

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**OTOİMMÜN HEPATİTLİ HASTALARDA HEPATİK FİBROZİS
DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE ELF TESTİ İLE
KARACİĞER BİYOPSİSİNİN TANISAL DEĞERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Merve Sibel GÜNGÖREN

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2013**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**OTOİMMÜN HEPATİTLİ HASTALARDA HEPATİK FİBROZİS
DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE ELF TESTİ İLE
KARACİĞER BİYOPSİSİNİN TANISAL DEĞERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Merve Sibel GÜNGÖREN

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Filiz AKBIYIK**

**ANKARA
2013**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda vermiş olduğu sonsuz destek nedeniyle danışmanım Prof. Dr. Filiz Akbıyık'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bu çalışmanın yürütülmesinde bana yardımcı olan Doç. Dr. Taylan Kav ve Uzm.Dr. Savaş Cumali Efe'ye, asistanlığım sırasında eğitimime katkıda bulunan anabilim dalımızın öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Son olarak, eğitim hayatım boyunca beni her konuda koşulsuz destekleyen anneme ve babama, uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında benden esirgemediği sevgi ve anlayış için eşim Bora Güngören'e teşekkür ederim.

ÖZET

Güngören, M.S. Otoimmün hepatitli hastalarda hepatik fibrozis düzeyinin değerlendirilmesinde ELF testi ile karaciğer biyopsisinin tanısal değerlerinin karşılaştırılması. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2013. Otoimmün hepatit, kronik inflamatuvar hepatoselüler bir hastalık olup hepatomegali, otoantikörlerin varlığı ve poliklonal hipergamaglobulinemi ile karakterizedir. Kronik bir karaciğer hastalığı olan otoimmün hepatitin komplikasyonlarından biri fibrozistir. Hepatik fibrozis, karaciğer dokusunda hücre dışı matriks bileşenlerinin aşırı birikimi ve histolojik olarak yeniden biçimlenmesi sonucu ortaya çıkan ve uzun dönemde karaciğerde işlev bozuklukları ve doku hasarına yol açan patolojik bir durumdur. Karaciğer fibrozisinin değerlendirmesinde altın standart yöntem olarak karaciğer biyopsisi önerilmektedir. Ancak komplikasyonları ve sık kullanıma uygun olmaması nedeniyle son yıllarda karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesi için girişimsel olmayan yöntemler geliştirilmektedir. ELF (enhanced liver fibrosis) testi, karaciğerde fibrozis oluşumunda rol alan hücre dışı matriks metabolizmasını yansıtan belirteçlerden oluşan bir biyokimyasal test panelidir. ELF test paneli, üç parametreden oluşur: Prokollajen-III N-terminal propeptidi (PIIINP), metalloproteazların doku inhibitörü-1 (TIMP-1) ve hyaluronik asit (HA). Serum düzeyleri ölçülen bu parametreler, istatistiksel olarak geliştirilmiş ELF puanını hesaplamak için kullanılır. Bu çalışmada, otoimmün hepatitli hastalarda karaciğerde fibrozis düzeyinin değerlendirilmesi için kullanılan ELF testinin tanısal değerinin karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya toplam 46 hasta dahil edildi. Son bir yıl içinde karaciğer biyopsisi yapılmış olan hastalardan ELF testi için kan örneği alındı. Hasta örnekleri Siemens ADVIA Centaur XP cihazında çalışıldı ve ELF puanları hesaplandı. Karaciğer biyopsileri, METAVIR evreleme sistemine göre incelendi. Hastalar, METAVIR evrelerine göre F0-F1 yok-hafif fibrozis (Grup 1) ve F2-F3-F4 orta-ağır fibrozis (Grup 2) olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların % 19,6'sı Grup 1, % 80,4'ü grup 2'de yer aldı. ELF puanı ortalamaları Grup 1 için $8,62 \pm 1,05$, Grup 2 için $10,60 \pm 1,39$ olarak bulundu ve gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$). İki yöntemin tanısal değerinin karşılaştırılması için ROC eğrisi çizildi. ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) 0,88 olarak

hesaplandı. Yok/hafif fibrozisi orta-ağır fibrozis grubundan ayırmak için saptanan ELF puanı eşik değeri 8,84, duyarlılık % 91,89, seçicilik % 77,78, pozitif prediktif değer % 94,4, negatif prediktif değer % 70, olabilirlik oranları 4,14 (LR+) ve 10 (LR-) olarak hesaplandı.

Çalışmamızda ELF testinin otoimmün hepatitli hastalarda hepatik fibrozisin tarama ve takibinde kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Otoimmün hepatit, hepatik fibrozis, ELF testi, karaciğer biyopsisi, tanısal değer

Destekleyen kuruluş: Siemens Sanayi ve Ticaret A.ř., Sağlık Sektörü

ABSTRACT

Güngören, M.S. Comparison of diagnostic values of ELF test and liver biopsy in evaluation of hepatic fibrosis in patients with autoimmune hepatitis. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Medical Biochemistry, Ankara 2013. Autoimmune hepatitis is a chronic inflammatory disease characterized by hepatomegaly, presence of autoantibodies and polyclonal hypergammaglobulinemia. As a chronic liver disease, fibrosis is one of the complications of autoimmune hepatitis. Hepatic fibrosis is a pathological condition defined as excess accumulation of extracellular matrix (ECM) components causing hepatic dysfunction in long term. Liver biopsy has been recommended as gold standard method in the evaluation of hepatic fibrosis. However, its inconvenience for frequent use and complications have lead researchers to the development of noninvasive methods for the evaluation and staging of hepatic fibrosis. ELF test is a biochemical test panel made up of serum markers reflecting ECM metabolism. ELF test panel consists of three parameters: Hyaluronic acid (HA), procollagen III N-terminal propeptide (PIIINP) and tissue inhibitor of matrix metalloprotease-1 (TIMP-1). Serum levels of these parameters are used to calculate statistically developed ELF score. The aim of this study is to compare diagnostic values of ELF test and liver biopsy in evaluation of hepatic fibrosis in patients with autoimmune hepatitis. 46 patients were included in the study group. Blood samples for ELF test were drawn from patients with liver biopsy results within the last one year. Patient samples were analyzed with SIEMENS ADVIA Centaur XP immunoanalyzer and ELF scores were calculated. Patients were divided into two groups according to METAVIR staging system as F0-1 Group 1 (no-mild fibrosis) and F2-3-4 Group 2 (moderate-severe fibrosis). 19.6 % of patients were in Group 1 and 80.4 % of patients were in Group 2. The means of ELF scores were 8.62 ± 1.05 for Group 1 and 10.60 ± 1.39 for Group 2 and the difference between the groups were statistically significant ($p < 0,001$). To compare the diagnostic values of two methods, ROC curve was plotted. Area under ROC curve (AUROC) was calculated as 0.88. The cut-off value to discriminate no-mild fibrosis from moderate-severe fibrosis group, sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, likelihood ratios were calculated as 8.84, 91.89 %, 77.78 %, 94.4 %, 70 %, 4.14 (LR+) and 10 (LR-), respectively.

In conclusion, ELF test can be used for screening and follow-up of hepatic fibrosis
In patients with autoimmune hepatitis.

Keywords: Autoimmune hepatitis, hepatic fibrosis, ELF test, liver biopsy,
diagnostic value

Supported by Siemens Turkey Inc.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Otoimmün hepatit	3
2.2. Hepatik Fibrozis	8
2.2.1. Hepatik fibrozis patogenezi	10
2.2.2. Hepatik fibrozisin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler	11
2.3. Karaciğer biyopsisi	12
2.3.1. Karaciğer biyopsisinin endikasyonları	12
2.3.2. Karaciğer biyopsisinin kontrendikasyonları	13
2.3.3. Karaciğer biyopsisinin komplikasyonları	14
2.3.4. Karaciğer biyopsisinin değerlendirme sorunları	14
2.4. Serum hepatik fibrozis belirteçleri	15
2.5. ELF testi	17
2.5.1. Hyaluronik asit	18
2.5.2. Prokollajen N-terminal propeptidi	19
2.5.3. Metalloproteazların doku inhibitörü-1	19
2.6. Tanısal değer çalışmalarında kullanılan temel kavramlar	20
2.6.1 Tanısal yeterlilik	20
2.6.2. Tanısal duyarlılık (sensitivity)	20
2.6.3. Tanısal seçicilik (specificity)	20
2.6.4. Prediktif değer(predictive value)	21
2.6.4.1. Pozitif prediktif değer	21

2.6.4.2. Negatif prediktif değer	21
2.6.5. Olabilirlik oranı (likelihood ratio)	21
2.6.5.1. Pozitif olabilirlik oranı	21
2.6.5.2. Negatif olabilirlik oranı	22
2.6.6. Doğruluk (Accuracy)	22
2.6.7. Tanısal değerin ifadesi: ROC	23
2.6.7.1. AUROC (Area under ROC)	24
3. BİREYLER ve YÖNTEM	25
3.1. Çalışma Planı	25
3.1.1. Çalışma protokolünde yer alan hasta seçim kriterleri	25
3.1.2. Çalışma protokolü	25
3.2. Yöntem	26
3.2.1. ELF testi	26
3.2.1.1. Serum HA ölçümü	26
3.2.1.2. Serum PIIINP ölçümü	26
3.2.1.3. Serum TIMP-1 ölçümü	27
3.2.1.4. ELF puanının hesaplanması	27
3.2.2. ELF testinin analitik performansının değerlendirilmesi	28
3.2.2.1. Presizyon/tekrarlanabilirlik çalışmaları	28
3.2.2.2. Doğrusallık çalışmaları	29
3.2.3. Karaciğer biyopsisi ve histolojik değerlendirme	29
3.2.4. İstatistiksel değerlendirme	30
4. BULGULAR	31
4.1. Hasta grubunun özellikleri	31
4.2. Hastaların karaciğer biyopsisi sonuçlarına göre METAVIR fibrozis evreleri	32
4.3. Fibrozis gruplarının özelliklerinin karşılaştırılması	32
4.4. ELF testinin performans değerlendirme sonuçları	33
4.4.1. Kesinlik çalışması sonuçları	33
4.4.2. Doğrusallık çalışması sonuçları	35
4.5. ELF testi sonuçları	38

4.6. Hastaların karaciğer biyopsisi sonuçları ile ELF puanlarının karşılaştırılması	40
4.7. ELF testinin tanısal değerinin karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılması	42
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	51
7. KAYNAKLAR	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin transaminaz
AMA	Anti-mitokondriyal antikor
ANA	Anti nükleer antikor
Anti-LC1	Anti-liver cytosolic antigen-1
Anti-LKM-1	Anti-liver kidney microsomal antibody-1
Anti-LP	Anti-liver pancreas antigen
Anti-SLA	Anti-soluble liver antigen
ASMA	Anti-smooth muscle antibody
AST	Aspartat transaminaz
AUROC	Area under receiver operating characteristic curve
CMV	Sitomegalovirus
CV	Coefficient of variation
EBV	Ebstein-Barr virus
ELF	Enhanced liver fibrosis
FITC	Fluorescein isothiocyanate
GGT	Gama glutamil transferaz
GN	Gerçek negatif
GP	Gerçek pozitif
GVHD	Graft versus host disease
HA	Hyaluronik asit
HABP	Hyaluronic acid binding protein
HAV	Hepatit A virusu
HBV	Hepatit B virusu
HCV	Hepatit C virusu
HDV	Hepatit delta virusu
HLA	Human leukocyte antigen
HSV-1	Herpes Simpleks virüsü-1

IgG	İmmünglobulin G
INR	International normalized ratio
LR-	Negatif olabilirlik oranı
LR+	Pozitif olabilirlik oranı
MMP	Matriks metalloproteaz
MMP-9	Matriks metalloproteaz-9
NPD	Negatif prediktif değer
OELF	Original European liver fibrosis
OIH	Otoimmün hepatit
PICP	Prokollajen I C-terminal propeptidi
PIIINP	Prokollajen III N-terminal propeptidi
PIVCP	Prokollajen IV C-terminal propeptidi
PBS	Primer biliyer siroz
PDGF	Platelet-derived growth factor
PPD	Pozitif prediktif değer
PSK	Primer sklerozan kolanjit
ROC	Receiver operating characteristic
SD	Standard deviation
SLE	Sistemik lupus eritematozus
SS	Standart sapma
TGF-beta	Transforming growth factor-beta
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteases
TIMP-1	Tissue inhibitor of metalloproteases-1
TIMP-2	Tissue inhibitor of metalloproteases-1
YN	Yalancı negatif
YP	Yalancı pozitif

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1 HA doğrusallık grafiği	36
Şekil 4.2 PIIINP doğrusallık grafiği	37
Şekil 4.3 TIMP-1 doğrusallık grafiği	38
Şekil 4.4 Fibrozis alt gruplarının ELF puanlarının dağılımı	40
Şekil 4.5 METAVIR fibrozis evrelerine göre ELF puanlarının dağılımı	41
Şekil 4.6 ELF testi için ROC eğrisi	43

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Otoimmün hepatit tanı kriterleri	5
Tablo 2.2 Otoimmün hepatit alt tipleri	6
Tablo 2.3 Otoantikörler	7
Tablo 2.4 Sağlıklı ve fibrotik karaciğerdeki hücre dışı matriks içerikleri	10
Tablo 2.5 Serum hepatik fibrozis belirteçlerinin karşılaştırılması	15
Tablo 2.6 Karaciğer biyopsisi ile serum belirteçlerinin karşılaştırılması	16
Tablo 3.1 Histopatolojik incelemede kullanılan METAVIR evreleme sistemine göre fibrozis düzeyleri	29
Tablo 4.1 Hasta grubunun özellikleri	31
Tablo 4.2 Hastalarda otoantikörlerinin dağılımı	32
Tablo 4.3 Hastaların METAVIR evrelerine göre dağılımı	32
Tablo 4.4 Fibrozis gruplarının özelliklerinin karşılaştırılması	33
Tablo 4.5 Kontrol serumları	33
Tablo 4.6 Düzey 1 için tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları	34
Tablo 4.7 Düzey 2 için tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları	34
Tablo 4.8 Düzey 3 için tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları	35
Tablo 4.9 HA doğrusallık çalışması sonuçları	35
Tablo 4.10 PIIINP doğrusallık çalışması sonuçları	36
Tablo 4.11 TIMP-1 doğrusallık çalışması sonuçları	37
Tablo 4.12 Hastaların ELF puanı ve ELF testi bileşenlerinin sonuçları	38
Tablo 4.13 Hastaların ELF puanı ve ELF puanı fibrozis ölçeğine göre dağılımı	39
Tablo 4.14 ELF puanlarına göre oluşturulan fibrozis alt gruplarının ELF puanı dağılımı	39
Tablo 4.15 Fibrozis gruplarının ELF puanı ve ELF testi bileşenlerine ait sonuçların karşılaştırılması	39
Tablo 4.16 METAVIR evrelerine göre gruplandırılan hastaların ELF puanlarının dağılımı	41

Tablo 4.17 METAVIR evrelerine göre gruplandırılan hastaların ELF puanı ölçeğindeki yeri	42
	Sayfa
Tablo 4.18 Hastaların karaciğer biyopsisi sonuçları ile ELF testi sonuçlarının karşılaştırılması	42
Tablo 4.19 ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC)	43
Tablo 4.20 ELF puanının tanısal yeterlilik sonuçları	44

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Otoimmün hepatit, kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve ilk olarak 1950’li yıllarda tanımlanmıştır. Diğer tüm otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, kadınlarda ve başka bir otoimmün hastalığı olan bireylerde görülme sıklığı daha yüksektir. Hastalarda en sık karaciğer enzimleri, gama globulin ve otoantikör düzeylerinde artış görülür. Otoimmün hepatit, uzun süre klinik bulgu vermeyebilir ve aktivasyon-remisyonlarla dalgalı bir seyir gösterebilir. Olguların % 40’ı akut hepatit tablosu ile başvurur ve sıklıkla tanı aldıkları sırada siroz bulguları mevcuttur.

Kronik karaciğer hastalıkları grubunda yer alan otoimmün hepatitin en önemli komplikasyonları siroz ve fibrozistir. Kronik karaciğer hastalıkları karaciğer dokusunda iskemi, oksidatif stres, inflamasyon, endoplazmik retikulum stresi, kolestaz, apoptozis, nekroz gibi mekanizmalarla hasara yol açmaktadır. Kronik karaciğer hasarının sonucunda ise yaklaşık olarak tüm olgularda hepatik fibrozis görülmektedir. Hepatik fibrozis, karaciğer dokusunda hücre dışı matriks bileşenlerinin aşırı birikimi ve histolojik olarak yeniden biçimlenmesi sonucu ortaya çıkan, uzun dönemde karaciğerde işlev bozuklukları ve doku hasarına yol açan patolojik bir durumdur. Fibrozis, doku hasarı veya dokuda aşırı inflamasyona bağlı gelişen bir tür yara iyileşmesi yanıtıdır ve başlangıçta geri dönüşümlüdür. Ancak etki ve kontrolsüz yanıt devam ederse kronik ve geri dönüşümsüz bir karaciğer hasarı meydana gelmektedir. Hepatik fibroziste altta yatan neden ne olursa olsun, fibrozis süreci ve aşırı biriken hücre dışı matriks bileşenleri benzer yapıdadır. Fibrozis, kronik karaciğer hastalıklarının çoğuna eşlik etmektedir ve fibrozis derecesinin takibi, bu hastalıkların tanı, tedavi ve izleminde önemli bir yer tutmaktadır. Kronik karaciğer hastalığı komplikasyonlarının en önemli etkeni olması nedeniyle, fibrozis düzeyinin ölçümü bu hastalıkların değerlendirilmesinde önemlidir. Karaciğer fibrozisinin değerlendirmesinde altın standart yöntem olarak karaciğer biyopsisi önerilmektedir. Ancak karaciğer girişimsel olması, hastaya acı vermesi, masif kanama ve infeksiyon gibi ölümcül komplikasyonları nedeniyle sık kullanımı tercih edilmeyen bir yöntemdir. Tekrarlanması veya sürekli takip amacıyla kullanımı hastalar tarafından sıklıkla kabul görmemesi, tanı ve tedavi sürecinde gecikmelere

yol açmaktadır. Ayrıca, biyopsi materyalinin sadece alındığı bölge hakkında bilgi vermesi, fibrozisi değerlendirmede alınan örnek miktarının yetersiz gelmesi ve inceleyen patoloğlara göre yorum farklılıkları gibi kullanım zorlukları vardır. Son yıllarda karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesi için biyopsi dışında girişimsel olmayan, hızlı sonuç alınan ve standardize edilmiş ölçüm yöntemleri konusunda arayışlar gündeme gelmiştir.

Karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesinde kullanılan ve invazif olmayan yöntemlerden biri ELF (enhanced liver fibrosis) testidir. ELF testi, karaciğerde fibrozis oluşumunda rol alan hücre dışı matriksteki değişiklikleri kantitatif olarak değerlendirip kronik karaciğer hastalıkları ile ilişkili klinik beklentilerin doğru öngörülebilmesi amacıyla geliştirilmiştir. ELF test paneli, üç parametreden oluşmaktadır:

- 1) Prokollajen-III N-terminal peptidi (PIIINP): Fibrojen ve inflamasyonun erken belirteci
- 2) Metalloproteaz doku inhibitörü-1 (TIMP-1)
- 3) Hyaluronik asit (HA): Fibrojen sırasında aktive olan karaciğer yıldız hücrelerinden salgılanan bir glikozaminoglikan

Örnek türü olarak serum kullanılır. Serum düzeyleri ölçülen bu parametreler, istatistiksel olarak geliştirilmiş ELF puanını hesaplamak için kullanılır.

