liver. 11 th ed. Oxford, Wiley-Blackwell, 2011.
57. Hall P, Cash J. What is the Real Function of the Liver "Function" Tests? *The Ulster Medical Journal* 2012;81(1):30-36.
58. McGill MR. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI Journal* 2016;15:817-828.
59. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol* 2017;112(1):18-35.
60. Pol S, Nalpas B, Vassault A, Bousquet-Lemercier B, Franco D, Lacour B, et al. Hepatic activity and mRNA expression of aspartate aminotransferase isoenzymes in alcoholic and nonalcoholic liver disease. *Hepatology* 1991;14(4 Pt 1):620-5.
61. Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 1999;94(10):3010-4.

62. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2014;29(3):269-278.
63. Tung CB, Tung CF, Yang DY, Hu WH, Hung DZ, Peng YC, et al. Extremely high levels of alkaline phosphatase in adult patients as a manifestation of bacteremia. *Hepatogastroenterology* 2005;52(65):1347-50.
64. Jassam NJ, Horner J, Marzo-Ortega H, Sinclair M, Barth JH. Transient rise in alkaline phosphatase activity in adults. *BMJ Case Reports* 2009;2009:bcr09.2009.2250.
65. Newsome PN, Cramb R, Davison SM, Dillon JF, Foulerton M, Godfrey EM, et al. Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *Gut* 2018;67(1):6-19.
66. Koenig G, Seneff S. Gamma-Glutamyltransferase: A Predictive Biomarker of Cellular Antioxidant Inadequacy and Disease Risk. *Dis Markers* 2015;2015:818570.
67. Sueyoshi S, Sawai S, Satoh M, Seimiya M, Sogawa K, Fukumura A, et al. Fractionation of gamma-glutamyltransferase in patients with nonalcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. *World J Hepatol* 2016;8(36):1610-1616.
68. Bruha R, Dvorak K, Petrtyl J. Alcoholic liver disease. *World Journal of Hepatology* 2012;4(3):81-90.
69. Burrows S, Feldman W, McBride F. Serum gamma-glutamyl transpeptidase. Evaluation in screening of hospitalized patients. *Am J Clin Pathol* 1975 Sep;64(3):311-4.
70. Mammen EF. Coagulation abnormalities in liver disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6(6):1247-57.
71. Donaldson GW, Davies SH, Darg A, Richmond J. Coagulation factors in chronic liver disease. *J Clin Pathol.* 1969;22(2):199-204.
72. Capoor MN, Stonemetz JL, Baird JC, Ahmed FS, Awan A, Birkenmaier C, et al. Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time Testing: A Comparative Effectiveness Study in a Million-Patient Sample. *PLoS One* 2015;10(8):e0133317.
73. Takikawa Y, Harada M, Wang T, Suzuki K. Usefulness and accuracy of the international normalized ratio and activity percent of prothrombin time in patients with liver disease. *Hepatol Res* 2014;44(1):92-101.
74. Wang XP, Mao MJ, He ZL, Zhang L, Chi PD, Su JR, et al. A retrospective discussion of the prognostic value of combining prothrombin time(PT) and fibrinogen(Fbg) in patients with Hepatocellular carcinoma. *J Cancer* 2017;8(11):2079-2087.

