

Det Helsevitenskapelige fakultet

# Ikke-alkoholisk fettlever sykdom (NAFLD) i en generell populasjon og assosiasjon til kardiovaskulær sykdom

—

**Daniel Bogen**

Rapport: MED-3950 masteroppgaven/Kull 2013

Tromsø: Profesjonsstudiet i medisin

Det helsevitenskapelige fakultet,

UiT Norges arktiske universitet, 2018

## Forord

Jeg ønsker først og fremst å rette en stor takk til min veileder Eyvind J. Paulssen, overlege ved UNN og professor ved IKM (UiT), som med sin omfattende kunnskap og erfaring har vært uvurderlig i arbeidet med denne oppgaven. Eyvind har bidratt med god veiledning i form av nyttige forslag og konstruktive tilbakemeldinger gjennom hele prosjektperioden. Han har også planlagt og utformet de statistiske analysene, slik at jeg kunne gjennomføre disse i forbindelse med skriving av oppgaven.

Planleggingen av prosjektet/oppgaven begynte i slutten av 2016 ved at jeg kom i kontakt med Eyvind, som sammen med Henrik Schirmer (IKM - UiT) og Andrea Øhrn (ISM - UiT) var interessert i sammenhengen mellom ikke-alkoholisk fettlever sykdom (NAFLD) og kardiovaskulær sykdom. Jeg fattet straks interesse for dette temaet, og Henrik Schirmer laget en projektskisse med utgangspunkt i data fra den 6. og 7. Tromsøundersøkelsen som jeg kunne benytte i arbeidet med min masteroppgave. Underveis i prosjektperioden ble det dog klart at det opprinnelig planlagte omfanget av prosjektet var for stort, og jeg måtte derfor i samråd med Eyvind innrette oppgaven mot det som var av størst interesse for meg. Underveis gjorde vi noen justeringer i hypotese/formål, samt i tittel på oppgaven, i forhold til den opprinnelige innleverte prosjektbeskrivelsen fra våren 2017. Det var først på våren 2018 at vi kom frem til endelig plan og omfang av oppgaven, samt hva som skulle være hovedfokuset.

Jeg og Eyvind kom frem til at hensikten med oppgaven skulle være å gi en innføring i tilstanden ikke-alkoholisk fettlever sykdom (NAFLD), for deretter å undersøke assosiasjonen mellom forhøyede leverenzymmer og forekomsten av kardiovaskulær sykdom, ved hjelp av data fra den 6. og 7. Tromsøundersøkelsen.



Daniel Bogen

Mo i Rana, den 2. Juni 2018

## Innholdsfortegnelse

1	Innledning.....	1
1.1	Ikke-alkoholisk fettleversykdom (NAFLD) og ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH)	1
1.2	Patogenese og patofysiologi .....	2
1.3	Levermarkører.....	3
1.4	Klinikk, diagnostisering og prognose.....	4
1.5	NAFLD og risiko for kardiovaskulær sykdom.....	6
1.6	Tromsøundersøkelsen.....	8
1.7	Problemstilling og formål .....	9
2	Materiale og metode.....	11
2.1	Gjennomføring av oppgaven.....	11
2.2	Datamaterialet, variabler og metode.....	11
2.3	Statistisk analyse .....	13
3	Resultater .....	14
3.1	Deltakelse og prevalens av ulike variabler i studiepopulasjonen .....	14
3.2	Risikofaktorer for koronarsykdom .....	14
4	Diskusjon .....	17
5	Konklusjon .....	23
6	Referanser .....	24
7	Tabeller.....	27
8	Figurer .....	32
9	Andre vedlegg .....	33
10	Sammendrag av kunnskapsevalueringer .....	34

# Sammendrag

## Bakgrunn

Ikke-alkoholisk fettleversykdom (NAFLD) er i ferd med å bli den vanligste årsaken til kronisk leversykdom i verden, og er også en av de vanligste årsakene til forhøyede leverenzymmer. Tilstanden påvirker ikke kun leveren, men er del av en multisystem-sykdom som påvirker en rekke andre organsystemer i kroppen, inkludert det kardiovaskulære system. En økende mengde forskning tyder på at NAFLD er assosiert med en økt forekomst av kardiovaskulær sykdom, og at NAFLD kanskje utgjør en uavhengig risikofaktor for kardiovaskulær sykdom utover etablerte kardiovaskulære risikofaktorer. I denne oppgaven har vi undersøkt assosiasjonen mellom forhøyede leverenzymmer og forekomsten av kardiovaskulær sykdom. Hensikten med dette var å vurdere om forhøyede leverenzymmer potensielt kan være en parameter man kan benytte seg av for å vurdere hvilke individer i en generell populasjon som kan ha nytte av å bli videre utredet for NAFLD, med tanke på å forebygge kardiovaskulær sykdom.

## Materiale og metode

I oppgaven benyttet vi data fra den 6. og den 7. Tromsøundersøkelsen (Tromsø 6 og 7), og studiepopulasjonen i oppgaven bestod av individer som hadde deltatt i begge disse undersøkelsene. Vi definerte en utkommevariabel som bestod av de som hadde fått koronarsykdom i tiden mellom disse to undersøkelsene. Deretter undersøkte vi assosiasjonen mellom utkommevariabelen og en rekke målte variabler i Tromsø 6, deriblant etablerte kardiovaskulære risikofaktorer og leverenzymene ALAT, ASAT og gamma-GT, ved hjelp av univariat og multivariat binær logistisk regresjonsanalyse.

