

UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU

WYDZIAŁ LEKARSKI Z ODDZIAŁEM STOMATOLOGII
I ODDZIAŁEM NAUCZANIA W JĘZYKU ANGIELSKIM



Paulina Łucja Werel-Ołdziejewska

**Porównanie nieinwazyjnych i inwazyjnych metod
diagnostycznych włóknienia wątroby u chorych
ze stłuszczeniową chorobą wątroby związaną z zaburzeniami
metabolicznymi.**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. Irina Kowalska

Promotor pomocniczy: Dr n. med. Andrzej Gietka

**Klinika Chorób Wewnętrznych i Chorób Metabolicznych
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

**Oddział Chorób Wewnętrznych i Hepatologii
Państwowego Instytutu Medycznego Ministerstwa Spraw Wewnętrznych
i Administracji w Warszawie**

BIAŁYSTOK 2024

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania mojej Promotor, Pani Profesor Irinie Kowalskiej za nieocenione wsparcie, motywację oraz inspirację, które towarzyszyły mi na każdym etapie mojej pracy doktorskiej. Dziękuję za zaangażowanie, cierpliwość, życzliwość i wyrozumiałość.

Szczególne podziękowania kieruję do mojego Promotora Pomocniczego, Pana Doktora Andrzeja Gietki za cenne uwagi, przekazaną wiedzę oraz motywację w pracy naukowej i zawodowej.

Dziękuję również mojemu Mężowi i Rodzicom za wsparcie w trudnych momentach, miłość i wiarę we mnie.

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

2D-SWE- dwuwymiarowa elastografia fal ścinających

α 2m- α 2-makroglobulina

AASLD- Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Chorobami Wątroby, ang. The American Association for the Study of Liver Diseases

AHA/NHLBI- Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne/ Narodowy Instytut Serca, Płuc i Krwi, ang. American Heart Assosociation/ National Heart, Lung and Blood Institute

ALP- fosfataza alkaliczna

ALT- aminotransferaza alaninowa

APASL- Towarzystwo Badań nad Wątrobą Azji i Pacyfiku, ang. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver

ApoA1- apolipoproteina A1

ApoB- apolipoproteina B

APRI- stosunek aminotransferazy asparginianowej do liczby płytek krwi

AST- aminotransferaza asparginianowa

BMI- indeks masy ciała, ang. body mass index

cT1- T1 skorygowany o żelazo, ang. corrected T1

DASH- ang. Dietary Approach to Stop Hypertension

DM- cukrzyca, ang. diabetes mellitus

EASD- Europejskie Towarzystwo Badań nad Cukrzycą, ang. European Association for the Study of Diabetes

EASL- Europejskie Towarzystwo Badań nad Wątrobą, ang. European Association for the Study of the Liver

EASO- Europejskie Towarzystwo Badań nad Otyłością, ang. European Association for the Study of Obesity

EGIR- Europejska Grupa Badań nad Insulinoopornością, ang. European Group for the Study of Insulin Resistance

ELF- Enhanced Liver Fibrosis

ER- retikulum endoplazmatyczne

FDA- Agencja Żywności i Leków, ang. Food and Drug Administration

FIB-4 index- Fibrosis-4 index

GGTP- gamma-glutamyl transpeptydaza

HA- kwas hialuronowy

HbA1c- hemoglobina glikowana A1c

HCC- rak wątrobowokomórkowy, ang. hepatocellular carcinoma

HDL-C- cholesterol lipoproteiny wysokiej gęstości, ang. high-density lipoprotein cholesterol

IDF- Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna, ang. International Diabetes Federation

IL-6- interleukina 6

LDL-C- cholesterol lipoproteiny niskiej gęstości, ang. low-density lipoprotein cholesterol

MCP-1- białko chemoatyczne monocytów 1

MASL- stłuszczenie proste związane z zaburzeniami metabolicznymi, ang. metabolic dysfunction-associated steatotic liver

MASLD- stłuszczeniowa choroba wątroby związana z zaburzeniami metabolicznymi, ang. metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease

MASH- stłuszczeniowe zapalenie wątroby związane z zaburzeniami metabolicznymi, ang. metabolic dysfunction-associated steatohepatitis

MetS- zespół metaboliczny

MRI-PDFF- rezonans magnetyczny metodą gęstości protonów frakcji tłuszczowej

MRS- spektroskopia rezonansu magnetycznego

NAFLD- niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby, ang. non-alcoholic fatty liver disease

NASH- niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby, ang. non-alcoholic steatohepatitis

NCEP-ATP III- Amerykański Program Edukacji Cholesterolowej- Panel Leczenia Dorosłych III, ang. National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III;

PIIINP- aminokońcowy peptyd prokolagenu III

p-SWE- punktowa elastografia fali ścinającej

RFT- reaktywne formy tlenu

TG- trójglicerydy

TIMP1- tkankowy inhibitor metaloproteinaz 1

TNF α - czynnik martwicy nowotworów α , ang. tumor necrosis factor α

VCTE- Elastografia dynamiczna kontrolowana drganiami
VLDL- lipoproteina o bardzo niskiej gęstości, ang. very low density lipoprotein
WBC- leukocyty, ang. white blood cells
WC- obwód talii, ang. waist circumference
WHR- stosunek obwodu talii i bioder, ang. waist-to-hip ratio
WHO- Światowa Organizacja Zdrowia, ang. World Health Organisation

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	8
1.1 OTYŁOŚĆ I ZESPÓŁ METABOLICZNY - DEFINICJE I EPIDEMIOLOGIA.....	8
1.2 STŁUSZCZENIOWA CHOROBA WĄTROBY ZWIĄZANA Z ZABURZENIAMI METABOLICZNYMI (MASLD)	11
1.2.1 DEFINICJA, KRYTERIA ROZPOZNANIA, EPIDEMIOLOGIA	11
1.2.2 PATOGENEZA	14
1.2.3 DIAGNOSTYKA	15
1.2.4 LECZENIE	23
<i>1.2.4.1 Dieta.....</i>	<i>23</i>
<i>1.2.4.2 Wysiłek fizyczny</i>	<i>24</i>
<i>1.2.4.3 Leczenie farmakologiczne.....</i>	<i>24</i>
2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY	28
3. MATERIAŁ I METODYKA	29
3.1 GRUPA BADANA.....	29
3.2 METODY.....	30
3.3. ANALIZY STATYSTYCZNE	32
4. WYNIKI	33
4.1. CHARAKTERYSTYKA BADANEJ GRUPY	33
4.2 CHARAKTERYSTYKA PACJENTÓW Z MASLD W ZALEŻNOŚCI OD STOPNIA WŁÓKNIENIA WĄTROBY	34
4.3 ANALIZA WYNIKÓW BIOPSI GRUBOIGŁOWEJ WĄTROBY W ODNIESIENIU DO POMIARÓW ANTROPOMETRYCZNYCH, BADAŃ LABORATORYJNYCH I OBRAZOWYCH	40
4.3.1. PROCENT STŁUSZCZENIA	40
4.3.2. STOPIEŃ STŁUSZCZENIA, ZAPALENIA, ZWYRODNIENIA BALONOWATEGO I WŁÓKNIENIA	43

4.4 OCENA PRZYDATNOŚCI NIEINWAZYJNYCH METOD DIAGNOSTYCZNYCH W WYKRYWANIU ISTOTNEGO WŁÓKNIENIA WĄTROBY- PORÓWNANIE POSZCZEGÓLNYCH METOD.	46
5. DYSKUSJA.....	52
6. WNIOSKI I PODSUMOWANIE.....	61
7. PIŚMIENNICTWO.....	62
8. SPIS TABEL.....	74
9. SPIS RYCIN	75
10. STRESZCZENIE	76
11. ABSTRACT	79

1. WSTĘP

1.1 OTYŁOŚĆ I ZESPÓŁ METABOLICZNY - DEFINICJE I EPIDEMIOLOGIA

Otyłość, czyli nadmierna akumulacja tkanki tłuszczowej, którą odzwierciedla podwyższony indeks masy ciała (body mass index, BMI) powyżej 30 kg/m², jest jedną z najgroźniejszych chorób cywilizacyjnych XXI wieku. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) do 2016 r. 650 milionów osób chorowało na otyłość (13% populacji), a według Międzynarodowej Federacji Otyłości do 2020 r. otyłość dotyczyła już 770 milionów ludzi. Szacuje się, że do roku 2030 liczba ta przekroczy 1 miliard osób.^{1,2} W latach 1975-2014 częstość występowania otyłości wzrosła z 3,2 do 10,8% w populacji mężczyzn i z 6,4 do 14,9% w populacji kobiet.³ Również w populacji dzieci (między 5. a 19. rokiem życia) procent osób otyłych drastycznie wzrósł - w 1975r. stanowił mniej niż 1%, podczas gdy w roku 2016 otyłość obejmowała 124 mln dzieci (6% dziewczynek, 8% chłopców).⁴ Obecnie na świecie z powodu otyłości i jej następstw umiera więcej osób, niż z powodu niedożywienia. Otyłość istotnie zwiększa ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, metabolicznych, mięśniowo-szkieletowych, niektórych nowotworów (m.in. raka endometrium, sutka, jajnika, gruczołu krokowego, wątroby, pęcherzyka żółciowego, nerki czy jelita grubego), a także zespołu otępiennego i depresji.

Szczególnie szkodliwym dla zdrowia typem otyłości jest otyłość brzuszna, która polega na nadmiernej akumulacji tkanki tłuszczowej w sieci większej (tzw. otyłość trzewna). Ściśle związany z tym typem otyłości jest zespół metaboliczny. Pierwszy raz został opisany w 1988 roku przez Reavena jako zespół X. Uważa się, że ważnym elementem patogenetycznym zespołu metabolicznego jest insulinooporność, która prowadzi do rozwoju cukrzycy i jest istotnym czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo- naczyniowego. W 1998r. WHO określiła kryteria zespołu metabolicznego, a definicja ta ewoluowała na przestrzeni lat (Tabela 1)⁵⁻¹⁰.

Obecnie, aby rozpoznać zespół metaboliczny, powinny być spełnione co najmniej 3 z 5 następujących kryteriów:

- 1) otyłość brzuszna wyrażona poprzez zwiększony obwód talii (w populacji europejskiej rasy białej ≥ 80 cm u kobiet i ≥ 94 cm u mężczyzn),
- 2) stężenie trójglicerydów na czczo $\geq 1,7$ mmol/l (150 mg/dl) lub leczenie hipertrójglicerydemii,
- 3) stężenie HDL-C na czczo $< 1,0$ mmol/l (40 mg/dl) u mężczyzn i $< 1,3$ mmol/l (50 mg/dl) u kobiet lub leczenie tego zaburzenia lipidowego,
- 4) ciśnienie tętnicze skurczowe ≥ 130 mm Hg lub rozkurczowe ≥ 85 mm Hg lub leczenie rozpoznanego wcześniej nadciśnienia tętniczego,
- 5) stężenie glukozy w osoczu na czczo $\geq 5,6$ mmol/l (100 mg/dl) lub leczenie farmakologiczne cukrzycy typu 2.

Tabela 1. Definicje i kryteria diagnostyczne zespołu metabolicznego

	WHO (1998r.)	EGIR (1999r.)	NCEP-ATP III (2001r.)	AHA/NHLBI (2005r.)	IDF (2005r.)	Konsensus IDF, NHLBI, AHA, WHF, IAS i IASO (2009r.)
Kryterium konieczne	Kryterium insulinooporności/ cukrzycy + 2 lub więcej z poniższych	Hiperinsulinemia (75. percentyl dla osób niechorujących na cukrzycę) + 2 lub więcej z poniższych	3 lub więcej z poniższych	3 lub więcej z poniższych	Kryterium otyłości trzewnej + 2 lub więcej z poniższych	3 lub więcej z poniższych
Otyłość	WHR > 0,9 dla mężczyzn, 0,85 dla kobiet lub BMI >30 kg/m ²	WC ≥94 cm dla mężczyzn, ≥80cm dla kobiet	WC ≥102 cm dla mężczyzn, ≥88cm dla kobiet	WC ≥102 cm dla mężczyzn, ≥88cm dla kobiet	WC ≥94 cm dla mężczyzn, ≥80cm dla kobiet	WC ≥94 cm dla mężczyzn, ≥80cm dla kobiet
Insulinooporność / cukrzyca	Cukrzyca lub nieprawidłowa glikemia na czczo (>110mg/dl) lub nieprawidłowa tolerancja glukozy (>140mg/dl 2h po obciążeniu 75g glukozy)	Glikemia na czczo ≥110mg/dl	Glikemia na czczo ≥110mg/dl	Glikemia na czczo ≥100mg/dl	Glikemia na czczo ≥100mg/dl	Glikemia na czczo ≥100mg/dl lub leczenie
Trójglicerydy	≥150mg/dl i/lub <40 mg/dl dla mężczyzn i <50mg/dl dla kobiet	≥150mg/dl i/lub <39 mg/dl dla mężczyzn i dla kobiet	≥150mg/dl lub leczenie	≥150mg/dl lub leczenie	≥150mg/dl lub leczenie	≥150mg/dl lub leczenie
HDL-C			<40 mg/dl dla mężczyzn i <50 mg/dl dla kobiet lub leczenie	<40 mg/dl dla mężczyzn i <50mg/dl dla kobiet lub leczenie	<40 mg/dl dla mężczyzn i <50mg/dl dla kobiet lub leczenie	<40 mg/dl dla mężczyzn i <50 mg/dl dla kobiet lub leczenie
Ciśnienie tętnicze	≥140/90mmHg	≥140/90mmHg lub leczenie	≥130/85mmHg lub leczenie	≥130/85mmHg lub leczenie	≥130/85mmHg lub leczenie	≥130/85mmHg lub leczenie
Inne	Mikroalbuminuria	Brak	Brak	Brak	Brak	Brak

AHA/NHLBI, Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne/ Narodowy Instytut Serca, Płuc i Krwi (American Heart Assosociation/ National Heart, Lung and Blood Institute); EGIR, Europejska Grupa Badań nad Insulinoopornością (European Group for the Study of Insulin Resistance); IDF, Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna (International Diabetes Federation); NCEP-ATP III, Amerykański Program Edukacji Cholesterolowej- Panel Leczenia Dorosłych III (National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III); WC, obwód talii (waist circumference); WHO, Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organisation); WHR, stosunek obwodu talii i bioder (waist-to-hip ratio)

Nie ma jednoznacznych danych epidemiologicznych dotyczących zespołu metabolicznego. Jego częstość występowania na świecie szacuje się od 12,5 do 31,4% w zależności od przyjętych kryteriów. Badania przeprowadzone wśród młodych osób w ośrodku białostockim (n=223; średni wiek – 25,8 lat) wykazały, że kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego według NCEP ATP III spełniało 22% badanych. Wraz ze wzrostem liczby spełnianych kryteriów zespołu metabolicznego obserwowano obniżenie wrażliwości na insulinę ocenianej za pomocą euglikemicznej hiperinsulinemicznej klamry metabolicznej oraz spadek stężenia adiponektyny. Odwrotną zależność wykazano dla cytokin prozapalnych.¹¹

Według danych z piśmiennictwa występowanie poszczególnych kryteriów zespołu metabolicznego wynosiło: otyłość brzuszna - 45,1%, nadciśnienie tętnicze - 42,6%, nieprawidłowe stężenie HDL – 40,2%, hipertrójglicydemia - 28,9%, nieprawidłowa glikemia na czczo - 24,5%.¹² W roku 2021 według danych Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej na cukrzycę chorowało ok. 537 miliona ludzi.¹³ Przy założeniu, że zespół metaboliczny dotyka około trzykrotnie większą populację, szacuje się, że obejmuje ok. 1,5 miliarda osób. Mimo, że zespół metaboliczny nie stanowi odrębnej jednostki chorobowej, w codziennej praktyce klinicznej umożliwia szybką identyfikację i wdrożenie odpowiedniego leczenia u osób z predyspozycją do rozwoju cukrzycy, miażdżycy i chorób układu sercowo- naczyniowego.

1.2 STŁUSZCZENIOWA CHOROBA WĄTROBY ZWIĄZANA Z ZABURZENIAMI METABOLICZNYMI (MASLD)

1.2.1 DEFINICJA, KRYTERIA ROZPOZNANIA, EPIDEMIOLOGIA

W wielu opracowaniach jako składową zespołu metabolicznego wyróżnia się niealkoholową stłuszczeniową chorobę wątroby (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD), według nowego nazewnictwa określaną jako stłuszczeniowa choroba wątroby związana z zaburzeniami metabolicznymi (metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD). Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Chorobami Wątroby (ang. The American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD) definiuje ją jako procent stłuszczenia hepatocytów $\geq 5\%$ (w badaniach obrazowych lub biopsji

wątroby), przy wykluczeniu innych potencjalnych przyczyn stłuszczenia (takich jak: leki, mutacje monogenowe, niedożywienie, celiakia, żywienie pozajelitowe) (Tabela 2) oraz przy wykluczeniu nadmiernego spożywania alkoholu (<20g /dzień dla kobiet i <30g/dzień dla mężczyzn).¹⁴ Z kolei według wytycznych z 2024 roku Europejskich Towarzystw Badań nad Chorobami Wątroby (EASL), Badań nad Cukrzycą (EASD) oraz Badań nad Otyłością (EASO) MASLD definiuje się jako stwierdzenie stłuszczenia wątroby i wykluczeniu nadmiernego spożycia alkoholu, przy obecności co najmniej jednego kryterium zaburzeń ze strony układu sercowo-naczyniowego lub zaburzeń metabolicznych:

- BMI ≥ 25 kg/m² lub obwód talii ≥ 94 cm dla mężczyzn i ≥ 80 cm dla kobiet dla populacji europejskiej,
 - nieprawidłowe stężenie glukozy na czczo (≥ 100 mg/dl) lub nieprawidłowa tolerancja glukozy (wartość stężenia glukozy w 2 h po doustnym obciążeniu glukozą ≥ 140 mg/dl) lub HbA1c $\geq 5,7\%$ lub rozpoznana cukrzyca typu 2,
 - ciśnienie tętnicze $\geq 135/85$ mmHg lub leczenie hipotensyjne,
 - stężenie trójglicerydów ≥ 150 mg/dl lub leczenie hipertrójglicydemii,
 - stężenie HDL-C < 40 mg/dl dla mężczyzn i ≤ 50 mg/dl dla kobiet lub leczenie hipolipemizujące
- i braku innych potencjalnych przyczyn stłuszczenia.¹⁵

Tabela 2. Inne przyczyny stłuszczenia wątroby

MUTACJE	Hipobetalipoproteinemia
MONOGENOWE	Niedobór kwaśniej lipazy lizosomalnej
	Choroba Wilsona
LEKI	Amiodaron
	5-fluorouracyl
	Irinotekan
	Tamoksifen
	Metotreksat
	Glikokortykosteroidy
INNE	Celiakia
	Anoreksja
	Żywienie pozajelitowe

Lipodystrofia

Zaburzenia endokrynologiczne (niedoczynność tarczycy, zespół policystycznych jajników, niedobór hormonu wzrostu, niedoczynność przysadki)

Związane z ciążą (zespół HELLP, ostre stłuszczenie wątroby ciężarnych)

Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby C genotyp 3

MASLD dzielimy na stłuszczenie proste (metabolic dysfunction-associated steatotic liver, MASL), stłuszczeniowe zapalenie wątroby (non-alcoholic steatohepatitis, NASH), w nowej nomenklaturze stłuszczeniowe zapalenie wątroby związane z zaburzeniami metabolicznymi (metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH) oraz marskość wątroby na podłożu choroby stłuszczeniowej. Stłuszczeniowe zapalenie wątroby może być rozpoznane wyłącznie na podstawie badania histopatologicznego i obejmuje ocenę: stłuszczenia hepatocytów, zapalenia oraz zwyrodnienia balonowatego. (Rycina 1)^{14,15}

Rycina 1. Klasyfikacja i powikłania MASLD



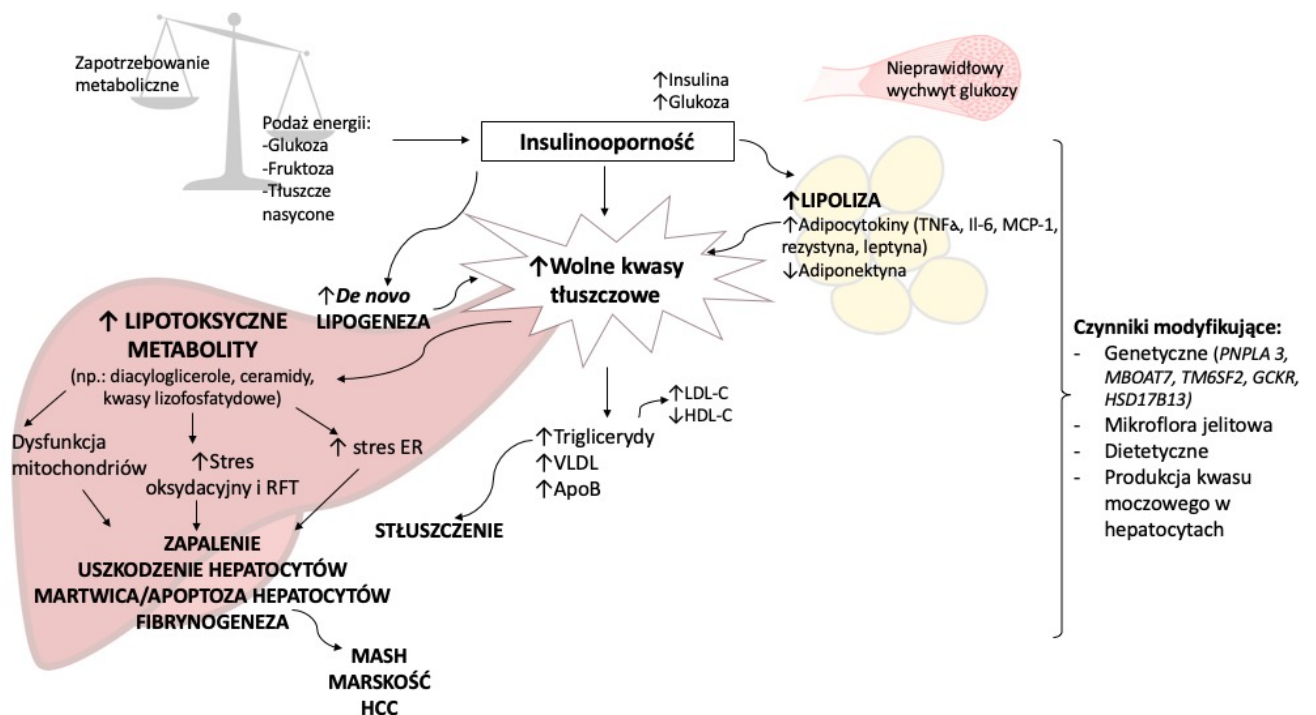
MASLD jest obecnie jedną z najczęstszych przyczyn podwyższonej aktywności enzymów wątrobowych na świecie, a jej częstość występowania wynosi ok 25-30%, z największym odsetkiem w północnej i środkowej Ameryce, a najmniejszej w Afryce.^{14,16} Liczba ta stale rośnie, proporcjonalnie do wzrostu występowania otyłości i zespołu metabolicznego. W populacji chorych z cukrzycą typu 2 MASLD stanowi 65,04%, MASH 31,55%, a istotne włóknienie zidentyfikowano u 35,54%¹⁷.