Bu çalışmada, otoimmün hepatitli hastalarda karaciğer fibrozis derecesinin değerlendirilmesinde invazif olmayan ELF testinin tanısal değerinin karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Otoimmün Hepatit

Otoimmün hepatit, nedeni bilinmeyen bir hepatik parankim inflamasyonu ile karakterize, kronik, ilerleyici, nekroinflamatuvar bir karaciğer hastalığıdır (1). İlk kez 1950'lerde Waldenström tarafından nedeni bilinmeyen, genellikle kadınlarda görülen, karaciğerde inflamasyon ve hipergamaglobulinemi ile seyreden ve bilinen tedavilere yanıt vermeyen bir karaciğer hastalığı olarak tanımlanmıştır (2). Daha sonra sistemik lupus eritematozus hastalığında görülen lupus hücrelerinin karaciğerde saptanması ve ANA (anti nükleer antikor) ile ilişkilendirilmesi üzerine lupoid hepatit olarak da adlandırılmıştır (3). Yıllar içinde yapılan çalışmalar sonucunda otoimmün hepatit için daha iyi bir tanım ve sınıflandırma yapılmıştır. 1960'larda kronik aktif hepatit, aktif kronik hepatit, HBs antijen (-) kronik aktif hepatit gibi isimlerden sonra ilk kez 1965'te otoimmün hepatit olarak adlandırılmış ve 1990'lardan bu yana sadece bu isimle tanımlanmıştır (4).

Yapılan çalışmalarda otoimmün hepatitin Avrupa prevalansı 5-20/100.000 olarak bulunmuştur (5). Batı Avrupa'da görülme sıklığı daha fazladır. Türkiye için kesin bir prevalans belirtilmemekle birlikte Türkiye'de kronik hepatitlerin % 1,5-1,9'unun otoimmün hepatit olduğu saptanmıştır (6, 7).

Otoimmün hepatit patogeneğinde genetik faktörler, immün tolerans mekanizmalarındaki bozukluklar ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. Çoklu faktörlerin bir araya gelmesi ile karaciğer hücre yüzey antijenlerine karşı T-lenfosit aracılı bir immün saldırının meydana geldiği ve karaciğerde doku hasarının olduğu ve ilerleyici nekroinflamatuvar ve fibrotik süreçlerin başladığı bilinmektedir (8, 9).

Otoimmün hepatitli hastalarda genetik olarak T süpresör lenfositlerdeki sayısal ve işlevsel bozukluğun neden olduğu immün regülasyon bozukluğu bulunduğu ve hepatosit yüzey antijenlerine karşı otoantikor geliştiği bilinmektedir. Otoimmün hepatitli hastalarda HLA DR3, HLA DR4, HLA B8 ve HLA DW3 allellerinin topluma göre daha sık olduğu saptanmıştır (10). Tip 1 otoimmün hepatitli hastaların % 85'inde HLA DR3, DR4 veya her ikisi birden pozitifdir. HLA DR7 ise tip 2 otoimmün hepatitli hastalarda görülür. Hepatotropik viruslar (kızamık, kızamıkçık, HAV, HBV, HCV, HDV, HSV-1, EBV, CMV), bakteriler, kimyasallar,

ilaçlar gibi çevresel faktörlerin genetik yatkınlığı olan kişilerde otoimmün hepatit için tetikleyici olduğu gösterilmiştir (11-17).

Hastalık belirtileri herhangi bir yaşta görülmeye başlayabilir. Histopatolojik olarak portal inflamasyonun bulunması, hipergamaglobulinemi ve bazı otoantikörlerin varlığı ile karakterize olan ve kronik hepatit nedenleri içinde yer alan otoimmün hepatit her yaşta görülebilir. Ancak insidansının 50 yaş üzeri bireylerde ve kadınlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır (18).

Otoimmün hepatit tanısı almış bireylerin yaklaşık % 30'unda ilk tanı anında siroz saptanmakta, % 87'sinde ise hastalık seyri sırasında bir dönem otoantikörlerin (ANA, ASMA) pozitifliği görülebilmektedir (19). Otoimmün hepatitli hastaların bir kısmında herhangi bir belirti bulunmazken, bir kısmında ağır bir klinik tablo görülebilir (20-23). Hastalarda genellikle yorgunluk, halsizlik, bulantı, kusma, sarılık, karın ağrısı, eklem ağrısı gibi spesifik olmayan belirtiler bulunabilir veya karaciğer yetmezliği, siroz, portal hipertansiyon gibi tablolar gelişebilir (24, 25). Hastalık, aktivasyon ve remisyonlar şeklinde dalgalı bir seyir izleyebilir ve tedavi edilmediği durumlarda mortalitesi yüksektir.

Otoimmün hepatitli hastalarda laboratuvar bulguları çeşitlilik gösterebilmektedir. Asemptomatik hastalarda ALT ve AST düzeyleri 100 ila 300 U/L düzeylerinde seyrederken, semptomatik hastalarda 1000 U/L'nin üzerinde olabilir. ALP ve GGT düzeyleri, genelde normal veya hafif yüksektir. Total bilirubin düzeyleri akut viral hepatit veya kolestazda olduğu kadar yüksek değildir ve yaklaşık 2-10 mg/dL düzeylerindedir. Direkt bilirubin düzeyleri indirekt bilirubine göre genelde daha yüksektir (25). Hastaların % 50'sinde ANA (anti-nükleer antikor), % 66'sında ASMA (anti-smooth muscle antibody/anti düz kas hücresi antikor), % 33'ünde Anti-LKM-1 (anti-liver kidney microsomal antigen-1) pozitifliği görülür. Nadir olgularda anti-SLA (anti-soluble liver antigen) antikor pozitifliği olabilmektedir.

Otoimmün hepatit tanısı, klinik ve laboratuvar bulgularının yanında karaciğer biyopsisi ile konulmaktadır. Bu hastalardan yapılan karaciğer biyopsisinin patolojik incelemesinde patognomonik bir özellik tarif edilmemektedir. Bununla beraber

histopatolojik incelemelerde bulunan 4 özellik otoimmün hepatit lehine değerlendirilmektedir (23, 27) :

- 1) Portal ve periportal lökosit/plazma hücresi infiltrasyonu,
- 2) Periportal nekroz (*interface* hepatit)
- 3) Köprüleşme nekrozu: Hepatosit nekrozuna bağlı portal alanlar arası fibrotik doku oluşmasıdır.
- 4) Rozet formasyonu: Hepatositlerin bir araya gelerek oluşturduğu patolojik yapılardır.

Otoimmün hepatit için ilk olarak 1999 yılında tanı kriterleri belirlenmiş, daha sonra bu kriterler 2008’de gözden geçirilmiş ve sadeleştirilmiştir (26, 27). En son 2010 yılında yeni bir tanı ve tedavi kılavuzu yayınlanmıştır, ancak 2008’deki sadeleştirilmiş tanı kriterlerinin kullanımı daha yaygındır (27, 28).

Tablo 2.1. Otoimmün Hepatit Tanı kriterleri

Değişken	Sınır	Puan
ANA veya ASMA	$\geq 1:40$	1
ANA veya ASMA	$\geq 1:80$	2
Veya anti-LKM-1	$\geq 1:40$	
Veya SLA	(+)	
IgG	> normalin üst sınırı	1
	> 1,1 x normalin üst sınırı	2
Biyopsi (histopatolojik inceleme)	OİH ile uyumlu	1
	OİH için tipik	2
Viral hepatit	Yok	2
	Var	0

Toplam puan ≥ 6 : Olası OİH tanısı

OİH: Otoimmün hepatit

Toplam puan ≥ 7 : Kesin OİH tanısı

Uluslararası Otoimmün Hepatit Çalışma Grubu tarafından hazırlanan tanı kriterleri ve puanlama sistemi Tablo 2.1’de görülmektedir (27, 29). Bu sistemle elde edilen puanlamaya göre hastalar, “kesin otoimmün hepatit” veya “olası otoimmün

hepatit'' olarak iki grupta değerlendirilmektedir. Bazı vakalarda tanıyı kesinleştirmek için tedavi verilmekte ve alınan yanıt değerlendirilmektedir.

Otoimmün hepatit otoantikor dağılımına göre Tip 1 ve 2 olarak iki alt grupta incelenmektedir (Tablo 2.2) (28):

Tip 1 Otoimmün Hepatit: En sık görülen otoimmün hepatit alt tipidir (% 85). Kadınlarda daha sık görülür. Adölesan döneminde ve 40 yaş sonrasında görülme sıklığı artmaktadır. ANA ve ASMA antikorlarının pozitifliği bu alt tipte sıklıkla görülen bir bulgudur (Tablo 2.3). Sessiz veya subklinik seyredebilir. İlk başvuru sırasında tip 1 otoimmün hepatitli hastaların % 25'inde siroz vardır.

Tablo 2.2. Otoimmün hepatit alt tipleri

Klinik Özellikler	Tip 1	Tip 2
Tanısal otoantikorlar	ANA, ASMA, anti-aktin	Anti-LKM-1, Anti-LC-1
Yaş	10-20 yaş ve 45- 70 yaş	2-14 yaş, yetişkinde ender
Cinsiyet dağılımı (K/E)	% 78 / % 22	% 89 / % 11
Eşlik eden otoimmün hastalık oranı (%)	41	34
IgG artışı	+++	+
IgA düşüklüğü	Yok	Bazen
HLA ilişkisi	B8, DR3, DR4	B14, DR3, C4AQ0
Siroz gelişme oranı (%)	45	82

Tip 2 Otoimmün Hepatit: Çocuklarda en sık görülen alt tiptir. Hastalar sıklıkla akut fulminan hepatit tablosu ile başvurur. Bulgular, tip 1 ile benzerlik göstermekte, ancak anti-LKM-1 antikoru yüksekliği daha sık görülmektedir (Tablo 2.3). IgG düzeyleri ise tip 1 olgularındaki kadar yükselmemektedir. Alopesi, amenore, tırnak distrofisi, trombositopeni, ülseratif kolit, hipoparatiroidi gibi atipik bulgular görülebilir. Bu alt

tipin vitiligo, otoimmün tiroidit, tip 1 diabetes mellitus ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Otoimmün hepatit tedavi planı açısından bir değişikliğe neden olmadığından genellikle klinisyenler tarafından alt tiplendirme yapılmamaktadır.

Tablo 2.3. Otoimmün hepatit alt tiplerinde otoantikörlerin dağılımı

Tip	Otoantikörler
1	ANA ASMA Anti-aktin ANCA
2	Anti-LKM-1 Anti-LC1 Anti-SLA Anti-LP

Otoimmün hepatitin ayrıca vakaların % 5-10'unda başka bir karaciğer hastalığıyla beraber görülen "overlap", atipik özellikler taşıyan "varyant" ve "mikst" tipleri de tanımlanmıştır. Tanı anında bazı hastalarda başka bir otoimmün karaciğer hastalığı saptanabilir.

Otoimmün hepatitin ayırıcı tanısında yer alan hastalıklar:

- a) Diğer otoimmün karaciğer hastalıkları: Primer biliyer siroz (PBS), primer sklerozan kolanjit (PSK), Otommün Hepatit/PBS overlap (örtüşme) sendromu, Otoimmün Hepatit/PSK overlap sendromu, otoimmün kolanjiopati
- b) Kronik viral hepatitler: Kronik hepatit B, kronik hepatit C, Kronik hepatit delta, diğer virüslere bağlı kronik hepatitler
- c) Diğer: İlaça bağlı hepatit, alfa-1 antitripsin eksikliği, Wilson hastalığı, AIDS'le ilişkili kolanjiopati, alkolik steatohepatit, granümatöz hepatit, sistemik lupus eritematozus (SLE), Graft versus host disease (GVHD), kriptojenik kronik hepatit veya kriptojenik siroz

Otoimmün hepatitli olgularda,

1. Transaminaz düzeyleri > x10 üst sınır
2. Transaminaz düzeyleri > x5 üst sınır ve serum IgG düzeyi > x2 üst sınır
3. Transaminazlar ve IgG hafif yüksek ancak semptomlar mevcut
4. Biyopside köprüleşme nekrozu veya multiasiner nekroz görülmesi

tedavi endikasyonudur. Tedavi seçenekleri immünsüpresif ilaçlar (kortikosteroidler, azatioprin, 6-merkaptopürin, siklosporin) veya ileri olgularda karaciğer transplantasyonudur. Doğru ve hızlı tanı ile uygun immünsüpresif tedavi, hastalığın kontrol altında olmasını sağlamaktadır (25).

Otoimmün hepatit tablosunu taklit eden yan etkilere sahip ilaçlara trimetoprim-sulfometoksazol, oksifenizatin, metildopa, nitrofurantoin, diklofenak, minosiklin, atorvastatin örnek olarak verilebilir (17).

Kronik, ilerleyici bir inflamatuvar karaciğer hastalığı olan otoimmün hepatitin komplikasyonları karaciğer fibrozisi, siroz ve son dönem karaciğer yetmezliğidir.

2.2.Hepatik Fibrozis

Fibrozis, parankimal dokularda doku hasarına karşı iyileşme yanıtı olarak bağ dokusunun aşırı üretimi ve birikimi olarak tanımlanmaktadır. Akut veya kronik karaciğer hasarı sonrasında hücre dışı matriksin aşırı birikimi hepatik fibrozis olarak adlandırılır ve hepatik parankimde meydana gelen aşırı fibrozis siroz ile sonuçlanmaktadır (30,31). Bu durumda karaciğer dokusunda ortaya nodüller oluşumları karaciğer fonksiyonlarını bozmakta ve kan dolaşımını azaltmaktadır. Fibrozis ve siroz, kronik karaciğer hasarının sonuçlarıdır. Kronik karaciğer hasarı, çeşitli nedenlere bağlı (viral, ilaca bağlı, otoimmün, metabolik, kolestatik) olabilir, ancak farklı nedenlerin sonuçları benzerdir (32). Karaciğer fibrozisinin dinamik bir süreç olduğu bu nedenle fibrogenez ve fibrolizin dokuda aynı anda meydana geldiği bilinmektedir.

Hepatik fibrozis ile ilgili yapılan erken dönem çalışmalarda karaciğer hücre dışı matriksinin içeriği ve dağılımı incelenmiştir. Daha sonra fibrozisin hücresel ve moleküler düzeyde oluşum mekanizmalarına ilişkin çalışmalar hız kazanmıştır. Hücre dışı matriks kompozisyonu nedene ve dokuya bağlı olmaksızın genelde tip 1

ve tip 3 kollajen (fibriler), sülfatlanmış proteoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşmaktadır (33). Hepatik fibroziste, hücre dışı matriks artışında subendotelyal Disse aralığında düşük dansiteli tip IV kollajenin yerini yüksek dansiteli tip I kollajenin aldığı gösterilmiştir (34).

Hücre dışı matriks, doku içinde ve hücreler arasında bulunan, hücreleri destekleyen, çeşitli makromoleküllerden oluşan kompleks bir yapıdır. Buradaki makromoleküller kollajenler, glikoproteinler ve proteoglikanlar olmak üzere üç ana grupta incelenebilir. (33). Kollajenler, fibriler ve non-fibriler olmak üzere iki tipten oluşmaktadır. Karaciğerde fibronektin, laminin, tenasin, nidogen, hyaluronik asit, merozin gibi glikoproteinler. Burada yer alan proteoglikanlar ise heparan sülfat, dermatan sülfat, kondroitin sülfat, perlekan, distroglikan, sindekan, biglikan, dekorin gibi moleküllerdir.

Normal karaciğerde subendotelyal Disse aralığı, hepatositleri sinüzoid endotelden ayırmaktadır. Disse aralığında bazal membran benzeri, ancak elektrondan yoğun olmayan hepatik bazal membran bulunur. Burada tip IV, tip VI ve tip XIII kollajenler, proteoglikanlar ve glikoproteinler yer almaktadır. Bu normal subendotelyal hücre dışı, karaciğerdeki hücrelerin işlevlerinin korunup sürdürülebilmesi için önemlidir (35). Ayrıca karaciğer kapsülünde, büyük damarların çevresinde ve portal bölgede interstisyel hücre dışı matriks bulunur. İnterstisyel hücre dışı matriks, hepatik bazal membrandan farklıdır ve fibriler tip 1 ve tip 3 kollajen, fibronektin, undulin gibi moleküller içerir. Karaciğerde fibrozis geliştiğinde, toplam kollajen ve kollajen olmayan bileşenlerin miktarı normalin 5 katına kadar çıkabilir. Bu sırada hepatik bazal membran matriks içeriği içeriği, interstisyel hücre dışı matriks içeriğine dönüşmektedir. Ardından, hepatositlerde mikrovillus kaybı ve endotelyal fenestrasyonun ortadan kaybolması gibi yapısal değişiklikler ortaya çıkar (33). Tablo 2.4'te sağlıklı ve fibrotik karaciğerdeki hücre dışı matriks içerikleri görülmektedir.

Tablo 2.4. Sağlıklı ve fibrotik karaciğerdeki hücre dışı matriks içerikleri (36)

Sağlıklı Karaciğerde hücre dışı matriks bileşenleri	Fibrotik karaciğerde hücre dışı matriks bileşenleri
Kollajen tip IV	Fibronektin
Laminin	Kollajen tip I
Entaktin	Kollajen tip III
Perlekan	Kollajen tip IV
Kollajen tip I	Laminin
Kollajen tip III	Kollajen tip V
Kollajen tip V	Kollajen tip VI
Kollajen tip VI	
Fibronektin	

2.2.1.Hepatik Fibrozis Patogenezi

Hepatik fibrozis, fibrojenik ve fibrolizinin beraberce görüldüğü dinamik bir süreçtir. Bu süreçte karaciğer hücreleri ile hücre dışı matriksin birlikte rol aldığı bilinmektedir. Hepatik fibrozis patogenezindeki en temel mekanizma karaciğer yıldızlı hücrelerin aktivasyonudur. Fibrojenik sırasında görülen matriks bileşenlerindeki değişim karaciğer hücre membran reseptörlerine etki ederek hücre davranışını değiştirir. Perisinüzoidal Disse aralığında yer alan karaciğer yıldızlı (hepatic stellate cell) hücrelerin membranında yer alan integrin reseptörünün sinyal iletim yolağı, hücre dışı matriks ile hücre iskeleti arasındaki iletişimi sağlar (37). Karaciğer yıldızlı hücrelerinin hücre dışı matrikste yer alan ve fibrozis sırasında artışı görülen kollajen ile integrin reseptörü üzerinden uyarılması bu hücrelerin proliferasyonuna neden olmaktadır. Normal karaciğerde A vitamini depolayan bu hücreler, karaciğer hasarında aktive olmaktadır. Aktivasyon sonrası kontraktil, migratuvar, fibrojenik ve inflamatuvar özellikler kazanır (37). Bu değişim, granüllü endoplazmik retikulumun genişlemesi, A vitamini damlacıklarının küçülmesi, çekirdek membranının tırtıklı görünümü, kontraktil filamanların ortaya çıkması ile

karakterizedir. Aktive olduktan sonra myofibroblastlara dönüşen yıldız hücreler, karaciğer hasarı sırasında hücre dışı matriks üreten esas hücre tipi haline dönüşür.