## Resultater

I den univariate logistiske regresjonsanalysen var det kun forhøyet ALAT av leverenzymene som viste signifikant økt oddsratio for utkommevariabelen koronarsykdom. I den multivariate analysen, hvor man justerte for en rekke andre variabler, viste fortsatt forhøyet ALAT signifikant økt oddsratio for utkommevariabelen.

## Konklusjon

Forhøyet ALAT fremstår å være en uavhengig risikofaktor for fremtidig koronarsykdom i studiepopulasjonen i oppgaven, noe som ikke fremstår å stemme for gamma-GT og ASAT.

# 1 Innledning

## 1.1 Ikke-alkoholisk fettleversykdom (NAFLD) og ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH)

Ansamling av lipider i levercellene (hepatocytene) benevnes leversteatose (fettlever), og anses foreligge når minst 5 % av leverens totale vekt utgjøres av fett (1). Man har lenge forbundet leversteatose med overforbruk av alkohol. I 1980 beskrev dog Ludwig og medarbeidere innlagring av fett i kombinasjon med forekomst av inflammasjon i leveren hos et antall personer som troverdig anga at de var avholdende fra alkohol, og de ga denne sykdommen navnet *non-alkoholic steatohepatitis* (NASH) (1).

Sammenhengen mellom det metabolske syndromet, insulinresistens og fettleversykdom har man etterhvert rettet mer oppmerksomhet mot, og denne sammenhengen anses nå å være minst like vanlig som årsak til leversteatose som alkohol (1). Den generelle benevnelsen som brukes i engelskspråklig litteratur for denne typen av fettlagring i leveren er *non-alkoholic fatty liver disease* (NAFLD), på norsk ikke-alkoholisk fettleversykdom (1).

Den enkleste formen av NAFLD er ren steatose (*simple steatosis*). Når leverfibrose, leverinflammasjon eller hepatocellulær degenerasjon har tilkommet snakker man om NASH, ikke-alkoholisk steatohepatitt (1). Dette er en tilstand som har potensiale til å progrediere til levercirrhose, som er endestadiet av NAFLD som for de fleste andre kroniske leversykdommer (1).

NAFLD er i ferd med å bli den vanligste årsaken til kronisk leversykdom i verden, med en prevalens som i de fleste studier estimeres å spenne fra 25 % til 45 % i den amerikanske befolkningen (2). I et nordisk perspektiv er prevalensen sannsynligvis noe lavere enn dette, og i Sverige antar man en prevalens på omtrent 15 % (3). Prevalensen av NAFLD øker parallelt med prevalensen av overvekt og diabetes. På grunn av den totale sykdomsbyrden til denne tilstanden, er det viktig å effektivt kunne identifisere hvilke pasienter som mest sannsynlig vil ha en økning i morbiditet og mortalitet relatert til NAFLD (2, 3).

Isolert hepatisk steatose er i seg selv ikke skadelig for leverfunksjonen, men omtrent 20% av pasientene med NAFLD kan utvikle steatohepatitt (NASH), med påfølgende risiko for

utvikling av levercirrhose (3). Man antar at risikoen for progresjon til cirrhose ved steatohepatitt er omtrent 20 % (2). Den ikke-alkoholiske steatohepatitten (NASH) regnes for å være den progressive sub-typen av NAFLD, men en del forskning tyder på at leversteatose med inflammasjon i utgangspunktet har en distinkt og mer progressiv sykdomshistorie enn isolert hepatisk steatose (2).

Kliniske risikofaktorer, slik som tilstedeværelse av metabolsk syndrom med dets bestanddeler (bukfedme, insulinresistens, dyslipidemi og hypertensjon), samt biomarkører (leverenzymmer), kan potensielt brukes for å selektere hvilke pasienter som bør undersøkes nærmere med billeddiagnostikk og eventuelt leverbiopsi, med det formål å identifisere de med NASH og langtkommet leversykdom (2). Pasienter med NAFLD, og spesielt de med NASH, har en økt mortalitetsrisiko fra leversykdom (13 %), samt fra kardiovaskulære sykdommer (25 %) og malignitet (28 %) (2).

## 1.2 Patogenese og patofysiologi

NAFLD forårsakes av en ubalanse i den normale metabolismen av lipider i leveren, og både opptaket av fett i leveren og den hepatocellulære omsetningen av lipider er forandret (1). Opptaket av fettsyrer i leveren er kraftig økt, noe som kan forekomme ved et økt fettinntak i kostholdet. Den viktigste mekanismen er dog øket lipolyse i fettvevene som et resultat av insulinresistens (1).

Som en konsekvens av insulinresistens forekommer også hyperinsulinemi i kombinasjon med relativ hyperglykemi (1). Dette fører til at transkripsjonsfaktorer slik som *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP) og *carbohydrate respons element-binding protein* (ChREBP) induseres i leveren, noe som igjen fører til en øket lipogenese og en minsket beta-oksidasjon i hepatocytene (1). Hyperinsulinemi kan føre til nedsatt syntese av apolipoprotein B, som dermed fører til en relativt sett nedsatt utskillelse av lipider fra leveren i form av VLDL (1).