1.2.2 PATOGENEZA

W etiopatogenezie MASLD, tak jak w zespole metabolicznym, kluczową rolę pełni insulinooporność. Jednym z ważnych elementów prowadzących do rozwoju insulinooporności jest przewlekłe zapalenie o niskiej aktywności w tkance tłuszczowej. Dochodzi do wzrostu syntezy adipocytokin prozapalnych wydzielanych głównie przez makrofagi tkanki tłuszczowej (takich jak: czynnik martwicy nowotworów - tumor necrosis factor α - TNF α , interleukina 6 - Il-6, białko chemoattractant protein 1 MCP-1, rezystyna), spadku produkcji adiponektyny oraz nasilonej lipolizy. Powoduje to wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych we krwi, które, oprócz nasilenia zjawiska lipotoksyczności, indukują lipogenezę wątrobową *de novo*, co dodatkowo zwiększa pulę wolnych kwasów tłuszczowych. Wysokie stężenie wolnych kwasów tłuszczowych prowadzi do produkcji lipotoksycznych metabolitów w wątrobie (m.in.: diacylogliceroli, ceramidów, kwasów lizofosfatydowych), które powodują dysfunkcję mitochondriów, wzmożony stres oksydacyjny i wzrost wolnych rodników tlenowych. W konsekwencji wywołują one stan zapalny, uszkodzenie hepatocytów, śmierć/apoptozę komórek wątrobowych i wzmożoną fibrogenezę. Dodatkowo podwyższone stężenie wolnych kwasów tłuszczowych prowadzi do zwiększonej produkcji trójglicerydów i lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL), a przez to do dyslipidemii i stłuszczenia komórek wątroby (Rycina 2). Do czynników modyfikujących patogenezę i postęp choroby należą czynniki genetyczne i środowiskowe. Najczęstsze polimorfizmy genetyczne, które zwiększają stłuszczenie wątroby, przyspieszają rozwój choroby wątroby i wpływają na rozwój raka wątrobowokomórkowego to: polimorfizm I148 genu *PNPLA3* (patatin-like phospholipase domain-containing protein 3), genu *TM6SF2* (*transmembrane 6 superfamily member 22*), genu *MBOAT7* (*membrane bound O-acyltransferase domain-containing 7*) i genu *GCKR* (*glucokinase regulator*). Polimorfizm I148 genu *PNPLA3* powoduje zmniejszenie lipolizy trójglicerydów w cząsteczkach lipidów, gen *TM6SF2* wpływa na metabolizm cholesterolu, gen *MBOAT7* odgrywa rolę w metabolizmie fosfolipidów, a *GCKR* zwiększa lipogenezę wątrobową *de novo* poprzez stałą aktywację glukokinazy wątrobowej i wychwyt glukozy przez wątrobę. Istnieją również warianty, które działają hepatoprotekcyjnie, np.: utrata funkcji w genie *HSD17B13*, który koduje enzym zlokalizowany w cząsteczkach lipidów, została powiązana z działaniem ochronnym przed MASH, włóknieniem i rozwojem raka wątrobowokomórkowego.

Dodatkowo, czynniki takie jak dieta i spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), zaburzenia mikroflory jelitowej i produkcja kwasu moczowego przez hepatocyty, mogą również wpływać na przebieg MASLD. Wskazuje to na konieczność prowadzenia dalszych badań celem identyfikacji pacjentów ze zwiększoną predyspozycją do progresji choroby oraz opracowania skutecznego leczenia.^{18,19}

Rycina 2. Patogeneza stłuszczeniowej choroby wątroby związanej z zaburzeniami metabolicznymi



ApoB, apolipoproteina B; ER, retikulum endoplazmatyczne; Il-6, interleukina 6; HCC, rak wątrobowokomórkowy; MASH, stłuszczeniowe zapalenie wątroby związane z zaburzeniami metabolicznymi; MCP-1, białko chemotaktyczne monocytów 1; RFT, reaktywne formy tlenu; TNF α, czynnik martwicy nowotworów; VLDL- lipoproteina o bardzo niskiej gęstości

1.2.3 DIAGNOSTYKA

MASLD, a w szczególności MASH, może prowadzić do marskości wątroby i jej konsekwencji, więc wczesna diagnostyka i wdrożenie odpowiednich zaleceń wydają się być kluczowe, by temu zapobiec. Szczególnie pacjenci z MASH w stadium włóknienia

2-4 (F2-F4), określane jako "z grupy ryzyka" MASH („at risk” MASH), mają wyższe ryzyko zachorowalności i śmiertelności związanej z chorobą wątroby.^{20,21} Metaanaliza wykazała, że wskaźnik progresji MASLD wynosił jeden stopień na 7 lat u pacjentów z MASH, w porównaniu do 14 lat u pacjentów MASL.²² Szacuje się, że częstość występowania dekomensacji czynności wątroby, raka wątrobowokomórkowego (HCC) i zgonów związanych z MASH wzrośnie 2-3-krotnie do 2030 roku.²³ Również przy diagnostyce przewlekłego zapalenia wątroby znajomość MASLD oraz związanych z nią czynników patogenetycznych i chorób współtowarzyszących (tj. otyłości brzusznej, insulinooporności, cukrzycy typu 2, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego) powinna prowadzić do screeningu w ich kierunku i włączeniu odpowiedniego leczenia. W praktyce klinicznej stłuszczeniowa choroba wątroby często charakteryzuje się miernie podwyższoną aktywnością aminotransferaz (ALT>AST) oraz GGTP, współistnieniem cech zespołu metabolicznego oraz obrazem stłuszczenia narządu w badaniach obrazowych (najczęściej rozpoznawanym w USG jamy brzusznej). Na przestrzeni lat powstało wiele nieinwazyjnych metod biochemicznych i obrazowych oceny stłuszczenia oraz włóknienia wątroby (Tabela 3, Tabela 4)²⁴⁻²⁶ oraz identyfikacji chorych z „grupy ryzyka” MASH (Tabela 5), jednak tylko nieliczne znalazły zastosowanie w powszechnej praktyce klinicznej (Rycina 3, Rycina 4). Mimo to, według wytycznych zarówno European Association for the Study of the Liver (EASL) i American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), złotym standardem diagnostyki MASH, które wydaje się być kluczowe w rozwoju marskości wątroby i jej następstw, pozostaje badanie histopatologiczne. Najczęściej używaną skalą oceny histopatologicznej biopsji gruboigłowej wątroby jest NASH Clinical Research Network histological scoring system (Tabela 6)²⁷.

Tabela 3. Nieinwazyjne metody oceny stłuszczenia wątroby

Test	Parametry	Interpretacja wyniku	Ograniczenia
Badania laboratoryjne i cechy kliniczne			
Fatty liver index	BMI, WC, GGTP, TG	<30 wyklucza stłuszczenie wątroby, >60 potwierdza stłuszczenie wątroby.	Zwalidowany na podstawie ultrasonografii

Hepatic steatosis index	AST: ALT ratio, BMI, DM typu 2, płeć żeńska	<30 wyklucza stłuszczenie wątroby, >36 potwierdza stłuszczenie wątroby.	Zwalidowany na podstawie ultrasonografii
NAFLD liver fat score (LFS)	AST, stosunek AST: ALT, insulina na czczo, MetS, DM typu 2	LFS<-0,640 wyklucza stłuszczenie wątroby, LFS>-0,640 potwierdza stłuszczenie wątroby.	Insulina na czczo nie jest rutynowo oznaczana
SteatoTest	FibroTest-ActiTest plus (GGTP, bilirubina całkowita, $\alpha 2m$, ApoA1, haptoglobina, ALT), BMI, cholesterol całkowity, TG, glukoza w zależności od płci i wieku	<0,3 wyklucza stłuszczenie na poziomie S2-S4; >0,72 sugeruje stłuszczenie na poziomie S2-S4	Wysoki koszt, $\alpha 2m$, ApoA1, haptoglobina nie są możliwe do oznaczenia w rutynowych badaniach
NAFLD ridge score	WBC, ALT, HDL-C, TG, HbA1c i występowanie nadciśnienia tętniczego	<0,24 wyklucza MASLD, >0,44 potwierdza MASLD	Niska pozytywna wartość predykcyjna
Badania obrazowe			
Ultrasonografia (USG)	Zróżnicowane rozpraszanie i tłumienie fali ultradźwiękowej przez różne tkanki	>30% stłuszczenia jest prezentowane jako: obraz hiperechogeniczny w stosunku do kory nerki, zatarcie naczyń, osłabienie wiązki w strukturach głębszych	-Niska czułość w łagodnym stłuszczeniu wątroby -Niska czułość u pacjentów otyłych -Zależny od operatora
Kontrolowany parametr tłumienia (Controlled attenuation parameter, CAP) (Fibroscan)	Wykorzystanie spadku amplitudy fal ultradźwiękowych w mięszu wątroby do oszacowania stopnia stłuszczenia wątroby	>288dB/min potwierdza stłuszczenie wątroby	Ograniczona dokładność oznaczeń ilościowych
MRI-PDF	Pomiar zawartości tłuszczu w wątrobie na podstawie protonowej spektroskopii MR	>5%	Wysokie koszty i ograniczona dostępność
MRS	Pomiar zawartości trójglicerydów w wątrobie dzięki zbieraniu widm dla frakcji tłuszczu sygnałowego	>5% (?)	Wysokie koszty i ograniczona dostępność

$\alpha 2m$, $\alpha 2$ -makroglobulina; ALT, aminotransferaza alaninowa; ApoA1, Apolipoproteina A1; AST, aminotransferaza asparaginianowa; BMI, wskaźnik masy ciała; DM, cukrzyca; GGTP, gamma-glutamilo transpeptydaza; HbA1c, hemoglobina glikowana; HDL-C, cholesterol lipoproteiny wysokiej gęstości; MetS, zespół metaboliczny; MRI-PDF, Rezonans magnetyczny metodą gęstości protonów frakcji tłuszczowej; MRS, Spektroskopia rezonansu magnetycznego; TG, triglicerydy; WBC, leukocyty, WC, obwód talii.

Tabela 4. Nieinwazyjne metody pomiaru włóknienia wątroby

Test	Opis	Interpretacja wyniku	Ograniczenia
Badania laboratoryjne i cechy kliniczne			
Stosunek AST/ALT	AST, ALT	>0,8 sugeruje zaawansowane włóknienie	Umiarkowana dokładność
APRI	AST i płytki krwi	<0,5 wyklucza zaawansowane włóknienie, $\geq 1,5$ potwierdza zaawansowane włóknienie	Umiarkowana dokładność
FIB-4 index	Wiek, AST, ALT i płytki krwi	<1,3 wyklucza zaawansowane włóknienie, $\geq 2,67$ potwierdza zaawansowane włóknienie	-Niska dokładność u chorych <35. roku życia -Mniejsza swoistość u chorych >65. roku życia
NAFLD Fibrosis Score	Wiek, BMI, nieprawidłowa glikemia na czczo lub DM typu 2, stosunek AST/ALT, płytki krwi, albuminy	<-1,455 wyklucza zaawansowane, $\geq 0,676$ potwierdza zaawansowane włóknienie	Niska dokładność u chorych <35. roku życia, u chorych otyłych i/lub z DM typu 2
BARD score	BMI, stosunek AST/ALT, DM typu 2	2–4 pkt związane z zaawansowanym włóknieniem	Umiarkowana dokładność
ELF	PIIINP, HA, TIMP1	<7,7 wyklucza zaawansowane włóknienie, $\geq 9,8$ sugeruje zaawansowane włóknienie	-Niska czułość we wczesnych stadiach włóknienia -Wysoki koszt -Ograniczona dostępność
Fibrotest	GGTP, bilirubina całkowita, $\alpha 2m$, Apo A1, haptoglobina	<0,3 wyklucza marskość, $\geq 0,7$ sugeruje marskość	-Niska czułość na wczesne stadia włóknienia -Wysoki koszt -Ograniczona dostępność
Badania obrazowe			
VCTE (Fibroscan)	Pomiar prędkości sprężystej fali ścinającej rozchodzącej się w wątrobie.	<8 kPa wyklucza marskość, $\geq 12kPa$ sugeruje zaawansowane włóknienie	- Wysoki koszt, -Ograniczona dostępność
p-SWE	Krótkotrwałe impulsy akustyczne, które propagują fale ścinające i generują zlokalizowane, mikrometrowe drgania w tkance.		- Ograniczona dostępność -Niezdefiniowane kryteria -Niezbędni doświadczeni operatorzy
2D-SWE	Badanie tkanki przez ARFI indukowane w tkankach przez ogniskowanie wiązek ultradźwiękowych i przechwytywanie propagacji powstałych fal ścinających w czasie rzeczywistym.	<8 kPa wyklucza marskość, $\geq 10,5$ kPa sugeruje zaawansowane włóknienie	- Ograniczona dostępność -Niezbędni doświadczeni operatorzy

MRI-MRE	Pomiar fali sprężystej wygenerowanej przez generator fali elektromechanicznej podczas uzyskiwania sekwencji spin-echo lub echa gradientowego	F2: 3,14 kPa F3: 3,53 kPa F4: 4,45 kPa	-Ograniczona dostępność -Wysoki koszt
----------------	--	--	--

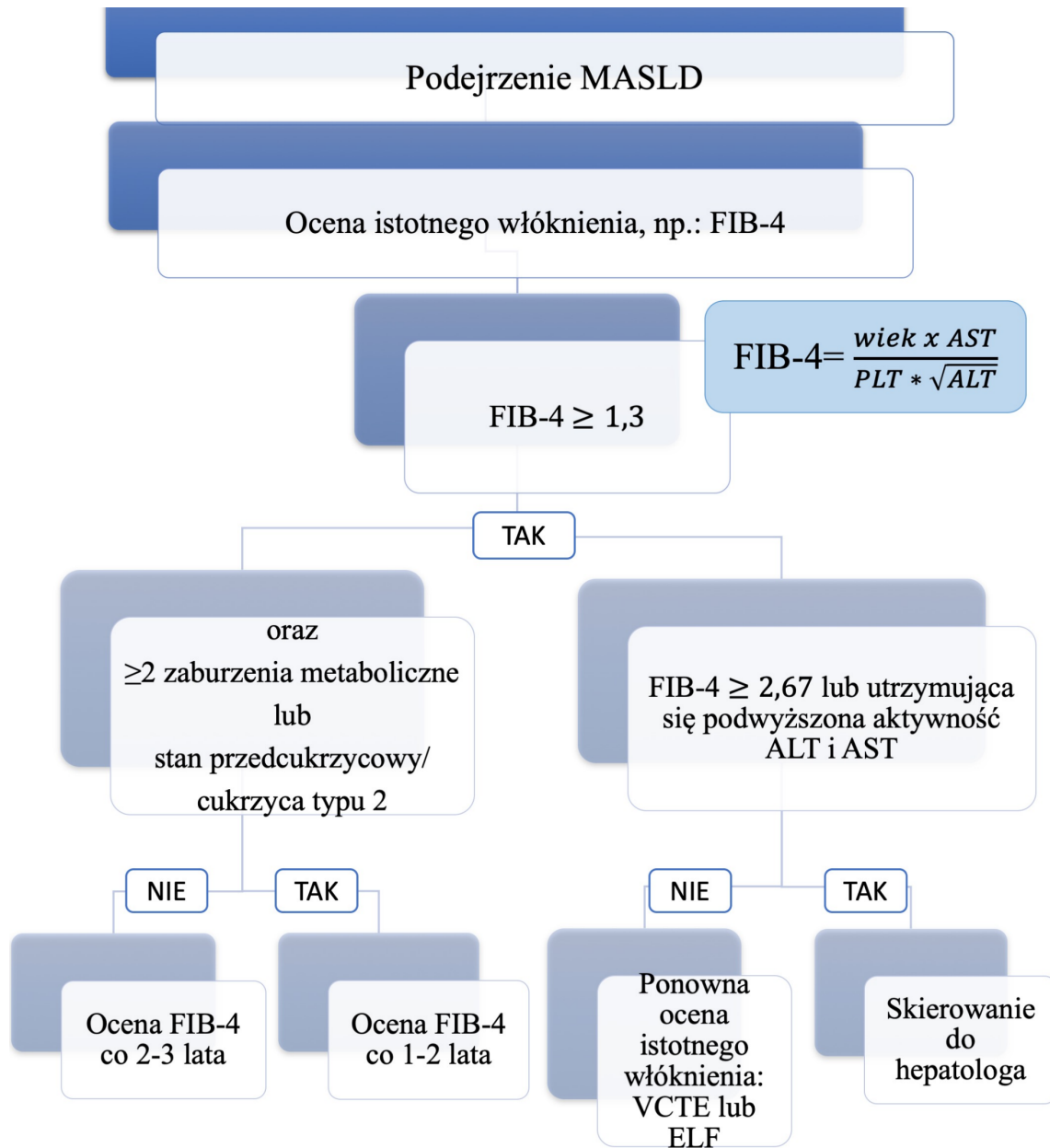
α 2m, α 2-makroglobulina; 2D-SWE, Dwuwymiarowa elastografia fal ścinających; ALT, aminotransferaza alaninowa; ApoA1, Apolipoproteina A1; APRI, stosunek aminotransferazy asparaginianowej do liczby płytek krwi; ARFI, impuls siły promieniowania akustycznego (acoustic radiation force impulse); AST, aminotransferaza asparaginianowa; BMI, wskaźnik masy ciała; DM, cukrzyca; ELF, Enhanced liver fibrosis; FIB-4 index, Fibrosis-4 index; GGTP, gamma-glutamyl transpeptydaza; HA, kwas hialuronowy; MRI-MRE, elastografia rezonansu magnetycznego; PIIINP: Aminokońcowy peptyd prokolagenu III; p-SWE, punktowa elastografia fali ścinającej; TIMP1, Tkankowy inhibitor metaloproteinaz 1; VCTE, Elastografia dynamiczna kontrolowana drganiami.

Tabela 5. Nieinwazyjne metody identyfikacji chorych z MASH z wysokim ryzykiem progresji choroby

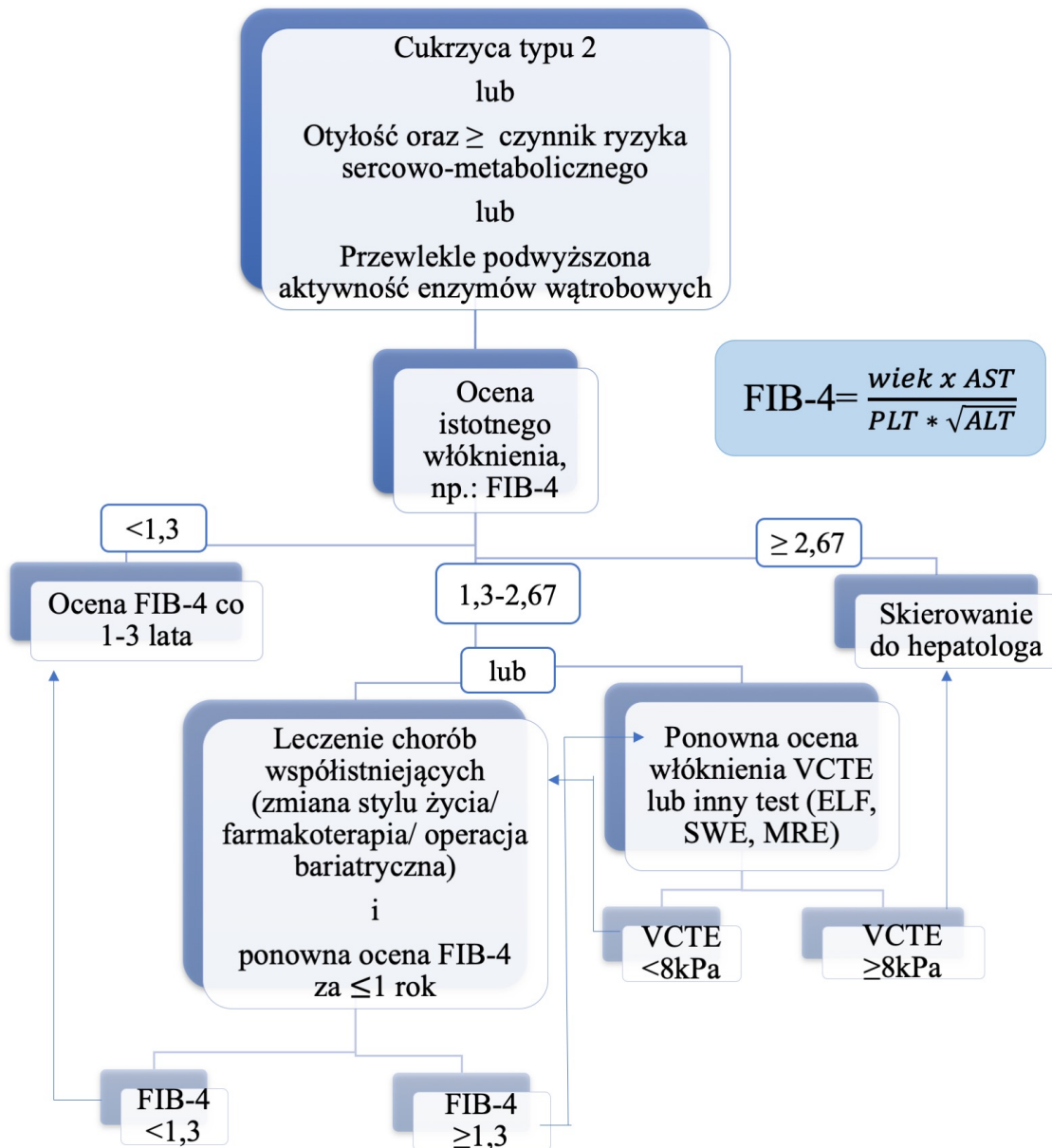
Test	Opis	Interpretacja wyniku	Ograniczenia
FAST	FibroScan (VCTE, CAP), AST	<0,35 wyklucza MASH „z grupy ryzyka”, ≥0,67 sugeruje MASH „z grupy ryzyka”	-Wysoki koszt -Ograniczona dostępność
MAST	MRI-PDFF, MRE, AST	≤0,165 wyklucza MASH „z grupy ryzyka”, ≥0,242 sugeruje MASH „z grupy ryzyka”	-Wysoki koszt -Ograniczona dostępność
MEFIB	FIB-4 index, MRE	FIB-4 <1,6 i MRE <3,3 kPa wyklucza MASH „z grupy ryzyka”, FIB-4 ≥1,6 i MRE ≥3,3 kPa sugeruje MASH „z grupy ryzyka”	-Wysoki koszt -Ograniczona dostępność
cT1	Algorytm mapowania T1 w rezonansie magnetycznym, który pozwala na usunięcie z pomiarów T1 błędu wprowadzanego przez podwyższone stężenie żelaza. Koreluje z chorobą włóknisto-zapalną wątroby	< 825 ms wyklucza MASH „z grupy ryzyka”, ≥875 ms sugeruje MASH „z grupy ryzyka”	-Wysoki koszt -Znacznie ograniczona dostępność

AST, aminotransferaza asparaginianowa; cT1- T1 skorygowany o żelazo, corrected T1; FIB-4 index, Fibrosis-4 index; MRE, elastografia rezonansu magnetycznego; MRI-PDFF, Rezonans magnetyczny metodą gęstości protonów frakcji tłuszczowej; VCTE, Elastografia dynamiczna kontrolowana drganiami.