Karaciğerde hasarında yıldız hücreler, inflamatuvar sitokinler tarafından da aktive edilerek myofibroblastlara dönüşür. Bu dönüşüm sonrası yıldız hücrelerin en güçlü aktivatörü olan PDGF-beta (platelet-derived growth factor-beta), MMP (matriks metalloproteaz), TIMP (tissue inhibitor of metalloproteases) gibi moleküllerin sentezini gerçekleştirir. Karaciğerde fibrozis sırasında sayıları artan myofibroblastların sadece yıldız hücrelerden köken almadığı, mezenşimal hücrelerin ve portal fibroblastların da bu hücrelere dönüşebildiği gösterilmiştir (37,38). Burada myofibroblastlar tarafından sentezlenen spesifik MMP'ler doku hasarına yanıt olarak gelişen hücre dışı matriks bileşenlerinin yıkımını sağlamaktadır. Bu MMP'lerin aktivitesi TIMP'ler tarafından düzenlenmektedir (39,40).

Hepatik bazal membrandaki hücre dışı matriks değişiklikleri, karaciğerdeki diğer hücreleri de uyarak fibronektin, tip IV kollajen, proteoglikanlar, sitokinler ve reaktif oksijen türleri artışına ve yıldız hücrelerin aktivasyonuna neden olur (41, 42). Karaciğer hasarı sonrası ortaya çıkan lipit peroksitler de fibrogenezin ön koşulu olan yıldız hücrelerin aktivasyonuna katkıda bulunur.

Karaciğer fibrozisi sırasında hücre dışı matriks sentezindeki artış ve yıkımındaki azalma nedeniyle aşırı matriks birikimi meydana gelmektedir. Hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesinde MMP ailesinin rol oynamaktadır. MMP'ler, kalsiyum bağımlı enzimlerdir ve spesifik olarak kollajenleri ve kollajen olmayan bazı substratların yıkımını sağlarlar. Fibrotik karaciğerde tip I kollajeni yıkan MMP-1 enzimidir ve aktivitesi başta TIMP-1 olmak üzere metalloproteazların doku inhibitörleri tarafından düzenlenmektedir. İlerleyici fibroziste, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir. MMP ve TIMP'ler, yıldız hücre kaynaklı myofibroblastlarda sentezlenmektedir.

2.2.2.Hepatik Fibrozisin Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler

Kronik viral hepatitlerin artışı, kronik karaciğer hastalıklarının yaygınlığında önemli bir artışa neden olmuştur. Bu nedenle kronik karaciğer hastalıklarında önemli

bir gösterge olan hepatik fibrozisin değerlendirilmesi konusu, araştırmaların ilgi odağı haline gelmiş ve yeni yöntemler ortaya çıkmaya başlamıştır. Hepatik fibrozisin değerlendirilmesinde altın standart olarak gösterilen yöntem halen karaciğer biyopsisidir. Karaciğer biyopsisinin bazı kısıtlamaları olduğundan girişimsel olmayan bir yöntem bulunması yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Karaciğer fibrozisinin patogenezinin anlaşılması/aydınlatılması ile birlikte hepatik fibrogenez ve fibrozisin tanımlanmasında yeni belirteçler önerilmeye başlanmıştır. Bu belirteçler, serumda bulunan karaciğer fonksiyonları, hücre dışı matriks sentezi ve yıkımı ile ilgili moleküller veya sitokinlerdir (43). Karaciğere özgü olması, fibrozisi ve fibrozis evrelerini saptayabilen, metabolik koşullardan etkilenmeyen, kolay erişilebilir ve uygulanabilir, sonuçlarının geçerli ve güvenilir olması ideal serum hepatik fibrozis belirtecinin özellikleridir (44). Bütün bu özellikleri karşılayabilen bir belirteç henüz tanımlanmış değildir.

2.3.Karaciğer Biyopsisi

Karaciğer biyopsisi karaciğerin yapısal bütünlüğü, hepatoselüler hasarın düzeyi ve özellikleri hakkında bilgi vermesi nedeniyle günümüzde önemli bir tanısal yöntemdir. Perkütan karaciğer biyopsisi ilk kez 1880'lerde yapılmış, ancak uygulama zorluğu nedeniyle fazla ilgi görmemiştir. Uygulama basamakları 1956 yılında Menghini tarafından kolaylaştırılmış ve kullanımı yaygınlaşmıştır (45-47). Hepatik fibrozisin histolojik değerlendirilmesinde çeşitli puanlama sistemleri kullanılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan ilk puanlama sistemi Knodell tarafından geliştirilmiştir (48). Zaman içindeki gelişmeler ve Knodell sisteminin eksik bulunan yönleri doğrultusunda yeni puanlama sistemleri önerilmiştir. Günümüzde sık kullanılan fibrozis puanlama sistemleri Knodell, METAVIR ve İşhak puanlama sistemleridir (49). Karaciğer dokusundan örnek alınabilmesi için perkütan karaciğer biyopsisi, transjuguler karaciğer biyopsisi, laparoskopik karaciğer biyopsisi, ultrasonografi kılavuzluğuında ince iğne aspirasyon biyopsisi gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Ancak genellikle tercih edilen yöntem perkütan karaciğer biyopsisidir.

2.3.1. Karaciğer biyopsisi endikasyonları

- Parankimal karaciğer hastalıklarının tanısı

- Etyolojisi bilinmeyen, seroloji ile uyumsuz ALT-AST düzeyi yüksekliklerinin araştırılması
- Nedeni bilinmeyen ateş tanısı (doku kültürü ile birlikte)
- Kronik hepatit B ve C'nin evrelendirilmesi ve derecelendirilmesi
- Alkolik karaciğer hastalığı ve alkol dışı yağlı karaciğer hastalığının tanısı ve evrelendirmesi
- Otoimmün hepatitin tanısı ve evrelendirmesi
- Kolestatik karaciğer hastalığının değerlendirilmesi
- Hemokromatozisin tanısı ve karaciğer demir yükünün ölçümü
- Wilson hastalığının tanısı ve karaciğer bakır yükünün ölçümü
- Karaciğer kitlelerinin tanısı
- Transplantasyon sonrasında karaciğerin değerlendirilmesi
- Kronik karaciğer hastalıklarında tedavi izlemi
- Kronik karaciğer hastalıklarının prognozunun belirlenmesi (fibrozis, siroz)

2.3.2. Karaciğer Biyopsisinin Kontrendikasyonları

Karaciğer iğne biyopsisinin kesin ve relatif kontrendikasyonları mevcuttur (50).

Kesin Kontrendikasyonları:

- Uyumsuz hasta
- Koagülopati
- Ekstrahepatik biliyer obstrüksiyon
- Hepatik yatakta infeksiyon

Relatif Kontrendikasyonları:

- Morbid obezite
- Ciddi asit varlığı
- Olası damarsal lezyonlar
- Amiloidoz
- Kist hidatik

2.3.3. Karaciğer Biyopsisinin Komplikasyonları

Karaciğer biyopsisi oldukça güvenilir bir yöntemdir, ancak komplikasyonları da mevcuttur (50).

- Ağrı
- Kanama
- Safra peritoniti
- Geçici bakteriyemi
- Nevralji
- Pnömotoraks
- Hemotoraks
- Hemobilia
- Organ perforasyonu
- Ölüm

2.3.4. Karaciğer Biyopsisinin Değerlendirme Sorunları

Karaciğer biyopsisinin komplikasyonları ve kontrendikasyonlarının yanı sıra, örnekleme hatası, inceleme sonucunda verilen kararın değişkenliği gibi kısıtlamaları bulunmaktadır. Biyopsi ile alınan karaciğer örneği, tüm dokunun yaklaşık 1/50000'lik bir kısmı hakkında bilgi verebilmektedir (47). Tüm karaciğer dokusunu etkileyen ve değişikliklere neden olan hastalıkları tek bir biyopsi örneği ile yorumlamak değerlendirme hatalarına neden olabilir. Alınan biyopsi örneğinin boyutu konusunda günümüzde tam bir görüş birliği olmamasına rağmen, ideal karaciğer biyopsi örneğinin, en az 20-25 mm uzunluğunda ve en az 11 portal alan içermesi önerilmektedir (50). Ayrıca her iki karaciğer lobundan yapılan biyopsi sonuçları arasında da farklılıklar olduğu gözlenmektedir. Biyopsi materyalinin değerlendiren uzmandan bağımsız olarak, objektif yorumlanabilmesi için Knodell, Metavir ve Ishak puanlama sistemleri geliştirilmiştir (49). Yapılan çalışmalarda aynı biyopsi materyalinin farklı patoloğlar tarafından değerlendirildiği durumlarda sonuçların uyumlu olmadığı saptanmıştır (51). Bu uyumsuzluğun %15 ile %33 oranında olabildiği gösterilmiştir (52). Örnek büyüklüğünün az olması, organın tamamını yansıtabilme gücünü azaltır (53, 54). Karaciğer biyopsisinin yukarıda söz edilen komplikasyonları, uygulama zorlukları, histolojik değerlendirmede

gözlemciler arası yorum farklılığı, örnek boyutunun küçük olması, biyopsinin kontraendike olduğu durumlarda uygulanamaması gibi kısıtlamalar karaciğer biyopsisinin fibrozis değerlendirmesinde referans standart olarak gücünü zayıflatmaktadır (53,54,56,57). Karaciğer biyopsisinin morbidite ve mortalite riskinin yüksek olması, örnek alımında yapılan hatalar, maliyetli ve hastanede yatış gerektiren bir işlem olması, uygulama ve değerlendirme için farklı uzman hekimler gerektirmesi ve kısa aralıklarla tekrarlanamaması gibi nedenlerle de kullanım kısıtlılığı mevcuttur (51).

2.4. Serum Hepatik Fibrozis Belirteçleri

Karaciğer biyopsisinin uygulanması ve değerlendirmesi ile ilgili sorunlar, hepatik fibrozis düzeyinin değerlendirilmesi için daha az girişimsel olan, alternatif yöntemlerin bulunması yönündeki çalışmaları hızlandırmıştır (58). Aday yöntemler arasında standardizasyonu ve otomatizasyonu mümkün olması nedeniyle serum belirteçleri öne çıkmaktadır (59).

Serum hepatik fibrozis belirteçleri, direkt ve indirekt belirteçler olarak iki gruba ayrılır (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. Serum hepatik fibrozis belirteçlerinin karşılaştırılması

Direkt Belirteçler	İndirekt Belirteçler
<ul style="list-style-type: none"> Karaciğerdeki hücre dışı matriks yapım-yıkım dengesini doğrudan yansıtabilir. Fibrogenezin moleküler mekanizmalarıyla ilişkilidir. 	<ul style="list-style-type: none"> Hücre dışı matriks metabolizmasını doğrudan yansıtamaz. Fibrozisle ortaya çıkan hepatik fonksiyonlardaki değişim ile ilişkilidir. Genellikle bir algoritma içinde kullanılır.

Direkt belirteçler, hücre dışı matriks sentezi, yıkımı veya yeniden şekillenmesiyle doğrudan ilişkili moleküllerdir. Direkt serum belirteçleri, karaciğerde karaciğer yıldızlı hücreleri tarafından fibrozis sürecinde üretilen hücre dışı matriks bileşenleri veya fibrozis sürecini düzenleyen moleküller olabilir. Kollajen tip IV, HA (hyaluronik asit) , PIIINP, PICP (prokollajen I C-terminal

propeptidi), TGF-beta, PIVCP (prokollajen IV C-terminal propeptidi), MMP ailesi ve TIMP grubu bunlardan bazılarıdır (60). İndirekt belirteçler, fibrozis ile ilişkili, ancak doğrudan bağ dokusu metabolizması ile ilgili olmayan moleküllerdir (61). Karaciğerde inflamasyon durumunda ve hepatoselüler hasar sonucu serum düzeyleri artan ALT, AST gibi enzimler, karaciğerde sentezlenen pıhtılaşma faktörleri, kolesterol, apolipoprotein A, alfa-2 makroglobulin, haptoglobin gibi moleküller indirekt belirteçler grubunda yer alırlar (62). Bu belirteçlerin kombinasyonları da çeşitli algoritmalar içinde kullanılmaktadır (52).

Tablo 2.6. Karaciğer Biyopsisi ile Serum Belirteçlerinin Karşılaştırılması (66)

	Karaciğer biyopsisi	Serum Belirteçleri
Avantajları	<ul style="list-style-type: none"> • Direkt değerlendirme • Semikantitatif • Etyolojik nedenin değerlendirilebilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> • Global fibrozisin ölçümü
Kısıtlamaları	<ul style="list-style-type: none"> • Örneklem hatası • Gözlemciler arası değişkenlik • Hastaneye yatış gereksinimi 	<ul style="list-style-type: none"> • İndirekt değerlendirme
Komplikasyonlar	<ul style="list-style-type: none"> • Ağrı • Kanama • Hemobilia • Organ perforasyonu • İnfeksiyon 	<ul style="list-style-type: none"> • Yok
Ulaşılabilirlik	<ul style="list-style-type: none"> • Yüksek maliyet • Eğitimli/tecrübeli uzman gereksinimi 	<ul style="list-style-type: none"> • Değişken maliyet • Biyokimya laboratuvarları
Kontraendikasyonları	<ul style="list-style-type: none"> • Hastanın koopere olmaması • Ağır koagülopati • Ekstrahepatik biliyer obstrüksiyon • Asit • Morbid obezite • Olası vasküler lezyonlar • Amiloidoz 	<p>Sonucu etkileyecek durumlar:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hemoliz • Böbrek yetmezliği • Otoimmün trombositopeni • Hiperbilirubinemi

Karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesinde bugüne kadar kullanılan girişimsel olmayan yöntemlerin de kısıtlamaları bulunmaktadır. Orta düzey fibrozisi ayırt etmedeki eksiklikleri, geniş katımlı validasyon ve referans aralığı çalışmalarının tamamlanmamış olması ve fibrozise yol açan olan etyolojik neden hakkında bilgi verememesi bu yöntemlerin dezavantajları olarak sayılabilir (63-65). Tablo 2.6'da karaciğer biyopsisi ile serum belirteçlerinin özellikleri karşılaştırılmıştır.

2.5. ELF testi

Karaciğer fibrozisinin serum belirteçlerini tanımlamaya yönelik 1997 yılında, Bayer Vakfı tarafından desteklenen ve Profesör William Rosenberg önderliğinde bir proje başlatılmıştır. "European Liver Fibrosis Program" olarak adlandırılan bu proje, yaklaşık 10 yılda yapılan araştırmalar sonucunda direkt serum fibrozis belirteçlerinden oluşan bir test panelini tıp dünyasına sunmuştur. Testin adı, Enhanced Liver Fibrosis (ELF) testidir.

ELF testi, karaciğerde fibrozis oluşumunda rol alan ve hücre dışı matriks biyolojisini yansıtan biyobelirteçlerden HA (hyaluronik asit) , TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteases-1) ve PIIINP (prokollajen III N-terminal propeptidi) serum düzeylerinin kullanıldığı bir algoritma ile ELF puanı hesaplanması esasına dayanan bir serum indeks test panelidir (67). Panelde yer alan tüm parametrelerin ölçümü serumda yapıldığı için invazif olmayan bir testtir. Bu nedenle karaciğer biyopsisine alternatif bir yöntem olarak araştırılmaktadır.

European Liver Fibrosis projesinde 2004 yılında ilk önce 1000'den fazla kronik karaciğer hastası Avrupa'nın çeşitli yerlerinde bulunan 13 merkezde karaciğer biyopsisi ile değerlendirilmiştir. Hastalardan biyopsi ile eşzamanlı kan örneği toplanmıştır. Elde edilen serum örnekleri, tek bir merkeze gönderilmiş ve çok sayıda aday belirtecin ölçümü yapılmıştır. Bunun için Sandviç ELISA yöntemi kullanılmıştır (51). Çok değişkenli regresyon analizleri yapılarak hepatik fibrozis düzeyini gösterebilen belirteçler saptanmıştır. Daha sonra bu belirteçler çok merkezli, geniş çaplı iki çalışma ile denenmiştir. Bu çalışmalar sonunda HA, PIIINP, TIMP-1 düzeylerini ve yaş değişkenlerini kapsayan, fibrozis düzeyini gösteren bir puanlama "Original European Liver Fibrosis Score (OELF Score)" sistemi önerilmiştir (67).

Daha sonra algoritmanın geliştirilmesiyle yaş değişkeni çıkarılmış ve testin adı “Enhanced Liver Fibrosis Test” olarak belirlenmiştir (51).

Orijinal çalışmanın 2004 yılında yayınlanmasından sonra dünyanın çeşitli ülkelerinde farklı popülasyonlarda ve hastalık gruplarında ELF testinin performansının değerlendirilmesi amacıyla validasyon çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmalara göre kronik hepatit C, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, primer biliyer siroz, kronik hepatit B, kronik hepatit D, alkolik karaciğer hastalığında fibrozisin değerlendirilmesinde ELF testinin kullanılabileceği önerilmiştir (68-74).

Günümüzde kullanılan ELF testinin üç bileşeni vardır: HA, PIIINP, ve TIMP-1. ELF testi ile insan serumundaki hyaluronik asit (HA), tip III prokollajenin amino-terminal propeptidi ve metalloproteaz-1 doku inhibitörünün (TIMP-1) serum düzeyleri ile elde edilen ELF puanı verilir.

HA, karaciğer yıldızlı hücrelerinin sentezlediği bir glikozaminoglikandır. PIIINP, fibrojen ve inflamasyonda erken dönem belirteçlerinden biridir. TIMP-1, fibroziste dokunun yeniden şekillendirilmesinde yer alan MMP-1 enziminin dolaşımdaki inhibitördür. Bu üç parametrenin serum düzeyleri, hücre dışı matriksteki değişiklikleri yansıtmaktadır.

ELF testi, karaciğerde fibrozisin derecesini hücre dışı matriksteki değişiklikleri kantitatif olarak değerlendirmesi ve kronik karaciğer hastalıkları ile ilişkili klinik beklentilerin doğru öngörülebilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Girişimsel yöntemlere göre komplikasyon riskinin çok düşük olması bu testi avantajlı kılmaktadır.

2.5.1. Hyaluronik asit

Glukozaminoglikanlardan biri olan hyaluronik asit (HA) 1934 yılında ilk olarak Karl Mayer ve John Palmer tarafından bir ineğin göz içi sıvısından izole edilmiştir. Yunancada cam anlamına gelen “hyalo“ sözcüğü ile uronik asitin birleşmesinden hyaluronik asit adı ortaya çıkmıştır. HA bir hücre dışı matriks bileşenidir (75). HA, diğer hücre dışı matriks moleküllerine göre oldukça hızlı bir yapım-yıkım döngüsüne sahiptir. Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, HA'nın katabolizmasından sorumludur (76). Bu hücreler tarafından reseptör aracılı endositoz ile hücre içine alınan HA'nın serum düzeyleri, endotel fonksiyonunu ve karaciğer

perfüzyonunu da yansıtmaktadır (77). Normal karaciğerde hücre dışı matriksin minör bir bileşeni olmasına rağmen, fibrotik karaciğerde HA düzeyleri çok belirgin olarak artmaktadır (78,79). Hyaluronik asitten zengin bir hücre dışı matriks, karaciğer yıldızsı hücre hareketi için uygun bir zemin oluşturur (80).