Ansamling av fett i hepatocytene anses man å være en godartet og reversibel tilstand (1). Hvorfor det er slik at noen individer utvikler inflammasjon og tiltakende fibrose, altså ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH), har man til dags dato ikke fullstendig kartlagt (1).

Ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH) er en kompleks sykdom som moduleres av mange forskjellige mekanismer som inkluderer metabolske, genetiske og miljømessige faktorer (2). Visceralt fettvev generer en rekke ulike signaler som innvirker på metabolismen av lipider og glukose i kroppen (2). Dette fører til akkumulering av fett, og skaper samtidig et proinflammatorisk miljø som utløser cellulær skade i leveren og i andre vev i kroppen (2). Manglende evne til å undertrykke disse skadelige prosessene, slik som oksidativt stress, lipotoksisitet og apoptotiske signalveier, bidrar til leverskade, progressiv fibrose som kan føre til cirrhose, og hos noen pasienter utvikling av hepatocellulært karsinom (2).

### 1.3 Levermarkører

Alanin aminotransferase (ALAT) og aspartat aminotransferase (ASAT) benevnes i fellesskap transaminaser (4). ALAT finnes hovedsakelig i levervev, og spesielt i leverens portalområder (4). Tilnærmet all ALAT er lokalisert til hepatocyttenes cytoplasma (4). ALAT er grunnet dette den viktigste markøren for levercelleskade, og konsentrasjonen av ALAT i plasma øker selv ved meget lette leverskader (4). ASAT finnes i høy konsentrasjon i både lever, myokard og skjelettmuskulatur. Den intracellulære lokalisasjonen til ASAT er også forskjellig fra ALAT, da ASAT er omtrent likt fordelt mellom cytoplasma og mitokondriene (4).

ASAT øker omtrent likt med ALAT ved de fleste leveraffeksjoner, og ratioen mellom ASAT og ALAT i plasma er følgelig omtrent 1 (4). Ved lettere skader av hepatocytterne er ratioen ofte lavere fordi det lekker mest transaminaser fra cytoplasma, hvor det er høyest konsentrasjon av ALAT (4). Ved nekrose av hepatocytter, hvor det i stort omfang også lekker ASAT fra mitokondriene, kan ratioen bli høy (4).

Gammaglutamyltransferase (gamma-GT) er et enzym som finnes i blant annet lever, galleganger, pankreas, prostata og nyrer (4). Økning av gamma-GT i plasma kan forårsakes av mange tilstander, blant annet kolestase (4).

Alkaliske fosfataser (ALP) hydrolyserer mange ulike fosfatestere, og finnes i høyest konsentrasjon i leverendotel, galleveier, tynntarmsmucosa, nyrevev og osteoblaster (4). Enzymaktiviteten av ALP som normalt finnes i plasma hos voksne kommer hovedsakelig fra leverendotel og osteoblaster (4). Ved gallestase øker syntesen av ALP i levervevet, og

dermed øker også enzymaktiviteten i plasma (4). Ved skader på hepatocytter er det derimot i liten eller ingen grad av økning i plasma (4). Ekstrahepatisk gallestase gir ofte høyere verdier av ALP enn intrahepatisk gallestase (4). ALP er den viktigste kolestasemarkøren i klinisk praksis (4). Økt gamma-GT og ALP gir mistanke om sykdom i galleganger eller i leveren, mens økt ALP og normal gamma-GT heller kan tyde på skjelettaffeksjon (4).

#### 1.4 Klinikk, diagnostisering og prognose

Ikke-alkoholisk fettleversykdom (NAFLD) er den vanligste formen for leversykdom i den amerikanske befolkningen, og er også den vanligste årsaken til forhøyede leverenzymmer (2). Flertallet av de som har denne tilstanden er asymptomatiske eller har uspesifikke symptomer, slik som tretthet (1).

En betydelig andel av pasientene med NAFLD angis å ha hepatomegali, men dette er ofte vanskelig å påvise ved klinisk undersøkelse, fordi forekomsten av samtidig sentral fedme er høy (1). Ved uttalt hepatomegali kan det forekomme ubehag i øvre høyre kvadrant av abdomen (1).

Den vanligste kliniske presentasjonen på NAFLD er en isolert stigning av ALAT i serum hos en asymptomatisk pasient (1). Selv om de fleste individer med leversteatose har normale leververdier, så er den vanligste årsaken til at pasienter med NAFLD identifiseres, påvisning av lett til middels forhøyede transaminaser (1). Det er heller ikke uvanlig med forhøyet gamma-GT i serum, og i mindre grad kan også ALP være forhøyet (1).

En annen vanlig grunn til at NAFLD diagnostiseres, er at det gjøres billedundersøkelser av bukens organer av andre årsaker enn mistanke om NAFLD (1). Ultralydundersøkelse kan ved fettinnlagring påvise en forhøyet ekkogenisitet (høyere ekkosignal gir et "lysere" bilde av leverparenkymet) i leveren, og er et relativt billig diagnostisk redskap. Både sensitivitet og spesifisitet er høy ved fettinnlagring over 20 %, men sensitiviteten er dårlig ved en lavere grad av fettinnlagring (2, 5).

Fordi ultralydundersøkelse er operatør- og apparat-avhengig, er repeterbarheten og reproducerbarheten begrenset (6). Undersøkelsen kan også være vanskelig å gjennomføre på overvektige pasienter, grunnet begrenset ultralydpenetrasjon og begrenset visualisering



av leveren (6). Nytten av objektiv kvantifisering av leversteatose ved ultralydundersøkelse hemmes også av faktorer slik som fibrose, ødemer og ekstrahepatisk fettvev (6). Slike faktorer konfundere analysen av ekkogenisiteten til levervevet, og fører til uunngåelige feil i kvantifiseringen av fettinnlagring (6).