Rycina 3. Proponowany algorytm identyfikacji pacjentów z MASLD z grupy ryzyka zaawansowanego włóknienia w codziennej praktyce klinicznej na podstawie Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, Abdelmalek MF, Caldwell S, Barb D, Kleiner DE, Loomba R. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2023



Rycina 4.* Proponowany algorytm identyfikacji pacjentów ze stłuszczeniem wątroby z grupy ryzyka zaawansowanego włóknienia w codziennej praktyce klinicznej na podstawie *EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD)*. *J Hepatol.* 2024



*Dla osób po 65 roku życia należy przyjąć dolny punkt odcięcia dla skali FIB-4 2 kPa zamiast 1,3 kPa

Tabela 6. Skala oceny histopatologicznej stłuszczeniowego zapalenia wątroby związanego z zaburzeniami metabolicznymi NASH Clinical Research Network

Cecha	Stopień/ Stadium
Stłuszczenie	Stopień 0 = <5%
	Stopień 1= 5-33%
	Stopień 2= 34-66%
	Stopień 3= 67-100%
Zapalenie	Stopień 1= <2 ognisk na 200 pól
	Stopień 2= 2-4 ogniska na 200 pól
	Stopień 3= >4 ogniska na 200 pól
Zwyrodnienie balonowate	Stopień 1= kilka komórek ze zwyrodnieniem balonowatym
	Stopień 2= obecne komórki ze zwyrodnieniem balonowatym
	Stopień 3= wiele komórek ze zwyrodnieniem balonowatym
Włóknienie	Stadium 0= brak
	Stadium 1a =łagodne włóknienie okołokomórkowe
	Stadium 1b =umiarkowane włóknienie okołokomórkowe
	Stadium 1c =włóknienie okołowrotne
	Stadium 2 =włóknienie okołokomórkowe z towarzyszącym włóknieniem okołowrotnym
	Stadium 3 = włóknienie z powstawaniem mostków portalnych lub wrotno-portalnych
Stadium 4= marskość	

1.2.4 LECZENIE

Podstawą leczenia MASLD jest zmniejszenie masy ciała o co najmniej 5% (docelowo $\geq 10\%$) poprzez dietę redukcyjną i wysiłek fizyczny.²⁸ Wykazano, że spadek masy ciała o $>5\%$ istotnie zmniejsza stłuszczenie wątroby, 7-10% ogranicza stopień zapalenia/iłość komórek balonowatych, a $\geq 10\%$ prowadzi do stopniowej poprawy włóknienia.²⁹ Ponadto w marcu 2024 roku Agencja Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration) zarejestrowała pierwszy lek dla chorych z MASH i włóknieniem F2-F3- resmetirom będący agonistą receptora $\beta 1$ hormonów tarczycy³⁰.

1.2.4.1 Dieta

Nadmierne spożycie kalorii oraz dieta bogata w cukry proste (szczególnie we fruktozę), nasycone kwasy tłuszczowe, białka odzwierzęce i uboga w wielonienasycone kwasy tłuszczowe przyczyniają się do rozwoju MASLD.³¹⁻³⁴ Dietą z wyboru w leczeniu MASLD jest dieta śródziemnomorska (oparta na warzywach, owocach, zbożowych produktach pełnoziarnistych, orzechach, oliwie, nieprzetworzonych produktach mlecznych i rybach) z eliminacją produktów wysoko przetworzonych typu „fast food”, cukrów prostych i tłuszczów nasyconych. Inne rodzaje diet (dieta DASH- ang. Dietary Approach to Stop Hypertension, dieta ketogeniczna, post przerwany) wydają się być również skuteczne, jednak Towarzystwa Hepatologiczne (EASL, AASLD, APASL), Diabetologiczne (EASD) i Badań nad Otyłością (EASO) rekomendują dietę śródziemnomorską, z uwagi na jej udowodniony trwały, korzystny efekt w regresji MASH niezależnie od stopnia redukcji masy ciała oraz na łatwość w przestrzeganiu jej zasad żywieniowych.^{14,15,35-37} Ponadto w niektórych badaniach sugeruje się, że stosowanie diety śródziemnomorskiej zmniejsza ryzyko raka wątrobowokomórkowego.^{38,39} Przy braku przeciwwskazań, dodatkowo zaleca się spożywanie ≥ 3 filiżanek kawy dziennie, co według badań zmniejsza ryzyko MASLD i progresji włóknienia.^{14,15,40} Chorzy z MASH i stopniem włóknienia ≥ 2 powinni unikać spożywania alkoholu.^{14,15}

1.2.4.2 Wysilek fizyczny

Regularny wysilek fizyczny nie tylko wpływa na zmniejszenie masy ciała, ale również działa korzystnie na układ sercowo-naczyniowy i profil metaboliczny, m.in. poprzez redukcję tłuszczu trzewnego, zwiększenie wrażliwości receptorów na insulinę oraz zwiększenie wychwytu i spadek VLDL.⁴¹ W leczeniu MASLD zalecany jest regularny wysilek fizyczny o umiarkowanej intensywności, 3-5 razy w tygodniu, ponad 150 min/tydzień obejmujący trening aerobowy i siłowy.³⁶ Podkreśla się, że każdy rodzaj wysiłku fizycznego istotnie zmniejsza stopień stłuszczenia wątroby, a program treningowy należy indywidualnie dopasować do pacjenta, tak aby był konsekwentnie realizowany.²⁸

1.2.4.3 Leczenie farmakologiczne

W marcu 2024 roku resmetirom został zarejestrowany przez Agencję Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration) w leczeniu pacjentów z MASH w stadium włóknienia F2-F3.^{30,42} Znacznym ograniczeniem jest koszt miesięczny takiej terapii, który obecnie wynosi około 4000 \$. Istnieje również grupa leków, która ma udowodnione korzystne działanie prowadząc do zmniejszenia stopnia stłuszczenia wątroby, ustąpienia MASH czy ograniczenia włóknienia, jednak brak jest jednoznacznych dowodów na ich działanie w badaniach III fazy i nie zostały do tej pory zarejestrowane jako leki celowane w terapii MASH.¹⁵ Jednakże ich włączenie można rozważyć w poszczególnych przypadkach chorób współistniejących (cukrzyca, otyłość, przewlekłej choroby nerek czy przewlekłej niewydolności serca) (Tabela 7).^{14,43-55} Mimo licznych badań, istnieje również grupa leków, dla których nie udowodniono korzystnego działania u pacjentów z MASH, tj. metforminy, kwasu ursodeoksycholowego, inhibitorów dipeptydylopeptydazy-4, ezetymibu czy sylimaryny⁵⁶⁻⁶⁴ lub jak w przypadku witaminy E nie jest zalecana z uwagi na brak jej jednoznacznej skuteczności w badaniach histologicznych przy obecności potencjalnych długoterminowych działań niepożądanych (tj. rak prostaty, udar krwotoczny).¹⁵

Dodatkowo należy pamiętać, że u chorych z MASLD i hiperlipidemią nie ma przeciwwskazań do stosowania statyn i należy je włączyć celem zmniejszenia ryzyka sercowo-naczyniowego. W razie istotnej hipertrójglicydemii należy także stosować fibraty.^{14,15}

Tabela 7. Potencjalne możliwości farmakoterapii u chorych z MASLD

Lek	Działanie	Wskazania	Działania niepożądane
Resmetirom ⁴² (80 mg u chorych <100kg, 100mg u chorych ≥ 100kg)	-Agonista receptora β 1 hormonów tarczycy -Hamuje lipogenezę i stymuluje wątrobową β -oksydację kwasów tłuszczowych -Spowalnia fibrogenzę	-Chorzy z MASH i stadium włóknienia F2 lub F3	-Biegunka -Bóle brzucha -Nudności -Zaparcia -Bóle i zawroty głowy -Wysypka i świąd skóry
Pioglitazon ^{43,45-47} (30-45mg/dzień doustnie)	-Pochodna tiazolidynodionu, wybiórczy agonista receptora jądrowego PPAR γ -Zwiększa insulinowrażliwość -Poprawia profil lipidowy -Zmniejsza ryzyko sercowo- naczyniowe -Zmniejsza stopień stłuszczenia, prowadzi do ustąpienia MASH -Prowadzi do zmniejszenia stopnia włóknienia wątroby (?)	-Chorzy z cukrzycą typu 2 i MASLD	-Przyrost masy ciała -Zaostrzenie niewydolności serca -Utrata masy kostnej -Zwiększa ryzyko raka pęcherza moczowego (?)
Liraglutyd ⁴⁸ (3mg/dzień podskórnice) -Semaglutyd ⁴⁹ (2,4mg/tydzień podskórnice)	-Agonista receptora ludzkiego glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) -Prowadzi do redukcji masy ciała -Zwiększa insulinowrażliwość -Poprawia profil lipidowy -Zmniejsza ryzyko sercowo-naczyniowe -Zmniejsza stopień stłuszczenia wątroby i prowadzi do ustąpienia MASH	-Chorzy z otyłością, cukrzycą typu 2 i MASLD	-Nudności, wymioty -Kamica żółciowa -Ostre zapalenie trzustki
Tirzepatyd ^{54,55} (5mg/tydzień podskórnice)	-Agonista receptora glukozozależnego polipeptydu insulinotropowego (GIP) i glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1) -Prowadzi do redukcji masy ciała -Zwiększa insulinowrażliwość -Zmniejsza stopień stłuszczenia w badaniach obrazowych	-Chorzy z otyłością, cukrzycą typu 2 i MASLD	-Nudności, wymioty -Kamica żółciowa -Ostre zapalenie trzustki

Dapagliflozyna (10mg/dzień doustnie)	50,51	-Inhibitor kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2) -Zmniejsza wchłanianie zwrotne glukozy w kanalikach nerkowych i zwiększa jej wydalanie z moczem -Prowadzi do redukcji masy ciała (2-3%) -Działa kardio- i nefroprotekcynie -Zmniejsza stopień stłuszczenia wątroby w badaniach obrazowych -Zmniejsza aktywność enzymów wątrobowych (ALT, AST)	-Chorzy z cukrzycą typu 2, przewlekłą chorobą nerek i przewlekłą niewydolnością serca	-Zakażenia układu moczowo-płciowego -Zmniejszenie objętości płynów,
Empagliflozyna ^{52,53} (10mg/dzień doustnie)				
Kanagliflozyna ⁶⁵ (100mg lub 300mg doustnie)				

1.2.4.4 Operacja bariatryczna

Udowodnione jest, że operacja bariatryczna prowadzi do skutecznego zmniejszenia masy ciała i w jego następstwie do ustąpienia nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, cukrzycy czy obturacyjnego bezdechu sennego, przez co istotnie zmniejsza ryzyko sercowo-naczyniowe.⁶⁶ Ponadto istotnie ogranicza stopień stłuszczenia, zapalenia i zwyrodnienia balonowego wątroby, przyczyniając się do ustąpienia MASH, a w dłuższej perspektywie zmniejsza stopień włóknienia narządu i tym samym ryzyko HCC.^{67,68} Dlatego u chorych z MASLD bez marskości wątroby i BMI ≥ 35 kg/m², przy braku skuteczności innych metod leczenia, powinno się rozważyć skierowanie na operację bariatryczną. Z kolei u pacjentów z marskością zdekompensowaną jest ona przeciwwskazana z uwagi na zwiększone ryzyko dekompensacji po operacji.^{14,28}

2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

MASLD jest obecnie jedną z najczęstszych przyczyn przewlekłego zapalenia wątroby na świecie, a populacja pacjentów z MASLD sukcesywnie rośnie wraz ze wzrostem częstości występowania otyłości i zespołu metabolicznego. Szczególną grupą chorych, którzy są predysponowani do marskości wątroby i jej powikłań, są pacjenci z MASH i z istotnym włóknieniem ($\geq F2$). Mimo że istnieje wiele nieinwazyjnych metod diagnostyki chorych z MASLD i oceny ich stopnia zaawansowania, w dalszym ciągu złotym standardem pozostaje biopsja gruboigłowa wątroby. Analiza chorób współistniejących, parametrów biochemicznych oraz porównanie nieinwazyjnych metod diagnostycznych u tych chorych pozwoli na ich szybszą identyfikację, prawidłową diagnostykę i wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Główne cele pracy stanowiły:

1. Charakterystyka kliniczna grupy chorych z MASLD w zależności od stopnia włóknienia wątroby.
2. Określenie wskaźników biochemicznych pozwalających na identyfikację chorych z MASLD i istotnym włóknieniem wątroby.
3. Ocena zależności między poszczególnymi cechami zespołu metabolicznego a nasileniem/ stopniem zaawansowania MASLD.
4. Porównanie wyników nieinwazyjnych metod diagnostycznych z wynikiem biopsji gruboigłowej wątroby (stopniem stłuszczenia, zapalenia, zwyrodnienia balonowatego, włóknienia).
5. Ocena przydatności nieinwazyjnych metod diagnostycznych w wykrywaniu istotnego włóknienia wątroby u chorych z MASLD.

3. MATERIAŁ I METODYKA

3.1 GRUPA BADANA

Badanie było oparte o retrospektywną analizą dokumentacji medycznej i pierwotnie objęto nim 139 chorych (92 mężczyzn i 46 kobiet) ze stłuszczeniową chorobą wątroby, potwierdzoną w biopsji gruboigłowej wątroby, hospitalizowanych w Oddziale Chorób Wewnętrznych i Hepatologii Państwowego Instytutu Medycznego MSWiA w Warszawie od 1.01.2018r. do 30.06.2023r.

Z badania wyłączono 59 pacjentów z uwagi na:

- brak podstawowych danych antropometrycznych w dokumentacji medycznej,
- braki w badaniach biochemicznych,
- podejrzenie innych potencjalnych przyczyn stłuszczenia wątroby (np.: przyjmowane leki, podejrzenie rodzinnej hipercholesterolemii),
- spożywanie alkoholu w wywiadzie >20g /dzień lub 140-350g/ tydzień dla kobiet i >30g/dzień lub 210-420g/ tydzień dla mężczyzn
- współistnienie/ podejrzenie innych chorób wątroby (np.: hemochromatoza, przebyte przewlekłe zapalenie wątroby C, zespół Gilberta),
- niediagnostyczny wynik biopsji gruboigłowej wątroby.

Ostatecznie do badania włączono 80 pacjentów (25 kobiet, 55 mężczyzn), u których przeprowadzono analizę: badania podmiotowego oraz przedmiotowego, badań laboratoryjnych i obrazowych oraz wyników histopatologicznych biopsji gruboigłowej wątroby. W opracowaniu podzielono pacjentów na dwie grupy w zależności od stopnia włóknienia wątroby w biopsji gruboigłowej narządu: z włóknieniem małego stopnia (F0- F1) oraz z istotnym włóknieniem (\geq F2).

Zgodę na przeprowadzenie badania nieinterwencyjnego, retrospektywnego (na podstawie dokumentacji medycznej) wydała Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku (nr zgody APK.002.375.2023).

3.2 METODY

W oparciu o dostępną dokumentację medyczną przeprowadzono analizę dotyczącą:

1. Badania podmiotowego: wiek, dotychczasowy przebieg choroby, choroby współistniejące, ilość spożywanego alkoholu,
2. Badania przedmiotowego: masa ciała, wzrost, BMI, obwód talii, ciśnienie tętnicze,
3. Parametrów laboratoryjnych: morfologia krwi, aktywność enzymów wątrobowych (aminotransferaza alaninowa, aminotransferaza asparaginianowa) i cholestatycznych (fosfataza alkaliczna, gamma-glutamylotranspeptydaza), parametry wydolności wątroby (INR, albuminy, bilirubina), kreatynina, glukoza na czczo, insulina na czczo, hemoglobina glikowana, lipidogram (cholesterol całkowity, frakcje: LDL, HDL, nie-HDL, trójglicerydy),
4. Identyfikacji obecności zespołu metabolicznego (na podstawie konsensusu IDF, NHLBI, AHA, WHF, IAS i IASO z 2009r.) u poszczególnych pacjentów biorąc pod uwagę wywiad i badania laboratoryjne. Z uwagi na znacznie ograniczoną dostępność obwodu talii (N=10), przyjęto założenie, że pacjenci z $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ mają otyłość brzuszną,
5. Badań obrazowych: USG jamy brzusznej (obecność stłuszczenia wątroby, pomiar wielkości śledziony), Fibroscan (obejmujący pomiar stopnia włóknienia wątroby oraz poziom stłuszczenia poprzez kontrolowany parametr atenuacji-CAP),
6. Wyników histopatologicznych biopsji gruboigłowej wątroby.

Ponadto na podstawie dostępnych wyników badań obliczono nieinwazyjne wskaźniki oceny:

a) stłuszczenia wątroby:

-Hepatic Steatosis Index (HSI)

$$HSI = 8 \times \left(\frac{AST \text{ (IU/l)}}{ALT \text{ (IU/l)}} \right) + BMI \text{ (kg/m}^2\text{)} + 2 \text{ (gdy cukrzyca)} \\ + 2 \text{ (gdy płeć żeńska)}$$

b) włóknienia wątroby:

- stosunek AST/ALT

$$\frac{AST (IU/l)}{ALT (IU/l)}$$

-FIB-4

$$FIB4 = \frac{wiek \times AST (IU/l)}{PLT (10^9/l) \times \sqrt{ALT (IU/l)}}$$

-APRI

$$APRI = \frac{\frac{AST (IU/l)}{AST ggn (IU/l)}}{PLT (10^9/l)} \times 100$$

-NAFLD Fibrosis Score (NFS)

$$\begin{aligned} NFS = & 1.675 + 0.037 \times \text{wiek} + 0.094 \times BMI \left(\frac{kg}{m^2} \right) \\ & + 1.13 \\ & \times \text{stan przedcukrzycowy lub cukrzyca} \text{ (tak} = 1, \text{nie} = 0) \\ & + 0,99 \times \frac{AST (IU/l)}{ALT (IU/l)} - 0,013 \times PLT (10^9/l) \\ & - 0,66 \times \text{albuminy} \left(\frac{g}{dl} \right) \end{aligned}$$

- BARD

$$\begin{aligned} BARD = & 1 \left(\text{gdy } BMI \left(\frac{kg}{m^2} \right) \geq 28 \right) + 2 \left(\text{gdy } \frac{AST (IU/l)}{ALT (IU/l)} \geq 0,8 \right) \\ & + 1 \left(\text{gdy cukrzyca} \right) \end{aligned}$$

c) insulinooporności:

- HOMA-IR

$$HOMA\ IR = \frac{insulina\ (\mu IU/ml) \times glukoza\ (mg/dl)}{405}$$

-QUICKI-IR

$$QUICKI\ IR = \frac{1}{\log\ insulina\ (\mu IU/ml) + \log\ glukoza\ (mg/dl)}$$

- TyG index

$$TyG\ index = \ln \left[TG\ (mg/dl) \times \frac{glukoza\ (mg/dl)}{2} \right]$$

- TG/HDL

$$\frac{TG\ (mg/dl)}{HDL\ (mg/dl)}$$

3.3. ANALIZY STATYSTYCZNE

Analizy statystyczne zostały przeprowadzone z wykorzystaniem oprogramowania Microsoft®Excel, Statistica 13.0 (Statsoft, Polska) oraz Stata 18.0 (StataCorp, TX, USA). Rozkład badanych parametrów oceniono testem W Shapiro-Wilka. Ze względu na brak rozkładu normalnego danych, w analizie wykorzystano testy nieparametryczne. Porównania pacjentów z MASLD z włóknieniem małego stopnia (<F2) i z istotnym włóknieniem (≥F2) przeprowadzono z wykorzystaniem testu U Manna-Whitneya, a także regresji liniowej z uwzględnieniem wieku i BMI. Różnice w parametrach jakościowych pomiędzy grupami oceniono testem Chi kwadrat. Korelacje pomiędzy badanymi parametrami oceniono testem Spearmana. Wielokrotna regresja logistyczna została wykorzystana do oceny związku pomiędzy zaawansowaniem MASLD a występowaniem zespołu metabolicznego i jego poszczególnych elementów oraz do oceny związku pomiędzy obecnością istotnego włóknienia a wartościami parametrów nieinwazyjnych. Punkty odcięcia przydatne w diagnostyce istotnego włóknienia w badanej grupie wyznaczono z wykorzystaniem indeksu Youdena. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

4. WYNIKI

4.1. CHARAKTERYSTYKA BADANEJ GRUPY

Do badania włączono 80 pacjentów (25 kobiet, 55 mężczyzn) z MASLD, u których na podstawie wywiadu, badania przedmiotowego i analizy wyników badań laboratoryjnych i obrazowych oraz biopsji wątroby stwierdzono poszczególne odchylenia (Tabela 8.).

Tabela 8. Charakterystyka badanej grupy

		n	%
Płeć	Kobieta	25	31,25%
	Mężczyzna	55	68,75%
BMI	Norma (BMI 18,5- 24,99 kg/m ²)	5	6,25%
	Nadwaga (BMI 25- 29,99 kg/m ²)	41	51,25%
	Otyłość (≥30 kg/m ²)	34	42,5%
Nadciśnienie tętnicze	Tak	38	47,5%
	Nie	42	52,5%
Dyslipidemia (LDL>115 mg/dl lub TG>150 mg/dl lub HDL K<50 mg/dl M<40 mg/dl lub leczenie hipolipemizujące)	Tak	72	90%
	Nie	8	10%
Cukrzyca typu 2	Tak	21	26,25%
	Nie	59	73,75%
Zespół metaboliczny	Tak	27	33,75%
	Nie	53	66,25%
MASLD	MASL	23	28,75%
	MASH	57	71,25%
Stopień włóknienia	F0	5	6,25%
	F1	43	53,75%

F2	18	22,50%
F3	11	13,75%
F4	3	3,75%

HDL- cholesterol lipoproteiny wysokiej gęstości, LDL- cholesterol lipoproteiny niskiej gęstości, MASL- stłuszczenie proste związane z zaburzeniami metabolicznymi, MASLD- stłuszczeniowa choroba wątroby związana z zaburzeniami metabolicznymi, MASH- stłuszczeniowe zapalenie wątroby związane z zaburzeniami metabolicznymi, TG-trójglicerydy

4.2 CHARAKTERYSTYKA PACJENTÓW Z MASLD W ZALEŻNOŚCI OD STOPNIA WŁÓKNIENIA WĄTROBY

Na podstawie biopsji wątroby istotne włóknienie ($\geq F2$) stwierdzono u 32 pacjentów, a małego stopnia ($< F2$) u 48 pacjentów. Grupa pacjentów z istotnym włóknieniem ($\geq F2$) miała istotnie wyższe BMI ($p=0,017$) w porównaniu do grupy z małym włóknieniem ($< F2$). Ponadto, po uwzględnieniu wpływu BMI i wieku, obie grupy różniły się istotnie stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji nie-HDL i trójglicerydów. W grupie z istotnym włóknieniem stwierdzono niższe stężenie cholesterolu całkowitego ($p=0,019$), frakcji nie-HDL ($p=0,029$) oraz trójglicerydów ($p=0,022$). U pacjentów z istotnym włóknieniem obserwowano również istotnie niższy poziom płytek krwi ($p=0,001$) oraz wyższe stężenie kreatyniny ($p=0,017$) i niższy eGFR ($p=0,002$). Dodatkowo grupa z włóknieniem $\geq F2$ miała niższy TyG index w porównaniu do grupy z włóknieniem $< F2$ ($p=0,039$). Charakterystykę parametrów klinicznych pacjentów z MASLD w zależności od stopnia włóknienia wątroby w biopsji gruboigłowej wątroby przedstawiono w Tabeli 9.