75. Kang K-S. Abnormality on Liver Function Test. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition* 2013;16(4):225-232.
76. Wagner KH, Shiels RG, Lang CA, Seyed Khoei N, Bulmer AC. Diagnostic criteria and contributors to Gilbert's syndrome. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55(2):129-139.
77. Thapa BR, Anuj W. Liver Function Tests and their Interpretation. *Indian J Pediatr.* 2007;74:663–671.
78. Bacq Y, Zarka O, Bréchet JF, Mariotte N, Vol S, Tichet J, Weill J. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology* 1996;23(5):1030-4.
79. Sackett DL, Rosenberg WM, Gray JA, Haynes RB, Richardson WS. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* 1996;312:71-2.
80. Steyerberg EW, Moons KG, van der Windt DA, Hayden JA, Perel P, Schroter S, et al; PROGRESS Group. Prognosis Research Strategy (PROGRESS) 3: prognostic model research. *PLoS Med* 2013;10(2):e1001381.
81. Hemingway H, Croft P, Perel P, Hayden JA, Abrams K, Timmis A, et al. Prognosis research strategy (PROGRESS) 1: a framework for researching clinical outcomes. *BMJ* 2013;346:e5595.
82. Lee Y, Bang H, Kim DJ. How to Establish Clinical Prediction Models. *Endocrinology and Metabolism* 2016;31(1):38-44.
83. Martin-Martin LS, Latini A, Pagano A, Ragno A, Stasi R, Coppè A, et al. A new mathematical model based on clinical and laboratory variables for the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2003;22(2):123-6.
84. Wei JT, Zhang Z, Barnhill SD, Madyastha KR, Zhang H, Oesterling JE. Understanding artificial neural networks and exploring their potential applications for the practicing urologist. *Urology* 1998;52(2):161-72.
85. Schneider J, Peltri G, Bitterlich N, Neu K, Velcovsky HG, Morr H, et al. Fuzzy logic-based tumor marker profiles including a new marker tumor M2-PK improved sensitivity to the detection of progression in lung cancer patients. *Anticancer Res* 2003;23(2A):899-906.
86. Hoops S, Sahle S, Gauges R, Lee C, Pahle J, Simus N, et al. COPASI--a COMplex Pathway SIMulator. *Bioinformatics* 2006;22(24):3067-74.

87. Needham CJ, Bradford JR, Bulpitt AJ, Westhead DR. A primer on learning in Bayesian networks for computational biology. *PLoS Comput Biol* 2007;3(8):e129.
88. van Schalkwijk DB, van Bochove K, van Ommen B, Freidig AP, van Someren EP, van der Greef J, et al. Developing computational model-based diagnostics to analyse clinical chemistry data. *Brief Bioinform* 2010;11(4):403-16.
89. Cacciola I, Scoglio R, Alibrandi A, Squadrito G, Raimondo G; SIMG-Messina Hypertransaminasemia Study Group. Evaluation of liver enzyme levels and identification of asymptomatic liver disease patients in primary care. *Intern Emerg Med* 2017;12(2):181-186.
90. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem* 2000; 46(12):2027-2049.
91. Hofbauer SL, Stangl KI, de Martino M, Lucca I, Haitel A, Shariat SF, et al. Pretherapeutic gamma-glutamyltransferase is an independent prognostic factor for patients with renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 2014;111(8):1526-31.
92. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol* 2017; 112 (1):18-35.
93. Carr BI, Guerra VA. Hepatocellular Carcinoma Aggressiveness Index and Its Relationship to Liver Enzyme Levels. *Oncology* 2016; 90:215–220.
94. Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: a systematic review. *JAMA* 2015; 313(22):2263-2273.
95. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology* 2015; 62 (3): 932–954.
96. Wernly B, Lichtenauer M, Franz M, Kabisch B, Muessig J, Masyuk M, et al. Model for End-stage Liver Disease excluding INR (MELD-XI) score in critically ill patients: Easily available and of prognostic relevance. Wagener G, ed. *PLoS ONE* 2017;12(2):e0170987.
97. Benko T, Gallinat A, Minor T, Saner FH, Sotiropoulos GC, Paul A, et al. The postoperative Model for End stage Liver Disease score as a predictor of short-term outcome after transplantation of extended criteria donor livers. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017 ; 29(6):716-722.