Undersøkelse med computertomografi (CT) øker ikke sensitiviteten ved lettgradig steatose, og har ulemper i form av økt kostnad og at pasientene utsettes for stråling (2).

Magnetresonanstomografi (MR), inkludert magnetresonansspektroskopi (MRS), kan med en nøyaktighet på tilnærmet 100 % påvise fettinnlagring i leveren over 5,56 % (ofte brukt definerende grenseverdi for unormal fettmengde i leveren) (2, 6). Begge metodene er dog dyre og MRS har begrenset tilgjengelighet (2, 6).

Leverbiopsi regnes som gullstandarden for diagnostisering og gradering av leversteatose (2, 6). Biopsi er også den beste metoden for diagnostisering og staging av ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH) (2). Ved biopsi graderes steatose på en skala fra 0 til 3 gjennom subjektiv visuell estimering av proporsjonen av hepatocytter som inneholder intracellulære vakuoler av fett (6). Fordi graderingsestimatene er subjektive, så er det betydelig inter- og intra-observatør-variasjon i steatosegradering ved histopatologi (6).

Ved biopsi vurderer man også kun en liten del ( $0,05 \text{ cm}^3$ ) av hele leveren ( $800\text{-}1000 \text{ cm}^3$ ), og distribusjonen av fett i leveren er ikke nødvendigvis helt jevn (6). Leverbiopsi er i tillegg en invasiv prosedyre med tilhørende risiko for komplikasjoner, og er relativt dyr sammenlignet med billeddiagnostiske metoder (6).

Blant pasienter med NAFLD så har de med ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH) en langt høyere risiko for å progrediere til cirrhose enn de som kun har isolert steatose (7).

Tilstedeværelsen av tilstandene som utgjør det metabolske syndrom, herunder sentral fedme, hypertensjon, insulinresistens, høye nivåer av triglyserider og lave nivåer av HDL, er assosiert med høyere risiko for NASH og en mer progressiv sykdom (2).

Til tross for at metabolske risikofaktorer er assosiert med mer langtkommet sykdom, så varierer likevel progresjonsraten betydelig mellom ulike pasienter med NASH (2). Noen har kun minimal progresjon over et tiår, mens andre progredierer til fibrose eller cirrhose på 5 år eller mindre (2).

## 1.5 NAFLD og risiko for kardiovaskulær sykdom

Det har etterhvert i økende grad blitt klart at NAFLD ikke kun er assosiert med lever-relatert morbiditet og mortalitet, men at det også er del av en multisystem-sykdom som affiserer en rekke andre organ-systemer i kroppen, inkludert det kardiovaskulære system (8).

I en meta-analyse av 27 tversnittstudier av Oni og medarbeidere, viste resultatene at NAFLD er assosiert med ulike tegn på subklinisk aterosklerose. Eksempler på dette er økt tykkelse av intima media i carotisarteriene, nedsatt flow-mediert vasodilatasjon, økt arteriell stivhet og økt kalsifisering av koronarkar (8, 9). Alle disse assosiasjonene var uavhengige av mangfoldige kardio-metabolske risikofaktorer (for eksempel høyere alder, mannlig kjønn, kroppsmasseindeks, arteriell hypertensjon, diabetes mellitus, dyslipidemi og røyking) på tvers av ulike pasientpopulasjoner (8, 9).

Mange studier har vist at prevalensen av klinisk kardiovaskulær sykdom generelt er signifikant høyere blant pasienter med NAFLD (8, 10, 11). Studier tyder også på at NAFLD er assosiert med en høyere prevalens av høy risiko-plakk i koronararteriene, og at dette er uavhengig av tradisjonelle kardiovaskulære risikofaktorer og av utbredelsen og alvorlighetsgraden av underliggende koronar aterosklerose (8, 12).

I en oppdatert og omfattende meta-analyse av 16 prospektive- og retrospektive observasjonsstudier av Targher og medarbeidere, tydet resultatene sterkt på at NAFLD er assosiert med økt risiko for fatale og ikke-fatale kardiovaskulære hendelser (8). De fant at tilstedeværelsen av NAFLD var signifikant assosiert med en 64 % økt risiko for et kompositt endepunkt av kardiovaskulær sykdom (altså et kombinert utfall som inkluderer død på grunn av kardiovaskulær sykdom og ikke-fatale kardiovaskulære hendelser slik som hjerteinfarkt, angina, hjerneslag eller koronar revaskularisering) (8).

Når de stratifiserte etter ulike utfall fant de at NAFLD var assosiert med både økt risiko for ikke-fatale kardiovaskulære hendelser og økt risiko for fatale- og ikke-fatale kardiovaskulære hendelser samlet (8). Til tross for at resultatene i denne meta-analysen tyder på at NAFLD er assosiert med økt risiko for fatale og ikke-fatale kardiovaskulære hendelser, kan man på grunn av designet i de analyserte studiene (observasjonsstudier) ikke med sikkerhet si noe om kausaliteten mellom NAFLD og kardiovaskulær sykdom (8).