2.5.2. Prokollajen Tip III N-terminal Propeptidi (PIIINP)

PIIINP fibroziste serum belirteci olarak en çok çalışılmış moleküllerden biridir. Tip III kollajen, hepatik fibroziste doku hasarına yanıt olarak artan interstisyel hücre dışı matrikste tip I kollajenden sonra en çok bulunan fibriler kollajen tipidir (81). Tip III prokollajenin amino terminal propeptidi (PIIINP), prokollajen tip III N-terminalinde bulunmaktadır (82). Molekül ağırlığı 42 kDa ve yarı ömrü bir saat bir homotrimerdir. Karaciğerde düşük ve yüksek molekül ağırlıklı fragmanlarına ayrılarak yıkılır (83). PIIINP'nin hücre dışı boşlukta spesifik bir N-propeptidaz ile prokollajen tip III'ten ayrılmasıyla tip III kollajen oluşur, PIIINP ise dolaşıma katılır (81). Bu nedenle, serumda PIIINP düzeyindeki yükselme, kollajen üretimindeki artışı doğrudan yansıtmaktadır (77). ELF testi bileşeni olarak valide edilmiş olan serum PIIINP düzeyinin tek başına fibrozis değerlendirmesinde kullanımı için validasyon ve referans aralığı çalışmaları yapılmıştır (84,85). Ancak PIIINP düzeyinin karaciğerdeki fibrozisten çok fibrogenез süreci hakkında bilgi verebileceği öne sürülmektedir (86). Bundan başka PIIINP fragmanının tip III kollajen yapısından ayrılmadığını gösteren çalışmalar da vardır (87). Tüm bu nedenlerden dolayı fibrozis değerlendirmesinde tek başına kullanımı yerine ELF testi içinde puanlamada yer almasının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

2.5.3. Metalloproteazların Doku İnhibitörü-1 (TIMP-1)

TIMP-1 20 kDa molekül ağırlığında, 6 disülfid bağı içeren bir proteindir. TIMP-1'in aktivasyonu glikozilasyon yoluyla gerçekleşmektedir ve aktif glikozile TIMP-1 ise 28 kDa ağırlığında bir siyaloproteindir (88, 89). TIMP-1'in pro-MMP9 ve MMP enzimlerini inhibe ettiği gösterilmiştir. TIMP-1, makrofajlarda ve karaciğer yıldızsı hücrelerinden kaynaklanan myofibroblastlarda üretilir (90). TIMP-1, MMP aktivitesinin regülasyonunda rol oynamaktadır (91). TIMP-1'in aktivitesi TGF-beta, EGF, IL-6, IL-1beta gibi sitokinlerle artarken deksametazon ile azalmaktadır (90). İnsan ve rat modelinde hepatik fibroziste serum TIMP-1 düzeylerinin arttığı

gösterilmiştir. İnsan karaciğerinde TIMP-1 düzeyi ile fibrozisin derecesi arasında uyum saptanmıştır (92).

2.6. Tanısal Değer Çalışmasında Kullanılan Temel Kavramlar

2.6.1. Tanısal Yeterlilik

Bir testin farklı sağlık durumlarını biri birinden ayırabilme konusunda verdiği sonucun kalitesi tanısal yeterlilik olarak adlandırılır. Tanısal yeterlilik klinik olarak yararlılık göstergesidir / ölçütüdür.

2.6.2. Tanısal Duyarlılık (Sensitivity)

Gerçek hastada, hasta olduğu hastalığı altın standart yöntem ile teyit edilmiş test sonucunun pozitif olma olasılığına tanısal duyarlılık adı verilir. Kısaca, test ile pozitif olduğu gösterilen doğru pozitiflerin oranıdır (100).

		Altın Standart	
		+	-
Test	+	GP	YP
	-	YN	GN

GP = Gerçek Pozitif

GN = Gerçek Negatif

YP = Yalancı Pozitif

YN = Yalancı Negatif

$$Duyarlılık (\%) = \frac{GP}{GP + YN} \times 100$$

2.6.3. Tanısal Seçicilik/Özgüllük (Specificity)

Gerçek sağlıklı bireyde (hasta olmadığı altın standart yöntemi ile gösterilmiş) test sonucunun negatif olma olasılığıdır. Kısaca, Test ile negatif olduğu gösterilen gerçek negatiflerin oranıdır (100).

$$Seçicilik (\%) = \frac{GN}{GN + YP} \times 100$$

2.6.4. Prediktif Değer (Predictive Value)

Tanısal testlerin kullanım amacı tanı koymaktır. Bu nedenle bir testi kullanmadan önce o testin doğru tanı verme olasılığını bilmek gerekir. Duyarlılık ve seçicilik bu bilgiyi tek başlarına veremez. Bir testin sonucundan doğru tanıya ulaşma olasılığı bilgisine prediktif değer kullanılarak ulaşılabilir (101).

2.6.4.1. Pozitif Prediktif Değer: Testin uygulandığı toplulukta sonucun pozitif olanların gerçekte hasta olma olasılığı pozitif prediktif değer (PPD) olarak adlandırılır.

$$PPD (\%) = \frac{\frac{GP}{GP + YN + YP + GN}}{\frac{GP + YP}{GP + YN + YN + GN}} \times 100$$

$$PPD (\%) = \frac{GP}{GP + YP} \times 100$$

2.6.4.2. Negatif Prediktif Değer: Testin uygulandığı toplulukta sonucu negatif olanların gerçekte hasta olmama olasılığıdır.

$$NPD (\%) = \frac{GN}{GN + YN} \times 100$$

2.6.5. Olabilirlik Oranı (Likelihood Ratio)

Olabilirlik oranları (LR) hasta olanların hasta olmayanlara göre kaç kat beklendiği gibi olacağını gösterir. LR'ları 10'dan büyük veya 0,1'den küçük testler klinik olarak yararlıdır. LR'larını kullanmanın faydası, hastalık prevalansı değişimine karşı stabil olmasıdır (102).

2.6.5.1. Pozitif Olabilirlik Oranı: Gerçek pozitiflik (duyarlılık) oranının yanlış pozitiflik oranına (1-seçicilik) oranıdır.

$$LR(+) = \left(\frac{GP}{GP + YN} \times 100 \right) \times \left(\frac{1}{\left(1 - \frac{GN}{GN + YP} \right) \times 100} \right)$$

$$LR(+)=\left(\frac{GP}{GP+YN}\right)\times\left(\frac{1}{\frac{YP}{GN+YP}}\right)$$

$$LR(+)=\frac{GP\times(GN+YP)}{(GP+YN)\times YP}$$

2.6.5.2. Negatif Olabilirlik Oranı: Yanlış negatiflik (1 – duyarlılık) oranının gerçek negatiflik (seçicilik) oranına oranıdır.

$$LR(-)=\frac{1-Duyarlılık}{Seçicilik}$$

$$LR(-)=\frac{1-\left(\frac{GP}{GP+YN}\right)}{\frac{GN}{GN+YP}}$$

$$LR(-)=\frac{\frac{YN}{GP+YN}}{\frac{GN}{GN+YP}}$$

$$LR(-)=\frac{YN\times(GN+YP)}{GN\times(GP+YN)}$$

2.6.6. Doğruluk (Accuracy)

Duyarlılık ve seçicilik birleştirilerek tek bir ölçü elde edilmek istendiğinde kullanılan bir ölçü de doğru test sonucu olasılığıdır. Gerçekte testin hasta ve sağlıklı olarak toplam doğru tanı koyma oranına doğruluk adı verilir.

$$Doğruluk=\frac{GP+GN}{GP+GN+YP+YN}$$

2.6.7. Tanısal Değerin İfadesi: ROC

Biyokimya testlerinin tanısal performansının değerlendirilmesinde ROC (Receiver Operating Characteristic / Alıcı İşlem Karakteristiği) eğrisi anlamlı bilgiler vermektedir. ROC eğrisi, altın standart ile karşılaştırılan bir test için olası tüm

duyarlılık ve seçicilik çiftlerinin tam bir spektrum olarak gösterilmesini sağlayan bir grafikdir. Bu grafik bir testin diğerine (genelde altın standart) bağlı doğruluğunu gösterir. X ekseninde yanlış pozitif oranı (1- seçicilik), Y ekseninde doğru pozitif oranı (duyarlılık) yer alır. ROC eğrisi, (0,0) ile (1,1) arasında artan bir fonksiyondur. Birden fazla test karşılaştırıldığında diğerine göre daha yukarıda (solda) yer alan eğri, daha yüksek tanısal yeterliği ifade eder (103).

Duyarlılık, seçicilik, prediktif değerler tanısal testlerin pozitif negatif şeklinde yanıt verdiği durumlarda yeterlidir. Ancak biyokimyasal testlerin sonuçları genelde kantitatifdir. Normal ile anormal sonuçları ayıran bir eşik değerinin (cut-off) belirlenmesi ile duyarlılık, seçicilik ve prediktif değer yine kullanılır.

Önce test sonuçlarının hasta olanlar veya olmayanlar arasında ne kadar farklılık gösterdiğinin araştırılması gereklidir. ROC eğrisi ile bu durum araştırılabilir. 1960’larda tıpta kullanıma giren, 1980’lerde kullanımı yaygınlaşmaya başlayan ROC analizi, 1990’larda anlaşılmaya başlamıştır. ROC eğrisi 1950’lerde ilk olarak radar sinyallerinin (dost-düşman ayrımını sağlayabilmesi) kullanılmak üzere geliştirilmiştir (104). 1960’larda radyoloji ve tıpta tanı karar vermede kullanımı önerilmiştir. ROC eğrisi genellikle sonuç değişkeninin iki olasılıklı (+/-, var/yok) biçiminde olduğu, karar vermek için gereken değişkenin sürekli değişken olduğu durumlarda kullanışlıdır. Sürekli değişken için olası tüm eşik değerlerini gösteren ROC eğrisi ile her eşik değerinde farklı sonuçların GP, GN, YP, YN sıklığı hakkında yorumlar/çıkarımlar yapma olanağı vardır. Aynı zamanda tanısal yeterliliği değerlendirilen test için en iyi eşik değerinin saptanmasında ve doğru kararların yararının hesaplanmasında tanısal yeterlilikleri (doğru tanı koymadaki başarıları) karşılaştırılabilir (105).

2.6.7.1. AUROC (Area Under ROC)

Testler, yararsız test (0,5) ile mükemmel test (1,0) arasında bir performansa sahiptir. 1’e yakın olan testlerin doğru karar verme özelliğinin değerlendirilmesinde kullanılan bir gösterge de “AUROC– ROC eğrisi altında kalan alan”dır (106). Eğri altında kalan alan en fazla 1 olabilir. En küçük ise 0,5 olabilir (107).

Yararsız Test: Tanı testi hasta veya sağlıklı bireyleri birbirinden ayıramıyor ise yararsızdır; %50 olasılığa sahiptir, bu da rastgele seçme ile ulaşabileceğimiz olasılıktır.

Mükemmel Test: Tanı testi hasta veya sağlıklı bireyleri tam olarak (%100) birbirinden ayırabiliyor ise en yararlı testtir.

Duyarlılık ve seçiciliğin toplamının en yüksek olduğu nokta en iyi eşik değeri olarak belirlenir (108).

Eşik değerinin belirlenmesinde göz önünde bulundurulması gereken kriterler (109) :

- Hastaya gereksiz tedavi verildiğinde yarattığı sorunlar
- Hastalık saptanamayıp tedavisiz bırakıldığında ortaya çıkacak olan komplikasyonlar
- Gereksiz tedavinin yükleyeceği maliyet
- Gereksiz ileri tedavinin komplikasyonları
- Tedavi ile ölüm ilişkisi
- Tedavi etmeme durumundaki ölüm riski

3. BİREYLER ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Planı

Çalışmaya, Mayıs 2013-Temmuz 2013 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Hepatoloji Polikliniğinde görülen, otoimmün hepatit kesin tanısı olan 46 hasta dahil edildi.

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 09.05.2013 tarihli ve 06-03 KA-130018 numaralı onay alındı. Çalışmaya, aydınlatılmış onam formunu okuyarak katılmayı kabul eden hastalar alınmıştır.

3.1.1.Çalışma Protokolünde Yer Alan Hasta Seçim Kriterleri

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. Otoimmün hepatit tanısı olan,
2. 18-75 yaş arası,
3. Onam formunu kabul eden ve imzalayan,
4. Hastalığın takibi sırasında biyopsi ihtiyacı olan veya son 1 yıl içinde karaciğer biyopsisi yapılmış hastalar

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

1. 18 yaş altı ve 75 yaş üstü,
2. Çalışmaya katılmayı kabul etmeyen,
3. Karaciğer biyopsisi ihtiyacı olmayan veya son 1 yıl içinde karaciğer biyopsisi yapılmamış,
4. Tedavi alan hastalar

3.1.2.Çalışma Protokolü

Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Hepatoloji Polikliniği'ne başvuran hastalardan çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 46 otoimmün hepatitli hastanın öyküsü alınarak muayeneleri yapıldı. Daha sonra hastalardan ELF testi için 10 mL venöz kan örneği alındı. Hastaların son 1 yıl içinde yapılmış olan karaciğer

biyopsilerinin METAVİR fibrozis evreleme sonuçları ve rutin başvuru sırasında yapılan laboratuvar tetkik sonuçları kaydedildi.

3.2.YÖNTEM

3.2.1. ELF Testi:

Hasta kan örnekleri 1000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar beş porsiyona ayrılarak -80°C’de saklandı. Tüm serumlarda ELF testi bileşenleri olan HA, TIMP-1 ve PIIINP düzeyleri aynı anda Siemens ADVIA Centaur XP cihazı ile ölçüldü. Tüm parametrelerin konsantrasyonları ng/mL cinsinden verildi. ELF puanı, HA, TIMP-1 ve PIIINP serum düzeyleri kullanılarak cihazda kayıtlı olan algoritma ile hesaplandı.

3.2.1.1. Serum HA Ölçümü

Serum HA düzeyleri, direkt kemilüminometrik, iki bölgeli sandviç immün yöntem ile ölçüldü. Yöntem, HA’nın hyaluronik asit bağlayıcı protein (HABP) tarafından bağlanması prensibiyle çalışmaktadır. Reaktifler, akridinyum esteriyile konjuge edilmiş HABP içermektedir. Katı faz reaktifi, paramanyetik parçacıklara kovalent bağlı bir anti-FITC (fluorescein isothiocyanate) monoklonal antikor içermektedir (93). Kalibratör solüsyonundaki HA düzeyi ile cihazın saptadığı bağlı ışık (relative light unit/RLU) miktarı arasındaki doğru orantı ile kalibrasyon eğrisi çizilmekte ve hasta serumlarındaki HA konsantrasyonları hesaplanmaktadır. HA ölçüm aralığı, üretici firma tarafından 1,6-1000 ng/mL olarak verilmektedir. 1000 ng/mL’den yüksek değerler için “Multidiluent 13” ile 1:5 oranında dilüsyon uygulandı.

3.2.1.2. Serum PIIINP Ölçümü

Serum PIIINP düzeyleri, direkt kemilüminometrik, iki bölgeli sandviç immün yöntem ile ölçüldü. Yöntemin prensibine göre akridinyum esteri ile güçlendirilmiş bir anti-PIIINP antikor ve kanal reaktifi içinde bulunan ikinci antikor (biyotin ile güçlendirilmiş bir anti-PIIINP antikor) olmak üzere toplam iki monoklonal fare antikor kullanıldı (94). Kalibrasyon eğrisi, kalibratör solüsyonundaki PIIINP düzeyi ile cihazın saptadığı bağlı ışık (relative light unit/RLU) miktarı arasındaki doğru orantı ile çizildi ve hasta serumlarındaki PIIINP konsantrasyonları hesaplandı. PIIINP ölçüm aralığı üretici firma tarafından 0,5-150 ng/mL olarak verilmektedir.

150 ng/mL'den yüksek değerler için "Multidiluent 13" ile 1:5 oranında dilüsyon uygulandı.

3.2.1.3. Serum TIMP-1 Ölçümü

Serum TIMP-1 düzeyleri, direkt kemilüminometrik, iki bölgeci sandviç immün yöntem ile ölçüldü. Ölçüm prensibine göre, TIMP-1 ve reaktifi bağlayan akridinyum esteriyile işaretlenmiş monoklonal anti-TIMP-1 F(ab)₂ antikoru ve FITC-işaretli monoklonal anti-TIMP-1 antikoru kullanıldı (95). Kalibrasyon eğrisi, kalibratör solüsyonundaki TIMP-1 miktarı ile cihazın saptadığı bağıl ışık (relative light unit/RLU) miktarı arasındaki doğru orantı ile çizildi ve hasta serumlarındaki TIMP-1 konsantrasyonları buna göre hesaplandı. TIMP-1 ölçüm aralığı üretici firma tarafından 3,5-1300 ng/mL olarak verilmektedir. 1300 ng/mL'den yüksek değerler için "Multidiluent 10" ile 1:5 oranında dilüsyon uygulandı.

3.2.1.4. ELF Puanının Hesaplanması

ELF puanları, HA, PIIINP ve TIMP-1 serum konsantrasyonları kullanılarak ölçümlerin yapıldığı ADVIA Centaur XP cihazının sistem yazılımında (sürüm 7.0) yer alan algoritma ile otomatik olarak hesaplandı. HA, PIIINP ve TIMP-1 serum konsantrasyonları (C) ng/mL birimiyle ifade edildi. ELF puanı hesaplaması için aşağıdaki formül kullanıldı. Formülde yer alan katsayılar, matematiksel modelleme çalışmaları sonucunda elde edilmiştir.

$$\text{ELF puanı} = 2.278 + 0.851 \ln(C_{\text{HA}}) + 0.751 \ln(C_{\text{P3NP}}) + 0.394 \ln(C_{\text{TIMP1}})$$

ELF puanı, birimi olmayan sayısal bir değerdir. ELF puanının doğru hesaplanabilmesi için panelin tüm bileşenlerinin aynı anda ölçülmesi veya ölçümler arasında en fazla 8 saat olması önerilmektedir. Çalışmamızda ölçümler, bu kurala uygun olarak yapıldı.

Üretici firma verilerine göre ELF puanı ile hepatik fibrozis düzeyi üç grupta değerlendirilmektedir (96):

ELF Puanı	Fibrozis Düzeyi
< 7.7	: Fibrozis yok veya hafif düzeyde
≥ 7.7 ila < 9.8	: Orta düzeyde fibrozis
≥ 9.8	: Ağır düzeyde fibrozis

3.2.2. ELF Testinin Analitik Performansının Değerlendirilmesi

3.2.2.1. Kesinlik (presizyon)/Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

ELF testi ve bileşenleri için tekrarlanabilirlik çalışması, CLSI EP15-A2 kılavuzu doğrultusunda yürütüldü (97). Kontrol serumları, 5 gün boyunca 3 tekrar ile 3 düzeyde (düşük-orta-yüksek) çalışıldı. Tekrarlanabilirlik ön değerlendirme çalışmasında kontrol serumuyla hazırlanan 10 örnek, 2 tekrar ile günde iki kez ölçüldü. Çalışma-içi kesinlik (tekrarlanabilirlik), günlük ortalamaların varyansı ve laboratuvar içi kesinlik değerleri hesaplandı.

Çalışma içi kesinlik hesaplaması:

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{r=1}^n (x_{dr} - \bar{x}_d)^2}{D(n-1)}}$$

D = Toplam gün sayısı

n = Günlük toplam tekrar sayısı

x_{dr} = d günündeki r tekrarının sonucu

\bar{x}_d = d günündeki tüm tekrarların ortalaması

Günlük ortalamaların varyansı ve çalışma-içi kesinlik sonuçları kullanılarak laboratuvar içi kesinlik değerleri elde edildi. Çalışmamızda kullandığımız CLSI EP15-A2 kılavuzuna göre yöntemin geçerliğinin doğrulanması iki şekilde mümkündür:

- 1) Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi presizyon değerleri, üretici firmanın tarafından verilen standart sapma değerinden küçük ise, yöntemin geçerliği doğrulanır.
- 2) Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi presizyon değerleri, üretici firmanın tarafından verilen standart sapma değerinden büyük ise, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı *doğrulama değeri* hesaplanarak test edilmelidir. Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi presizyon değeri doğrulama değerinden küçük veya doğrulama değerine eşit ise, sonuçlar üretici firmanın verileri ile uyumlu kabul edilir.