98. Mannalithara A, Chan JL, Hagerty D, Kim WR. Model for end stage liver disease score dynamics in NASH patients awaiting liver transplantation and waitlist outcomes. *J Hepatol* 2017; 66(1):333-542.
99. Stasi C, Milani S. Non-invasive assessment of liver fibrosis: Between prediction/prevention of outcomes and cost-effectiveness. *World J Gastroenterol* 2016; 22(4):1711–1720.
100. Knop V, Vermehren J, Petersen J, Buggisch P, Wedemeyer H, Cornberg M, et al. Impact of Dynamic Viral and Biochemical Parameters on Progression of Liver Fibrosis in a Cohort of Inactive European Hepatitis B (HBV) Carriers: A Prospective Longitudinal Study (Albatros Study). *J Hepatol* 2016; 64(2): S379 - S380.
101. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology* 2015;21(41):11567-11583.
102. McMillan H, Gregas M, Darras B, Kang P. Serum Transaminase Levels in Boys With Duchenne and Becker Muscular Dystrophy. *Pediatrics* 2011;127(1):e132-6.
103. Allen LA, Felker GM, Pocock S, McMurray JJ, Pfeffer MA, Swedberg K, et al; CHARM Investigators. Liver function abnormalities and outcome in patients with chronic heart failure: data from the Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) program. *Eur J Heart Fail* 2009;11(2):170-7.
104. Botros M, Sikiris KA. The De Ritis Ratio: The Test of Time. *Clin Biochem Rev* 2013;34(3):117-130.
105. Majhi S, Baral N, Lamsal M, Mehta KD. De Ritis ratio as diagnostic marker of alcoholic liver disease. *Nepal Med Coll J* 2006;8(1):40-2.
106. Loaeza-del-Castillo A, Paz-Pineda F, Oviedo-Cárdenas E, Sánchez-Avila F, Vargas-Voráčková F. AST to platelet ratio index (APRI) for the noninvasive evaluation of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2008;7(4):350-7.
107. Borsoi Viana MS, Takei K, Collarile Yamaguti DC, Guz B, Strauss E. Use of AST platelet ratio index (APRI Score) as an alternative to liver biopsy for treatment indication in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2009;8(1):26-31.

108. 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.
109. Nishikawa H, Nishijima N, Enomoto H, Sakamoto A, Nasu A, Komekado H, Nishimura
110. T, Kita R, Kimura T, Iijima H, Nishiguchi S, Osaki Y. Comparison of FIB-4 index and aspartate aminotransferase to platelet ratio index on carcinogenesis in chronic hepatitis B treated with entecavir. *J Cancer* 2017;8(2):152-161.
111. Dolmazashvili E, Karchava M, Abutidze A, Sharvadze L, Tsertsvadze T. COMPARATIVE STUDY OF FIB-4 INDEX AND TRANSIENT ELASTOGRAPHY AMONG PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION IN GEORGIA. *Georgian Med News* 2017;(264):81-86.
112. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Ratziu V. FibroTest-FibroSURE: towards a universal biomarker of liver fibrosis? *Expert Rev Mol Diagn* 2005;5(1):15-21.
113. Mun BS, Ahn HS, Ahn DS, Lee SO. [The correlation of Child-Pugh score, PGA index and MELD score in the patient with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma according to the cause of alcohol and hepatitis B virus]. *Taehan Kan Hakhoe Chi* 2003;9(2):107-15.
114. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, Abella A, Naveau S, Paraf F, Chaput JC. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology* 1991;100(5 Pt 1):1397-402.
115. Tilg H, Kaser A. Predicting mortality by the Glasgow alcoholic hepatitis score: the long awaited progress? *Gut* 2005;54(8):1057-1059.
116. Hope TA, Ohliger MA, Qayyum A. MR imaging of diffuse liver disease: from technique to diagnosis. *Radiol Clin North Am* 2014;52(4):709-24.
117. Raquel Oliva M, Saini S. Liver cancer imaging: role of CT, MRI, US and PET. *Cancer Imaging* 2004;4(Spec No A):S42-S46.
118. Sherwood P, Lyburn I, Brown S, Ryder S. How are abnormal results for liver function tests dealt with in primary care? Audit of yield and impact. *BMJ* 2001;322(7281):276-8.