På grunn av det kompliserte samspillet mellom NAFLD, abdominal fedme, oksidativt stress og insulinresistens, har man fortsatt ikke en grundig forståelse av de patofysiologiske mekanismene som forbinder NAFLD med kardiovaskulær sykdom (8, 13). Targher og medarbeidere angir dog i sin meta-analyse at det er en økende bevismengde som tyder på at NAFLD, spesielt i mer alvorlig form (altså NASH), forverrer hepatisk- og perifer insulinresistens, predisponerer for aterogen dyslipidemi og fører til utslipp av en mengde proinflammatoriske-, vasoaktive og trombogene faktorer som kan fremme utviklingen av kardiovaskulær sykdom (8, 10, 11, 13-15).

Annen forskning tyder også på at pasienter med NAFLD har tidlige forandringer i hjertesubstratmetabolismen, som fører til funksjonelle-, strukturelle- og arytmogene konsekvenser for myokard (8, 11, 16-18). Til tross for at disse mekanismene plausibelt forbinder NAFLD til kardiovaskulær sykdom, så har man så langt ingen studier som med sikkerhet beviser kausaliteten i denne forbindelsen (8). Det er følgelig nødvendig med ytterligere forskning for å oppnå dypere mekanistisk innsikt i patofysiologien som forbinder NAFLD med kardiovaskulær sykdom (8).

I meta-analysen av Targher og medarbeidere angir de at funnene deres indikerer at man ved å stille diagnosen NAFLD kan identifisere en undergruppe av den generelle befolkningen som har økt risiko for kardiovaskulære hendelser, og at dette spesielt gjelder de med mer langtkommet fettleversykdom i form av NASH (8). De anser at denne undergruppen følgelig kan ha et særlig behov for oppfølging og eventuelt behandling, for å begrense deres fremtidige risiko for kardiovaskulære hendelser (8).

Før man kan anbefale en slik oppfølgingsstrategi i klinisk praksis anser de dog at det er nødvendig med veldesignede intervensjonsstudier, for å undersøke om det å behandle fettleversykdom kan redusere risikoen for fremtidige kardiovaskulære hendelser (8).

Videre konkluderer de med at det er nødvendig med flere velkontrollerte prospektive studier, som inkluderer en utvidet mengde kardiovaskulære risikofaktorer, for å kunne endelig fastslå om det foreligger et uavhengig hepatisk bidrag til den økte kardiovaskulære risikoen hos pasienten med NAFLD (8). Samt at videre studier også er nødvendige for å fastslå om det å legge til diagnosen NAFLD til allerede eksisterende kardiovaskulære risiko-

scoring systemer (for eksempel NORRISK), vil bidra til forbedret kardiovaskulær risikoprediksjon (8).

## 1.6 Tromsøundersøkelsen

Tromsøundersøkelses-kohorten består av innbyggerne i Tromsø kommune, hvor befolkningen er i overkant av 70 000 (19). Befolkningen er voksende og domineres av kauasiere av hovedsakelig norsk opprinnelse, men omfatter også en samisk minoritet. Tromsøs befolkning kan anses å være representativ for en nord-europeisk, hvit, urban populasjon (19).

Den 6. Tromsøundersøkelsen (Tromsø 6) ble gjennomført i 2007-08, og deltakerne ble invitert i to omganger. Undersøkelsen omfattet både spørreskjemaer, biokjemiske prøver og kliniske undersøkelser (19). I den første omgangen ble alle innbyggere i aldersgruppene 40-42 og 60-87 ( $n = 12\ 578$ ) invitert til å delta (19). I tillegg ble et tilfeldig utvalg av 10 % av individene i aldersgruppen 30-39 ( $n = 1\ 056$ ) og et tilfeldig utvalg av 40 % av individene i aldersgruppen 43-59 ( $n = 5\ 787$ ), samt individer som hadde deltatt i den andre omgangen av Tromsø 4 (hvis ikke allerede inkludert i en av de andre gruppene), også invitert til å delta (19). Altså inviterte man 19 762 individer, og 12 984 (65,7 %) av disse deltok i første omgang av undersøkelsen (19). Av de som deltok i første omgang ble 7 958 invitert til den andre omgangen av undersøkelsen, hvorav 7 307 valgte å delta (19).

I Tromsø 6 var deltakelsen høyere blant kvinner (68,4 %) enn blant menn (62,9 %), noe som var et konsistent funn i alle aldersgrupper under 70 år (19). Hos både menn og kvinner var deltakelsen høyest blant individer i aldersgruppen 60-69 år, respektivt 73,5 % og 80 % (19). Mer enn 90 % av deltakerne definerte seg selv som av norsk opprinnelse. Majoriteten av de gjenværende 10 % definerte seg selv som av samisk eller finsk opprinnelse (19).

Den 7. Tromsøundersøkelsen ble gjennomført i 2015-16. Også denne gangen ble deltakerne invitert i to omganger, Hovedundersøkelsen (Del 1) og Spesialundersøkelsen (Del 2), som sammen omfattet spørreskjemaer, biokjemiske prøver og kliniske undersøkelser (20). Tilsammen ble 32 591 personer fra 40 år og oppover invitert, og totalt 21 083 menn og kvinner i alderen 40-99 år møtte, noe som vil si omtrent 65 % av de inviterte (20).