3.2.2.2. Doğrusallık Çalışmaları

ELF testi bileşenleri için doğrusallık çalışması, CLSI EP06-A kılavuzu doğrultusunda yürütüldü (98). Bu çalışmada beklenen ve ölçülen sonuçlar arasındaki ilişkinin doğrusallığı test edildi.

Doğrusallık çalışması için hasta serumundan % 100, % 75, % 50, % 25, % 12,5 % 6,25 ve % 3,12 dilüsyon oranlarında örnek serileri HA ve PIIINP için “Multidiluent 13”, TIMP-1 için “Multidiluent 10” kullanılarak hazırlandı. Her düzey, üç tekrar ile ölçüldü ve sonuçların ortalaması alındı. Ölçülen ve beklenen değerler ile doğrusallık grafiği çizildi. Sonuçların değerlendirilmesi lineer regresyon analizi ile StatisPro (CLSI) programı kullanılarak yapıldı.

3.2.3. Karaciğer Biyopsisi ve Histolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan otoimmün hepatitli hastalardan son 1 yıl içinde karaciğer biyopsisi olmayanlara standart tekniklere uygulanarak subkutan karaciğer biyopsisi yapıldı. Biyopsi materyalleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Biyopsi örneklerinin fibrozis düzeyleri uzman bir patoloğ tarafından METAVIR skorlama sistemine göre değerlendirildi. METAVIR skorlama sisteminin fibrozis evreleri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.1. Histopatolojik incelemede kullanılan METAVIR evreleme sistemine göre fibrozis düzeyleri (99)

METAVIR Evresi	Histolojik Özellikler
F0	Fibrozis yok
F1	Septa oluşumu yok, portal bölgelerde genişleme
F2	Seyrek septa oluşumu, portal bölgelerde genişleme
F3	Belirgin septa oluşumu, siroz yok
F4	Siroz

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

Sonuçlar ortalama, standart sapma ve minimum-maksimum değerleri ile verildi. Gruplar arası karşılaştırmada non-parametrik Mann Whitney U testi kullanıldı. ELF testinin tanısal yeterliliğini değerlendirmek için ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) ve % 95 güven aralığı hesaplandı. ELF testinin bileşenleri olan HA, PIIINP ve TIMP-1 analitlerinin AUROC değerleri ve % 95 güven aralığı hesaplandı. ROC eğrileri değerlendirilerek ELF testi ile ileri ve hafif derecede fibrozisi ayırmak için “Youden İndeksi” kullanıldı ve eşik değerleri (cut-off value) belirlendi. İstatistiksel hesaplamalar IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0 programı (Armonk, NY: IBM Corp., 2012), Microsoft Excel 2013 ve StatisPro kullanılarak yapıldı. p değerleri 0,05’in altında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Grubunun Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen, otoimmün hepatit tanısı olan 33 kadın (% 71,7) ve 13 erkek (% 28,3) olmak üzere toplam 46 hastanın yaş ortalaması $39,6 \pm 13,2$ yıl olarak hesaplandı. Hastaların çalışmaya katıldıkları gün itibarı ile hastalık sürelerinin ortalaması $48,8 \pm 46,5$ ay olarak bulundu. Karaciğer enzimlerinin ortalama değerleri ALT $10,5 \pm 10,1$ U/L, AST $10,8 \pm 12,3$ U/L, ALP $2,6 \pm 1,8$ IU/L, GGT $6,1 \pm 6,7$ U/L olarak bulundu. Diğer parametreler için ortalama değerler ise bilirubin $1,2 \pm 1,4$ mg/dL, albümin $3,8 \pm 0,6$ g/dL, INR $1,2 \pm 0,2$, trombosit sayısı $220413 \pm 71683/\text{mm}^3$, IgG 2470 ± 1065 mg/dL olarak hesaplandı. Hasta grubunun özellikleri ve rutin laboratuvar bulguları Tablo 4.1’de görülmektedir.

Tablo 4.1. Hasta grubunun özellikleri

Özellik	Ortalama	Ortanca	En düşük	En yüksek
Yaş (Yıl)	$39,6 \pm 13,2$	40	18	70
Hastalık süresi (Ay)	$48,8 \pm 46,5$	38,5	1	168
ALT (U/L)	$10,5 \pm 10,1$	7,2	0,7	39,8
AST (U/L)	$10,8 \pm 12,3$	6,8	0,85	70,4
ALP (IU/L)	$2,6 \pm 1,8$	2,1	0,5	8
GGT (U/L)	$6,1 \pm 6,7$	3,53	0,3	31,7
Total bilirubin (mg/dL)	$1,2 \pm 1,4$	0,7	0,1	6,4
Albumin (g/dL)	$3,8 \pm 0,6$	3,9	2,1	4,9
INR	$1,2 \pm 0,2$	1,2	0,9	1,8
Trombosit sayısı (/mm³)	220413 ± 71683	233500	79000	436000
IgG	2470 ± 1065	2140	1270	6950

Çalışmaya katılan tüm hastalarda otoantikorların varlığı ve dağılımı incelendi (Tablo 4.2). ANA 42 hastada (% 91,3), ASMA 12 hastada (% 26,1) pozitif bulundu. ANA ve ASMA antikorlarının aynı anda pozitifliği 8 hastada (% 17,4) saptandı. Anti-LKM-1 antikorunu 1 hastada (% 2,2), AMA antikorunu 3 hastada (% 6,5) pozitif bulundu.

Tablo 4.2. Hastalarda otoantikörlerin dağılımı

Otoantikörler	n	%
ANA +	42	91,3
ANA -	4	8,7
ASMA +	12	26,1
ASMA -	34	73,9
LKM-1 +	1	2,2
LKM-1 -	45	97,8
AMA +	3	6,5
AMA -	43	93,5
ANA ve ASMA +	8	17,4

4.2. Hastaların Karaciğer Biyopsi Sonuçlarına Göre METAVIR Fibrozis Evreleri

Çalışma grubundaki hastaların karaciğer biyopsisi incelemelerinden elde edilen METAVIR evrelerine göre dağılımı Tablo 4.3'te verilmiştir. Fibrozis evresi F0 olan sadece 1 (% 2,2), F1 olan 8 (% 17,4), F2 olan 8 (% 17,4), F3 olan 19 (% 41,3) ve F4 olan 10 hasta (% 21,7) olduğu saptandı.

Tablo 4.3. Hastaların METAVIR evrelerine göre dağılımı

METAVIR Evresi	Hasta Sayısı	Hasta Yüzdesi
F0	1	2,2
F1	8	17,4
F2	8	17,4
F3	19	41,3
F4	10	21,7
Toplam	46	100

4.3. Fibrozis gruplarının oluşturulması ve özelliklerinin karşılaştırılması

Çalışmaya katılan hastaların fibrozis evrelerine göre sayıları dikkate alınarak iki grupta incelenmesi uygun bulundu. Fibrozis evrelerine göre fibrozisi olmayan veya hafif derecede olan hastalar (F0 ve F1) “yok-hafif fibrozis” (Grup 1), orta ve ileri derecede fibrozisi olan hastalar (F2, F3 ve F4) ise “orta-ağır fibrozis” (Grup 2) olarak tanımlandı. Grup 1’de 9 hasta (%19,6), Grup 2’de 37 hasta (% 80,4) yer aldı. Grup 1’de cinsiyet dağılımı (K/E) % 77,8/% 22,2, Grup 2’deki cinsiyet dağılımı ise

% 70,3/% 29,7 olarak bulundu. Grupların cinsiyet dağılımı yönünden aralarında istatistiksel bir fark bulunmadı.

Fibrozis gruplarının özellikleri ve rutin laboratuvar bulguları Tablo 4.4'te verildi. Genel özellikler ve rutin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında, gruplar arasında total bilirubin ve trombosit sayısı dışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p < 0,05$).

Tablo 4.4. Fibrozis gruplarının özelliklerinin karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	p
Hastalık süresi (ay)	24,5±23,2	54,7±49,0	0,059
Yaş	44,1±12,4	38,5±1,35	0,217
ALT (U/L)	10,66±10,95	10,47±10,06	0,828
AST (U/L)	9,2±9,8	11,14±12,95	0,723
Total bilirubin	0,41±0,24	1,45±1,5	0,003
GGT	6,06±6,6	6,06±6,8	0,913
ALP	2,06±1,62	2,7±1,9	0,367
Albumin	3,88±0,37	3,8±0,6	0,913
INR	1,1±0,16	1,3±0,2	0,137
Trombosit	273111±73458	207595±66037	0,02
IgG	1958±513,5	25945±1130,7	0,081

4.4. ELF Testinin Analitik Performans Değerlendirme Sonuçları

4.4.1. Presizyon/Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

Kontrol serumlarının üç düzeyde HA, PIIINP, TIMP-1, ELF puanı değerleri ve lot numaraları Tablo 4.5'te verildiği gibidir.

Tablo 4.5. Kontrol serumları

Lot No	Kontrol	HA (ng/mL)	TIMP-1 (ng/mL)	PIIINP (ng/mL)	ELF puanı
2410041	Kontrol-L1	17,8 ± 4,45	93,8 ± 23,5	2,16 ± 0,54	7,1 (6,53 - 7,55)
2410042	Kontrol-L2	43 ± 10,8	277 ± 69,3	5,29 ± 1,32	8,95 (8,38 - 9,40)
2410043	Kontrol-L3	175 ± 43,8	563 ± 141	11,4 ± 2,85	11 (10,4 - 11,5)

Düzye 1 kontrol serumu ile yapılan çalışmada tüm parametrelerin tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi kesinlik değerlerinin üretici firma tarafından verilmiş olan standart sapma değerinden düşük olduğu gösterildi (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Düzey 1 için kesinlik çalışması sonuçları

Düzey 1	HA	PIIINP	TIMP-1	ELF
Çalışma içi kesinlik	0,37	0,07	1,07	0,03
S_b² - varyans	0,49	0,0017	11,57	0,0015
Lab-içi kesinlik	0,76	0,0737	3,51	0,048
Doğrulama değeri	1,75	0,215	6,28	0,15
Üretici firma SS	1,22	0,150	4,39	0,11
Sonuç	Geçerli	Geçerli	Geçerli	Geçerli

Düzey 2 kontrol serumu ile yapılan çalışmada HA'nın laboratuvar içi presizyon değeri dışındaki tüm parametrelerin tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi presizyon değerlerinin üretici firma tarafından verilmiş olan standart sapma değerinden düşük olduğu gösterildi. HA'nın doğrulama değeri laboratuvar içi presizyon değerinden düşük olması nedeniyle HA laboratuvar içi presizyon sonucunun da geçerliği doğrulanmış kabul edildi (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Düzey 2 için kesinlik çalışması sonuçları

Düzey 2	HA	PIIINP	TIMP-1	ELF
Çalışma-içi kesinlik	1,26	0,10	4,58	0,03
S_b² - varyans	9,49	0,0108	87,21	0,0072
Lab-içi kesinlik	3,25	0,1342	10,06	0,089
Doğrulama değeri	4,35	0,48	21,01	0,128
Üretici firma SS	3,04	0,335	14,68	0,09
Sonuç	Geçerli	Geçerli	Geçerli	Geçerli

Düzey 3 kontrol serumu ile yapılan çalışmada ELF puanının laboratuvar içi presizyon değeri dışındaki tüm parametrelerin tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi presizyon değerlerinin üretici firma tarafından verilmiş olan standart sapma değerinden düşük olduğu gösterildi. ELF puanının doğrulama değeri laboratuvar içi presizyon değerinden düşük olması nedeniyle ELF puanının laboratuvar içi presizyon sonucunun da geçerliği doğrulanmış kabul edildi (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Düzey 3 için kesinlik çalışması sonuçları

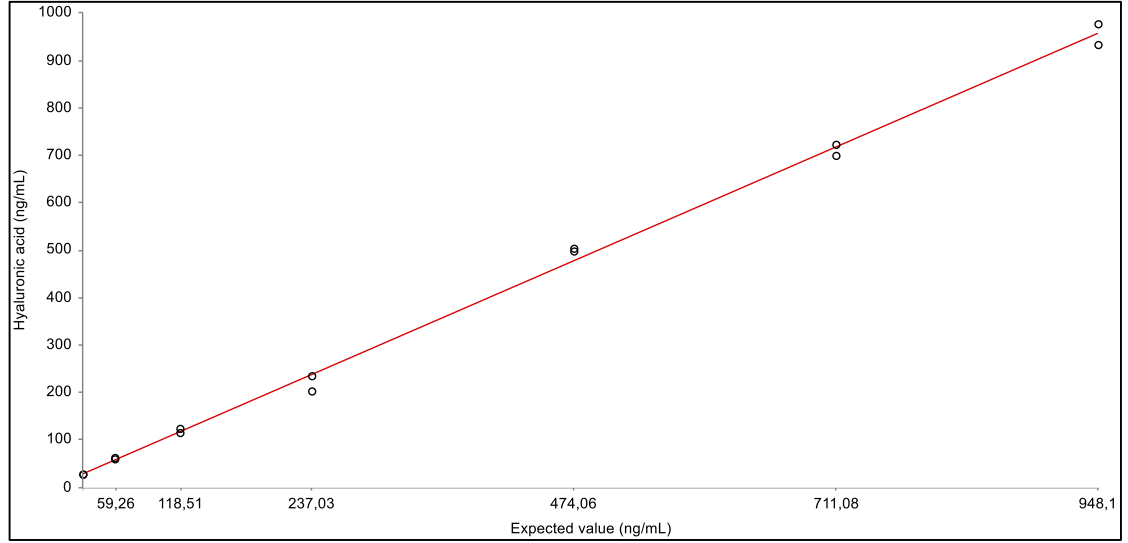
Düzey 3	HA	PIINP	TIMP-1	ELF
Çalışma-içi kesinlik	4,09	0,32	6,29	0,04
S _b ² - varyans	205,84	0,117	428,09	0,0089
Lab-içi kesinlik	14,73	0,433	21,32	0,100
Doğrulama değeri	16,59	0,675	37,10	0,114
Üretici firma SS	11,50	0,472	25,92	0,08
Sonuç	Geçerli	Geçerli	Geçerli	Geçerli

4.4.2. Doğrusallık çalışması sonuçları

ELF testi bileşenleri için doğrusallık çalışmaları yürütüldü. HA için doğrusallık çalışması sonuçları Tablo 4.9 ve Şekil 4.1’de verildiği gibidir.

Tablo 4.9. HA doğrusallık çalışması sonuçları

Düzey	Tekrar	Beklenen değer	Ölçülen değer (ortalama)	SD	CV (%)
1	2	948,1	953,0	31,1	3,3
2	2	711,08	710,0	15,6	2,2
3	2	474,06	500,0	2,8	0,6
4	2	237,03	219,0	22,6	10,3
5	2	118,51	119,0	5,7	4,8
6	2	59,26	60,0	2,8	4,7
7	2	29,58	27,5	0,7	2,6

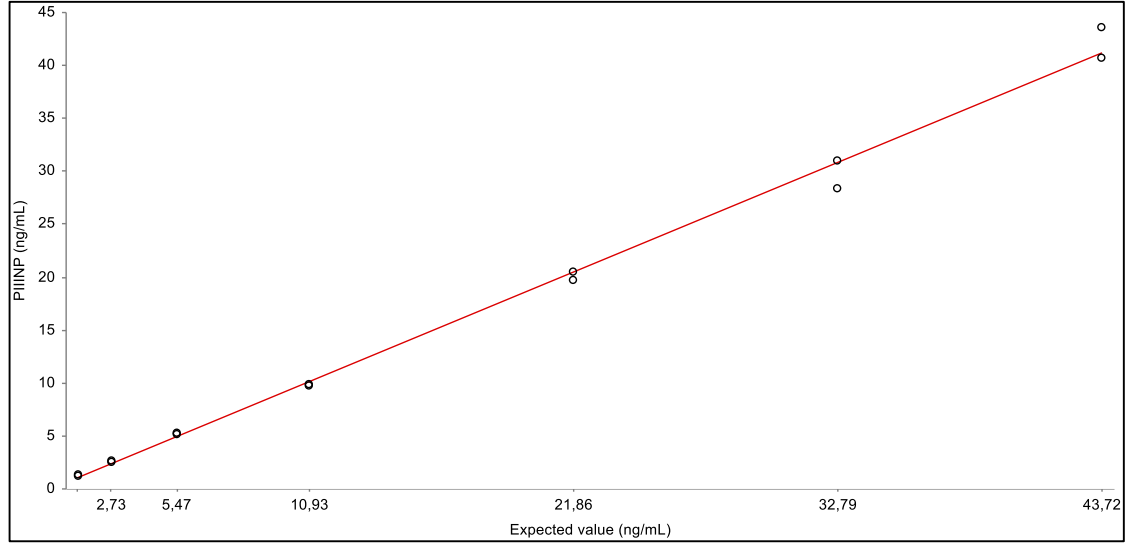


Şekil 4.1. HA doğrusallık grafiği

PIINP için doğrusallık çalışması sonuçları Tablo 4.10 ve Şekil 4.2’de verildiği gibidir.

Tablo.4.10. PIINP doğrusallık çalışması sonuçları

Düzye	Tekrar	Beklenen değer	Ölçülen değer (ortalama)	SD	CV (%)
1	2	43,72	42,210	2,107	5,0
2	2	32,79	29,750	1,909	6,4
3	2	21,86	20,150	0,495	2,5
4	2	10,93	9,850	0,071	0,7
5	2	5,47	5,200	0,141	2,7
6	2	2,73	2,580	0,028	1,1
7	2	1,36	1,260	0,085	6,7

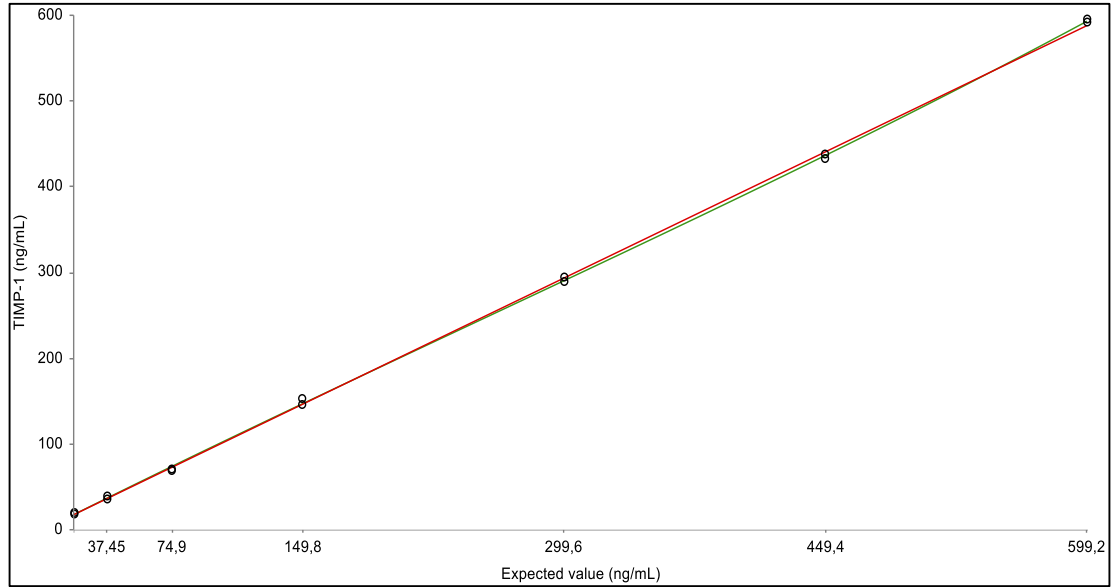


Şekil 4.2. PIINP doğrusallık grafiği

HA için doğrusallık çalışması sonuçları Tablo 4.11 ve Şekil 4.3'te verildiği gibidir.