Tabela 9. Charakterystyka parametrów klinicznych pacjentów z MASLD w zależności od stopnia włóknienia wątroby ocenianego w biopsji gruboigłowej wątroby

	Cała grupa (N=80)	Włóknienie małego stopnia ($< F2$) (N=48)	Włóknienie istotne ($\geq F2$) (N=32)	p	p'
Wiek (lata)	37 (28,5-52)	35 (28-46,5)	46 (32,5-62,5)	0,111	-
Masa ciała (kg)	92 (80-103)	90 (80,5-99,5)	95 (79-105)	0,492	-
Wzrost (m)	1,76 (1,68- 1,83)	1,8 (1,73-1,84)	1,73 (1,62- 1,82)	0,056	-

BMI (kg/m²)	29,01 (26,97- 32,47)	28,08 (25,99- 31,12)	30,91 (27,91- 34)	0,017	-
Cholesterol całkowity (mg/dl)	199 (157,5- 211)	189 (166,5-214)	172 (148-208)	0,088	0,019
LDL (mg/dl) (N=78)	113,5 (88- 136)	119 (93-138)	99 (76-128)	0,128	0,070
HDL (mg/dl) (N=78)	42 (37-54)	42 (37-49)	43 (35-56)	0,694	0,921
nie-HDL (mg/dl) (N=78)	141 (113- 160)	143 (120-170)	129 (104-157)	0,045	0,029
Trójglicerydy (mg/dl) (N=79)	140 (110- 194)	164 (119-203)	125,5 (99- 167,5)	0,028	0,022
WBC (x10³/uL)	6,81 (6,05- 8,82)	6,71 (6,12-8,58)	6,98 (5,87- 9,19)	0,489	0,945
Hemoglobina (g/dl)	15,15 (13,8- 16)	15,2 (14,2-16,1)	15,1 (13,75- 15,95)	0,498	0,745
PLT (x10³/uL)	230 (194- 280)	258,5 (210-302)	210 (190,5- 242)	0,001	0,001
Kreatynina (mg/dl)	0,89 (0,79- 0,975)	0,85 (0,76-0,95)	0,92 (0,82-1)	0,101	0,017
eGFR (ml/min/1,73m²)	88 (80-105)	91 (83,5-110)	82 (68,5-97)	0,008	0,002
Glukoza na czczo (mg/dl) (N=71)	87 (79-98)	87 (80-92)	88 (77-109)	0,438	0,971
Insulina (μIU/ml) (N=28)	12,65 (10,45-19,1)	12 (10,8-18,8)	14,25 (9,3- 19,1)	0,899	0,877
HOMA-IR (N=27)	2,77 (2,07- 3,98)	2,58 (2,15-3,85)	3,06 (1,96- 4,15)	0,525	0,932
QUICKI (N=27)	0,33 (0,31- 0,34)	0,33 (0,31-0,34)	0,32 (0,31- 0,34)	0,525	0,916
TyG index (N=70)	8,78 (8,5- 9,06)	8,84 (8,57-9,14)	8,72 (8,43- 8,94)	0,271	0,039
Stosunek TG/HDL (N=77)	3,5 (2,19- 4,83)	3,68 (2,8-5)	2,98 (1,95- 4,22)	0,111	0,146

Wartości wyrażono jako mediana (rozstęp międzykwartylowy). Skróty: BMI, wskaźnik masy ciała; LDL, lipoproteina o niskiej gęstości; HDL, lipoproteina o wysokiej gęstości; cholesterol nie-HDL, frakcje cholesterolu poza HDL; HOMA-IR, model homeostazy do oceny insulinooporności; QUICKI, ilościowy wskaźnik oceny wrażliwości na insulinę; TyG index, wskaźnik triglicerydowo-glukozowy; HbA1C, hemoglobina glikowana.

p – wartości uzyskane z testu U Manna-Whitneya, porównań dokonano między grupą z włóknieniem małego stopnia i istotnym; p' – wartości po uwzględnieniu wieku i BMI (w przypadku eGFR jedynie BMI) uzyskane z regresji liniowej

Biorąc pod uwagę aktywność enzymów wątrobowych (AST, ALT), cholestatycznych (ALP, GGTP) i parametry wydolności wątroby (INR, albuminy, bilirubina), grupa z istotnym włóknieniem wątroby wykazywała jedynie istotnie wyższą

aktywność AST ($p=0,02$) w porównaniu do grupy z włóknieniem małego stopnia. Parametry wątrobowe z podziałem na grupy w zależności od zaawansowania włóknienia przedstawiono w Tabeli 10.

Tabela 10. Parametry wątrobowe u pacjentów z MASLD w zależności od stopnia włóknienia wątroby ocenianego w biopsji gruboigłowej wątroby

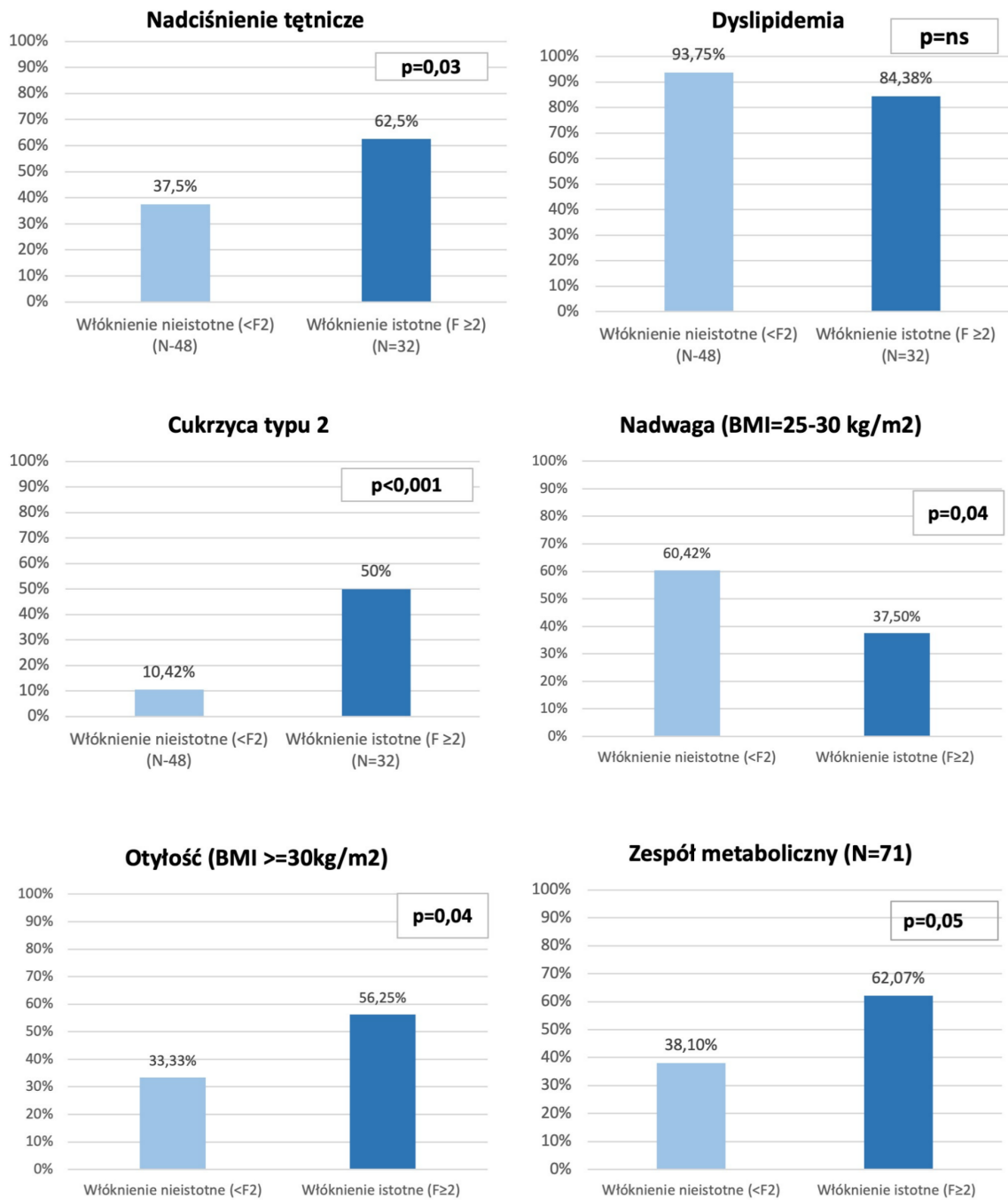
	Cała grupa (N=80)	Włóknienie małego stopnia (<F2) (N=48)	Włóknienie istotne (\geqF2) (N=32)	p	p'
AST (U/l)	51,5 (39-72)	47,5 (37,5-59,5)	61,5 (44-99)	0,010	0,020
ALT (U/l)	97 (75,5-138,5)	97 (77,5-141,5)	97 (68,5-125,5)	0,458	0,319
GGTP (U/l)	61,5 (39-126,5)	58,5 (41-118)	68,5 (35-153,5)	0,787	0,477
ALP (U/l)	84,5 (69,5-106)	86,5 (69-111)	84 (69,5-95,5)	0,902	0,756
Bilirubina (mg/dl)	0,58 (0,44-0,78)	0,57 (0,38-0,76)	0,58 (0,47- 0,79)	0,691	0,990
INR	1,08 (1,02-1,13)	1,06 (1,02-1,12)	1,09 (1,02- 1,15)	0,243	0,502
Albuminy (g/dl)	4,74 (4,46-4,93)	4,78 (4,55-6,4)	4,71 (4,44- 4,89)	0,175	0,190

Wartości wyrażono jako mediana (rozstęp międzykwartyłowy). Skróty: ALT, aminotransferaza alaninowa; AST, aminotransferaza asparaginianowa; ALP, fosfataza alkaliczna; GGTP, gamma-glutamylotranspeptydaza.

p – wartości uzyskane z testu U Manna-Whitneya, porównań dokonano między grupą z włóknieniem małego stopnia i istotnym; p' – wartości po uwzględnieniu wieku i BMI uzyskane z regresji liniowej

W grupie z istotnym włóknieniem częściej obserwowano nadciśnienie tętnicze (62,5% vs. 37,5%, $p=0,03$), cukrzycę typu 2 (50% vs. 10,42%, $p<0,001$), otyłość (56,25% vs. 33,33%, $p=0,04$) oraz zespół metaboliczny (62,07% vs. 38,10%, $p=0,05$), a rzadziej nadwagę (37,5% vs. 60,42%, $p=0,04$) w porównaniu do grupy z włóknieniem małego stopnia (Rycina 4).

Rycina 5. Częstość występowania chorób współistniejących w grupach bez i z istotnym włóknieniem wątroby w biopsji gruboigłowej wątroby



p – wartości uzyskane z testu chi-kwadrat

Analizując wartości nieinwazyjnych parametrów oceny włóknienia dla pacjentów z włóknieniem małego stopnia (<F2) w porównaniu z grupą z istotnym włóknieniem (\geq F2), we wszystkich zaobserwowano istotne różnice między ich medianami ($p < 0,001$). Grupy nie różniły się natomiast istotnie nieinwazyjnymi parametrami oceny stłuszczenia wątroby (Tabela 11).

Tabela 11. Porównanie nieinwazyjnych metod stłuszczenia i włóknienia wątroby w zależności od stopnia włóknienia wątroby ocenianego w biopsji gruboigłowej wątroby

	Cała grupa (N=80)	Włóknienie małego stopnia (<F2) (N=48)	Włóknienie istotne (\geqF2) (N=32)	p
Nieinwazyjne parametry oceny stłuszczenia wątroby				
Hepatic steatosis index	46,28 (42,21-49,86)	46,77 (42,74-49,87)	45,05 (40,58-49,61)	0,265
CAP (dB/m) (Fibroscan) (N=34)	300,5 (254-320)	286,5 (250,5-316,5)	311,5 (293-336)	0,132
Nieinwazyjne parametry oceny włóknienia wątroby				
AST/ALT ratio	0,51 (0,43-0,66)	0,491 (0,4-0,56)	0,69 (0,5-0,9)	<0,001
APRI	0,62 (0,43-1)	0,51 (0,365-0,72)	0,96 (0,6-1,4)	<0,001
FIB-4	0,87 (0,52-1,57)	0,62 (0,48-1,12)	1,57 (1,02-2,67)	<0,001
BARD (<2pkt/ \geq2 pkt)	55 (68,75%) / 25 (31,25%)	45 (93,75%) / 3 (6,25%)	10 (31,25%) / 22 (68,75%)	<0,001
NAFLD Fibrosis Score	-2,77 [(-3,79) - (-1,4)]	-3,57 [(-4,33) - (-2,4)]	-1,39 [(-2,88) - (-0,49)]	<0,001
LSM (kPa) (Fibroscan) (N=37)	6,2 (5,6-8,4)	5,8 (4,55-6,4)	8,4 (6,5-10,8)	0,001

Wartości są wyrażone jako mediana (rozstęp międzykwartyłowy), poza BARD (skala punktowa). Grupy porównano testem U Manna Whitneya. Skróty: APRI, stosunek aminotransferazy asparaginianowej do liczby płytek krwi; BARD- skala oceny włóknienia uwzględniająca BMI, AST, ALT, cukrzycę typu 2; CAP, kontrolowany parametr tłumienia, ang. controlled attenuation parameter; FIB-4 index, Fibrosis-4 index; LSM, pomiar sztywności wątroby, ang. liver stiffness measurement.

W biopsji gruboigłowej wątroby grupa z istotnym włóknieniem ($\geq F2$) charakteryzowała się istotnie wyższym stopniem zapalenia wątroby ($p=0,015$) w porównaniu do grupy z włóknieniem $<F2$. Z kolei obie grupy nie różniły się stopniem stłuszczenia ani zwyrodnienia balonowatego (Tabela 12).

Tabela 12. Wyniki innych składowych biopsji gruboigłowej wątroby w zależności od stopnia włóknienia wątroby

	Cała grupa (N=80)	Włóknienie małego stopnia ($<F2$) (N=48)	Włóknienie istotne ($\geq F2$) (N=32)	p
Stłuszczenie (%)	60 (35-70)	60 (35-80)	65 (37,5-70)	0,860
Stłuszczenie				
Stopień 1 (5-33%)	18 (22,5%)	12 (25%)	6 (18,75%)	0,792
Stopień 2 (34-66%)	23 (28,75%)	13 (27,1%)	10 (31,25%)	
Stopień 3 (67-100%)	39 (48,75%)	23 (47,92%)	16 (50%)	
Zapalenie				
Stopień 1 (<2 ogniska na 200 pól)	43 (53,75%)	31 (64,58%)	12 (37,5%)	0,015
Stopień 2 (2-4 ogniska na 200 pól)	28 (35%)	15 (31,25%)	13 (40,63%)	
Stopień 3 (>4 ogniska na 200 pól)	9 (11,25%)	2 (4,17%)	7 (21,88%)	
Zwyrodnienie balonowate				
Stopień 0 (Brak)	23 (28,75%)	13 (27,1%)	10 (31,25%)	0,623
Stopień 1 (Minimalne)	48 (60%)	30 (62,5%)	18 (56,25%)	
Stopień 2 (Obecne)	8 (10%)	5 (10,42%)	3 (9,38%)	
Stopień 3 (Wyraźne)	1 (1,25%)	0 (0%)	1 (3,125%)	

Stłuszczenie (%) wyrażony jest jako mediana (rozstęp międzykwartyłowy).

p – wartości uzyskane z testu chi-kwadra, porównań dokonano między grupą z włóknieniem małego stopnia i istotnym;

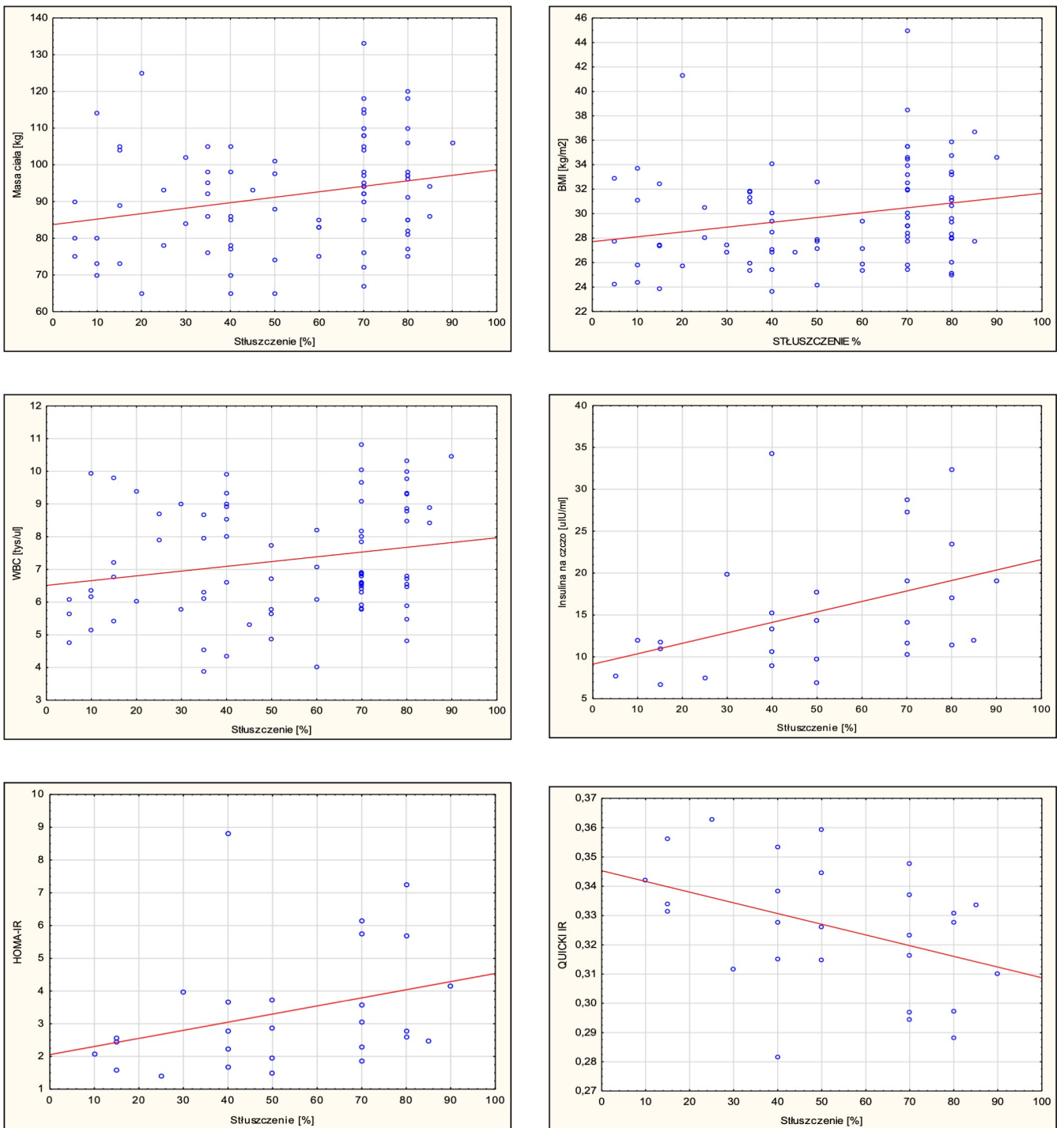
4.3 ANALIZA WYNIKÓW BIOPSI GRUBOIGŁOWEJ WĄTROBY W ODNIESIENIU DO POMIARÓW ANTROPOMETRYCZNYCH, BADAŃ LABORATORYJNYCH I OBRAZOWYCH

4.3.1. PROCENT STŁUSZCZENIA

Procent stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby korelował z masą ciała ($R=0,254$, $p=0,023$) oraz BMI ($R=0,279$, $p=0,012$) u pacjentów z MASLD. Ponadto po analizie badań laboratoryjnych, wykazano dodatnią korelację między odsetkiem stłuszczenia a liczbą leukocytów ($R=0,251$, $p=0,024$), stężeniem insuliny na czczo ($R=0,447$, $p=0,017$) oraz wskaźnikiem insulinooporności HOMA-IR ($R=0,411$, $p=0,033$) i odwrotną korelację ze wskaźnikiem insulinooporności QUICKI ($R=-0,411$, $p=0,033$) (Rycina 5).

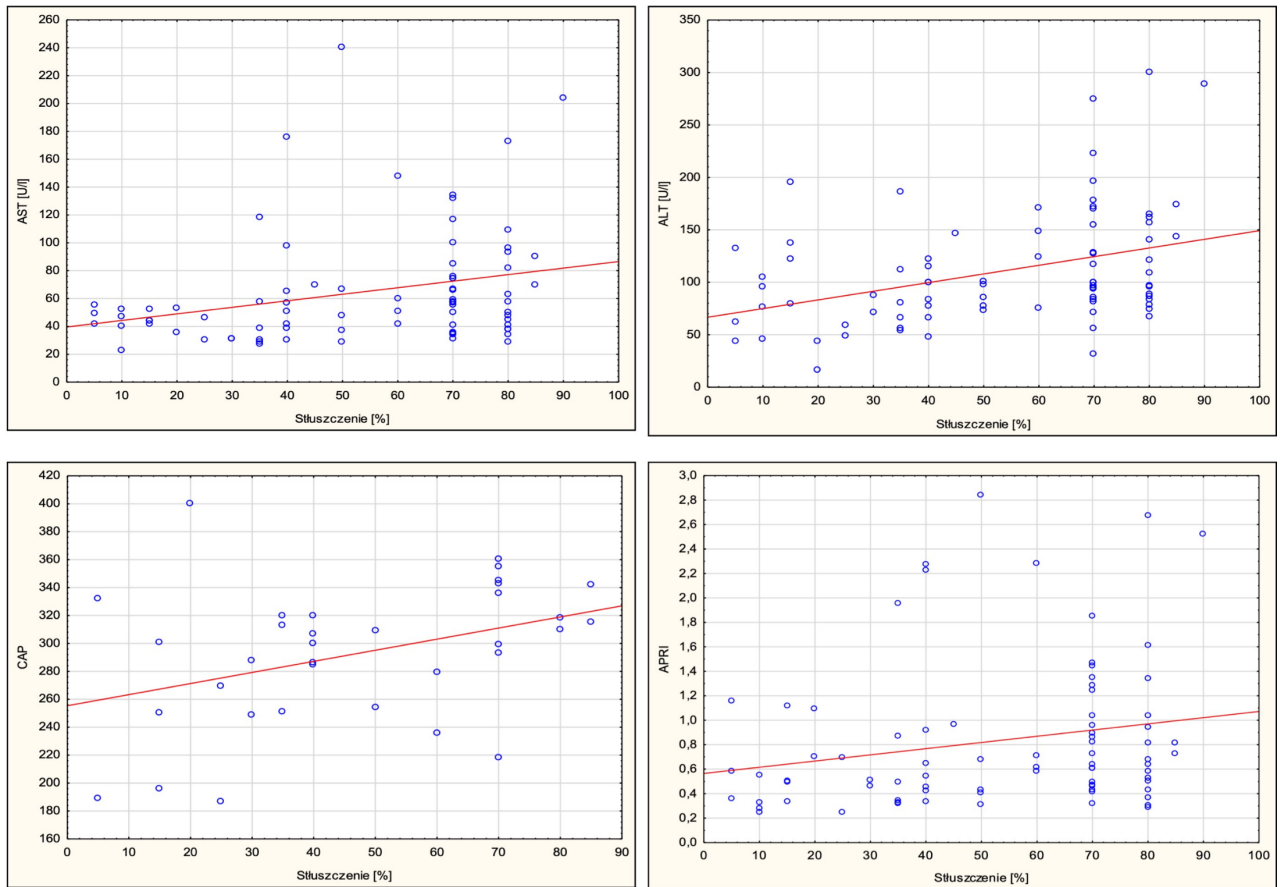
Biorąc pod uwagę parametry wątrobowe, stwierdzono dodatnią korelację między odsetkiem stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby a aktywnością ALT ($R=0,337$, $p=0,002$) i AST ($R=0,373$, $p=0,001$) oraz kontrolowanym parametrem tłumienia (CAP) dedykowanym do nieinwazyjnej oceny stłuszczenia w Fibroscanie ($R=0,415$, $p=0,014$). Również nieinwazyjny parametr włóknienia wątroby APRI korelował z zakresem stłuszczenia w biopsji wątroby ($R=0,258$, $p=0,021$) (Rycina 6).