I Tromsø 7 var også deltakelsen høyere blant kvinner (67,0 %) enn blant menn (62,4 %), og igjen var dette et konsistent funn i alle aldersgrupper under 70 år (20). Hos både menn og kvinner var deltakelsen høyest blant individer i aldersgruppen 65-69 år, respektivt 72,0 % og 75,0 % (20). Etnisitetsfordelingen i populasjonen i Tromsø 7 antas å være omtrent lik fordelingen i populasjonen i Tromsø 6.

Dersom de biokjemiske prøvene indikerte en ikke-akutt klinisk sykdom (for eksempel forhøyet glukose eller forhøyede leverenzymmer), brukte man predefinerte varslingsgrenser for å identifisere de individene som skulle informeres og henvises til videre utredning i primær- eller spesialisthelsetjenesten i etterkant (19).

Noen få deltakere ble sendt direkte til Universitetssykehusets poliklinikk fordi prøvesvarene indikerte behov for rask behandling. Ved patologiske funn ved undersøkelser slik som ekkokardiografi, ble deltakerne henvist for videre utredning ved relevant poliklinikk ved sykehuset (19).

## 1.7 Problemstilling og formål

Formålet med denne oppgaven er å gi en kort innføring i den alt mer prevalente tilstanden ikke-alkoholisk fettleversykdom (NAFLD) med tanke på definisjon, patofysiologi, klinikk og diagnostisering, for deretter å utforske sammenhengen mellom NAFLD og kardiovaskulær sykdom. De statistiske undersøkelsene i denne oppgaven er basert på datamateriale fra den 6. og den 7. Tromsøundersøkelsen (Tromsø 6 og Tromsø 7).

Som omtalt er det en økende mengde forskning som sterkt indikerer at NAFLD er assosiert med en økt forekomst av kardiovaskulær sykdom, og at NAFLD kanskje utgjør en uavhengig risikofaktor for kardiovaskulær sykdom utover etablerte risikofaktorer, slik som tilstedeværelse av det metabolsk syndrom med dets bestanddeler (bukfedme, insulinresistens, dyslipidemi og hypertensjon). Hvis dette stemmer så reiser det spørsmålet om hvordan man på en effektiv måte kan identifisere de som sannsynligvis har NAFLD (og dermed har betydelig økt risiko for fremtidig kardiovaskulær sykdom) i en generell populasjon.

I forskning som undersøker sammenhengen mellom NAFLD og kardiovaskulær sykdom, er diagnosen NAFLD ofte satt ved hjelp av ultralyd, CT, MR eller leverbiopsi. Disse diagnostiske modalitetene er dog ikke egnet for undersøkelse av en stor mengde individer i en generell populasjon. Det kan følgelig tenkes at man må bruke andre metoder for å velge ut de individene i en generell populasjon som kan ha nytte av å bli videre utredet for NAFLD, med den hensikt å så tidlig som mulig innsette tiltak (for eksempel medikamentell behandling eller livsstilsendringer) for å begrense deres risiko for fremtidige kardiovaskulære hendelser.

NAFLD er assosiert med forhøyede leverenzymmer (for eksempel gamma-GT og ALAT), til tross for at mange med NAFLD kan ha normale verdier (1). I denne oppgaven har vi ønsket å sammenligne tilstedeværelsen av forhøyede leverenzymmer i Tromsø 6 med forekomsten av kardiovaskulær sykdom i perioden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7, hos individer som har deltatt i begge undersøkelsene. Hensikten med dette har vært å vurdere om forhøyede leverenzymmer potensielt kan være en av parameterne man kan benytte seg av for å vurdere hvilke individer i en generell populasjon som kan ha nytte av å bli videre utredet for NAFLD, med tanke på å forebygge kardiovaskulær sykdom.

Hypotese: Forhøyede verdier av leverenzymmer er en uavhengig risikofaktor for kardiovaskulær sykdom.

## 2 Materiale og metode

### 2.1 Gjennomføring av oppgaven

Det ble søkt til Regional Etisk Komité (REK) for godkjenning av oppgaven i juni 2017, og denne søknaden ble innvilget i august samme år. I etterkant av dette ble det søkt til Tromsøundersøkelsen om å få utlevert ett datasett med definerte variabler fra Tromsø 6 og Tromsø 7, som kunne være relevante for denne oppgaven. I februar 2018 ble dette innvilget, og vi fikk utlevert datasettet.

Utover våren 2018 begynte undertegnede å forfatte oppgaven, samtidig som undertegnede sammen med veileder ble enig om hva den statistiske delen av oppgaven skulle omfatte og hvordan de statistiske analysene skulle gjennomføres. De statistiske analysene ble i stor grad planlagt og utført i første omgang av veileder, for deretter å bli gjennomført på nytt av undertegnede. Oppgaven ble ferdigstilt i løpet av mai 2018.

### 2.2 Datamaterialet, variabler og metode

I Tromsø 6 ble det gjennomført biokjemiske analyser av enzymene ASAT, ALAT og gamma-GT hos 5425 individer i aldersgruppen 30-87 år. Varslingsgrensen var satt til to ganger høyere enn øvre grense for normalverdien, og personer med slike verdier ble henvist til ultralydundersøkelse av leveren.

I Tromsø 6 ble det også innhentet verdier for og opplysninger om etablerte kardiovaskulære risikofaktorer (for eksempel blodtrykk, lipider, kolesterol, og røyking) og etablert kardiovaskulær sykdom. Innhenting av disse verdiene og opplysningene ble senere gjentatt i Tromsø 7 (2015-2016). I begge undersøkelsene var det også inkludert blant annet kjønn, alder, vekt og høyde hos deltakerne.