Tablo 4.11. TIMP-1 doğrusallık çalışması sonuçları

Düzyey	Tekrar	Beklenen değer (ng/mL)	Ölçülen değer (ortalama)	SD	CV (%)
1	2	599,2	594,00	2,83	0,5
2	2	449,4	436,00	2,83	0,6
3	2	299,6	291,50	3,54	1,2
4	2	149,8	148,50	4,95	3,3
5	2	74,9	69,50	0,71	1,0
6	2	37,45	37,00	2,83	7,6
7	2	18,7	18,65	0,78	4,2



Şekil 4.3. TIMP-1 doğrusallık grafiği

Tüm bu sonuçlara göre, ELF testi bileşenleri HA, PIIINP ve TIMP-1 ölçümleri doğrusal olarak bulundu.

4.5. ELF Testi Sonuçları

Çalışmaya katılan 46 hastadan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlar ile ELF testi çalışıldı. Serum HA, PIIINP, TIMP-1 konsantrasyonları ölçüldü ve ELF puanı hesaplandı. Hasta grubunun HA düzeyi ortalaması $227,34 \pm 316,92$ ng/mL, PIIINP düzeyi ortalaması $12,20 \pm 8,91$ ng/mL ve TIMP-1 düzeyi ortalaması $394,41 \pm 141,19$ ng/mL olarak bulundu (Tablo 4.12). Tüm hasta grubunun ELF puanı ortalaması ise $10,22 \pm 1,54$ olarak hesaplandı.

Tablo 4.12. Hastaların ELF puanı ve ELF testi bileşenlerinin sonuçları

	n	ortalama	SS	ortanca	min	max
HA (ng/mL)	46	227,34	316,92	80,74	8,84	1316,44
PIIINP (ng/mL)	46	12,20	8,91	10,44	2,70	57,98
TIMP-1 (ng/mL)	46	394,41	141,19	348,03	168	841,65
ELF puanı	46	10,22	1,54	10,15	7,3	13,42

Hastaların ELF puanları, üretici firmanın verdiği eşik değerlerine (cut-off) göre sınıflandırıldığında hastaların % 4,3'ü “yok-hafif”, % 37'si “orta” ve % 58,7'si ise “ağır” grubuna dahil olduğu görüldü (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Hastaların ELF puanlarının ELF puanı fibrozis ölçeğine göre dağılımı

ELF skoru-fibrozis yorumu	n	%
yok-hafif (< 7,7)	2	4,3
orta ($\geq 7,7 < 9,8$)	17	37,0
ağır ($\geq 9,8$)	27	58,7
Toplam	46	100

ELF puanları “yok-hafif” grubunda $7,50 \pm 0,28$, “orta” grubunda $8,90 \pm 0,49$ ve “ağır” grubunda $11,25 \pm 1,07$ olarak hesaplandı (Tablo 4.14). Fibrozis alt gruplarının ELF puanlarına ait istatistiksel bulguları Tablo 4.14’de görülmektedir.

Tablo 4.14. ELF puanlarına göre oluşturulan fibrozis alt gruplarının ELF puanı istatistiksel bulguları

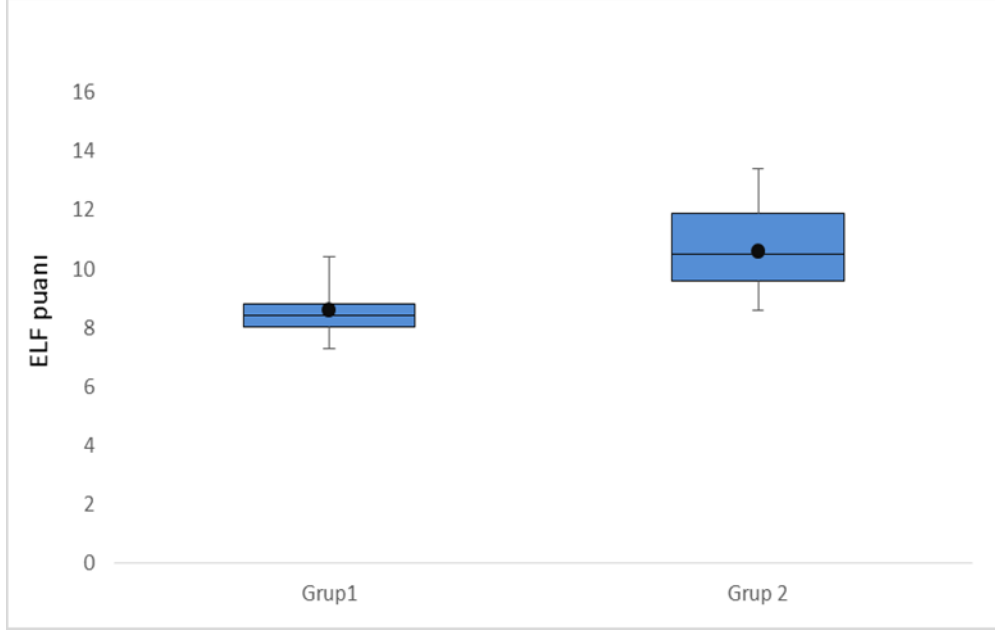
	Yok-hafif	Orta	Ağır
n	2	17	27
ortalama	7,50	8,90	11,25
SD	0,28	0,49	1,07
ortanca	7,50	8,90	10,89
min	7,30	8,02	9,81
max	7,69	9,78	13,42

Fibrozis alt grupları karşılaştırıldığında orta ile ağır fibrozis grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Tablo 4.15. Fibrozis gruplarının ELF testi ve bileşenlerine ait sonuçlarının karşılaştırılması

	Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=37)	p
PIIINP	7,21 \pm 5,04	13,41 \pm 9,26	0,011
HA	32,77 \pm 27,35	274,66 \pm 337,07	0,001
TIMP-1	348,32 \pm 94,48	405,63 \pm 149,25	0,325
ELF	8,62 \pm 1,05	10,60 \pm 1,39	0,001

Çalışmamızda belirlediğimiz fibrozis gruplarının (Grup 1 ve 2) ELF puanları karşılaştırıldı. ELF puanı ortalamaları Grup 1 için $8,62 \pm 1,05$, Grup 2 için $10,60 \pm 1,39$ olarak hesaplandı (Tablo 4.15). Gruplar arası ELF ortalaması farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).



Şekil 4.4 Fibrozis alt gruplarının ELF puanlarının dağılımı

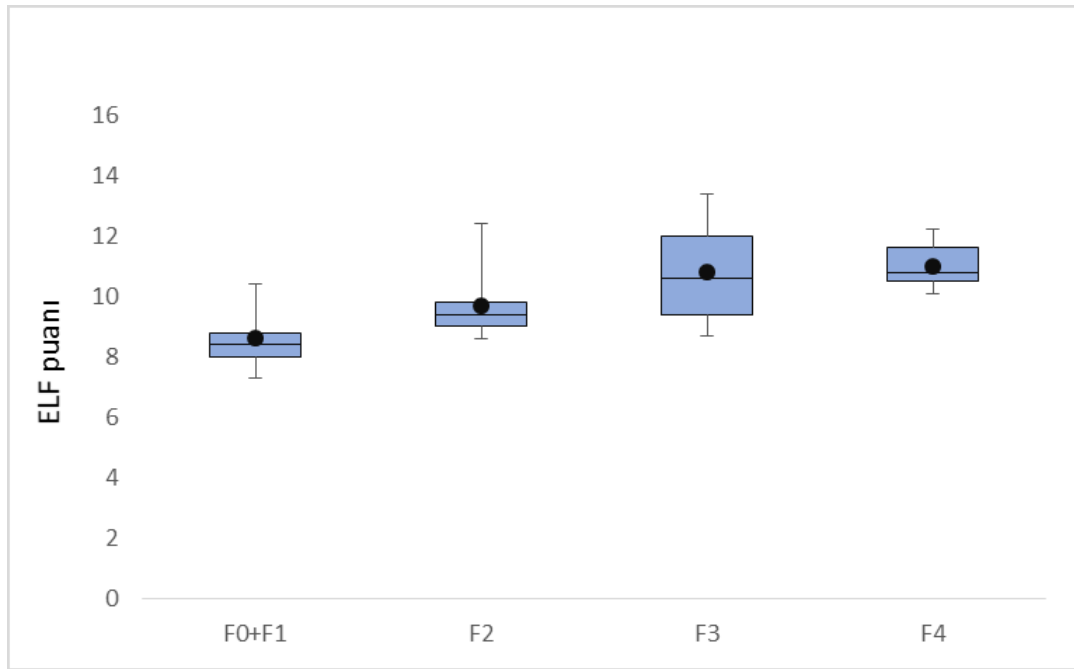
4.6. Hastaların karaciğer biyopsi sonuçları ile ELF puanlarının karşılaştırılması

Hastaların ELF puanlarının METAVIR fibrozis evrelerine göre toplam 5 alt gruba (F0-4) dağılımı incelendi (Tablo 4.16 ve Şekil 4.4). METAVIR fibrozis evresi F0 olan 1 hastanın ELF puanı 7,69 olarak hesaplandı. Fibrozis evresi F1 olan 8 hastanın ELF puanı ortalaması 8,74, F2 olan 8 hastanın 9,68, F3 olan 19 hastanın 10,80 ve F4 olan 10 hastanın 10,97 olarak saptandı.

Tablo 4.16. METAVIR evrelerine göre gruplandırılan hastaların ELF puanlarının dağılımı

	F0	F1	F2	F3	F4
n	1	8	8	19	10
%	2,2	17,4	17,4	41,3	21,7
ortalama	7,69	8,74	9,68	10,80	10,97
SS		1,1	1,2	1,6	0,7
ortanca		8,5	9,4	10,6	10,8
min		7,3	8,6	8,6	10,1
max		10,4	12,5	13,4	12,2

Şekil 4.5’de fibrozis alt gruplarının ELF puanı dağılımı “boxplot” grafik ile gösterildi. F0 evresinde sadece bir hasta bulunması nedeniyle, gruplar F0+F1, F2, F3, F4 olarak verildi.



Şekil 4.5 METAVIR fibrozis evrelerine göre ELF puanlarının dağılımı

METAVIR evrelerine göre hasta dağılımı ELF puanı fibrozis ölçeğine göre hasta dağılımı ile karşılaştırıldı (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. METAVIR evrelerine göre gruplandırılan hastaların ELF Puanı ölçeğindeki yerleri

ELF	F0	F1	F2	F3	F4	Toplam
Yok-hafif	1	1	0	0	0	2
Orta	0	5	5	7	0	17
Ağır	0	2	3	12	10	27
Toplam	1	8	8	19	10	46

4.7. ELF Testinin Tanısal Değerinin Karaciğer Biyopsisi ile Karşılaştırılması

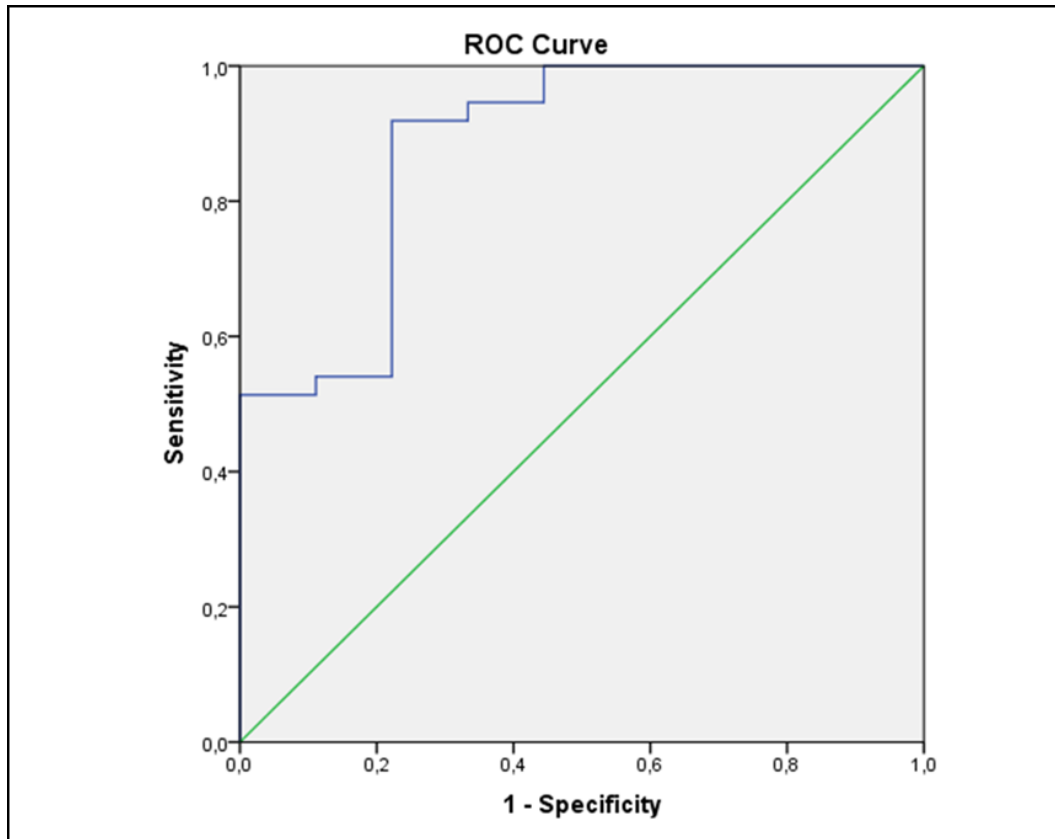
Hastaların karaciğer biyopsisi ile belirlenen fibrozis düzeyleri ELF puanları ile karşılaştırıldı (Tablo 4.18). Biyopsi sonucunda fibrozisi olan 37 hastanın ve fibrozisi olmayan 2 hastanın ELF puanları biyopsi sonuçları ile uyumlu bulundu. Ancak ELF puanı ile fibrozis saptanan 7 hastanın biyopsi sonucunda fibrozisli grupta olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.18 Hastaların karaciğer biyopsi sonuçları ile ELF testi sonuçlarının karşılaştırması

Biyopsi

		Fibrozis (+)	Fibrozis (-)	Toplam
ELF	Fibrozis (+)	37	7	44
	Fibrozis (-)	0	2	2
	Toplam	37	9	46

ELF testinin karaciğer fibrozisini değerlendirmedeki yeterliliğini incelemek amacıyla ROC eğrisi çizildi (Şekil 4.6) ve ELF puanı için eşik değer hesaplandı. Eşik değer 8,84 olarak belirlendiğinde ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) 0,88 olarak hesaplandı (Tablo 4.19).



Şekil 4.6 ELF testi için ROC eğrisi

Tablo 4.19 ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC)

ROC Eğrisi Altında Kalan Alan (AUROC)	Standart Hata	p	95% Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
0,880	0,068	0,001	0,746	1,000

Orta-ağır fibrozisi yok-hafif fibrozis evresinden ayırmak için saptanan ELF testi eşik değeri 8,84, duyarlılık % 91,89, seçicilik % 77,78, pozitif prediktif değer % 94,4, negatif prediktif değer % 70, olabilirlik oranları 4,14 (LR+) ve 10 (LR-) olarak hesaplandı (Tablo 4.20).

Tablo 4.20 ELF puanının tanısal yeterlilik sonuçları

	ELF puanı	% 95 Güven Aralığı
Eşik Değeri	8,84	
AUROC	0,88	0,750 - 0,957
Duyarlılık (%)	91,89	78,1 - 98,3
Seçicilik (%)	77,78	40,0 - 97,2
LR+	4,14	2,9 - 5,9
LR-	0,1 (10)	0,02 - 0,5 (20 - 50)
PPD	94,4	81,3 - 99,3
NPD	70	32,8 - 94,1
Doğruluk (%)	84,8	

p < 0,0001

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 46 otoimmün hepatitli olguda hepatik fibrozisin değerlendirilmesinde kullanılan ve girişimsel olmayan ELF testinin sonuçları karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılarak tanısal değeri incelenmiştir. ELF testinin otoimmün hepatitli hastalarda karaciğer biyopsisine alternatif olarak kullanılabilirliği ilk kez bu çalışmada araştırılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre ELF puanının otoimmün hepatitli hastalarda karaciğerde hafif fibrozisi ağır fibrozisten ayırabildiği gösterilmiştir.

ELF testinin karaciğer fibrozisini değerlendirmedeki etkinliği ve tanısal değeri, bugüne kadar çeşitli kronik karaciğer hastalığı olan farklı gruplarda çalışılmış ve performans değerlendirmesi yapılmıştır. Çalışmaların bir kısmı çeşitli etyolojilerden oluşan kronik karaciğer hastalığı gruplarıyla yapılmışken, diğer bir kısmı da spesifik hastalık gruplarıyla (alkolik karaciğer hastalığı, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, kronik hepatit B, kronik hepatit C, kronik hepatit D, primer biliyer siroz gibi) yürütülmüştür. ELF testinin tanısal değerinin incelendiği ilk çalışma, 2004 yılında yayınlanmıştır. Avrupa çapında yürütülmüş çok merkezli bir çalışma kapsamında 1021 kronik karaciğer hastası toplanmış, 921'ine karaciğer biyopsisi yapılmıştır. Bu hastaların ELF puanları karaciğer biyopsisi sonuçları ile karşılaştırılmış ve AUROC değeri 0,804 bulunarak biyopsiye alternatif olarak kullanılabilceği öne sürülmüştür (67).

Bizim çalışmamızda hastalar, METAVIR evrelerine göre F0-F1 fibrozis yok/hafif fibrozis (Grup 1) ve F2-F3-F4 orta-ağır fibrozis (Grup 2) olarak iki gruba ayrıldı. METAVIR evrelemesine göre hastaların % 19,6'sı Grup 1, % 80,4'ü grup 2'de yer aldı. ELF skoru ortalamaları Grup 1 için $8,62 \pm 1,05$, Grup 2 için $10,60 \pm 1,39$ olarak bulundu; gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). İki yöntemin tanısal değerinin karşılaştırılması için ROC eğrisi çizildi. ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) 0,88 olarak hesaplandı. Orta-ağır fibrozisi yok/hafif fibrozis durumundan ayırmak için saptanan ELF testi eşik değeri 8,84, duyarlılık % 91,89, seçicilik % 77,78, pozitif prediktif değer % 94,4, negatif prediktif değer % 70, olabirlik oranları 4,14 (LR+) ve 10 (LR-) olarak hesaplandı. Bu sonuçlar, ELF testinin tanısal değeri ile ilgili yapılan çalışmaların bir kısmının sonuçları ile uyumlu

bulundu. 2011 yılında yayınlanan bir çalışmada 347 kronik hepatit C enfeksiyonlu hastanın ELF testi sonuçları biyopsi sonuçları eşik değeri METAVIR evre F3 seçilerek karşılaştırıldığında AUROC 0,85 olarak bulunmuştur (71). 2012’de yayınlanan 170 kronik hepatit B hastasıyla yapılmış bir çalışmada, ELF testinin tanısal değeri karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılmıştır. Anlamli fibrozisin ayırt edilmesi için eşik değeri METAVIR evre F2 seçilerek ELF puanları incelendiğinde AUROC 0,901, evre F3 seçildiğinde 0,860 ve evre F4 (siroz) seçildiğinde 0,862 olarak bulunmuştur (72). 2012’de yayınlanan 512 kronik hepatit C hastasıyla yapılmış bir çalışmada, ELF testinin tanısal değeri karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılmıştır. Anlamli fibrozisin ayırt edilmesi için eşik değeri biyopsi için METAVIR evre F2, ELF puanı için 9,0 olarak belirlendiğinde AUROC 0,78, duyarlılık % 86, seçicilik % 62 olarak hesaplanmıştır (110). Bizim çalışmamızın sonuçları daha yüksek olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada eşik değeri F3 seçildiğinde AUROC 0,82 (ELF puanı eşik değeri 9,33), F4 seçildiğinde AUROC 0,85 (ELF puanı eşik değeri 9,35) olarak hesaplanmıştır. 2012’de yayınlanan 102 kronik karaciğer hastasıyla yapılmış bir çalışmada, ELF testinin tanısal değeri karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılmıştır. Anlamli fibrozisin ayırt edilmesi için eşik değeri biyopsi için METAVIR evre F2, ELF puanı için 8,99 olarak belirlendiğinde AUROC 0,87, duyarlılık % 86, seçicilik % 70 olarak bulunmuştur (111).