Rycina 6. Związek między pomiarami antropometrycznymi i badaniami laboratoryjnymi a procentem stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby



BMI, wskaźnik masy ciała, ang. body mass index; HOMA-IR, model homeostazy do oceny insulinoporności; QUICKI, ilościowy wskaźnik oceny wrażliwości na insulinę; WBC, leukocyty.

Rycina 7. Związek między parametrami wątrobowymi a procentem stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby



ALT, aminotransferaza alaninowa; APRI, stosunek aminotransferazy asparginianowej do liczby płytek krwi; AST, aminotransferaza asparginianowa; CAP, kontrolowany parametr tłumienia, ang. controlled attenuation parameter.

4.3.2. STOPIEŃ STŁUSZCZENIA, ZAPALENIA, ZWYRODNIENIA BALONOWATEGO I WŁÓKNIENIA

W analizie wyników biopsji gruboigłowej wątroby wykazano dodatnią korelację między stopniem stłuszczenia wątroby a aktywnością enzymów wątrobowych AST ($R=0,345$, $p=0,002$) i ALT ($R=0,367$, $p<0,001$), między stopniem zapalenia wątroby a AST ($R=0,275$, $p=0,013$) oraz między stopniem włóknienia a AST ($R=0,272$, $p=0,015$) (Tabela 13). Nie wykazano istotnych różnic w aktywności żadnego z enzymów wątrobowych i cholestatycznych (AST, ALT, GGTP, ALP) u pacjentów ze stłuszczeniem prostym w porównaniu do pacjentów z MASH (Tabela 14). Również żaden ze wskaźników insulinooporności (HOMA-IR, QUICKI, TyG index, TG/HDL) nie dawał możliwości identyfikacji pacjentów z MASH (Tabela 15).

Tabela 13. Korelacja między parametrami wątrobowymi a stopniem stłuszczenia, zapalenia, zwyrodnienia balonowatego i włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby

	Stopień stłuszczenia	Stopień zapalenia	Stopień zwyrodnienia balonowatego	Stopień włóknienia
AST (U/l)	$R=0,345$ $p=0,002$	$R=0,275$ $p=0,013$	$R=0,195$ $p=0,083$	$R=0,272$ $p=0,015$
ALT (U/l)	$R=0,367$ $p<0,001$	$R=0,087$ $p=0,441$	$R=0,148$ $p=0,190$	$R=-0,121$ $p=0,285$
GGTP (U/l)	$R=-0,193$ $p=0,086$	$R=-0,110$ $p=0,332$	$R=-0,134$ $p=0,237$	$R=0,040$ $p=0,724$
ALP (U/l)	$R=-0,168$ $p=0,137$	$R=-0,188$ $p=0,095$	$R=-0,136$ $p=0,230$	$R=-0,073$ $p=0,520$
Bilirubina (mg/dl)	$R=-0,053$ $p=0,635$	$R=0,082$ $p=0,470$	$R=0,010$ $p=0,932$	$R=0,071$ $p=0,532$
INR	$R=-0,142$ $p=0,210$	$R=0,128$ $p=0,257$	$R=-0,121$ $p=0,286$	$R=0,206$ $p=0,067$
Albuminy (g/dl)	$R=0,056$ $p=0,628$	$R=0,091$ $p=0,430$	$R=0,071$ $p=0,539$	$R=-0,171$ $p=0,136$

ALT, aminotransferaza alaninowa; AST, aminotransferaza asparaginianowa; ALP, fosfataza alkaliczna; GGTP, gamma-glutamyl transpeptydaza. Współczynniki korelacji wyznaczono testem Spearmana.

Tabela 14. Związek między występowaniem MASH a aktywnością enzymów wątrobowych i cholestatycznych

	OR	p	95% CI
AST (U/l)	1,012	0,151	0,996-1,03
ALT (U/l)	1,007	0,173	0,997-1,018
GGTP (U/l)	0,997	0,072	0,994-1
ALP (U/l)	0,993	0,180	0,984-1,003

ALT, aminotransferaza alaninowa; AST, aminotransferaza asparaginianowa; ALP, fosfataza alkaliczna; GGT, gamma-glutamyl transpeptydaza; OR, iloraz szans; CI, przedział ufności. OR, p, 95% CI zostały uzyskane z prostej regresji logistycznej.

Tabela 15. Związek między występowaniem MASH a wskaźnikami insulinooporności

	OR	p	95% CI
HOMA-IR	1,19	0,588	0,634-2,232
QUICKI	1,93	0,525	3,96-9,36
TyG index	3,62	0,055	0,975-13,424
TG/HDL	1,28	0,104	0,95-1,72

HOMA-IR, model homeostazy do oceny insulinooporności; QUICKI, ilościowy wskaźnik oceny wrażliwości na insulinę; TyG index, wskaźnik triglicerydowo-glukozowy; OR, iloraz szans; CI, przedział ufności. OR, p, 95% CI zostały uzyskane z prostej regresji logistycznej.

Po analizie chorób współistniejących w regresji logistycznej stwierdzono, że wzrost stopnia włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby istotnie zwiększał ryzyko nadciśnienia tętniczego (OR=2,16; p=0,006; 95% CI=1,25-3,76) oraz zespołu metabolicznego (OR=1,89; p=0,024; 95% CI=1,09-3,29). Dodatkowo wzrost stopnia zwyrodnienia balonowego zwiększał ryzyko zespołu metabolicznego (OR=2,25; p=0,043; 95% CI=1,03-4,95) (Tabela 16).

Tabela 16. Związek występowania poszczególnych chorób współistniejących ze stopniem stłuszczenia, zapalenia, zwyrodnienia balonowatego i włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby

	Stłuszczenie	Zapalenie	Zwyrodnienie balonowate	Włóknienie
Nadciśnienie tętnicze	OR=1,08 p=0,775 95% CI= 0,62-1,87	OR=1,13 p=0,707 95% CI= 0,60-2,15	OR= 1,15 p=0,682 95% CI= 0,58-2,29	OR=2,16 p=0,006 95% CI= 1,25-3,76
Cukrzyca typu 2	OR=1,44 p=0,272 95% CI=0,75-2,79	OR=1,29 p=0,477 95% CI=0,63-26	OR=2,00 p=0,089 95% CI=0,90-4,47	OR=4,21 p=<0,001 95% CI=2,10- 8,45
Dyslipidemia	OR=0,64 p=0,385 95% CI=0,23-1,76	OR=1,20 p=0,745 95% CI=0,39-3,67	OR=2,84 p=0,121 95% CI=0,76- 10,61	OR=0,69 p=0,306 95% CI=0,33- 1,41
Zespół metaboliczny	OR=1,14 p=0,656 95% CI=0,64-2,04	OR=1,42 p=0,312 95% CI=0,72-2,80	OR=2,25 p=0,043 95% CI=1,03-4,95	OR=1,89 p=0,024 95% CI=1,09- 3,29

OR, iloraz szans; CI, przedział ufności. Wartości zostały uzyskane z prostej regresji logistycznej.

4.4 OCENA PRZYDATNOŚCI NIEINWAZYJNYCH METOD DIAGNOSTYCZNYCH W WYKRYWANIU ISTOTNEGO WŁÓKNIENIA WĄTROBY- PORÓWNANIE POSZCZEGÓLNYCH METOD.

Wszystkie nieinwazyjne metody oceny włóknienia istotnie dodatnio korelowały ze stopniem włóknienia wątroby w biopsji. Najwyższy współczynnik korelacji wykazywała skala BARD (R=0,626, p<0,001 (Tabela 17, Rycina 7).

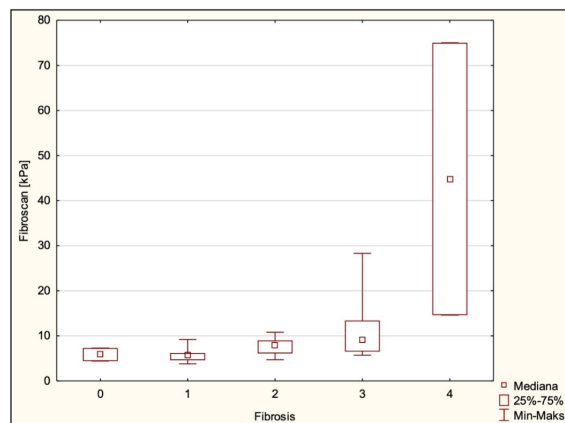
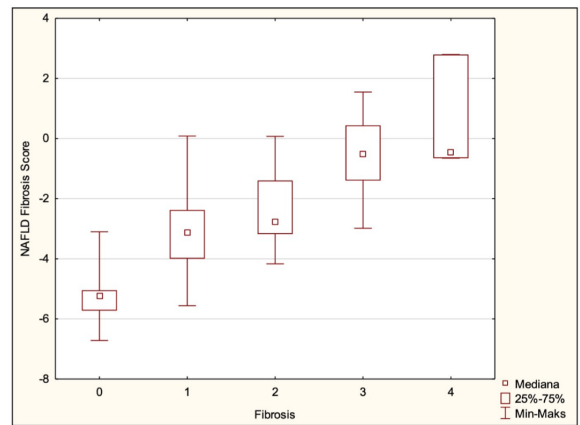
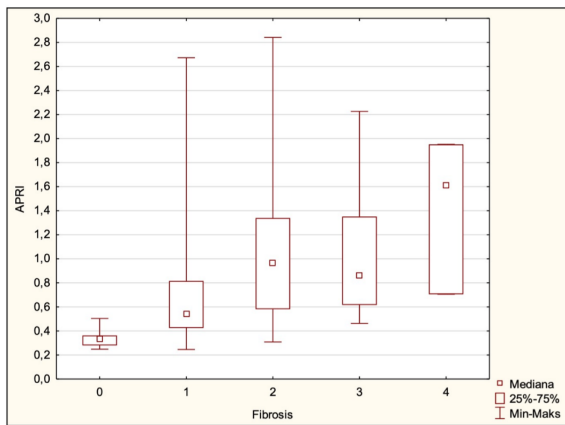
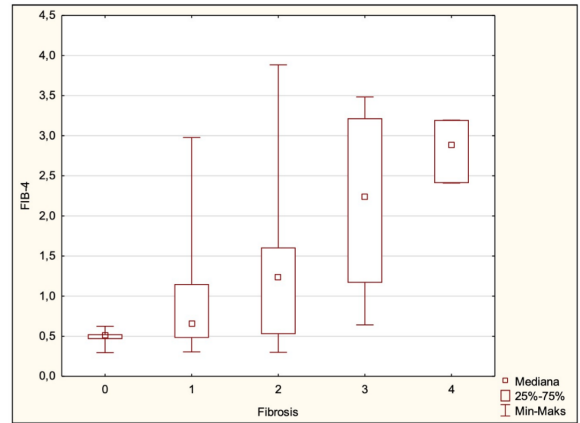
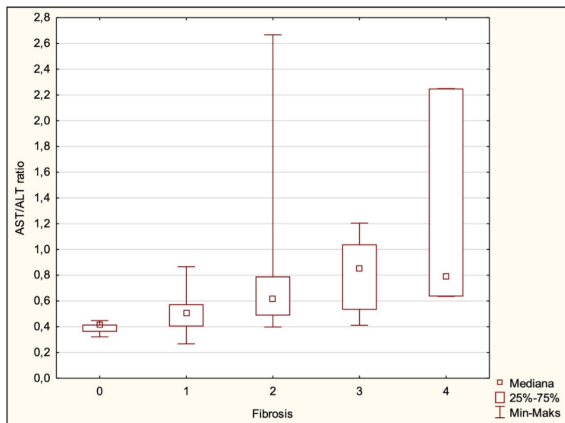
Tabela 17. Korelacja między poszczególnymi nieinwazyjnymi metodami oceny włóknienia a stopniem włóknienia wątroby w biopsji gruboigłowej wątroby

	R	p
AST/ALT ratio	0,563	<0,001
APRI	0,490	<0,001
FIB-4	0,556	<0,001
BARD (<2pkt/ ≥2 pkt)	0,626	<0,001
NAFLD Fibrosis Score	0,616	<0,001
LSM (Fibroscan) (kPa)	0,608	<0,001
(N=37)		

APRI, stosunek aminotransferazy asparaginianowej do liczby płytek krwi; BARD- skala oceny włóknienia uwzględniająca BMI, AST, ALT, cukrzycę typu 2; FIB-4 index, Fibrosis-4 index; LSM, pomiar sztywności wątroby, ang. liver stiffness measurement.

Współczynniki korelacji wyznaczono testem Spearmana.

Rycina 8. Wartości poszczególnych nieinwazyjnych wskaźników włóknienia a stopień włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby



Na podstawie wyników regresji logistycznej oceniono przydatność diagnostyczną poszczególnych nieinwazyjnych wskaźników do identyfikacji pacjentów z istotnym włóknieniem wątroby. Największy obszar pod krzywą ROC (AUROC) uzyskano dla Fibroscanu (AUROC=0,832), podczas gdy testy uwzględniające parametry biochemiczne wykazywały podobną przydatność diagnostyczną z nieznaczną przewagą FIB-4 i NAFLD Fibrosis Score (Rycina 8). Z kolei po uwzględnieniu powszechnie przyjętych punktów odcięcia, stosunek AST/ALT wykazuje najmniejszą wiarygodność (AUROC=0,66) (Tabela 18). Stosując kombinację testów biochemicznych takich jak FIB-4 lub NAFLD Fibrosis Score oraz Fibroscan wykazano wzrost ich przydatności diagnostycznej uzyskując AUROC= 0,894 dla FIB-4 i Fibroscanu oraz AUROC= 0,9 dla NAFLD Fibrosis Score i Fibroscanu (Rycina 9).

Uwzględniając przyjęte w literaturze punkty odcięcia, dla każdego ze wskaźników oceniono czułość, swoistość oraz dodatnią i ujemną wartość predykcijną w wykrywaniu istotnego włóknienia. W badanej grupie najlepszą czułością charakteryzowała się skala APRI (65,62% dla wyniku powyżej 0,7), cechowała się jednak także najniższą swoistością (72,92%). Stosunek AST/ALT $\geq 0,8$ wykazywał najwyższą swoistość (97,92%), ale jednocześnie najniższą czułość (34,38%). Biorąc pod uwagę zdolność testu do identyfikacji chorych z włóknieniem małego stopnia, którzy potencjalnie mogliby uniknąć biopsji wątroby wyrażonej poprzez ujemną wartość predykcijną, najlepszym testem wydaje się być FIB-4 (NPV=76,92%), a najmniej efektywnym stosunek AST/ALT (NPV=69,12%) (Tabela 18.).

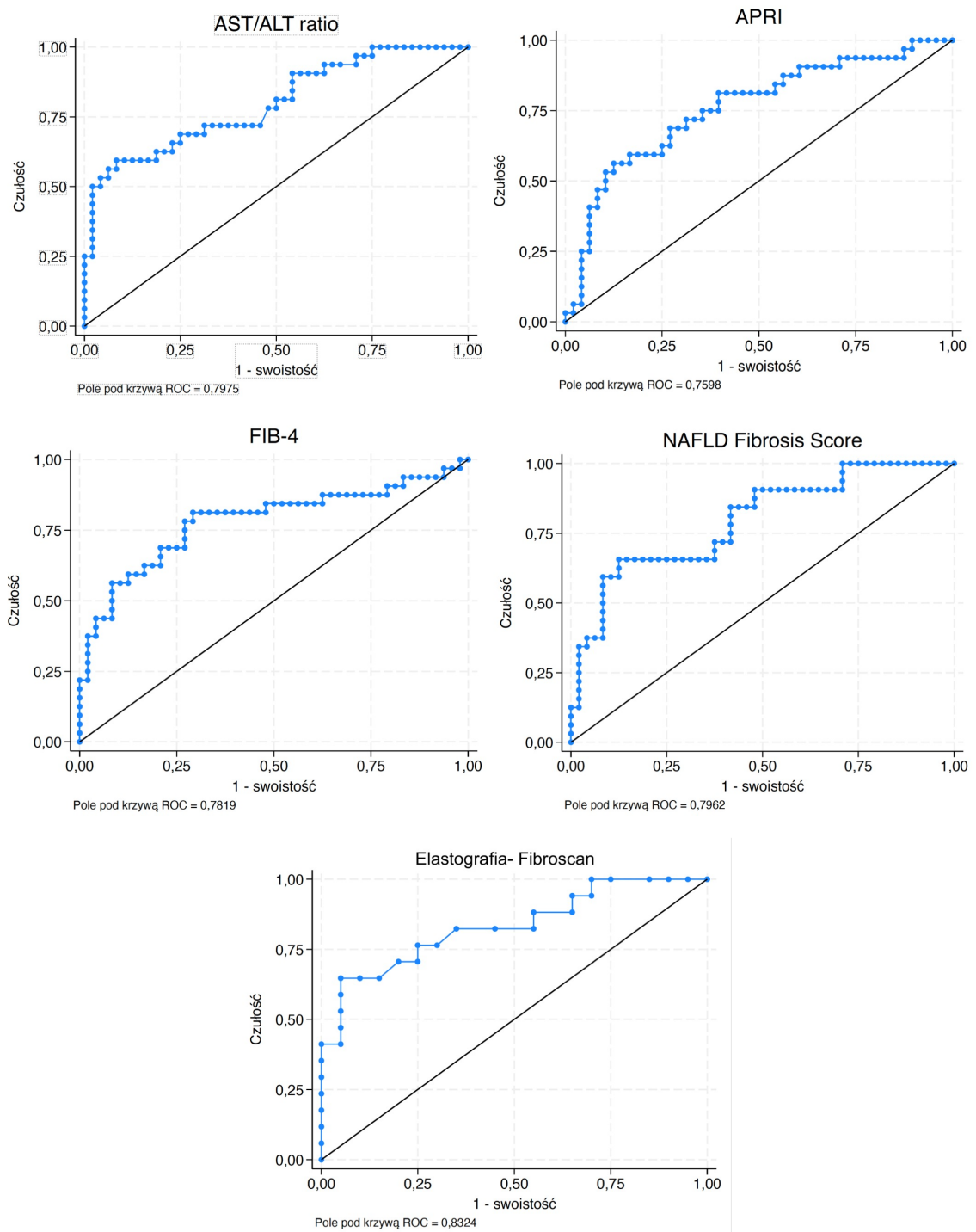
W kolejnym etapie analizy na podstawie indeksu Youdena oszacowano optymalne punkty odcięcia dla poszczególnych metod nieinwazyjnych oceny włóknienia w badanej grupie. Dla większości parametrów zaproponowane punkty odcięcia były niższe niż dotychczas prezentowane w literaturze, co wiązało się ze wzrostem czułości oraz ujemnej wartości predykcyjnej poszczególnych metod, przy niewielkim obniżeniu swoistości. Największą różnicę zaobserwowano dla stosunku AST/ALT – po przyjęciu punktu odcięcia 0,63 wskazującego na istotne włóknienie, czułość wzrosła z 34,38% do 59,38% (Tabela 18).

Tabela 18. Porównanie poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia na podstawie powszechnie przyjętych punktów odcięcia i na podstawie punktów odcięcia wyliczonych na podstawie indeksu Youdena

	Punkt odcięcia	AUROC	Czułość	Swiostość	PPV	NPV	DA
AST/ALT ratio	0,8	0,66	34,38%	97,92%	91,67%	69,12%	72,50%
	0,63	0,76	59,38%	91,67%	82,61%	77,19%	78,75%
APRI	0,7	0,73	65,62%	72,92%	61,76%	76,09%	70%
	0,69	0,71	68,75%	72,92%	62,86%	77,78%	71,25%
FIB-4	1,3	0,73	62,50%	83,33%	71,43%	76,92%	75%
	0,87	0,76	81,25%	70,83%	65,00%	85,00%	75%
NAFLD Fibrosis Score	-1,455	0,74	56,25%	91,67%	81,82%	75,86%	77,50%
	-1,84	0,77	65,62%	87,50%	77,78%	79,25%	78,75%
LSM (Fibroscan)	8	0,77	58,82%	95%	90,91%	73%	78,38%
	7,8	0,8	64,71%	95%	91,67%	76%	81,08%

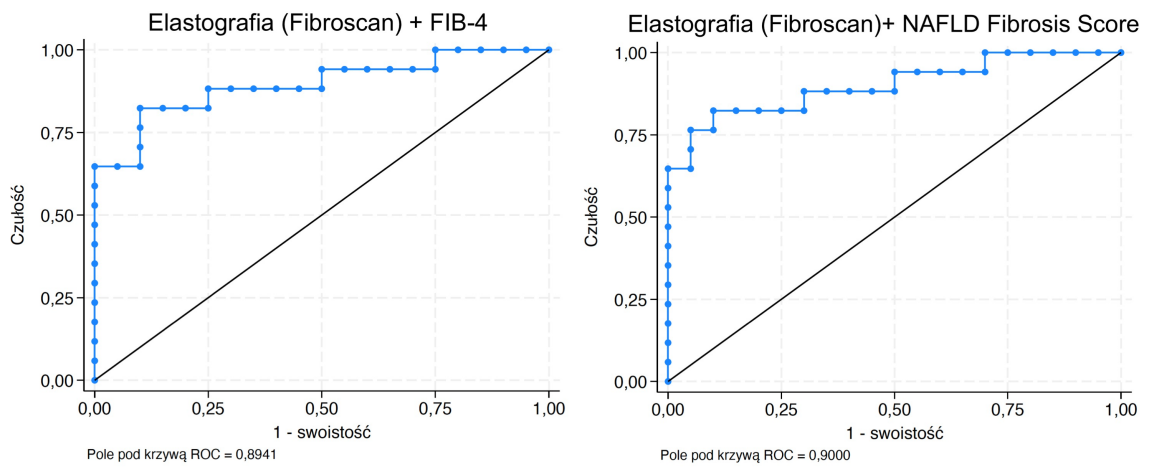
APRI, stosunek aminotransferazy asparginianowej do liczby płytek krwi; DA, dokładność diagnostyczna; FIB-4 index, Fibrosis-4 index; LSM, pomiar sztywności wątroby, ang. liver stiffness measurement, NPV, wartość predykcyjna ujemna; PPV, wartość predykcyjna dodatnia. Czułość, swoistość, PPV, NPV, p zostały uzyskane z regresji logistycznej.