For å kunne undersøke assosiasjonen mellom forhøyede leverenzymmer hos deltakere i Tromsø 6 med forekomsten av kardiovaskulær sykdom i perioden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7, hos deltakere som hadde deltatt i begge undersøkelsene, måtte vi først definere et kompositt endepunkt av kardiovaskulær sykdom i Tromsø 7. Vi besluttet at det kompositte endepunktet i Tromsø 7 skulle utgjøres av de to variablene *Angina pectoris* i

Tromsø 7 og *Hjerteinfarkt* i Tromsø 7, og ga endepunktet benevnelsen *Koronarsykdom* i Tromsø 7.

For å finne ut hvilke av deltakerne (med deltakelse i begge undersøkelsene) som hadde fått angina pectoris eller hjerteinfarkt i perioden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7, måtte vi først lage en tilsvarende samlevariabel for koronarsykdom i Tromsø 6. Vi trakk deretter i fra *Koronarsykdom* i Tromsø 7 med *Koronarsykdom* i Tromsø 6 (altså de deltakerne som allerede hadde/hadde hatt angina pectoris eller hjerteinfarkt i Tromsø 6), slik at gruppen som gjensto hadde fått koronarsykdom i perioden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7. Dette ble altså utkommevariabelen (*Koronarsykdom* T7 minus T6), som vi kunne bruke i de statistiske analysene.

Vi undersøkte deretter sammenhengen mellom utkommevariabelen og forhøyede leverenzymmer, alder, kjønn, BMI (Body mass index), samt et utvalg av kardiovaskulære risikofaktorer, i Tromsø 6. Av leverenzymmer inkluderte vi de som hadde blitt målt hos et antall deltakere i Tromsø 6, altså ALAT, ASAT og gamma-GT. Alle disse leverenzymene har ulike referanseverdier, som varierer avhengig av alder og kjønn (21). I de statistiske analysene i oppgaven valgte vi dog å sette «cut-off»-verdier, som skulle skille mellom normale og forhøyede leververdier, uavhengig av alder og kjønn (Tabell I).

For å kunne undersøke sammenhengen mellom utkommevariabelen og alder, delte vi deltakerne i Tromsø 6 inn i seks ulike aldersgrupper (Tabell II). For å finne deltakernes BMI i Tromsø 6 brukte vi variablene høyde og vekt i datasettet, og regnet deretter ut BMI ved hjelp av formelen  $BMI = (\text{kroppsvekt})/(\text{kroppshøyde})^2$ . Deltakerne ble delt inn i ulike klasser etter WHO's BMI klassifisering (22). Vi valgte å bruke tre BMI klasser, hvor undervekt ikke ble tatt med (Tabell III).

Av etablerte kardiovaskulære risikofaktorer, hvor man skulle undersøke sammenhengen med utkommevariabelen, valgte vi å inkludere variablene blodtrykk, kolesterol, røyking, høysensitiv CRP og diabetes i Tromsø 6 i analysen. For variabelen blodtrykk valgte vi å sette «cut-off»-verdien mellom normalt og ugunstig høyt blodtrykk på >130 mmHg systolisk, noe som er i samsvar med nyere amerikanske retningslinjer (23). For kolesterol valgte vi å kun inkludere variabelen total-kolesterol, ikke LDL eller HDL, og «cut-off»-verdien mellom normalt og ugunstig høyt ble satt til 4,5 mmol/L.



I variabelen røyking ble deltakerne i Tromsø 6 delt inn i tre ulike grupper: de som aldri hadde røykt, de som hadde røykt tidligere og de som var aktive røykere. For variabelen høysensitiv CRP (hsCRP), som er et mål på en underliggende inflammatorisk tilstand i kroppen, valgt vi å sette «cut-off»-verdien  $>3,0$  mg/L for å skille mellom normale og høye verdier. I variabelen diabetes var deltakerne i Tromsø 6 delt inn i to grupper, hvor den ene var de som hadde eller hadde hatt diabetes mellitus (type I eller II), og den andre var de som aldri hadde hatt det.

### 2.3 Statistisk analyse

For de statistiske analysene benyttet vi IBM SPSS Statistics versjon 25. De ulike variablene kjønn, alder, BMI, forhøyede leverenzymmer, og de etablerte risikofaktorene for koronarsykdom ble analysert ved hjelp av univariat og multivariat binomial logistisk regresjon. Modelloppsummering ble estimert ved hjelp av Nagelkerke  $R^2$ . SPSS er også benyttet for de deskriptive analysene.

Variabler som var statistisk signifikante, samt alle seks aldersgrupper ble inkludert i den multivariate analysen. Resultatene ble ansett å være statistisk signifikante hvis  $p$ -verdien var  $<0,05$ , og de presenteres i oppgaven som oddsratio (OR) med 95 % konfidensintervall (95 % KI).

## 3 Resultater

### 3.1 Deltakelse og prevalens av ulike variabler i studiepopulasjonen

Beskrivelse av deltakelse i Tromsø 6 og i Tromsø 7 fremkommer i innledningsdelen av oppgaven. Av de totalt 34 067 deltakerne i Tromsø 6 og Tromsø 7 samlet, noe som utgjorde 25158 individer, så var det 8 906 (35,4 %) som deltok i begge undersøkelsene. Denne gruppen som deltok i begge undersøkelsene, kan benevnes som studiepopulasjonen i denne oppgaven (Figur 1). I studiepopulasjonen var det en liten overvekt av kvinner (53,6 %) og gjennomsnittsalderen var på 55,8 år (Tabell IV).