ELF puanının tanısal performansının ve eşik değerinin bizim sonuçlarımızdan farklı bulunduğu çalışmalar da mevcuttur. 2013 yılında yayınlanan, 162 kronik HCV enfeksiyonlu hasta ve 67 kontrol ile yürütülmüş bir çalışmada karaciğer fibrozisi biyopsi ve ELF testi ile değerlendirilmiştir (73). Fibrozisin ayırt edilmesinde METAVIR F2 evresi eşik değeri olarak belirlendiğinde AUROC 0,94, ELF puanı için eşik değeri 7,72, duyarlılık % 93, seçicilik % 83, PPD % 93,3, NPD % 81 olarak bulunmuştur. AUROC değeri bizim çalışmamızın sonucundan daha yüksek olan bu çalışmada ELF puanı eşik değeri, bizim çalışmamızda bulduğumuz eşik değerinden (8,84) daha düşüktür. Aynı çalışmada ELF testinin siroz durumunu ayırt ediciliği eşik değeri F4 evresi olarak belirlenerek test edilmiş, ELF testi için eşik değeri 9,3 ve AUROC 0,94 (duyarlılık % 93, seçicilik % 86) olarak verilmiştir (73).

Diğer bir grup çalışmada ELF testinin hafif ve orta düzeyde fibrozisi göstermede çok başarılı olmadığı, ağır fibrozisli ve sirozlu vakalarda biyopsi ile uyumlu sonuçlar verdiği gösterilmiştir. 2008 yılında non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı grubunda yapılan bir çalışmada fibrozis olmayanlarla olanların ayrıldığı eşik değeri (F1) için AUROC 0,76, orta düzeyde fibrozisin ayırt edildiği eşik değerinde (F2) AUROC 0,82, sirozun ayırt edildiği eşik değerinde (F4) AUROC 0,90 olarak bulunmuştur (112). 2010 yılında kronik karaciğer hastalığı olan 74 kişi ile yapılan bir çalışmada ELF testi ile karaciğer biyopsisi sonuçları (eşik değeri evre F2) karşılaştırılmış ve AUROC 0,78 olarak verilmiştir (113). Sirozun ayırt edilmesi yönünden kıyaslandıklarında ise (gruplar arası ayırım için METAVIR evresi= F4) AUROC 0,92 olarak bulunmuştur. Primer biliyer sirozlu 161 hastayla yapılan 7 yıllık bir izlem çalışmasında, ELF testinin tanısal değeri biyopsi ile karşılaştırılmış ve anlamlı fibrozisin ayırt edilmesinde AUROC 0,75, sirozun ayırt edilmesinde AUROC 0,76 olarak bulunmuştur (68).

ELF testi ile ilgili yapılan çalışmaların bir kısmında AUROC değerleri bizim çalışmamızın AUROC değerinden daha düşük bulunmuştur. 2010 yılında yayınlanan 7 yıllık bir çalışmada 457 kronik karaciğer hastasının ELF puanları karaciğer biyopsisi sonuçları ile karşılaştırılmış ve AUROC 0,80 olarak verilmiştir (70). 2011 yılında yayınlanan bir çalışmada 161 kronik hepatit C hastasının ELF puanları karaciğer biyopsisi sonuçları (gruplar arası ayırım METAVIR evre \geq F2) ile karşılaştırılmış ve AUROC 0,81 olarak verilmiştir. Sirozun ayırt edilmesi yönünden kıyaslandıklarında ise (gruplar arası ayırım METAVIR evre \geq F4) AUROC 0,82 olarak bulunmuştur (114).

2012'de yayınlanan 175 kronik karaciğer hastasıyla yapılmış bir çalışmada, ELF testinin tanısal değerliliği karaciğer biyopsisi ile karşılaştırılmıştır. Anlamlı fibrozisin ayırt edilmesi için eşik değeri METAVIR evre F2 seçilerek ELF puanları incelendiğinde AUROC 0,764 olarak bulunmuştur (115). 2013 yılında 238 kronik hepatit B hastası ile yapılan bir çalışmada fibrozisin ayırt edilmesinde METAVIR F3 evresi eşik değeri olarak belirlendiğinde AUROC 0,69 ve ELF testi için eşik değeri 8,4 olarak bulunmuştur (116).

ELF testi için AUROC değeri bizim sonucumuzdan daha yüksek olan çalışmalar da mevcuttur. 2009 yılında 112 nonalkolik yağlı karaciğer hastası ile yapılan bir çalışmada anlamlı fibrozisin ayırt edilmesi için eşik değeri METAVIR evre F2 seçilerek ELF puanları incelendiğinde AUROC 0,98 (ELF puanı eşik değeri 10,18), evre F3 seçildiğinde AUROC 0,99 (ELF puanı eşik değeri 10,51) olarak bulunmuştur (69). 2011 yılında yayınlanan 111 nonalkolik yağlı karaciğer hastasının ELF puanları karaciğer biyopsisi sonuçları ile karşılaştırılmış ve AUROC 0,924 olarak verilmiştir (117).

ELF testi bileşenleri olan HA, PIIINP, TIMP-1'in tek başına tanısal değerlerinin incelendiği araştırmalar da vardır. Bu çalışmalara göre fibrozisin ayırt edilmesinde ELF testi sonuçlarının hasta kliniği ve biyopsi sonuçlarıyla daha uyumlu olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde 2012 yılında yayınlanmış bir çalışmada hepatit B ve hepatit D enfeksiyonlu 116 hastanın biyopsi sonuçları HA, PIIINP ve TIMP-1 sonuçları ile karşılaştırılmış, eşik değeri F2 olarak seçildiğinde AUROC HA için 0,771, PIIINP için 0,658 ve TIMP-1 için 0,769 olarak bulunmuştur (118).

Çalışmamız, kronik karaciğer hastalığı grubunun küçük bir yüzdesini oluşturan otoimmün hepatitli hastalarda yapılması ve tek merkezli bir çalışma olması açısından önem taşımaktadır. ELF testinin tanısal değeri, farklı kronik karaciğer hastalıklarında gösterilmiş olmasına rağmen otoimmün hepatitli hastalarda ilk defa incelenmiştir. Bunun yanında, CE belgesi olan ve Avrupa'da bazı merkezlerde fibrozis değerlendirmesinde rutin kullanıma giren ELF testi, henüz ülkemizde herhangi bir merkezde bulunmamaktadır. Ayrıca bu çalışma, hepatik fibrozisin değerlendirilmesinde kullanılan karaciğer biyopsisinin hasta ve hekim açısından zorlukları ve komplikasyonları düşünüldüğünde girişimsel olmayan ve sadece hasta serumu ile çalışılabilen bir yöntemin rutin kullanıma girmeden önce tanısal değerini göstermesi bakımından da önem taşımaktadır.

Otoimmün hepatit gibi çok ender görülen bir hastalık için 46 hastadan oluşan bir çalışma bilimsel olarak önemli sonuçlar içermekle birlikte, hasta sayısının ve takip süresinin artırıldığı çok merkezli başka bir çalışmanın yapılması uygun olacaktır. Biyopsi sonucu F0 evresinde olan sadece 1 hastanın bulunması, ELF puanı "yok-hafif" düzeyinde olan sadece 2 hastanın olması fibrozis derecelendirmesinin karşılaştırılmasında üç düzey (yok-hafif/orta/ağır) yerine iki düzey (yok-hafif/ağır)

seçilmesine neden olmuştur. Hasta sayısının özellikle bu gruplarda artırılması fibrozisin üç grupta değerlendirilmesini sağlayacaktır. Bu çalışmada, otoimmün hepatitli hastalarda karaciğer biyopsisi ile ELF testinin karşılaştırılmasını amaçladığından sağlıklı kişilerden oluşan bir kontrol grubu oluşturulamamıştır. ELF testinin normal popülasyondaki değerleri ve referans aralığının belirlenmesi için ayrı bir çalışma planlanabilir. ELF puanının hesaplanmasında kullanılan her bir parametre üç tekrarlı olacak şekilde çalışılarak ortalamaları alınmıştır. Ancak karaciğer biyopsisinin kısa süre içinde tekrarı uygun olmadığı için bir kez yapılabilmektedir.

Karaciğer biyopsisinin altın standart olmasına rağmen uygulama ve inceleme aşamalarında hataya açık olma özelliği, çalışmanın değerlendirme konusundaki önemli bir kısıtlamasıdır. Çalışmamızda 46 hastanın sadece 7'sinin ELF puanı sonuçlarının karaciğer biyopsisi ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Bu uyumsuzluk, ELF testinin fibrozisi değerlendirmede yetersiz olmasından kaynaklanmamaktadır. ELF testi ile karşılaştırılan biyopsi grubunda biyopsi materyalinin sadece alındığı küçük bir bölgenin özelliklerini yansıtması ve karaciğerin bütünü hakkında bilgi vermemesi bu uyumsuzluğun nedenlerinden biri olabilir. ELF testi, serumda çalışılması nedeniyle karaciğer dokusundaki fibrozisin genel olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır. Bu açıdan bakıldığında biyopsi ile uyumsuz sonuç elde edilen hasta grubunun fibrozis değerlendirmesi, ELF testi ile daha doğru yorumlanmış olabilir.

ELF testi bileşenlerinin karaciğer fibrozisini gösterme konusunda bazı eksiklikleri de mevcuttur. Hyaluronik asit, karaciğere özgül değildir ve tüm vücuttaki hücre dışı matriks metabolizmasını yansıtmaktadır (119). Romatolojik hastalıklarda artabilir. Böbrek yetmezliğinde düşük molekül ağırlıklı HA'nın klirensinin bozulması nedeniyle serum HA düzeyleri yükselebilir. PIIINP, serumda 4 farklı yapıda bulunur. Kollajen sentezi sırasında propeptit olarak ayrılması dışında, kollajen yıkımı nedeniyle de serum düzeyleri artabilir. PIIINP, reseptör aracılı endositozla sinüzoidal dolaşımdan alınarak klirensi sağlanır. Bu nedenle sinüzoidal endotel hücrelerinde hasar veya fonksiyon bozukluğu olduğu durumlarda serum düzeyleri daha düşük bulunur (77). Ayrıca karaciğere özgül değildir ve bütün dokulardaki hücre dışı matriks metabolizmasını yansıtır. Serum PIIINP düzeylerinin fibrojenik etkisi olan metotreksat gibi ilaçlardan etkilendiği, hatta bu ilaçlarla tedavi

sırasında fibrozisin takibinde kullanıldığı bilinmektedir (86). TIMP-1 düzeylerinin sklerozan kolanjit, primer biliyer siroz, biliyer atrezi, otoimmün hepatitli hastalarda fibrozisin artışıyla beraber karaciğer dokusunda ve serumda arttığı gösterilmiştir (120). Ayrıca alkolik karaciğer hastalığında, hemokromatoziste, astım, kolit ve koroner kalp hastalıklarında da TIMP-1'in serumda arttığı ve karaciğere spesifik bir molekül olmadığı gösterilmiştir (121). Her üç parametre de fibrozisi evrelendirilmesi ve değerlendirmesinde tek başına yeterli olmamaktadır. Karaciğerden kaynaklanan HA, PIIINP ve TIMP-1 moleküllerinin dolaşımdaki yarı ömrü, atılım özellikleri ve serum düzeylerinin etkilendiği koşulların araştırıldığı yeterli çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca test bileşeni olan moleküllerin (HA, TIMP-1, PIIINP) serum düzeylerin arttığı karaciğer dışı nedenlerin araştırılması gereklidir.

Girişimsel olmayan fibrozis değerlendirme yöntemlerinin orta düzey fibrozisi ayırt etmekteki eksiklikleri, fibrozis dışında biyopside olduğu gibi prognostik değeri olan diğer histolojik özellikleri yansıtmamaları, henüz geniş katılımlı validasyon ve referans aralığı çalışmalarının tamamlanamaması bu yöntemlerin kısıtlı yönlerini oluşturmaktadır (63-65). Ancak ELF testinin bileşenlerinin hücre dışı matriks metabolizması ile direkt ilişkili olması diğer yöntemlerden üstün kılmaktadır. ELF puanının birden fazla parametrenin ölçümü ile elde edilmesi ve hesaplamada kullanılan algoritma nedeniyle ELF testi daha güvenilirdir.

Tüm bu özellikler göz önüne alındığında ELF testi fibrozisi ve fibrozis düzeylerini gösterebilen, metabolik koşullardan etkilenmeyen, uygulanması kolay, tekrarlanabilir ve yeniden üretilebilir sonuçlar veren, geçerli ve güvenilirdir. Bu nedenle ELF testi, fibrozisi değerlendirmede kullanılabilecek uygun bir test panelidir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, ELF testinin otoimmün hepatitli hasta grubunda fibrozisin tarama ve takibinde karaciğer biyopsisine alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda otoimmün hepatitli hastalarda hepatik fibrozisin değerlendirilmesinde invazif olmayan ve hasta serumu ile çalışılabilen parametreler kullanılarak hesaplanan ELF puanının tanısal değeri, karaciğer biyopsisi ile karşılaştırıldı.

Hastalar, METAVIR evrelerine göre F0-F1 yok-hafif fibrozis (Grup 1) ve F2-F3-F4 orta-ağır fibrozis (Grup 2) olarak iki gruba ayrıldı.

Buna göre:

1) Hastaların % 19,6'sı Grup 1, % 80,4'ü grup 2'de yer aldı.

2) ELF puanı ortalamaları Grup 1 için $8,62 \pm 1,05$, Grup 2 için $10,60 \pm 1,39$ olarak bulundu ve gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$).

3) ROC eğrisi altında kalan alan (AUROC) 0,88 olarak hesaplandı. Yok/hafif fibrozisi orta-ağır fibrozisi grubundan ayırmak için saptanan ELF testi eşik değeri 8,84, duyarlılık % 91,89, seçicilik % 77,78, pozitif prediktif değer % 94,4, negatif prediktif değer % 70, olabilirlik oranları 4,14 (LR+) ve 10 (LR-) olarak hesaplandı.

4) Çalışmaya dahil edilen hastaların % 84,8'inin ELF puanı biyopsi sonuçları ile uyumlu bulundu.

ELF testine ek olarak girişimsel olmayan başka yöntemlerin de yer aldığı (örneğin, görüntüleme yöntemleri) ileri bir çalışma önerilmektedir.

Otoimmün hepatit hasta grubunun fibrozis ve prognozunun değerlendirilmesinde ELF testinin kullanıldığı bir takip çalışması gerekmektedir.

Otoimmün hepatit gibi ender görülen bir hastalık için 46 hastadan oluşan bir çalışma bilimsel olarak önemli sonuçlar içermekle birlikte, hasta sayısının ve takip süresinin artırıldığı çok merkezli bir çalışma planlanmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- 1.Ahn, J.,Flamm, S.L. (2005) Autoimmune hepatitis. *Curr Treat Options Gastroenterol*, 8 (6), 481-492.
- 2.J., W. (1950) Blutprotein und Nahrungseisse. *Dtsche Gesellsh Verd Stoffw* (5), 113-119.
- 3.Cowling, D.C., Mackay, I.R.,Taft, L.I. (1956) Lupoid hepatitis. *Lancet*, 271 (6957), 1323-1326.
- 4.Muratori, P., Granito, A., Pappas, G., Muratori, L., Lenzi, M.,Bianchi, F.B. (2008) Autoimmune liver disease 2007. *Mol Aspects Med*, 29 (1-2), 96-102.
- 5.Martin Blachier, H.L., Markus Peck-Radosavljevic, Roudot-Thoraval, D.-C.V.a.F. (2013). The Burden of liver disease in europe. A review of available epidemiological data (Rapor No): European Association for the Study of the Liver (EASL).
- 6.Okten A, D.K., Kaymakoglu S, Cakaloglu Y, Dincer D, Besisik F. (1998) Kronik Hepatitlerin Etyolojik Dağılımı. *Turk J Gastroenterol* (2), 113-115.
- 7.A, O. (2003) Türkiye’de Kronik Hepatit, Siroz ve Hepatosellüler Karsinoma Etiyolojisi. *Güncel Gastroenteroloji* (Eylül), 187-191.
- 8.Vergani, D., Choudhuri, K., Bogdanos, D.P.,Mieli-Vergani, G. (2002) Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Clin Liver Dis*, 6 (3), 727-737.
- 9.Czaja, A.J. (2007) Autoimmune hepatitis. Part A: pathogenesis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 1 (1), 113-128.
- 10.Czaja, A.J. (2010). Autoimmune Hepatitis. F. Feldman, Brandt (Ed.). Sleizenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease (9th bs., s. 1461-1476). USA: Saunders-Elsevier
- 11.Krawitt, E.L. (1998) Can you recognize autoimmune hepatitis? *Postgrad Med*, 104 (2), 145-149, 152.
- 12.Obermayer-Straub, P., Strassburg, C.P.,Manns, M.P. (2000) Autoimmune hepatitis. *J Hepatol*, 32 (1 Suppl), 181-197.
- 13.Nietsch, H.H., Libman, B.S., Pansze, T.W., Eicher, J.N., Reeves, J.R.,Krawitt, E.L. (2000) Minocycline-induced hepatitis. *Am J Gastroenterol*, 95 (10), 2993-2995.