119. Lilford RJ, Bentham L, Girling A, Litchfield I, Lancashire R, Armstrong D, et al. Birmingham and Lambeth Liver Evaluation Testing Strategies (BALLETS): a prospective cohort study. *Health Technol Assess* 2013;17(28):i-xiv, 1-307.
120. Donnan PT, McLernon D, Dillon JF, Ryder S, Roderick P, Sullivan F, et al. Development of a decision support tool for primary care management of patients with abnormal liver function tests without clinically apparent liver disease: a record-linkage population cohort study and decision analysis (ALFIE). *Health Technol Assess* 2009;13(25):iii-iv, ix-xi, 1-134.
121. Pari L, Murugan P. Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity. *Pharmacol Res* 2004;49(5):481-6.
122. Ge QP, Wang QF, Duan HF, Wang J, Chu NH. [Clinical analysis of prothionamide and para-aminosalicylic acid induced hepatotoxicity in 129 cases]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2013;36(10):737-40.
123. Sette LH, Almeida Lopes EP. Liver enzymes serum levels in patients with chronic kidney disease on hemodialysis: a comprehensive review. *Clinics (Sao Paulo)* 2014;69(4):271-8.
124. Shamban L, Patel B, Williams M. Significantly Elevated Liver Alkaline Phosphatase in Congestive Heart Failure. *Gastroenterology Res* 2014;7(2):64-68.
125. Kubo SH, Walter BA, John DH, Clark M, Cody RJ. Liver function abnormalities in chronic heart failure. Influence of systemic hemodynamics. *Arch Intern Med* 1987;147(7):1227-30.
126. Avilés A, Talavera A, García EL, Guzmán R, Díaz-Maqueo JC. [Alkaline phosphatase as a prognostic factor in Hodgkin's disease]. *Rev Gastroenterol Mex* 1990;55(4):211-4.
127. Lin SM, Chu CM, Shih LY, Liaw YF. [Hematological abnormalities in acute viral hepatitis and acute hepatitis in HBsAg carrier]. *Changeng Yi Xue Za Zhi* 1991;14(4):253-8.
128. Krajden M, McNabb G, Petric M. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology* 2005;16(2):65-72.
129. Song JE, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. *Annals of Translational Medicine*. 2016;4(18):338.

130. de Paula VS. Laboratory diagnosis of hepatitis A. *Future Virology* 2012;7(5):461-472.
131. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2013;57(4):e22-e121.
132. Mannan R, Misra V, Misra S., Singh PA, Dwivedi M. A Comparative Evaluation of Scoring Systems for Assessing Necro-Inflammatory Activity and Fibrosis in Liver Biopsies of Patients with Chronic Viral Hepatitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 2014;8(8):FC08-FC12.
133. Stănculeț N, Grigoraș A, Predescu O, Floarea-Strat A, Luca C, Manciuc C, et al. Operational scores in the diagnosis of chronic hepatitis. A semi-quantitative assessment. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53(1):81-7.
134. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2007;47(4):598-607.
135. Wahl K, Rosenberg W, Vaske B, Manns MP, Schulze-Osthoff K, Bahr MJ, et al. Biopsy-Controlled Liver Fibrosis Staging Using the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Score Compared to Transient Elastography. Avila MA, ed. *PLoS ONE* 2012;7(12):e51906.
136. Afphal NH. Biopsy or Biomarkers: Is There a Gold Standard for Diagnosis of Liver Fibrosis? *Clinical Chemistry* 2004;50(8):1299-1300.
137. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-2618.
138. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers RP, Albrecht J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology* 2003;38:481-492.
139. 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;357:1069-1075.

140. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut V, Myers RB, Piton A, Thabut D, et al. Intra-laboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (Fibrotest) and activity (Actitest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:323-333.
141. Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol* 2004;99(6):1160-74.
142. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev* 2011;91(1):221-64.
143. Cao Q, Mak KM, Ren C, Lieber CS. Leptin stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H₂O₂-dependant MAPK pathways. *J Biol Chem* 2004;279(6):4292-304.
144. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology* 2002;123(4):1323-30.
145. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE₂, and PAF. *J Clin Invest* 1998;101(4):890-8.
146. Paik YH, Schwabe RF, Bataller R, Russo MP, Jobin C, Brenner DA. Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003;37(5):1043-55.
147. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(10):1969-87.
148. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012;55(6):2005-23.

149. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al; LIDO Study Group. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128(7):1898-906.
150. Liang J, Liu F, Wang F, Han T, Jing L, Ma Z, et al. A Noninvasive Score Model for Prediction of NASH in Patients with Chronic Hepatitis B and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int* 2017;2017:8793278.
151. El Bassat H., Ziada D. H., Hasby E. A., Nagy H., Abo Ryia M. H. Apoptotic and anti-apoptotic seromarkers for assessment of disease severity of non-alcoholic steatohepatitis. *Arab Journal of Gastroenterology* 2014;15(1):6–11.
152. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41(6):1313-21.
153. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. The NAS and The Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2011;53(3):810-820.
154. Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. Controlled attenuation parameter for the detection and quantification of hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2014;29(7):1470-6.
155. Myers RP, Pollett A, Kirsch R, Pomier-Layrargues G, Beaton M, Levstik M, et al. Controlled Attenuation Parameter (CAP): a noninvasive method for the detection of hepatic steatosis based on transient elastography. *Liver Int* 2012 ;32(6):902-10.
156. de Lédinghen V, Wong GL, Vergniol J, Chan HL, Hiriart JB, Chan AW, et al. Controlled attenuation parameter for the diagnosis of steatosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31(4):848-55.
157. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic and Clinical Implications. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2010;51(2):679-689.
158. Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology* 2012;142(4):711-725.e6.

159. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Seminars in liver disease* 2012;32(1):22-29.
160. TOMIZAWA M, KAWANABE Y, SHINOZAKI F, et al. Triglyceride is strongly associated with nonalcoholic fatty liver disease among markers of hyperlipidemia and diabetes. *Biomedical Reports* 2014;2(5):633-636.
161. Sumida Y, Nakajima A, Hyogo H, Tanaka S, Ono M, Fujii H, et al. Non-invasive systems for predicting NASH in Japan: evidences from Japan Study Group of NAFLD. *Integr Mol Med* 2015;2(2):145-149.
162. : Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, Uto H, Ono M, Sumida Y, et al; Japanese Society of Gastroenterology; Japan Society of Hepatology. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2015;50(4):364-77.
163. Orman ES, Odena G, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis, management, and novel targets for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28Suppl 1:77-84.
164. Testino G. Alcoholic hepatitis. *J Med Life* 2013;6(2):161-7.
165. Grasselli E, Compalati AD, Voci A, Vecchione G, Ragazzoni M, Gallo G, et al. Altered oxidative stress/antioxidant status in blood of alcoholic subjects is associated with alcoholic liver disease. *Drug Alcohol Depend* 2014;143:112-9.
166. Torruellas C, French SW, Medici V. Diagnosis of alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014;20(33):11684-99.
167. Dasarathy S, McCullough J.A.C. Alcoholic Liver Disease. In: Schiff's Diseases of the Liver, 11th Edition. Eugene R. Schiff, Willis C. Maddrey, Michael F. Sorrell (Eds.). Oxford: Wiley-Blackwell, 2012: 657:701.
168. Stickel F, Datz C, Hampe J, Bataller R. Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut Liver* 2017; 11(2):173-188.
169. European Association for the Study of Liver. EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2012;57:399-420.
170. Tu HP, Tung YC, Tsai WC, Lin GT, Ko YC, Lee SS. Alcohol-related diseases and alcohol dependence syndrome is associated with increased gout risk: A nationwide population-based cohort study. *Joint Bone Spine* 2017;84(2):189-196.

171. Alatalo P, Koivisto H, Puukka K, Hietala J, Anttila P, Bloigu R, et al. Biomarkers of liver status in heavy drinkers, moderate drinkers and abstainers. *Alcohol Alcohol* 2009;44(2):199-203.
172. Trabut JB, Plat A, Thepot V, Fontaine H, Vallet-Pichard A, Nalpas B, et al. Influence of liver biopsy on abstinence in alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol* 2008;43(5):559-63.
173. Lombardi R, Buzzetti E, Roccarina D, Tsochatzis EA. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2015;21:11044–11052.
174. Salvalaggio P, Afonso RC, Pereira LA, Ferraz-Neto BH. The MELD system and liver transplant waiting-list mortality in developing countries: lessons learned from São Paulo, Brazil. *Einstein (Sao Paulo)* 2012;10(3):278-85.
175. Forrest EH, Morris AJ, Stewart S, Phillips M, Oo YH, Fisher NC, et al. The Glasgow alcoholic hepatitis score identifies patients who may benefit from corticosteroids. *Gut* 2007;56(12):1743-6.
176. Louvet A, Naveau S, Abdelnour M, Ramond MJ, Diaz E, Fartoux L, et al. The Lille model: a new tool for therapeutic strategy in patients with severe alcoholic hepatitis treated with steroids. *Hepatology* 2007;45(6):1348-54.
177. Garcia-Saenz-de-Sicilia M, Duvoor C, Altamirano J, Chavez-Araujo R, Prado V, de Lourdes Candolo-Martinelli A, et al. A Day-4 Lille Model Predicts Response to Corticosteroids and Mortality in Severe Alcoholic Hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2017;112(2):306-315.
178. Aizawa Y, Hokari A. Autoimmune hepatitis: current challenges and future prospects. *Clin Exp Gastroenterol* 2017; 10:9-18.
179. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999;31(5):929-38.
180. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al; International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48(1):169-76.