Rycina 9. Porównanie poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia w wykrywaniu istotnego włóknienia wątroby



AST/ALT ratio, stosunek AST/ALT; APRI, stosunek aminotransferazy aspargianowej do liczby płytek krwi; FIB-4 index, Fibrosis-4 index; Fibroscan, pomiar sztywności wątroby, Czułość, swoistość, pole pod krzywą ROC zostały uzyskane z regresji logistycznej

Rycina 10. Porównanie kombinacji poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia w diagnostyce istotnego włóknienia



*FIB-4 index, Fibrosis-4 index; Fibroscan, pomiar sztywności wątroby
Czułość, swoistość, pole pod krzywą ROC zostały uzyskane z regresji logistycznej.*

5. DYSKUSJA

MASLD pierwszy raz została opisana przez Ludwig i wsp. w 1980 roku u 20 otyłych pacjentów ze zmianami histopatologicznymi w biopsji wątroby podobnymi do alkoholowej choroby wątroby, jednak bez wywiadu nadużywania alkoholu.⁶⁹ Obecnie jest najczęstszą przyczyną nieinfekcyjnego zapalenia wątroby na świecie. W badaniu przeprowadzonym wśród mieszkańców Stanów Zjednoczonych wykazano, że mniej niż 5% pacjentów z MASLD jest świadoma swojej choroby (w porównaniu z 38% świadomych chorych na wirusowe zapalenia wątroby).⁷⁰ Również według przeprowadzonych wielośrodkowych badań ankietowych na świecie wśród lekarzy rodzinnych, specjalistów endokrynologii, gastroenterologii i hepatologii, wiedza na temat tej choroby jest niewystarczająca, a częstość występowania MASLD w grupach wysokiego ryzyka jest zanizona.^{71,72} Współcześnie ocenia się, że co czwarty/co piąty z tej populacji to chory z MASH, które znacznie częściej niż stłuszczenie proste predysponuje do postępowania włóknienia, rozwinięcia marskości wątroby i jej konsekwencji. W niniejszym badaniu grupa chorych z MASH stanowiła aż 71,25%, co może wynikać z subiektywności interpretacji histopatologicznej, ale również z faktu, że do oddziału kierowani byli głównie chorzy z przewlekłe podwyższoną aktywnością enzymów wątrobowych (> 6 miesięcy), co pośrednio odzwierciedla stan zapalny w wątrobie i jest wskazaniem do biopsji gruboigłowej wątroby celem postawienia ostatecznego rozpoznania. Jednakże, w odróżnieniu od analizy ponad 500 pacjentów przez Brunt i wsp. gdzie wykazano zarówno istotnie wyższe wartości ALT jak i HOMA-IR oraz niższe wartości QUICKI u chorych z MASH w porównaniu do chorych bez stłuszczeniowego zapalenia,⁷³ w obecnym badaniu chcąc odróżnić chorych ze stłuszczeniem prostym i pacjentów z MASH, aktywność żadnego z enzymów wątrobowych i cholestatycznych (AST, ALT, GGTP, ALP) nie miała istotnego wpływu na różnicowanie chorych ze stłuszczeniem prostym i pacjentów z MASH. Również żaden ze wskaźników insulinooporności (HOMA-IR, QUICKI, TyG index czy TG/HDL) nie identyfikował tych chorych. Należy jednak zaznaczyć, że prawidłowa wartość aminotransferaz nie wyklucza MASH, co jest często podkreślane w literaturze.⁷⁴ Dodatkowo, przyczyną obserwowanych różnic może być niższa liczebność grupy badanej w obecnej pracy.

Kolejną szczególną grupą chorych z MASLD są pacjenci z MASH ze stopniem włóknienia \geq F2. Powinni oni być identyfikowani przez lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej, diabetologów, endokrynologów, kardiologów, a następnie ściśle

monitorowani przez ośrodki hepatologiczne pod kątem postępowania włóknienia, rozwoju marskości wątroby i jej konsekwencji. W Stanach Zjednoczonych marskość wątroby w przebiegu MASH jest obecnie drugim co do częstości wskazaniem do przeszczepienia narządu (po przewlekłym zapaleniu wątroby C).⁷⁵ Dlatego jednym z głównych celów przedstawionej pracy była charakterystyka chorych z włóknieniem o istotnym ryzyku ($\geq F2$). Częstość występowania MASLD rośnie wraz z wiekiem i w tym badaniu również grupa z istotnym włóknieniem miała wyższą medianę wieku w stosunku do grupy z włóknieniem $<F2$, jednak była to różnica nieistotna statystycznie. Dodatkowo w badanej grupie zwraca uwagę przewaga płci męskiej. Z kolei mediana wieku kobiet jest wyższa, co częściowo pokrywa się z wnioskami z innych doniesień, gdzie obserwowano istotnie wyższą częstość występowania MASLD u kobiet w wieku postmenopauzalnym w porównaniu do kobiet w wieku premenopauzalnym.⁷⁶

W wielu opracowaniach MASLD jest postrzegany jako wątrobowa manifestacja zespołu metabolicznego, co odzwierciedla zarówno nowa nomenklatura jak i kryteria rozpoznania tej choroby według najnowszych wytycznych EASL-EASD-EASO.^{15,77} W niniejszym badaniu kryteria samego zespołu metabolicznego spełniało niespełna 33,75% całej grupy pacjentów. Istotnym ograniczeniem tej pracy był jednak brak pomiaru obwodu talii u większości chorych, co mogło spowodować niedoszacowanie tej grupy. Mimo założenia, że pacjenci z $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ mają otyłość brzuszna, obecność zespołu metabolicznego udało się stwierdzić u 71 chorych. Z kolei w grupie z włóknieniem $\geq F2$ wykazano istotnie częstsze występowanie zespołu metabolicznego. Po analizie biopsji gruboigłowej wątroby, u chorych z zespołem metabolicznym obserwowano wyższy stopień zwyrodnienia balonowatego i włóknienia. W badaniu uwzględniającym biopsję gruboigłową wątroby wykonaną u 163 chorych z MASLD udowodniono, że obecność zespołu metabolicznego zwiększa ryzyko występowania MASH u chorych z MASLD.⁷⁸ Natomiast w badaniu Ryan M. Gill i wsp. wykazano istotny związek wzmożonego stopnia zwyrodnienia balonowatego i współwystępowania zespołu metabolicznego,⁷⁹ a w badaniu Kakisaka K. i wsp. występowała istotna dodatnia korelacja między wartością HOMA-IR odzwierciedlającą insulinooporność a stopniem zwyrodnienia balonowatego.⁸⁰ Również w populacji dzieci z MASLD obecność zespołu metabolicznego wiązała się z większym stopniem stłuszczenia, zwyrodnienia balonowatego i włóknienia w biopsji wątroby.⁸¹ Z kolei w przeciwieństwie do większości doniesień, w badaniu Uslusoy H. i wsp. uwzględniającym 81 pacjentów z MASLD

potwierdzoną w biopsji wątroby (40 mężczyzn i 41 kobiet) nie wykazano różnic w wynikach biopsji u chorych z i bez zespołu metabolicznego.⁸²

Częstość występowania MASLD rośnie na przestrzeni lat, proporcjonalnie do globalnego wzrostu otyłości. Szczególną rolę w patogenezie MASLD pełni otyłość brzuszna, której najlepszym wskaźnikiem jest powiększony obwód talii.⁸³ Z uwagi na retrospektywny charakter niniejszego badania, jego znacznym ograniczeniem była mała ilość pomiarów obwodu talii u pacjentów. Mimo to, na podstawie mniej doskonałego, ale bardziej powszechnie stosowanego wskaźnika BMI, jego nieprawidłowe wartości (≥ 25 kg/m²) zaobserwowano u 93,75% pacjentów z MASLD (nadwagę u 51,25%, a otyłość u 42,5%). W uzyskanych wynikach wykazano zarówno istotnie wyższe wartości BMI, jak i częstsze występowanie otyłości (BMI ≥ 30 kg/m²) w grupie chorych z włóknieniem $\geq F2$ w stosunku do grupy z małym włóknieniem ($< F2$), co odzwierciedla fakt, że otyłość jest niezależnym czynnikiem ryzyka progresji włóknienia wątroby i rozwoju marskości, a według piśmiennictwa także raka wątrobowokomórkowego.^{84,85} Dodatkowo, analogicznie do innych badań,⁸⁶ w obecnym opracowaniu zaobserwowano dodatnią korelację między procentem stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby a masą ciała oraz BMI u pacjentów z MASLD, co pośrednio tłumaczy fakt spadku stopnia stłuszczenia wraz z redukcją masy ciała już o 5% i podkreśla istotność zmniejszenia masy ciała w leczeniu chorych z MASLD.²⁹

Kolejnym po otyłości, niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju i progresji MASLD oraz raka wątrobowokomórkowego jest cukrzyca.⁸⁷⁻⁸⁹ Według metaanalizy z 20 prospektywnych badań, chorzy z MASLD mają dwukrotnie większe ryzyko rozwinięcia cukrzycy i zespołu metabolicznego.⁹⁰ Ponadto istnieją doniesienia sugerujące, że czas trwania cukrzycy i zła kontrola glikemii, wiążą się ze zwiększonym stopniem zwyrodnienia balonowatego i zaawansowanym włóknieniem.^{89,91,92} W niniejszym badaniu tylko 21 chorych (26,25%) z MASLD miało rozpoznaną cukrzycę, ale grupa chorych z istotnym włóknieniem ($\geq F2$) charakteryzowała się istotnie częstszym jej występowaniem w porównaniu do pacjentów z małym włóknieniem. Jednakże nie wykazano istotnych różnic w stopniu stłuszczenia, zapalenia, zwyrodnienia balonowatego ani włóknienia w biopsji wątroby u pacjentów z cukrzycą.

Dodatkowo, ostatnio pojawiły się badania sugerujące możliwość wykorzystania wskaźników insulinooporności w diagnostyce MASLD.^{93,94} Również w powyższym badaniu, po analizie wyników biopsji, zaobserwowano dodatnią korelację między

odsetkiem stłuszczenia a stężeniem insuliny na czczo oraz wskaźnikiem insulinooporności HOMA-IR i odwrotną korelację ze wskaźnikiem insulinooporności QUICKI. Z kolei jednym z mniej popularnych wskaźników insulinooporności uwzględniającym trójglicerydy i glukozę na czczo jest TyG index. W niektórych badaniach sugeruje się jego przydatność w identyfikacji chorych z MASLD, a także wzrost jego wartości u chorych wraz ze wzrostem włóknienia wątroby.^{95,96} W niniejszym badaniu u pacjentów z istotnym włóknieniem wykazano mniejsze wartości TyG index, co w głównej mierze wynika z niższych wartości trójglicerydów u chorych z istotnym włóknieniem. Należy jednak zwrócić uwagę, że ograniczeniem obecnego badania wynikającym z jego retrospektywnego charakteru były brak oznaczenia stężenia insuliny na czczo wraz z glikemią na czczo u części chorych, co powinno stanowić standard w postępowaniu u chorych z MASLD, tak aby móc stwierdzić insulinooporność i predyspozycję do cukrzycy.

Kolejnym istotnym czynnikiem ryzyka MASLD jest dyslipidemia. Według metaanalizy Younossi et al. obejmującej 86 badań z 22 krajów, częstość występowania dyslipidemii u chorych z MASLD waha się od 69 do 72%.¹⁶ MASLD wydaje się być również istotnym czynnikiem ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych, co wynika z patogenezy MASLD tj. insulinooporności, wzmożonej lipolizy i wątrobowej lipogenezy *de novo* prowadzących do dyslipidemii aterogennej. W przedstawionej pracy chorzy z dyslipidemią stanowią aż 90%, w grupie z włóknieniem <F2 93,75% vs. 84,38% w grupie z istotnym włóknieniem. Grupa pacjentów z włóknieniem \geq F2 charakteryzowała się istotnie niższymi wartościami cholesterolu całkowitego, frakcji nie-HDL oraz trójglicerydów. Wynika to najprawdopodobniej z zaburzonego metabolizmu lipidów, który pojawia się wraz ze wzrostem stopnia włóknienia wątroby.^{97 98} Mimo pozornej normalizacji lipidów, wraz ze wzrostem stopnia włóknienia rośnie insulinooporność,⁹⁸ a ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych w dalszym ciągu jest wysokie.^{98,99} W tej grupie chorych należy pamiętać o konieczności stosowania statyn, pomimo zazwyczaj podwyższonych wartości aktywności enzymów wątrobowych.¹⁴

U chorych z MASLD obserwuje się również współwystępowanie nadciśnienia tętniczego. Według piśmiennictwa częstość jego występowania waha się od 6,5 na 100 osobolat u chorych we wczesnym stadium choroby do 14,5 na 100 osobolat u chorych z marskością wątroby.¹⁰⁰ W niniejszym badaniu nadciśnienie tętnicze występowało u 38 chorych (47,5%) i zaobserwowano jego częstsze występowanie u chorych z istotnym

włóknieniem. Również analogicznie do innych badań po analizie wyników biopsji gruboigłowej wątroby wykazano, że u chorych z nadciśnieniem tętniczym obserwowano wyższy stopień włóknienia.

W przeprowadzonym badaniu kolejnymi parametrami, którymi istotnie różniły się obie grupy, były niższy poziom płytek krwi oraz wyższe stężenie kreatyniny i niższe eGFR u pacjentów z włóknieniem F2-F4. Również w prospektywnym nieinterwencyjnym badaniu Sanyal i wsp., analizującym 1772 pacjentów, obserwowano podobną tendencję, tj. spadek płytek krwi i spadek eGFR wraz ze wzrostem stopnia włóknienia wątroby.¹⁰⁰ W biopsji gruboigłowej wątroby grupa z istotnym włóknieniem charakteryzowała się istotnie wyższym stopniem zapalenia wątroby w porównaniu do grupy z włóknieniem <F2, co najpewniej wynika z indukcji fibrogenezy przez zapalenie.

Biorąc pod uwagę parametry wydolności wątroby (INR, albuminy, bilirubina), w niniejszym badaniu nie wykazano istotnych różnic między grupami bez i z istotnym włóknieniem. Wynika to najpewniej z małej liczebności chorych z zaawansowanym włóknieniem i marskością wątroby F3-F4 (N=14), a w innych doniesieniach to właśnie ta grupa różniła się istotnie tymi parametrami.¹⁰¹ Poza tym istotna małopłytkowość i wydłużony czas protrombinowy, charakterystyczny dla chorych z marskością wątroby, jest przeciwwskazaniem do wykonania biopsji, co wykluczało ich z naszej analizy.

W praktyce klinicznej najczęstszą przyczyną kierowania pacjentów do Oddziału Hepatologii i wskazaniem do wykonania biopsji wątroby jest przewlekłe podwyższona aktywność enzymów wątrobowych (>6 miesięcy), zazwyczaj z przewagą ALT i GGTP.¹⁰² Niemniej jednak w obecnym badaniu porównując grupy z małym i z istotnym włóknieniem istotną statystycznie różnicę stwierdzono jedynie w przypadku poziomu aktywności AST. Dodatkowo w analizie wyników biopsji gruboigłowej wątroby wykazano dodatnią korelację między stopniem zapalenia wątroby a AST oraz między stopniem włóknienia wątroby a AST. Biorąc pod uwagę procent jak i stopień stłuszczenia w biopsji, w niniejszym badaniu stwierdzono natomiast ich dodatnią korelację zarówno z aktywnością ALT jak i AST. Wątpliwość może stanowić brak odniesienia się do norm laboratoryjnych oraz niższy prawidłowy próg wartości ALT u chorych z MASLD (według AASLD 29-33 U/l dla mężczyzn i 19-25 U/l dla kobiet), ale również przy ich uwzględnieniu w naszym badaniu obie grupy się nie różniły. Należy podkreślić, że według wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Badań nad Chorobami Wątroby, sam poziom AST nie jest ani czuły, ani specyficzny dla identyfikacji MASLD / MASH

z zaawansowanym włóknieniem.¹⁴ Zwraća jednak uwagę fakt, że w większości nieinwazyjnych metod oceny włóknienia wątroby, to właśnie AST jest enzymem, który bierze się pod uwagę razem z innymi parametrami. Poza tym, mimo braku udowodnionych wystarczających zdolności diagnostycznych w identyfikacji chorych z MASH, na podstawie powszechnie oznaczanych podwyższonych enzymów wątrobowych w połączeniu z chorobami współistniejącymi (otyłość, stan przedcukrzycowy/cukrzyca, dyslipidemia, nadciśnienie tętnicze) można wysunąć silne podejrzenie MASH bez wykonywanej biopsji wątroby. Niemniej jednak często wynik biopsji wątroby pozwala na ostateczne rozpoznanie i jednoznaczne wykluczenie innych patologii wątroby oraz na definitywne określenie stopnia włóknienia narządu, co może część chorych motywować do zmiany stylu życia a w praktyce klinicznej pozwala na dopasowanie zaleceń i leczenia do poszczególnych chorych. Swoistą grupę pacjentów stanowią chorzy z obecnością chorób współistniejących i MASLD prezentujący prawidłową aktywność enzymów wątrobowych, u których bez regularnej oceny i kontroli stopnia włóknienia wątroby można przeoczyć rozwijającą się marskość narządu.

Biopsja wątroby, która pozwala na jednoznaczne rozpoznanie, jest procedurą inwazyjną, niesie za sobą ryzyko powikłań, a jej dostępność jest ograniczona. Rejestracja leku przeznaczonego do leczenia chorych z MASH w stadium włóknienia nie mniejszym niż F2, skłania do wprowadzenia coraz doskonalszych nieinwazyjnych metod oceny stłuszczenia, zapalenia oraz włóknienia wątroby alternatywnie do biopsji narządu. Istnieje wiele biochemicznych metod oceny stłuszczenia wątroby (Fatty liver index, Hepatic steatosis index, NAFLD liver fat score, SteatoTest, NAFLD ridge score) opartych na danych klinicznych i prostych oraz dostępnych badaniach laboratoryjnych. Z uwagi na retrospektywny charakter i braki w oznaczeniach obwodu talii czy insuliny na czczo, w niniejszym badaniu oznaczono jedynie Hepatic steatosis index. Istotnym jego ograniczeniem jest fakt, że został stworzony na podstawie stwierdzenia obecności stłuszczenia w USG jamy brzusznej, które wykrywa dopiero około 30% stłuszczenia wątroby.¹⁰³ W powyższym opracowaniu, po uwzględnieniu najdokładniejszego badania, jakim jest biopsja gruboigłowa, nie wykazano jego korelacji z odsetkiem stłuszczenia wątroby ani stopniem stłuszczenia wątroby.

Powszechną, nie wszędzie dostępną, nieinwazyjną metodą oceny stłuszczenia jest kontrolowany parametr tłumienia (Controlled attenuation parameter, CAP) oznaczany w Fibroscanie. W niniejszym badaniu odsetek stłuszczenia w biopsji wątroby dodatkowo korelował z CAP. Co ciekawe, również nieinwazyjny parametr włóknienia wątroby APRI

słabo korelował z procentem stłuszczenia w biopsji wątroby, jednak w piśmiennictwie nie ma żadnych doniesień dotyczących jego ewentualnej zdolności diagnostycznej stłuszczenia narządu.

W sytuacji dostępności leków wiarygodna ocena włóknienia w kwalifikacji do leczenia ma szczególne znaczenie, a wykonywanie każdemu pacjentowi biopsji wątroby stałoby się kłopotliwe, dlatego szczególnej wartości w postępowaniu klinicznym nabierają nieinwazyjne wskaźniki włóknienia wątroby. W obecnym badaniu oznaczono najpowszechniejsze z nich, tj. stosunek AST/ALT, FIB-4, APRI, NAFLD Fibrosis Score, skalę BARD oraz u części chorych wykonano pomiar sztywności wątroby (LSM) w Fibroscanie. Skala BARD z uwagi na wartości o charakterze skokowym została pominięta z analiz dotyczących pola pod krzywą ROC, oznaczenia czułości, swoistości, pozytywnej i negatywnej wartości predykcyjnej. Przewidywalnie, wszystkie ze wskaźników były istotnie wyższe w grupie z istotnym włóknieniem ($\geq F2$) w porównaniu do grupy z włóknieniem małego stopnia ($< F2$) oraz korelowały ze stopniem włóknienia w biopsji wątroby. Najwyższy współczynnik korelacji wykazywała skala BARD, a najniższy skala APRI. Jedną z metod oceny wiarygodności i porównania wszystkich nieinwazyjnych wskaźników oceny włóknienia jest oznaczenie pola pod krzywą ROC (AUROC). Największy obszar pod krzywą ROC (AUROC) uzyskano dla Fibroscanu, podczas gdy testy uwzględniające parametry biochemiczne wykazywały podobną przydatność diagnostyczną z niewielką przewagą skali FIB-4 i NAFLD Fibrosis Score. Niewątpliwym ograniczeniem tej obserwacji są braki w oznaczeniu sztywności wątroby (LSM) w Fibroscan u wszystkich chorych. Mimo to, podobne wnioski dotyczące wyższości pomiaru LSM w Fibroscanie nad innymi testami wysunięto w meta-analizie obejmującej 5735 pacjentów, porównującej proste wskaźniki oceny włóknienia wątroby, w której pole pod krzywą ROC dla pomiaru sztywności wątroby (LSM) wynosiła 0,85. Biorąc pod uwagę biochemiczne wskaźniki oceny włóknienia, w opracowaniu Mózes i wsp. najlepszą wiarygodnością cechowała się skala FIB-4 (AUROC=0,76) oraz NAFLD Fibrosis Score (AUROC=0,73), z kolei stosunek AST/ALT charakteryzowała się najniższą przydatnością diagnostyczną (AUROC=0,64).¹⁰¹ W innych doniesieniach również wykazano przewagę LSM w Fibroscanie nad innymi testami biochemicznymi.¹⁰⁴⁻¹⁰⁷ Z kolei w pracy analizującej nieinwazyjne wskaźniki włóknienia takie jak ELF (Enhanced liver fibrosis) czy FibroMeter dowiedziono ich przewagę nad LSM w Fibroscanie.¹⁰⁴ Niewątpliwym ograniczeniem powyższego badania jest brak oznaczenia tych wskaźników, niemniej ich dostępność w praktyce

klinicznej jest znacznie ograniczona. Okazuje się również, że kombinacja i wykonanie dwóch nieinwazyjnych testów włóknienia wątroby ELF-Fibroscan, FibroMeter-Fibroscan, FIB-4-Fibroscan, czy NAFLD Fibrosis Score-Fibroscan istotnie zwiększa ich skuteczność w identyfikacji chorych z zaawansowanym włóknieniem wątroby.^{101,107,108} Również w obecnym opracowaniu udowodniono poprawę przydatności diagnostycznej kombinacji testów uzyskując AUROC= 0,894 dla FIB4-Fibroscan oraz AUROC= 0,9 dla NAFLD Fibrosis Score-Fibroscan.