14. Sterling, M.J., Kane, M., Grace, N.D. (1996) Pemoline-induced autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol*, 91 (10), 2233-2234.
15. Graziadei, I.W., Obermoser, G.E., Sepp, N.T., Erhart, K.H., Vogel, W. (2003) Drug-induced lupus-like syndrome associated with severe autoimmune hepatitis. *Lupus*, 12 (5), 409-412.
16. Gough, A., Chapman, S., Wagstaff, K., Emery, P., Elias, E. (1996) Minocycline induced autoimmune hepatitis and systemic lupus erythematosus-like syndrome. *BMJ*, 312 (7024), 169-172.
17. Krawitt, E.L. (2006) Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med*, 354 (1), 54-66.
18. Feld, J.J., Heathcote, E.J. (2003) Epidemiology of autoimmune liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 18 (10), 1118-1128.
19. Strassburg, C.P., Manns, M.P. (2002) Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis*, 22 (4), 339-352.
20. Kogan, J., Safadi, R., Ashur, Y., Shouval, D., Ilan, Y. (2002) Prognosis of symptomatic versus asymptomatic autoimmune hepatitis: a study of 68 patients. *J Clin Gastroenterol*, 35 (1), 75-81.
21. Kessler, W.R., Cummings, O.W., Eckert, G., Chalasani, N., Lumeng, L., Kwo, P.Y. (2004) Fulminant hepatic failure as the initial presentation of acute autoimmune hepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2 (7), 625-631.
22. Feld, J.J., Dinh, H., Arenovich, T., Marcus, V.A., Wanless, I.R., Heathcote, E.J. (2005) Autoimmune hepatitis: effect of symptoms and cirrhosis on natural history and outcome. *Hepatology*, 42 (1), 53-62.
23. Ichai, P., Duclos-Vallee, J.C., Guettier, C., Hamida, S.B., Antonini, T., Delvart, V. ve diğeri. (2007) Usefulness of corticosteroids for the treatment of severe and fulminant forms of autoimmune hepatitis. *Liver Transpl*, 13 (7), 996-1003.
24. Czaja, A.J. (2005) Diverse manifestations and evolving treatments of autoimmune hepatitis. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 51 (4), 313-333.
25. Tang, C.P., Shiau, Y.T., Huang, Y.H., Tsay, S.H., Huo, T.I., Wu, J.C. ve diğeri. (2008) Cholestatic jaundice as the predominant presentation in a patient with autoimmune hepatitis. *J Chin Med Assoc*, 71 (1), 45-48.

26. Alvarez, F., Berg, P.A., Bianchi, F.B., Bianchi, L., Burroughs, A.K., Cancado, E.L. ve diğerleri. (1999) International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol*, 31 (5), 929-938.
27. Hennes, E.M., Zeniya, M., Czaja, A.J., Pares, A., Dalekos, G.N., Krawitt, E.L. ve diğerleri. (2008) Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 48 (1), 169-176.
28. Manns, M.P., Czaja, A.J., Gorham, J.D., Krawitt, E.L., Mieli-Vergani, G., Vergani, D. ve diğerleri. (2010) Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 51 (6), 2193-2213.
29. Werner, M., Prytz, H., Ohlsson, B., Almer, S., Bjornsson, E., Bergquist, A. ve diğerleri. (2008) Epidemiology and the initial presentation of autoimmune hepatitis in Sweden: a nationwide study. *Scand J Gastroenterol*, 43 (10), 1232-1240.
30. Rockey D.C., F.S.L. (2006). Hepatic fibrosis and cirrhosis. . W. T. L. Boyer T.D., Manns M.P. (Ed.). Zakim and Boyer's Hepatology. A textbook of liver disease. (5th bs., c. 1, s. 87-109). Canada: Saunders Elsevier
31. Tsukada, S., Parsons, C.J., Rippe, R.A. (2006) Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta*, 364 (1-2), 33-60.
32. Braticevici, P., Tribus, Badarau. (2011). Can We Replace Liver Biopsy with Non-Invasive Procedures? D. H. Takahashi (Ed.). Liver Biopsy (s. 225-240): InTech
33. Schuppan, D., Ruehl, M., Somasundaram, R., Hahn, E.G. (2001) Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis*, 21 (3), 351-372.
34. Albanis, E., Friedman, S.L. (2001) Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy. *Clin Liver Dis*, 5 (2), 315-334, v-vi.
35. Bedossa, P., Paradis, V. (2003) Liver extracellular matrix in health and disease. *J Pathol*, 200 (4), 504-515.
36. Wells, R.G. (2007). Function and Metabolism of collagen and other extracellular matrix proteins. J.-P. B. Juan Rodés, Andres Blei, Juerg Reichen, Mario Rizzetto (Ed.). The Textbook of Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice (s. 264-273): Wiley-Blackwell

37. Friedman, S.L. (2000) Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem*, 275 (4), 2247-2250.
38. Forbes, S.J., Russo, F.P., Rey, V., Burra, P., Rugge, M., Wright, N.A. ve diğeri. (2004) A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology*, 126 (4), 955-963.
39. Iredale, J.P. (2001) Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis*, 21 (3), 427-436.
40. Arthur, M.J. (2000) Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 279 (2), G245-249.
41. Friedman, S.L., Arthur, M.J. . (2002) Reversing hepatic fibrosis. *Sci Med* (8), 194-205.
42. Tsukamoto, H. (2002) Redox regulation of cytokine expression in Kupffer cells. *Antioxid Redox Signal*, 4 (5), 741-748.
43. Kuroda H., T.Y., Suzuki K. (2012) Noninvasive Markers of Liver Fibrosis. *European Gastroenterology and Hepatology Review* 7(4), 264-267.
44. Friedman, S.L. (2003) Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol*, 38 Suppl 1, S38-53.
45. van Leeuwen, D.J., Wilson, L., Crowe, D.R. (1995) Liver biopsy in the mid-1990s: questions and answers. *Semin Liver Dis*, 15 (4), 340-359.
46. Menghini, G. (1958) One-second needle biopsy of the liver. *Gastroenterology*, 35 (2), 190-199.
47. Bravo, A.A., Sheth, S.G., Chopra, S. (2001) Liver biopsy. *N Engl J Med*, 344 (7), 495-500.
48. Knodell, R.G., Ishak, K.G., Black, W.C., Chen, T.S., Craig, R., Kaplowitz, N. ve diğeri. (1981) Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*, 1 (5), 431-435.
49. Standish, R.A., Cholongitas, E., Dhillon, A., Burroughs, A.K., Dhillon, A.P. (2006) An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut*, 55 (4), 569-578.

50. Rockey, D.C., Caldwell, S.H., Goodman, Z.D., Nelson, R.C., Smith, A.D., American Association for the Study of Liver, D. (2009) Liver biopsy. *Hepatology*, 49 (3), 1017-1044.
51. Rosenberg, W.M., Parkes J. (2007) Biomarkers of liver disease: The ELF test. *Clinical Laboratory International*.
52. Rockey, D.C., Bissell, D.M. (2006) Noninvasive measures of liver fibrosis. *Hepatology*, 43 (2 Suppl 1), S113-120.
53. Bedossa, P., Dargere, D., Paradis, V. (2003) Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 38 (6), 1449-1457.
54. Colloredo, G., Guido, M., Sonzogni, A., Leandro, G. (2003) Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*, 39 (2), 239-244.
55. Fryer, E., Wang, L.M., Verrill, C., Fleming, K. (2013) How often do our liver core biopsies reach current definitions of adequacy? *J Clin Pathol*.
56. Regev, A., Berho, M., Jeffers, L.J., Milikowski, C., Molina, E.G., Prysopoulos, N.T. ve diğerleri. (2002) Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*, 97 (10), 2614-2618.
57. Rousselet, M.C., Michalak, S., Dupre, F., Croue, A., Bedossa, P., Saint-Andre, J.P. ve diğerleri. (2005) Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology*, 41 (2), 257-264.
58. Castera, L. (2012) Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis B or C. *Gastroenterology*, 142 (6), 1293-1302 e1294.
59. Castera, L. (2011) Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and disease progression in chronic liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 25 (2), 291-303.
60. Afdhal, N.H., Nunes, D. (2004) Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol*, 99 (6), 1160-1174.
61. Liu, T., Wang, X., Karsdal, M.A., Leeming, D.J., Genovese, F. (2012) Molecular serum markers of liver fibrosis. *Biomark Insights*, 7, 105-117.
62. Kelleher, T.B., Afdhal, N. (2006) Assessment of liver fibrosis in co-infected patients. *J Hepatol*, 44 (1 Suppl), S126-131.

63. Pinzani, M. (2006) Non-invasive evaluation of hepatic fibrosis: don't count your chickens before they're hatched. *Gut*, 55 (3), 310-312.
64. Burroughs, A.K., Cholongitas, E. (2007) Non-invasive tests for liver fibrosis: encouraging or discouraging results? *J Hepatol*, 46 (5), 751-755.
65. Dufour, D.R. (2005) Assessment of liver fibrosis: Can serum become the sample of choice? *Clin Chem*, 51 (10), 1763-1764.
66. Sebastiani, G., Gkouvatsos, K., Plebani, M. (2011) Non-invasive assessment of liver fibrosis: it is time for laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med*, 49 (1), 13-32.
67. Rosenberg, W.M.C., Voelker, M., Thiel, R., Becka, M., Burt, A., Schuppan, D. ve diğ erleri. (2004) Serum markers detect the presence of liver fibrosis: A cohort study. *Gastroenterology*, 127 (6), 1704-1713.
68. Mayo, M.J., Parkes, J., Adams-Huet, B., Combes, B., Mills, A.S., Markin, R.S. ve diğ erleri. (2008) Prediction of clinical outcomes in primary biliary cirrhosis by serum enhanced liver fibrosis assay. *Hepatology*, 48 (5), 1549-1557.
69. Nobili, V., Parkes, J., Bottazzo, G., Marcellini, M., Cross, R., Newman, D. ve diğ erleri. (2009) Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 136 (1), 160-167.
70. Parkes, J., Roderick, P., Harris, S., Day, C., Mutimer, D., Collier, J. ve diğ erleri. (2010) Enhanced liver fibrosis test can predict clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *Gut*, 59 (9), 1245-1251.
71. Parkes, J., Guha, I.N., Roderick, P., Harris, S., Cross, R., Manos, M.M. ve diğ erleri. (2011) Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test accurately identifies liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*, 18 (1), 23-31.
72. Kim, B.K., Kim, H.S., Park, J.Y., Kim do, Y., Ahn, S.H., Chon, C.Y. ve diğ erleri. (2012) Prospective Validation of ELF Test in Comparison with Fibroscan and FibroTest to Predict Liver Fibrosis in Asian Subjects with Chronic Hepatitis B. *PLoS One*, 7 (7), e41964.

73. Catanzaro, R., Milazzo, M., Arona, S., Sapienza, C., Vasta, D., Arcoria, D. ve diğeri. (2013) Diagnostic accuracy of enhanced liver fibrosis test to assess liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 12 (5), 500-507.
74. Gumusay, O., Ozenirler, S., Atak, A., Sonmez, C., Ozkan, S., Tuncel, A.F. ve diğeri. (2013) Diagnostic potential of serum direct markers and non-invasive fibrosis models in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res*, 43 (3), 228-237.
75. McCourt, P.A. (1999) How does the hyaluronan scrap-yard operate? *Matrix Biol*, 18 (5), 427-432.
76. McCourt, P.A., Smedsrod, B.H., Melkko, J., Johansson, S. (1999) Characterization of a hyaluronan receptor on rat sinusoidal liver endothelial cells and its functional relationship to scavenger receptors. *Hepatology*, 30 (5), 1276-1286.
77. Dancygier, H. (2010). *Clinical Hepatology Principles and Practice of Hepatobiliary Diseases (c. 1)*: Springer.
78. Murata, K., Ochiai, Y., Akashio, K. (1985) Polydispersity of acidic glycosaminoglycan components in human liver and the changes at different stages in liver cirrhosis. *Gastroenterology*, 89 (6), 1248-1257.
79. Scott, J.E., Bosworth, T.R., Cribb, A.M., Gressner, A.M. (1994) The chemical morphology of extracellular matrix in experimental rat liver fibrosis resembles that of normal developing connective tissue. *Virchows Arch*, 424 (1), 89-98.
80. Kikuchi, S., Griffin, C.T., Wang, S.S., Bissell, D.M. (2005) Role of CD44 in epithelial wound repair: migration of rat hepatic stellate cells utilizes hyaluronic acid and CD44v6. *J Biol Chem*, 280 (15), 15398-15404.
81. Bentsen, K.D., Henriksen, J.H., Bendtsen, F., Horslev-Petersen, K., Lorenzen, I. (1990) Splanchnic and renal extraction of circulating type III procollagen aminoterminal propeptide in patients with normal liver function and in patients with alcoholic cirrhosis. *Hepatology*, 11 (6), 957-963.

82. Risteli, J., Niemi, S., Trivedi, P., Maentausta, O., Mowat, A.P., Risteli, L. (1988) Rapid equilibrium radioimmunoassay for the amino-terminal propeptide of human type III procollagen. *Clin Chem*, 34 (4), 715-718.
83. Jensen, L.T., Henriksen, J.H., Risteli, J., Olesen, H.P., Nielsen, M.D., Lorenzen, I. (1993) Fate of circulating amino-terminal propeptide of type III procollagen in conscious pigs. *Am J Physiol*, 265 (1 Pt 2), R139-145.
84. Knudsen, C.S., Heickendorff, L., Nexø, E. (2013) Measurement of amino terminal propeptide of type III procollagen (PIIINP) employing the ADVIA Centaur platform. Validation, reference interval and comparison to UniQ RIA. *Clin Chem Lab Med*, 1-5.
85. Tanwar, S., Trembling, P.M., Guha, I.N., Parkes, J., Kaye, P., Burt, A.D. ve diğerleri. (2013) Validation of terminal peptide of procollagen III for the detection and assessment of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 57 (1), 103-111.
86. Ian G. McFarlane, A.B. (2008). The assessment of hepatic function and investigation of jaundice. S. K. B. William J. Marshall (Ed.). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects (Second bs., s. 267)*: Elsevier
87. Risteli, L., Risteli J. . (1990). Non-invasive methods for detection of organ fibrosis (c. 1): CRC Press.
88. Thorgeirsson, U.P., Lindsay, C.K., Cottam, D.W., Gomez, D.E. (1994) Tumor invasion, proteolysis, and angiogenesis. *J Neurooncol*, 18 (2), 89-103.
89. Tanaka, H., Miyazaki, N., Oashi, K., Tanaka, S., Ohmichi, M., Abe, S. (2000) Sputum matrix metalloproteinase-9: tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in acute asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 105 (5), 900-905.
90. Murphy, G. (1991) The regulation of connective tissue metalloproteinases by natural inhibitors. *Agents Actions Suppl*, 35, 69-76.
91. Brew, K., Dinakarandian, D., Nagase, H. (2000) Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta*, 1477 (1-2), 267-283.
92. Aksun SA, Ö.D., Bayındır O. (2001) Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin Tıp Bilimleri* (21), 332-342.

- 93.Siemens. (2011). HA (10631064_TR Rev. A, 2011-06 bs.). Türkiye: Siemens.
- 94.Siemens. (2011). PIIINP (10631067_TR Rev. A, 2011-06 bs.). Türkiye: Siemens.
- 95.Siemens. (2011). TIMP-1 (10631070_Rev. A, 2011-06 bs.). Türkiye: Siemens.
- 96.Siemens. (2011). ELF testi (10631073_TR Rev. A, 2011-06 bs.). Türkiye: Siemens.
97. CLSI. (2006). EP15-A2: User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-Second Edition. Wayne, PA, USA.
- 98.CLSI. (2003). EP06-A: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. Wayne, PA, USA.
- 99.Group, T.F.M.C.S. (1994) Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*, 20 (1 Pt 1), 15-20.
- 100.Altman, D.G.,Bland, J.M. (1994) Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity. *BMJ*, 308 (6943), 1552.
- 101.Altman, D.G.,Bland, J.M. (1994) Diagnostic tests 2: Predictive values. *BMJ*, 309 (6947), 102.
- 102.Deeks, J.J.,Altman, D.G. (2004) Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *BMJ*, 329 (7458), 168-169.
- 103.Robertson, E.A.,Zweig, M.H. (1981) Use of receiver operating characteristic curves to evaluate the clinical performance of analytical systems. *Clin Chem*, 27 (9), 1569-1574.
- 104.Altman, D.G.,Bland, J.M. (1994) Diagnostic tests 3: receiver operating characteristic plots. *BMJ*, 309 (6948), 188.
- 105.Murat Hayran, M.H. (2011). ROC Analizi. M. H. Murat Hayran (Ed.). Sağlık Araştırmaları için Temel İstatistik (s. 403-416). Ankara: Omega Araştırma Yayınları
- 106.De Bruijn, B. (2011) Revisiting the area under the ROC. *Stud Health Technol Inform*, 169, 532-536.
- 107.SB, H. (2001). Studies of the accuracy of tests. Designing Clinical Research An Epidemiological Approach. . USA: Lippincott Williams&Wilkins.

108. Alpar, R. (2010). Basit Doğrusal Regresyon Çözümlemesi. R. Alpar (Ed.). Spor, Sağlık ve Eğitim Bilimlerinden Örneklerle Uygulamalı İstatistik ve Geçerlik Güvenirlik (s. 338-342). Ankara: Detay Yayıncılık
109. S, K. (2013) Klinik karar vermede ROC analizi. . *Journal of Mood Disorders*, 3 (3), 135-140.
110. Guechot, J., Trocme, C., Renversez, J.C., Sturm, N., Zarski, J.P., Group, A.H.E.F.S. (2012) Independent validation of the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score in the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort of patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med*, 50 (4), 693-699.
111. Wahl, K., Rosenberg, W., Vaske, B., Manns, M.P., Schulze-Osthoff, K., Bahr, M.J. ve diğerleri. (2012) Biopsy-controlled liver fibrosis staging using the enhanced liver fibrosis (ELF) score compared to transient elastography. *PLoS One*, 7 (12), e51906.
112. Guha, I.N., Parkes, J., Roderick, P., Chattopadhyay, D., Cross, R., Harris, S. ve diğerleri. (2008) Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*, 47 (2), 455-460.
113. Friedrich-Rust, M., Rosenberg, W., Parkes, J., Herrmann, E., Zeuzem, S., Sarrazin, C. (2010) Comparison of ELF, FibroTest and FibroScan for the non-invasive assessment of liver fibrosis. *BMC Gastroenterol*, 10, 103.
114. Martinez, S.M., Fernandez-Varo, G., Gonzalez, P., Sampson, E., Bruguera, M., Navasa, M. ve diğerleri. (2011) Assessment of liver fibrosis before and after antiviral therapy by different serum marker panels in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*, 33 (1), 138-148.
115. Crespo, G., Fernandez-Varo, G., Marino, Z., Casals, G., Miquel, R., Martinez, S.M. ve diğerleri. (2012) ARFI, FibroScan, ELF, and their combinations in the assessment of liver fibrosis: a prospective study. *J Hepatol*, 57 (2), 281-287.
116. Wong, G.L., Chan, H.L., Choi, P.C., Chan, A.W., Yu, Z., Lai, J.W. ve diğerleri. (2013) Non-invasive algorithm of enhanced liver fibrosis and liver stiffness measurement with transient elastography for advanced liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*.

117. Alkhouri, N., Carter-Kent, C., Lopez, R., Rosenberg, W.M., Pinzani, M., Bedogni, G. ve diğeri. (2011) A combination of the pediatric NAFLD fibrosis index and enhanced liver fibrosis test identifies children with fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 9 (2), 150-155.
118. Seven, G., Karatayli, S.C., Kose, S.K., Yakut, M., Kabacam, G., Toruner, M. ve diğeri. (2011) Serum connective tissue markers as predictors of advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis B and D. *Turk J Gastroenterol*, 22 (3), 305-314.
119. Mamun-Al Mahtab, S.R. (2012). Liver Function Tests. Liver: A Complete Book on Hepato-Pancreato-Biliary Diseases (s. 52-53). India: Elsevier
120. Murawaki, Y., Ikuta, Y., Kawasaki, H. (1999) Clinical usefulness of serum tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-2 assay in patients with chronic liver disease in comparison with serum TIMP-1. *Clin Chim Acta*, 281 (1-2), 109-120.
121. Pereira, T.N., Lewindon, P.J., Smith, J.L., Murphy, T.L., Lincoln, D.J., Shepherd, R.W. ve diğeri. (2004) Serum markers of hepatic fibrogenesis in cystic fibrosis liver disease. *J Hepatol*, 41 (4), 576-583.