181. Czaja AJ. Performance parameters of the diagnostic scoring systems for autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008;48:1540–1548.
182. Corrigan M, Hirschfield GM, Oo YH, Adams DH. Autoimmune hepatitis: an approach to disease understanding and management. *Br Med Bull* 2015; 114(1):181-191.
183. Silveira MG, Talwalkar JA, Angulo P, Lindor KD. Overlap of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis: long-term outcomes. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1244–1250.
184. Neuhauser M, Bjornsson E, Treeprasertsuk S, Enders F, Silveira M, Talwalkar J, et al. Autoimmune hepatitis-PBC overlap syndrome: a simplified scoring system may assist in the diagnosis. *Am J Gastroenterol* 2010;105(2):345-53.
185. Fujiwara K, Yasui S, Tawada A, Fukuda Y, Nakano M, Yokosuka O. Diagnostic value and utility of the simplified International Autoimmune Hepatitis Group criteria in acute-onset autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2011;31:1013–1020.
186. Czaja AJ. Diagnosis, pathogenesis, and treatment of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Dig Dis Sci* 2012;57:2248–2266.
187. Loudianos G, Incollu S, Mameli E, Lepori MB. Wilson’s disease in an adult asymptomatic patient: a potential role for modifying factors of copper metabolism. *Ann Gastroenterol* 2016; 29(1):96-98.
188. Hedera P. Update on the clinical management of Wilson’s disease. *Appl Clin Genet* 2017; 10:9-19.
189. Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139(7): 876-887.
190. Danan G, Bénichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs—I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: Application to drug-induced liver injuries. *J. Clin. Epidemiol* 1993;46:1323–1330.
191. Teschke R, Eickhoff A. Herbal hepatotoxicity in traditional and modern medicine: Actual key issues and new encouraging steps. *Front. Pharmacol* 2015;6:1–40.
192. Khandelwal N, James LP, Sanders C, Larson AM, Lee WM. The acute liver failure study group. Unrecognized acetaminophen toxicity as a cause of indeterminate acute liver failure. *Hepatology* 2011;53:567–576.

193. Teschke ., Schulze J, Eickhoff A, Wolff A., Frenzel C. Mysterious Hawaii liver disease case—Naproxen overdose as cause rather than OxyELITE Pro? *J. Liver Clin. Res* 2015;2:1013.
194. Teschke R, Frenzel C, Wolff A, Eickhoff A, Schulze J. Drug induced liver injury: Accuracy of diagnosis in published reports. *Ann. Hepatol* 2014;13:248–255.
195. Danan G, Teschke R. RUCAM in Drug and Herb Induced Liver Injury: The Update. Haybaeck J, ed. *International Journal of Molecular Sciences* 2016;17(1):14.
196. Bénichou C., Danan G., Flahault A. Causality assessment of adverse reactions to drugs—II. An original model for validation of drug causality assessment methods: Case reports with positive rechallenge. *J. Clin. Epidemiol* 1993;46:1331–1336.
197. García-Cortés M, Stephens C, Lucena MI, Fernández-Castañer A, Andrade RJ. Causality assessment methods in drug induced liver injury: strengths and weaknesses. *J Hepatol* 2011;55(3):683-691.
198. Thakkar S, Chen M, Fang H, Liu Z, Roberts R, Tong W. The Liver Toxicity Knowledge Base (LKTb) and drug-induced liver injury (DILI) classification for assessment of human liver injury. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2018;12(1):31-38.
199. Chen M, Borlak J, Tong W. A Model to predict severity of drug-induced liver injury in humans. *Hepatology* 2016; 64:931–940.
200. Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, et al. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut* 2017; 66(6):1154-1164.
201. Remien CH, Adler FR, Waddoups L, Box TD, Sussman NL. Mathematical modeling of liver injury and dysfunction after acetaminophen overdose: early discrimination between survival and death. *Hepatology* 2012;56(2):727-34.
202. Mathur T, Manadan AM, Thiagarajan S, Hota B, Block JA. Serum transaminases are frequently elevated at time of diagnosis of idiopathic inflammatory myopathy and normalize with creatine kinase. *J Clin Rheumatol* 2014; 20(3):130-132.
203. Lundberg IE, Miller FW, Tjärnlund A, Bottai M. Diagnosis and classification of idiopathic inflammatory myopathies. *Journal of Internal Medicine* 2016;280(1):39-51.
204. Falvo MJ, Bloomer RJ. Review of exercise-induced muscle injury: relevance for athletic populations. *Res Sports Med* 2006;14(1):65-82.