Odnosząc się do piśmiennictwa, większość analiz nieinwazyjnych wskaźników włóknienia wątroby przeprowadzona była u chorych z innymi niż MASLD przewlekłymi zapaleniami wątroby (najczęściej z przewlekłym zapaleniem wątroby C). Ponadto, pod uwagę była brana ich zdolność do wykluczania lub potwierdzania zaawansowanego włóknienia na poziomie F3-F4. Jednak w wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Badań nad Chorobami Wątroby, pacjenci z MASH i włóknieniem już na poziomie \geq F2 mają zwiększone ryzyko rozwoju marskości wątroby i jej powikłań. Dlatego w powyższej pracy uwzględniono grupy F0-F1 i F2-F4 oraz określono wartość poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia w wykluczaniu istotnego włóknienia (\geq F2). Istnieją doniesienia uwzględniające grupy chorych \geq F2 i okazuje się, że zdolność poszczególnych testów do identyfikacji tych chorych jest niższa niż ich skuteczność w przypadku diagnostyki włóknienia \geq F3.^{104,109} Dodatkowo, w powyższym opracowaniu, aby poprawić wartość diagnostyczną poszczególnych testów, wyliczono nowe punkty odcięcia na podstawie indeksu Youdena. Na podstawie powyższych wyników, aby możliwie najlepiej wykryć włóknienie \geq F2 w badanej grupie należałoby przyjąć punkt odcięcia: 0,63 dla stosunku AST/ALT, 0,87 dla FIB-4, -1,84 dla NAFLD Fibrosis Score, 0,69 dla APRI i 7,8 kPa dla LSM w Fibroscanie. W wytycznych Europejskich Towarzystw (EASL-EASO-EASD) opublikowanych w 2024 roku również wyróżnia się konieczność przyjęcia niższego punktu odcięcia w skali FIB-4 w zakresie 0,66-0,89 celem wykluczenia włóknienia F2 i wyższego, co pokrywa się z wynikami niniejszego badania.¹⁵ Należy zwrócić uwagę, że po przyjęciu nowego punktu odcięcia, skuteczność testów wyrażona poprzez AUROC rośnie. Wyjątek stanowi wskaźnik APRI, gdzie nowy punkt odcięcia jest niemal identyczny z powszechnie przyjętym (zmiana z 0,7 na 0,69). Biorąc pod uwagę wszystkie parametry testów biochemicznych, najlepsze w wykrywaniu istotnego włóknienia wydają się być NAFLD Fibrosis Score oraz FIB-4, co również znajduje potwierdzenie w większości innych doniesień.^{101,109} W piśmiennictwie wykazano również, że dokładność diagnostyczna poszczególnych

testów spada u chorych w wieku <35 lat i ≥ 65 lat, a także u pacjentów o prawidłowej masie ciała, z otyłością olbrzymią, chorych na cukrzycę typu 2 czy z prawidłowymi wartościami aminotransferaz.^{106,110-112} McPherson i wsp. sugerują przyjęcie wyższego punktu odcięcia dla FIB-4 równego 2 u pacjentów w wieku ≥ 65 lat celem wykluczenia istotnego włóknienia, co również podkreślane jest w najnowszych rekomendacjach Europejskich Towarzystw (EASL-EASD-EASO)^{15,112} a Ishiba i wsp. po analizie 1050 chorych wyznaczyli dolne (wykluczające zaawansowane włóknienie) i górne (potwierdzające zaawansowane włóknienie) punkty odcięcia dla poszczególnych kategorii wiekowych: 1,05 i 1,21 dla grupy ≤ 49 lat, 1,24 i 1,96 dla chorych między 50 a 59 rokiem życia, 1,88 i 3,24 dla pacjentów w wieku między 60 a 69 lat i 1,95 i 4,56 dla osób po 70 roku życia.¹¹³ Z kolei Green i wsp. wykazali większą korzyść przy przyjęciu niższych punktów odcięcia dla FIB-4 (0,88 oraz 1,24) celem wykluczenia lub potwierdzenia zaawansowanego włóknienia u chorych otyłych.¹¹⁴ W powyższym badaniu grupa chorych była jednak zbyt mała, aby móc podzielić chorych na poszczególne grupy względem wieku czy masy ciała, jednak należy zwrócić uwagę, że mediana wieku naszej grupy wynosiła 37 lat, z kolei w grupie z włóknieniem $<F2$ wynosiła 35 lat, co również może mieć wpływ na korzystność przyjęcia niższych punktów odcięcia w wykrywaniu włóknienia $\geq F2$ w badanej grupie.

Należy wymienić kilka ograniczeń niniejszego opracowania takich jak: braki w oznaczeniu niektórych parametrów u wszystkich pacjentów (obwód talii, stężenie insuliny na czczo, pomiar sztywności wątroby w Fibroscanie), brak weryfikacji histopatologicznej przez drugiego patomorfologa, mała grupa chorych z zaawansowanym włóknieniem F3-F4 czy brak follow-up i oceny wpływu wdrożonego postępowania na postęp choroby. Z kolei niewątpliwym atutem naszego badania jest grupa chorych z rozpoznaniem MASLD na podstawie złotego standardu diagnostycznego jakim jest biopsja gruboigłowa wątroby, co pozwala na dokładną analizę tych chorych pod kątem danych klinicznych, wyników badań biochemicznych i obrazowych oraz porównanie i odniesienie poszczególnych nieinwazyjnych testów oceny włóknienia wątroby do wyników biopsji narządu.

6. WNIOSKI I PODSUMOWANIE

1. MASLD jest ściśle związana z zespołem metabolicznym oraz otyłością, cukrzycą, dyslipidemią i nadciśnieniem tętniczym. Pacjentów z tymi schorzeniami należy ściśle monitorować pod kątem zapalenia wątroby i postępującego włóknienia narządu.
2. Nieinwazyjne testy oceny włóknienia wątroby oparte na danych klinicznych i dostępnych badaniach biochemicznych wydają się być przydatne w ocenie stopnia włóknienia wątroby w codziennej praktyce klinicznej.
3. Rola nieinwazyjnych testów oceny włóknienia wydaje się mieć szczególne znaczenie w sytuacji, gdy pojawiło się leczenie przeznaczone dla chorych z MASH z istotnym włóknieniem (F2-F3).
4. Najlepszym nieinwazyjnym testem oceny włóknienia wątroby jest pomiar sztywności wątroby w Fibroscan, z kolei najskuteczniejszym testem opartym na badaniach biochemicznych jest FIB-4 lub NAFLD Fibrosis Score.
5. Stosując nieinwazyjne metody oceny włóknienia wątroby należy rozważyć przyjęcie niższego punktu odcięcia celem diagnostyki istotnego włóknienia u chorych z MASLD lub zastosować dwie metody jednocześnie.
6. W przypadkach pacjentów o niejasnym obrazie klinicznym, z wątpliwym wynikiem testów nieinwazyjnych, z szybko postępującym włóknieniem według metod nieinwazyjnych, biopsja gruboigłowa wątroby pozostaje złotym standardem diagnostycznym.

7. PIŚMIENNICTWO

1. World Health Organization. Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. World Obesity Federation. Prevalence of Obesity. <https://www.worldobesity.org/about/about-obesity/prevalence-of-obesity>
3. (NCD-RisC) NRFC. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19·2 million participants. *Lancet*. Apr 02 2016;387(10026):1377-1396. doi:10.1016/S0140-6736(16)30054-X
4. (NCD-RisC) NRFC. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. Dec 16 2017;390(10113):2627-2642. doi:10.1016/S0140-6736(17)32129-3
5. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. Jul 1998;15(7):539-53. doi:10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S
6. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. May 1999;16(5):442-3. doi:10.1046/j.1464-5491.1999.00059.x
7. Expert Panel on Detection Ea, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. May 16 2001;285(19):2486-97. doi:10.1001/jama.285.19.2486
8. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. Oct 25 2005;112(17):2735-52. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404
9. Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb*. 2005;12(6):295-300. doi:10.5551/jat.12.295

10. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. Oct 20 2009;120(16):1640-5. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644
11. Kowalska I, Straczkowski M, Nikolajuk A, et al. Insulin resistance, serum adiponectin, and proinflammatory markers in young subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism*. Nov 2008;57(11):1539-44. doi:10.1016/j.metabol.2008.06.008
12. Noubiap JJ, Nansseu JR, Lontchi-Yimagou E, et al. Geographic distribution of metabolic syndrome and its components in the general adult population: A meta-analysis of global data from 28 million individuals. *Diabetes Res Clin Pract*. Jun 2022;188:109924. doi:10.1016/j.diabres.2022.109924
13. Magliano DJ, Boyko EJ, committee IDAtes. IDF DIABETES ATLAS. 2021.
14. Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, et al. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. May 01 2023;77(5):1797-1835. doi:10.1097/HEP.0000000000000323
15. easloffice@easloffice.eu EAftSotLEEA, (EASD) EAftSoD, (EASO) EAftSoO, (EASL) EAftSotL. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). *J Hepatol*. Jun 05 2024;doi:10.1016/j.jhep.2024.04.031
16. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. Jul 2016;64(1):73-84. doi:10.1002/hep.28431
17. En Li Cho E, Ang CZ, Quek J, et al. Global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus: an updated systematic review and meta-analysis. *Gut*. Nov 2023;72(11):2138-2148. doi:10.1136/gutjnl-2023-330110
18. Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology*. Apr 2012;142(4):711-725.e6. doi:10.1053/j.gastro.2012.02.003
19. Hardy T, Oakley F, Anstee QM, Day CP. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis and Disease Spectrum. *Annu Rev Pathol*. May 23 2016;11:451-96. doi:10.1146/annurev-pathol-012615-044224

20. Ng CH, Lim WH, Hui Lim GE, et al. Mortality Outcomes by Fibrosis Stage in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Apr 2023;21(4):931-939.e5. doi:10.1016/j.cgh.2022.04.014
21. Dulai PS, Singh S, Patel J, et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. May 2017;65(5):1557-1565. doi:10.1002/hep.29085
22. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Apr 2015;13(4):643-54.e1-9; quiz e39-40. doi:10.1016/j.cgh.2014.04.014
23. Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology*. Jan 2018;67(1):123-133. doi:10.1002/hep.29466
24. Wong VW, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GL, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. Aug 2018;15(8):461-478. doi:10.1038/s41575-018-0014-9
25. Li G, Zhang X, Lin H, Liang LY, Wong GL, Wong VW. Non-invasive tests of non-alcoholic fatty liver disease. *Chin Med J (Engl)*. Jan 27 2022;135(5):532-546. doi:10.1097/CM9.0000000000002027
26. Liang JX, Ampuero J, Niu H, et al. An individual patient data meta-analysis to determine cut-offs for and confounders of NAFLD-fibrosis staging with magnetic resonance elastography. *J Hepatol*. Sep 2023;79(3):592-604. doi:10.1016/j.jhep.2023.04.025
27. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. Jun 2005;41(6):1313-21. doi:10.1002/hep.20701
28. Cusi K, Isaacs S, Barb D, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Primary Care and Endocrinology Clinical Settings: Co-Sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *Endocr Pract*. May 2022;28(5):528-562. doi:10.1016/j.eprac.2022.03.010
29. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic

- Steatohepatitis. *Gastroenterology*. Aug 2015;149(2):367-78.e5; quiz e14-5. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.005
30. Guirguis E, Dougherty J, Thornby K, Grace Y, Mack K. Resmetirom: The First Food and Drug Administration-Approved Medication for Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Ann Pharmacother*. Jun 17 2024;10600280241259528. doi:10.1177/10600280241259528
31. McCarthy EM, Rinella ME. The role of diet and nutrient composition in nonalcoholic Fatty liver disease. *J Acad Nutr Diet*. Mar 2012;112(3):401-9. doi:10.1016/j.jada.2011.10.007
32. Rosqvist F, Kullberg J, Ståhlman M, et al. Overeating Saturated Fat Promotes Fatty Liver and Ceramides Compared With Polyunsaturated Fat: A Randomized Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. Dec 01 2019;104(12):6207-6219. doi:10.1210/jc.2019-00160
33. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. May 2010;7(5):251-64. doi:10.1038/nrgastro.2010.41
34. Ishimoto T, Lanaspas MA, Rivard CJ, et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology*. Nov 2013;58(5):1632-43. doi:10.1002/hep.26594
35. Pugliese N, Plaz Torres MC, Petta S, Valenti L, Giannini EG, Aghemo A. Is there an 'ideal' diet for patients with NAFLD? *Eur J Clin Invest*. Mar 2022;52(3):e13659. doi:10.1111/eci.13659
36. Francque SM, Marchesini G, Kautz A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. *JHEP Rep*. Oct 2021;3(5):100322. doi:10.1016/j.jhepr.2021.100322
37. Eslam M, Sarin SK, Wong VW, et al. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver clinical practice guidelines for the diagnosis and management of metabolic associated fatty liver disease. *Hepatol Int*. Dec 2020;14(6):889-919. doi:10.1007/s12072-020-10094-2
38. Turati F, Trichopoulos D, Polesel J, et al. Mediterranean diet and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. Mar 2014;60(3):606-11. doi:10.1016/j.jhep.2013.10.034
39. Ma Y, Yang W, Simon TG, et al. Dietary Patterns and Risk of Hepatocellular Carcinoma Among U.S. Men and Women. *Hepatology*. Aug 2019;70(2):577-586. doi:10.1002/hep.30362

40. Chen YP, Lu FB, Hu YB, Xu LM, Zheng MH, Hu ED. A systematic review and a dose-response meta-analysis of coffee dose and nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Nutr*. Dec 2019;38(6):2552-2557. doi:10.1016/j.clnu.2018.11.030
41. Battista F, Ermolao A, van Baak MA, et al. Effect of exercise on cardiometabolic health of adults with overweight or obesity: Focus on blood pressure, insulin resistance, and intrahepatic fat-A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. Jul 2021;22 Suppl 4(Suppl 4):e13269. doi:10.1111/obr.13269
42. Harrison SA, Bedossa P, Guy CD, et al. A Phase 3, Randomized, Controlled Trial of Resmetirom in NASH with Liver Fibrosis. *N Engl J Med*. Feb 08 2024;390(6):497-509. doi:10.1056/NEJMoa2309000
43. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. May 06 2010;362(18):1675-85. doi:10.1056/NEJMoa0907929
44. Bril F, Biernacki DM, Kalavalapalli S, et al. Role of Vitamin E for Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*. Aug 2019;42(8):1481-1488. doi:10.2337/dc19-0167
45. Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. Nov 30 2006;355(22):2297-307. doi:10.1056/NEJMoa060326
46. Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, et al. Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. Oct 2008;135(4):1176-84. doi:10.1053/j.gastro.2008.06.047
47. Cusi K, Orsak B, Bril F, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. Sep 06 2016;165(5):305-15. doi:10.7326/M15-1774
48. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet*. Feb 13 2016;387(10019):679-690. doi:10.1016/S0140-6736(15)00803-X
49. Newsome PN, Buchholtz K, Cusi K, et al. A Placebo-Controlled Trial of Subcutaneous Semaglutide in Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med*. Mar 25 2021;384(12):1113-1124. doi:10.1056/NEJMoa2028395
50. Latva-Rasku A, Honka MJ, Kullberg J, et al. The SGLT2 Inhibitor Dapagliflozin Reduces Liver Fat but Does Not Affect Tissue Insulin Sensitivity: A Randomized,

Double-Blind, Placebo-Controlled Study With 8-Week Treatment in Type 2 Diabetes Patients. *Diabetes Care*. May 2019;42(5):931-937. doi:10.2337/dc18-1569

51. Kurinami N, Sugiyama S, Yoshida A, et al. Dapagliflozin significantly reduced liver fat accumulation associated with a decrease in abdominal subcutaneous fat in patients with inadequately controlled type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. Aug 2018;142:254-263. doi:10.1016/j.diabres.2018.05.017

52. Kuchay MS, Krishan S, Mishra SK, et al. Effect of Empagliflozin on Liver Fat in Patients With Type 2 Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Controlled Trial (E-LIFT Trial). *Diabetes Care*. Aug 2018;41(8):1801-1808. doi:10.2337/dc18-0165

53. Kahl S, Gancheva S, Straßburger K, et al. Empagliflozin Effectively Lowers Liver Fat Content in Well-Controlled Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Phase 4, Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*. Feb 2020;43(2):298-305. doi:10.2337/dc19-0641

54. Jastreboff AM, Aronne LJ, Stefanski A. Tirzepatide Once Weekly for the Treatment of Obesity. Reply. *N Engl J Med*. Oct 13 2022;387(15):1434-1435. doi:10.1056/NEJMc2211120

55. Gastaldelli A, Cusi K, Fernández Landó L, Bray R, Brouwers B, Rodríguez Á. Effect of tirzepatide versus insulin degludec on liver fat content and abdominal adipose tissue in people with type 2 diabetes (SURPASS-3 MRI): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. Jun 2022;10(6):393-406. doi:10.1016/S2213-8587(22)00070-5

56. Shields WW, Thompson KE, Grice GA, Harrison SA, Coyle WJ. The Effect of Metformin and Standard Therapy versus Standard Therapy alone in Nondiabetic Patients with Insulin Resistance and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): A Pilot Trial. *Therap Adv Gastroenterol*. May 2009;2(3):157-63. doi:10.1177/1756283X09105462

57. Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbø HB, et al. Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(7):853-60. doi:10.1080/00365520902845268

58. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology*. Mar 2004;39(3):770-8. doi:10.1002/hep.20092

59. Liechti F, Dufour JF. Treatment of NASH with ursodeoxycholic acid: cons. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. Sep 2012;36 Suppl 1:S46-52. doi:10.1016/S2210-7401(12)70021-9
60. Leuschner UF, Lindenthal B, Herrmann G, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology*. Aug 2010;52(2):472-9. doi:10.1002/hep.23727
61. Noto D, Petta S, Giammanco A, et al. Lifestyle versus ezetimibe plus lifestyle in patients with biopsy-proven non-alcoholic steatohepatitis (LISTEN): A double-blind randomised placebo-controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. May 2022;32(5):1288-1291. doi:10.1016/j.numecd.2022.01.024
62. Loomba R, Sirlin CB, Ang B, et al. Ezetimibe for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: assessment by novel magnetic resonance imaging and magnetic resonance elastography in a randomized trial (MOZART trial). *Hepatology*. Apr 2015;61(4):1239-50. doi:10.1002/hep.27647
63. Wah Kheong C, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. A Randomized Trial of Silymarin for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Dec 2017;15(12):1940-1949.e8. doi:10.1016/j.cgh.2017.04.016
64. Mirhashemi SH, Hakakzadeh A, Yeganeh FE, Oshidari B, Rezaee SP. Effect of 8 Weeks milk thistle powder (silymarin extract) supplementation on fatty liver disease in patients candidates for bariatric surgery. *Metabol Open*. Jun 2022;14:100190. doi:10.1016/j.metop.2022.100190
65. Borisov AN, Kutz A, Christ ER, Heim MH, Ebrahimi F. Canagliflozin and Metabolic Associated Fatty Liver Disease in Patients With Diabetes Mellitus: New Insights From CANVAS. *J Clin Endocrinol Metab*. Oct 18 2023;108(11):2940-2949. doi:10.1210/clinem/dgad249
66. Wiggins T, Guidozi N, Welbourn R, Ahmed AR, Markar SR. Association of bariatric surgery with all-cause mortality and incidence of obesity-related disease at a population level: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. Jul 2020;17(7):e1003206. doi:10.1371/journal.pmed.1003206
67. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, et al. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology*. Aug 2015;149(2):379-88; quiz e15-6. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.014

68. Lassailly G, Caiazzo R, Ntandja-Wandji LC, et al. Bariatric Surgery Provides Long-term Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis and Regression of Fibrosis. *Gastroenterology*. Oct 2020;159(4):1290-1301.e5. doi:10.1053/j.gastro.2020.06.006
69. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*. Jul 1980;55(7):434-8.
70. Alqahtani SA, Paik JM, Biswas R, Arshad T, Henry L, Younossi ZM. Poor Awareness of Liver Disease Among Adults With NAFLD in the United States. *Hepatol Commun*. Nov 2021;5(11):1833-1847. doi:10.1002/hep4.1765
71. Younossi ZM, Ong JP, Takahashi H, et al. A Global Survey of Physicians Knowledge About Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Jun 2022;20(6):e1456-e1468. doi:10.1016/j.cgh.2021.06.048
72. Kanwal F, Shubrook JH, Younossi Z, et al. Preparing for the NASH Epidemic: A Call to Action. *Gastroenterology*. Sep 2021;161(3):1030-1042.e8. doi:10.1053/j.gastro.2021.04.074
73. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA, (CRN) NCRN. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*. Mar 2011;53(3):810-20. doi:10.1002/hep.24127
74. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*. Sep 2008;48(3):792-8. doi:10.1002/hep.22429
75. Younossi ZM, Stepanova M, Ong J, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Is the Most Rapidly Increasing Indication for Liver Transplantation in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Mar 2021;19(3):580-589.e5. doi:10.1016/j.cgh.2020.05.064
76. Suzuki A, Abdelmalek MF, Schwimmer JB, et al. Association between puberty and features of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Jul 2012;10(7):786-94. doi:10.1016/j.cgh.2012.01.020
77. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, et al. A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology*. Jun 24 2023;doi:10.1097/HEP.0000000000000520
78. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. Apr 2003;37(4):917-23. doi:10.1053/jhep.2003.50161

79. Gill RM, Allende D, Belt PH, et al. The nonalcoholic steatohepatitis extended hepatocyte ballooning score: histologic classification and clinical significance. *Hepatol Commun*. Feb 01 2023;7(2):e0033. doi:10.1097/HC9.0000000000000033
80. Kakisaka K, Sasaki A, Umemura A, et al. High frequency and long persistency of ballooning hepatocyte were associated with glucose intolerance in patients with severe obesity. *Sci Rep*. Jul 28 2021;11(1):15392. doi:10.1038/s41598-021-94937-4
81. Patton HM, Yates K, Unalp-Arida A, et al. Association between metabolic syndrome and liver histology among children with nonalcoholic Fatty liver disease. *Am J Gastroenterol*. Sep 2010;105(9):2093-102. doi:10.1038/ajg.2010.152
82. Uslusoy HS, Nak SG, Gülten M, Biyikli Z. Liver histology according to the presence of metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease cases. *World J Gastroenterol*. Mar 07 2009;15(9):1093-8. doi:10.3748/wjg.15.1093
83. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*. Feb 2010;51(2):679-89. doi:10.1002/hep.23280
84. Hagström H, Stål P, Hulcrantz R, Hemmingsson T, Andreasson A. Overweight in late adolescence predicts development of severe liver disease later in life: A 39years follow-up study. *J Hepatol*. Aug 2016;65(2):363-8. doi:10.1016/j.jhep.2016.03.019
85. Hagström H, Tynelius P, Rasmussen F. High BMI in late adolescence predicts future severe liver disease and hepatocellular carcinoma: a national, population-based cohort study in 1.2 million men. *Gut*. Aug 2018;67(8):1536-1542. doi:10.1136/gutjnl-2016-313622
86. Gaba RC, Knuttinen MG, Brodsky TR, et al. Hepatic steatosis: correlations of body mass index, CT fat measurements, and liver density with biopsy results. *Diagn Interv Radiol*. 2012;18(3):282-7. doi:10.4261/1305-3825.DIR.4958-11.2
87. Younossi ZM, Gramlich T, Matteoni CA, Boparai N, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Mar 2004;2(3):262-5. doi:10.1016/s1542-3565(04)00014-x
88. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Mar 2006;4(3):369-80. doi:10.1016/j.cgh.2005.12.007
89. Huang DQ, Wilson LA, Behling C, et al. Fibrosis Progression Rate in Biopsy-Proven Nonalcoholic Fatty Liver Disease Among People With Diabetes Versus People

- Without Diabetes: A Multicenter Study. *Gastroenterology*. Aug 2023;165(2):463-472.e5. doi:10.1053/j.gastro.2023.04.025
90. Ballestri S, Zona S, Targher G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. May 2016;31(5):936-44. doi:10.1111/jgh.13264
91. Alexopoulos AS, Crowley MJ, Wang Y, et al. Glycemic Control Predicts Severity of Hepatocyte Ballooning and Hepatic Fibrosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. Sep 2021;74(3):1220-1233. doi:10.1002/hep.31806
92. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*. May 2015;62(5):1148-55. doi:10.1016/j.jhep.2014.11.034
93. Grzelka-Woźniak A, Uruska A, Szymańska-Garbacz E, et al. Indirect insulin resistance markers are associated with nonalcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes. *Pol Arch Intern Med*. May 23 2023;133(5)doi:10.20452/pamw.16404
94. Zeng P, Cai X, Yu X, Gong L. Markers of insulin resistance associated with non-alcoholic fatty liver disease in non-diabetic population. *Sci Rep*. Nov 22 2023;13(1):20470. doi:10.1038/s41598-023-47269-4
95. Tutunchi H, Naeini F, Mobasseri M, Ostadrahimi A. Triglyceride glucose (TyG) index and the progression of liver fibrosis: A cross-sectional study. *Clin Nutr ESPEN*. Aug 2021;44:483-487. doi:10.1016/j.clnesp.2021.04.025
96. Ling Q, Chen J, Liu X, et al. The triglyceride and glucose index and risk of nonalcoholic fatty liver disease: A dose-response meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:1043169. doi:10.3389/fendo.2022.1043169
97. Ghadir MR, Riahin AA, Havaspour A, Nooranipour M, Habibinejad AA. The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients. *Hepat Mon*. 2010;10(4):285-8.
98. Siddiqui MS, Fuchs M, Idowu MO, et al. Severity of nonalcoholic fatty liver disease and progression to cirrhosis are associated with atherogenic lipoprotein profile. *Clin Gastroenterol Hepatol*. May 2015;13(5):1000-8.e3. doi:10.1016/j.cgh.2014.10.008
99. Patel SS, Nabi E, Guzman L, et al. Coronary artery disease in decompensated patients undergoing liver transplantation evaluation. *Liver Transpl*. Mar 2018;24(3):333-342. doi:10.1002/lt.25012

100. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, et al. Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med*. Oct 21 2021;385(17):1559-1569. doi:10.1056/NEJMoa2029349
101. Mózes FE, Lee JA, Selvaraj EA, et al. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. *Gut*. May 2022;71(5):1006-1019. doi:10.1136/gutjnl-2021-324243
102. Rinella ME, Lominadze Z, Loomba R, et al. Practice patterns in NAFLD and NASH: real life differs from published guidelines. *Therap Adv Gastroenterol*. Jan 2016;9(1):4-12. doi:10.1177/1756283X15611581
103. Lee JH, Kim D, Kim HJ, et al. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*. Jul 2010;42(7):503-8. doi:10.1016/j.dld.2009.08.002
104. Staufer K, Halilbasic E, Spindelboeck W, et al. Evaluation and comparison of six noninvasive tests for prediction of significant or advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *United European Gastroenterol J*. Oct 2019;7(8):1113-1123. doi:10.1177/2050640619865133
105. Boursier J, Vergniol J, Guillet A, et al. Diagnostic accuracy and prognostic significance of blood fibrosis tests and liver stiffness measurement by FibroScan in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. Sep 2016;65(3):570-8. doi:10.1016/j.jhep.2016.04.023
106. Petta S, Wai-Sun Wong V, Bugianesi E, et al. Impact of Obesity and Alanine Aminotransferase Levels on the Diagnostic Accuracy for Advanced Liver Fibrosis of Noninvasive Tools in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Am J Gastroenterol*. Jun 2019;114(6):916-928. doi:10.14309/ajg.0000000000000153
107. Boursier J, Guillaume M, Leroy V, et al. New sequential combinations of non-invasive fibrosis tests provide an accurate diagnosis of advanced fibrosis in NAFLD. *J Hepatol*. Aug 2019;71(2):389-396. doi:10.1016/j.jhep.2019.04.020
108. Inadomi C, Takahashi H, Ogawa Y, et al. Accuracy of the Enhanced Liver Fibrosis test, and combination of the Enhanced Liver Fibrosis and non-invasive tests for the diagnosis of advanced liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. Jun 2020;50(6):682-692. doi:10.1111/hepr.13495
109. Shah AG, Lydecker A, Murray K, et al. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Oct 2009;7(10):1104-12. doi:10.1016/j.cgh.2009.05.033

110. Alkayyali T, Qutranji L, Kaya E, Bakir A, Yilmaz Y. Clinical utility of noninvasive scores in assessing advanced hepatic fibrosis in patients with type 2 diabetes mellitus: a study in biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Diabetol.* May 2020;57(5):613-618. doi:10.1007/s00592-019-01467-7
111. Eren F, Kaya E, Yilmaz Y. Accuracy of Fibrosis-4 index and non-alcoholic fatty liver disease fibrosis scores in metabolic (dysfunction) associated fatty liver disease according to body mass index: failure in the prediction of advanced fibrosis in lean and morbidly obese individuals. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* Jan 01 2022;34(1):98-103. doi:10.1097/MEG.0000000000001946
112. McPherson S, Hardy T, Dufour JF, et al. Age as a Confounding Factor for the Accurate Non-Invasive Diagnosis of Advanced NAFLD Fibrosis. *Am J Gastroenterol.* May 2017;112(5):740-751. doi:10.1038/ajg.2016.453
113. Ishiba H, Sumida Y, Tanaka S, et al. Correction to: The novel cutoff points for the FIB4 index categorized by age increase the diagnostic accuracy in NAFLD: a multi-center study. *J Gastroenterol.* Nov 2018;53(11):1225. doi:10.1007/s00535-018-1478-7
114. Green V, Lin J, McGrath M, et al. FIB-4 Reliability in Patients With Severe Obesity: Lower Cutoffs Needed? *J Clin Gastroenterol.* Nov 03 2023;doi:10.1097/MCG.0000000000001937

8. SPIS TABEL

Tabela 1. Definicje i kryteria diagnostyczne zespołu metabolicznego

Tabela 2. Inne przyczyny stłuszczenia wątroby

Tabela 3. Nieinwazyjne metody oceny stłuszczenia wątroby

Tabela 4. Nieinwazyjne metody pomiaru włóknienia wątroby

Tabela 5. Nieinwazyjne metody identyfikacji chorych z MASH z wysokim ryzykiem progresji choroby

Tabela 6. Skala oceny histopatologicznej stłuszczeniowego zapalenia wątroby związanego z zaburzeniami metabolicznymi NASH Clinical Research Network

Tabela 7. Potencjalne możliwości farmakoterapii u chorych z MASLD

Tabela 8. Charakterystyka badanej grupy

Tabela 9. Charakterystyka parametrów klinicznych pacjentów z MASLD w zależności od stopnia włóknienia wątroby ocenianego w biopsji gruboigłowej wątroby

Tabela 10. Parametry wątrobowe u pacjentów z MASLD w zależności od stopnia włóknienia wątroby ocenianego w biopsji gruboigłowej wątroby

Tabela 11. Porównanie nieinwazyjnych metod stłuszczenia i włóknienia wątroby w zależności od stopnia włóknienia wątroby ocenianego w biopsji gruboigłowej wątroby

Tabela 12. Wyniki innych składowych biopsji gruboigłowej wątroby w zależności od stopnia włóknienia wątroby

Tabela 13. Korelacja między parametrami wątrobowymi a stopniem stłuszczenia, zapalenia, zwyrodnienia balonowego i włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby

Tabela 14. Związek między występowaniem MASH a aktywnością enzymów wątrobowych i cholestatycznych

Tabela 15. Związek między występowaniem MASH a wskaźnikami insulinooporności

Tabela 16. Związek występowania poszczególnych chorób współistniejących ze stopniem stłuszczenia, zapalenia, zwyrodnienia balonowego i włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby

Tabela 17. Korelacja między poszczególnymi nieinwazyjnymi metodami oceny włóknienia a stopniem włóknienia wątroby w biopsji gruboigłowej wątroby

Tabela 18. Porównanie poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia na podstawie powszechnie przyjętych punktów odcięcia i na podstawie punktów odcięcia wyliczonych na podstawie indeksu Youdena

9. SPIS RYCIN

Rycina 1. Klasyfikacja i powikłania MASLD

Rycina 2. Patogeneza stłuszczeniowej choroby wątroby związanej z zaburzeniami metabolicznymi

Rycina 3. Proponowany algorytm identyfikacji pacjentów z MASLD z grupy ryzyka zaawansowanego włóknienia w codziennej praktyce klinicznej na podstawie *Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, et al., AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease, Hepatology. May 01 2023.*

Rycina 4. Proponowany algorytm identyfikacji pacjentów ze stłuszczeniem wątroby z grupy ryzyka zaawansowanego włóknienia w codziennej praktyce klinicznej na podstawie *EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). J Hepatol. 2024*

Rycina 5. Częstość występowania chorób współistniejących w grupach bez i z istotnym włóknieniem wątroby w biopsji gruboigłowej wątroby

Rycina 6. Związek między pomiarami antropometrycznymi i badaniami laboratoryjnymi a % stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby

Rycina 7. Związek między parametrami wątrobowymi a % stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby

Rycina 8. Wartości poszczególnych nieinwazyjnych wskaźników włóknienia a stopień włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby

Rycina 9. Porównanie poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia w wykrywaniu istotnego włóknienia wątroby

Rycina 10. Porównanie kombinacji poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia w wykrywaniu istotnego włóknienia

10. STRESZCZENIE

WSTĘP: Słuszczeniowa choroba wątroby związana z zaburzeniami metabolicznymi (MASLD) jest obecnie najczęstszą przyczyną nieinfekcyjnego zapalenia wątroby na świecie, częstość jej występowania obecnie wynosi 25-30% i stale rośnie na przestrzeni lat proporcjonalnie do globalnego wzrostu występowania otyłości i zespołu metabolicznego. MASLD dzielimy na słuszczenie proste (metabolic dysfunction-associated steatotic liver, MASL), zapalenie wątroby związane z zaburzeniami metabolicznymi (metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH) oraz marskość wątroby na podłożu choroby słuszczeniowej. Definiuje się ją jako obecność słuszczenia wątroby przy wykluczeniu innych potencjalnych przyczyn słuszczenia oraz nadmiernego spożywania alkoholu przy obecności co najmniej jednego kryterium zaburzeń ze strony układu sercowo-naczyniowego lub zaburzeń metabolicznych. Szczególnie pacjenci z MASH w stadium włóknienia 2-4 (F2-F4) są w grupie ryzyka rozwoju marskości wątroby i jej powikłań. Złotym standardem diagnostycznym MASLD, a w szczególności MASH, pozostaje biopsja gruboigłowa wątroby. W praktyce klinicznej coraz częściej jednak znajdują zastosowanie nieinwazyjne metody oceny włóknienia wątroby, aby zidentyfikować pacjentów z grupy ryzyka celem wdrożenia odpowiednich zaleceń.

CEL PRACY: Celem badania była retrospektywna analiza parametrów klinicznych, biochemicznych i badań obrazowych u chorych z MASLD potwierdzoną w biopsji gruboigłowej wątroby oraz porównanie poszczególnych nieinwazyjnych metod diagnostycznych oceny włóknienia wątroby z wynikami biopsji narządu.

GRUPA BADANA I METODY: Do badania włączono 80 pacjentów (25 kobiet, 55 mężczyzn) z MASLD potwierdzoną w biopsji gruboigłowej wątroby, hospitalizowanych w Oddziale Chorób Wewnętrznych i Hepatologii Państwowego Instytutu Medycznego MSWiA w Warszawie od 1.01.2018r. do 30.06.2023r. Przeprowadzono analizę badania podmiotowego oraz przedmiotowego, badań laboratoryjnych i obrazowych oraz wyników histopatologicznych biopsji gruboigłowej wątroby. Wyodrębniono dwie grupy w zależności od stopnia włóknienia wątroby stwierdzanego w biopsji: z niewielkim włóknieniem (F0-F1) oraz z istotnym włóknieniem (\geq F2). Ponadto u wszystkich badanych oznaczono najpowszechniejsze wskaźniki insulinooporności (HOMA-IR,

QUICKI-IR, TyG indeks, stosunek TG/HDL), nieinwazyjne wskaźniki oceny stłuszczenia wątroby (Hepatic Steatosis Indeks, kontrolowany parametr tłumienia CAP) oraz włóknienia wątroby (stosunek AST/ALT, FIB-4, APRI, NAFLD Fibrosis Score, skalę BARD, Fibroscan) i porównano je z wynikami biopsji gruboigłowej wątroby. Celem oceny czułości, swoistości, dodatniej i ujemnej wartości predykcyjnej wyznaczono krzywe ROC dla poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia. Dodatkowo dla poszczególnych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia wyznaczono nowe punkty odcięcia przydatne z diagnostyce istotnego włóknienia z wykorzystaniem indeksu Youdena.

WYNIKI: Na podstawie biopsji wątroby istotne włóknienie ($\geq F2$) stwierdzono u 32 pacjentów, a małego stopnia ($< F2$) u 48 pacjentów. Grupa pacjentów z istotnym włóknieniem ($\geq F2$) miała wyższe BMI [30,91 (27,91-34) kg/m^2 vs. 28,08 (25,99-31,12) kg/m^2 , $p=0,017$], niższe stężenie cholesterolu całkowitego [172 (148-208) mg/dl vs. 189 (166,5-214) mg/dl , $p=0,019$], frakcję nie-HDL [129 (104-157) mg/dl vs. 143 (120-170) mg/dl , $p=0,029$], trójglicerydów [125,5 (99-167,5) mg/dl vs. 164 (119-203) mg/dl , $p=0,022$], niższy poziom płytek krwi [210 (190,5-242) $\times 10^3/\text{uL}$ vs. 258,5 (210-302) $\times 10^3/\text{uL}$, $p=0,001$], wyższe stężenie kreatyniny [0,92 (0,82-1) mg/dl vs. 0,85 (0,76-0,95) mg/dl , $p=0,017$] i niższy eGFR [82 (68,5-97) ml/min/1,73m^2 vs. 91 (83,5-110) ml/min/1,73m^2 , $p=0,002$], niższy TyG index [8,72 (8,43-8,94) vs. 8,84 (8,57-9,14), $p=0,039$] oraz wyższą aktywność AST [61,5 (44-99) U/l vs. 47,5 (37,5-59,5) U/l , $p=0,02$] w porównaniu do grupy z włóknieniem małego stopnia. W grupie z istotnym włóknieniem częściej obserwowano nadciśnienie tętnicze (62,5% vs. 37,5%, $p=0,03$), cukrzycę typu 2 (50% vs. 10,42%, $p<0,001$), otyłość (56,25% vs. 33,33%, $p=0,04$) oraz zespół metaboliczny (62,07% vs. 38,10%, $p=0,05$). Procent stłuszczenia w biopsji gruboigłowej wątroby korelował z masą ciała ($R=0,254$, $p=0,023$), BMI ($R=0,279$, $p=0,012$), liczbą leukocytów ($R=0,251$, $p=0,024$), aktywnością ALT ($R=0,337$, $p=0,002$) i AST ($R=0,373$, $p=0,001$), kontrolowanym parametrem tłumienia (CAP) w Fibroscanie ($R=0,415$, $p=0,014$), stężeniem insuliny na czczo ($R=0,447$, $p=0,017$), wskaźnikiem insulinooporności HOMA-IR ($R=0,411$, $p=0,033$) i odwrotnie korelował ze wskaźnikiem insulinooporności QUICKI ($R=-0,411$, $p=0,033$). Ponadto wykazano dodatnią korelację między stopniem stłuszczenia wątroby a aktywnością AST ($R=0,345$, $p=0,002$) i ALT ($R=0,367$, $p<0,001$), między stopniem zapalenia wątroby a AST ($R=0,275$, $p=0,013$) oraz między stopniem włóknienia a AST ($R=0,272$, $p=0,015$). W regresji logistycznej

stwierdzono, że wzrost stopnia włóknienia w biopsji gruboigłowej wątroby istotnie zwiększał ryzyko nadciśnienia tętniczego (OR=2,16; p=0,006; 95% CI=1,25-3,76) oraz zespołu metabolicznego (OR=1,89; p=0,024; 95% CI=1,09-3,29), a wzrost stopnia zwyrodnienia balonowatego zwiększał ryzyko zespołu metabolicznego (OR=2,25; p=0,043; 95% CI=1,03-4,95). Wszystkie nieinwazyjne metody oceny włóknienia dodatnio korelowały ze stopniem włóknienia wątroby w biopsji, najwyższy współczynnik korelacji wykazywała skala BARD (R=0,626, p<0,001). Na podstawie wyników regresji logistycznej największy obszar pod krzywą ROC uzyskano dla Fibroscanu (AUROC=0,832), podczas gdy testy uwzględniające parametry biochemiczne wykazywały podobną przydatność diagnostyczną z nieznaczną przewagą FIB-4 i NAFLD Fibrosis Score. Stosując kombinację testów wykazano wzrost ich przydatności diagnostycznej. Po wyliczeniu optymalnych punktów odcięcia dla poszczególnych metod na podstawie indeksu Youdena chcąc zidentyfikować chorych z istotnym włóknieniem, okazuje się, że dla większości parametrów zaproponowane punkty odcięcia były niższe niż dotychczas prezentowane w literaturze, co wiązało się ze wzrostem ich czułości oraz ujemnej wartości predykcyjnej.

WNIOSKI: MASLD jest ściśle związana z zespołem metabolicznym, dlatego pacjentów z otyłością, nadciśnieniem tętniczym, dyslipidemią i cukrzycą należy ściśle monitorować pod kątem zapalenia wątroby i postępującego włóknienia narządu. Nieinwazyjne testy oceny włóknienia wątroby oparte na danych klinicznych i badaniach biochemicznych wydają się być przydatne w ocenie stopnia włóknienia wątroby, a najskuteczniejszymi są FIB-4 lub NAFLD Fibrosis Score. Ich rola nabrała szczególnego znaczenia w sytuacji możliwości leczenia chorych z MASH z istotnym włóknieniem (F2-F3). Z kolei najlepszym nieinwazyjnym testem oceny włóknienia wątroby jest pomiar sztywności wątroby w Fibroscan. Stosując nieinwazyjne metody oceny włóknienia wątroby należy rozważyć przyjęcie niższego punktu odcięcia celem diagnostyki istotnego włóknienia (F2-F4) u chorych z MASLD lub zastosować dwie metody jednocześnie. W przypadkach pacjentów o niejasnym obrazie klinicznym, z wątpliwym wynikiem testów nieinwazyjnych, z szybko postępującym włóknieniem według metod nieinwazyjnych, biopsja gruboigłowa wątroby pozostaje złotym standardem diagnostycznym.

11. ABSTRACT

INTRODUCTION: Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) is now the most common cause of non-infectious hepatitis worldwide with a prevalence of 25-30%. It is rising constantly over the years in proportion to the global increase in obesity and metabolic syndrome. MASLD is divided into simple steatosis (MASL), metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) and cirrhosis. It is diagnosed when hepatic steatosis is present (in imaging tests or liver biopsy) excluding other potential causes of steatosis with the presence of at least one criteria of cardiovascular or metabolic disorders. Patients with MASH with fibrosis stage F2-F4, referred to as “at risk” MASH, present a higher risk of morbidity and mortality associated with the development of cirrhosis and its complications. The gold standard for the diagnosis of MASLD, especially MASH, remains liver biopsy. However, non-invasive tests for liver fibrosis assessment are becoming more widely used in clinical practice.

AIM: The aim of the study was to retrospectively analyze clinical, biochemical and imaging studies in patients with MASLD confirmed by liver biopsy and to compare non-invasive makers of liver fibrosis.

STUDY GROUP AND METHODS: The study included 80 patients (25 females, 55 males) with MASLD confirmed in liver biopsy, hospitalized in the Department of Internal Medicine and Hepatology of the National Medical Institute of the Ministry of Internal Affairs and Administration in Warsaw from 1.01.2018 to 30.06.2023. The analysis of medical history, laboratory, imaging tests and liver biopsy was performed. Two groups were distinguished according to the stage of fibrosis in the liver biopsy: with minor fibrosis (F0-F1) and with significant fibrosis (\geq F2). Also, the most common markers of insulin resistance (HOMA-IR, QUICKI-IR, TyG index, TG/HDL ratio), non-invasive tests of hepatic steatosis (Hepatic Steatosis Index, controlled CAP suppression parameter) and liver fibrosis (AST/ALT ratio, FIB-4, APRI, NAFLD Fibrosis Score, BARD scale, Fibroscan) were assessed and compared with the results of liver biopsy. The ROC curves were drawn for each non-invasive test of liver fibrosis and new cutoff points in the diagnosis of significant fibrosis using the Youden index were determined.

RESULTS: According to liver biopsy, significant fibrosis (\geq F2) was found in 32 patients, and non-significant fibrosis ($<$ F2) in 48 patients. The group of patients with \geq F2 fibrosis had higher BMI [30,91 (27,91-34) kg/m² vs. 28,08 (25,99-31,12) kg/m², p=0,017], lower total cholesterol [172 (148-208) mg/dl vs. 189 (166,5-214) mg/dl, p=0,019], non-HDL cholesterol [129 (104-157) mg/dl vs. 143 (120-170) mg/dl, p=0,029] and triglycerides [125,5 (99-167,5) mg/dl vs. 164 (119-203) mg/dl, p=0,022], lower platelets [210 (190,5-242) x10³/uL vs. 258,5 (210-302) x10³/uL, p=0,001], higher creatinine [0,92 (0,82-1) mg/dl vs. 0,85 (0,76-0,95) mg/dl, p=0,017] and lower eGFR [82 (68,5-97) ml/min/1,73m² vs. 91 (83,5-110) ml/min/1,73m², p=0,002], lower TyG index [8,72 (8,43-8,94) vs. 8,84 (8,57-9,14), p=0,039] and higher AST [61,5 (44-99) U/l vs. 47,5 (37,5-59,5) U/l, p=0,02] compared to the group with $<$ F2 fibrosis. The group with \geq F2 fibrosis was more likely to present with hypertension (62,5% vs. 37,5%, p=0,03), type 2 diabetes (50% vs. 10,42%, p<0,001), obesity (56,25% vs. 33,33%, p=0,04) and metabolic syndrome (62,07% vs. 38,10%, p=0,05). The percentage of steatosis in the liver biopsy correlated with body weight (R=0,254, p=0,023), BMI (R=0,279, p=0,012), leukocyte count (R=0,251, p=0,024), ALT (R=0,337, p=0,002) and AST (R=0,373, p=0,001) activity, controlled attenuation parameter (CAP) in Fibroscan (R=0,415, p=0,014), fasting insulin concentration (R=0,447, p=0,017), HOMA-IR (R=0,411, p=0,033) and inversely correlated with QUICKI (R=-0,411, p=0,033). There was a positive correlation between the steatosis grade and AST (R=0,345, p=0,002) and ALT (R=0,367, p<0,001) activity, between the lobular inflammation and AST (R=0,275, p=0,013), and between the fibrosis stage and AST (R=0,272, p=0,015). In logistic regression, it was found that the higher fibrosis stage in the liver biopsy significantly increased the risk of hypertension (OR=2,16; p=0,006; 95% CI=1,25-3,76) and metabolic syndrome (OR=1,89; p=0,024; 95% CI=1,09-3,29), while higher hepatocyte ballooning stage increased the risk of metabolic syndrome (OR=2,25; p=0,043; 95% CI=1,03-4,95). All non-invasive methods for assessing liver fibrosis positively correlated with the fibrosis stage in the liver biopsy, with the BARD score showing the highest correlation coefficient (R=0,626, p<0,001). The largest area under the ROC curve was obtained for Fibroscan (AUROC=0,832), while tests including biochemical parameters showed similar diagnostic accuracy with minor superiority for FIB-4 and NAFLD Fibrosis Score. The combination of tests presented an increase in their diagnostic accuracy. The new optimal cutoff points of each non-invasive test based on the Youden index in order to identify patients with \geq F2 fibrosis

were lower than those previously presented in the literature, which was associated with an increase in their sensitivity and negative predictive value.

CONCLUSION: MASLD is strongly associated with metabolic syndrome, therefore the patients with obesity, hypertension, dyslipidemia and diabetes should be closely monitored for hepatitis and liver fibrosis. Non-invasive liver fibrosis assessment tests based on medical history and biochemical tests appear to be useful in assessing the fibrosis stage. They become particularly important with the appearance of the treatment and the FIB-4 or NAFLD Fibrosis Score seem to be the most effective. The best non-invasive test for assessing liver fibrosis is liver stiffness measurement in Fibroscan. While using non-invasive tests to diagnose F2-F4 liver fibrosis, a lower cut-off point or using two methods simultaneously in patients with MASLD should be considered. The liver biopsy remains gold standard in the cases of non-specific clinical picture or rapidly progressive fibrosis.