205. Bozkus F, Dikmen N, Sahin H, Samur A. Serum Gamma-Glutamyl Transferase Activity as a Potential Novel Cardiovascular Biomarker in COPD. *Respir Care* 2016; 61(11):1465-1471.
206. Abe S, Yoshihisa A, Takiguchi M, Shimizu T, Nakamura Y, Yamauchi H, et al. Liver Dysfunction Assessed by Model for End-Stage Liver Disease Excluding INR (MELD-XI) Scoring System Predicts Adverse Prognosis in Heart Failure. *PLoS One* 2014; 9(6):e100618.
207. Sommer W, Marsch G, Kaufeld T, Röntgen P, Beutel G, Tongers J, et al. Cardiac awake extracorporeal life support-bridge to decision? *Artif Organs* 2015;39(5):400-8.
208. Gao M, Cheng Y, Zheng Y, Zhang W, Wang L, Qin L. Association of serum transaminases with short- and long-term outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord* 2017; 17:43.
209. van Deursen VM, Damman K, Hillege HL, van Beek AP, van Veldhuisen DJ, Voors AA. Abnormal liver function in relation to hemodynamic profile in heart failure patients. *J Card Fail* 2010;16(1):84-90.
210. Lin TY, Shekar AO, Li N, Yeh MW, Saab S, Wilson M, et al. Incidence of abnormal liver biochemical tests in hyperthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2017;86(5):755-759.
211. Sadoul JL, Canivet B, Freychet P. Toxic hepatitis induced by antithyroid drugs: four cases including one with cross-reactivity between carbimazole and benzylthiouracil. *Eur J Med* 1993;2(8):473-7.
212. Wang M-T, Lee W-J, Huang T-Y, Chu C-L, Hsieh C-H. Antithyroid drug-related hepatotoxicity in hyperthyroidism patients: a population-based cohort study. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2014;78(3):619-629.
213. Heidari R, Niknahad H, Jamshidzadeh A, Abdoli N. Factors affecting drug-induced liver injury: antithyroid drugs as instances. *Clinical and Molecular Hepatology* 2014;20(3):237-248.
214. de Campos Mazo DF, de Vasconcelos GB, Pereira MA, de Mello ES, Bacchella T, Carrilho FJ, et al. Clinical spectrum and therapeutic approach to hepatocellular injury in patients with hyperthyroidism. *Clin Exp Gastroenterol* 2013;6:9-17.

215. Kumar A, Sinha RA, Tiwari M, Singh R, Koji T, Manhas N, et al. Hyperthyroidism induces apoptosis in rat liver through activation of death receptor-mediated pathways. *J Hepatol* 2007;46(5):888-98.
216. He K, Hu Y, Xu XH, Mao XM. Hepatic dysfunction related to thyrotropin receptor antibody in patients with Graves' disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014;122(6):368-72.
217. Azizi F. gamma-Glutamyl transpeptidase levels in thyroid disease. *Arch Intern Med* 1982;142(1):79-81.
218. Cooper DS, Kaplan MM, Ridgway EC, Maloof F, Daniels GH. Alkaline phosphatase isoenzyme patterns in hyperthyroidism. *Ann Intern Med* 1979;90(2):164-8.
219. Bal C, Chawla M. Hyperthyroidism and Jaundice. *Indian Journal of Nuclear Medicine: IJNM: The Official Journal of the Society of Nuclear Medicine, India*.2010;25(4):131-134.
220. Zhang Q, Guan Y, Xiang T, Liu S, Chen Q, Zhang Q. Combination of molecular adsorbent recirculating system and radioiodine for the treatment of concurrent hyperthyroidism and severe liver dysfunction: A retrospective cohort study. *Endocr Pract* 2017; 23(2):141-148.
221. Sousa A, Pérez-Rodríguez MT, Páramo C, Álvarez E, Rivera A. Severe acute liver failure and tirotoxicosis: an uncommon association. *Rev Esp Enferm Dig* 2015; 107(9):575-576.