Gjennomsnittlig BMI i studiepopulasjonen var på 26,9 kg/m<sup>2</sup> (Tabell IV). Prevalensen av de ulike BMI-klassene som deltakerne ble inndelt i var som følger: Normalvektig (BMI 18,5-24,9): 35,3 %, Overvektig (BMI 25-29,9): 44,9 % og Fedme (BMI 30+): 19,7 %. Her var som tidligere nevnt klassen undervektig (BMI <18,5) ikke tatt med.

I studiepopulasjonen var det 38,7 % som aldri hadde røykt, 43,4 % som hadde røykt tidligere, og 18,0 % som var aktive røykere.

Blant andre etablerte kardiovaskulære risikofaktorer i studiepopulasjonen (med våre «cut-off»-verdier) var prevalensen av høyt blodtrykk 51,8 % og prevalensen av ugunstig høyt kolesterol 84,4 %. For forhøyet hsCRP var prevalensen 18,4 %, mens prevalensen av de som hadde eller hadde hatt diabetes var 3,9 %.

For leverenzymene som ble målt i Tromsø 6 var prevalensen av forhøyede verdier i studiepopulasjonen som følger: ALAT (>45 U/L) 11,8 %, ASAT (>40 U/L) 4,3 % og gamma-GT (>100 U/L) 3,0 %.

### 3.2 Risikofaktorer for koronarsykdom

I den univariate logistiske regresjonsanalysen var både mannlig kjønn og de etablerte kardiovaskulære risikofaktorene høyt blodtrykk, høyt kolesterol, hsCRP og diabetes, signifikant assosiert med en forhøyet risiko for å få koronarsykdom i tiden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7 (Tabell V). Analysen viste også en signifikant positiv assosiasjon hos både tidligere og nåværende røykere, sammenliknet med de som aldri hadde røykt.

For de ulike BMI-klassene viste analysen at både overvekt og fedme var signifikant assosiert med koronarsykdom, sammenliknet med det å være normalvektig.

Bildet var noe mer nyansert for de ulike aldersgruppene i studiepopulasjonen. Den univariate analysen viste ingen signifikans for den nest yngste aldersgruppen (40-49 år) eller den etter det igjen (50-59 år), sammenliknet med den yngste aldersgruppen (30-39 år). Aldersgruppen 60-69 år var grensesignifikant, mens aldersgruppen 70-79 år var klart signifikant, sammenliknet med den yngste aldersgruppen. For aldersgruppen 80+ viste analysen ingen signifikans.

For leverenzymene viste den univariate logistiske regresjonsanalysen (med våre «cut-off»-verdier) ingen signifikans for forhøyet ASAT og gamma-GT. Analysen viste dog at forhøyet ALAT var signifikant assosiert med økt risiko for koronarsykdom (OR 1,90, 95 % KI (1,23; 2,93)) i denne studiepopulasjonen (Tabell V).

I den univariate analysen var det å være i aldersgruppen 70-79 år den dominerende signifikante risikofaktoren for koronarsykdom (OR 4,58, 95 % KI (1,82; 11,5)), etterfulgt av høyt blodtrykk og mannlig kjønn (Tabell V).

For den multivariate logistiske regresjonsanalysen var ikke ASAT og gamma-GT inkludert, grunnet  $p$ -verdi  $>0,05$ . Alle de andre variablene som var inkludert i den univariate analysen, ble dog også inkludert i den multivariate analysen.

I den multivariate analysen var flere av variablene ikke lenger statistisk signifikante, deriblant høyt blodtrykk, diabetes og det å tidligere ha røykt (Tabell V). De to BMI-klassene overvekt og fedme var heller ikke statistisk signifikante for koronarsykdom lenger. Blant de ulike aldersgruppene var gruppen 60-69 år ikke lenger signifikant, mens gruppen 70-79 år fortsatt var det.

De andre etablerte risikofaktorene for kardiovaskulær sykdom som var statistisk signifikante i den multivariate analysen var mannlig kjønn, høyt kolesterol, høy hsCRP og nåværende røyking (Tabell V). Også i den multivariate logistiske regresjonsanalysen var forhøyet ALAT en signifikant risikofaktor for koronarsykdom (OR 1,78, 95 % KI (1,18; 2,83)).

I den multivariate analysen var fortsatt det å være i aldersgruppen 70-79 år den dominerende signifikante risikofaktoren for koronarsykdom, med en betydelig økt oddsratio

(OR 9,02, 95 % KI (1,18; 69,1)) i forhold til i den univariate analysen. Etter denne fulgte mannlig kjønn og høyt kolesterol som de dominerende risikofaktorene (Tabell V).

Modellen som inkluderte disse variablene kunne forklare 11,7 % av variasjonen i utkommevariabelen, altså om en deltaker fikk koronarsykdom i tiden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7.

## 4 Diskusjon

Resultatene i denne oppgaven tyder på at det å ha forhøyet verdi av leverenzymer ALAT i Tromsø 6 var en uavhengig risikofaktor for å få koronarsykdom i perioden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7, i den populasjonen som deltok i disse to Tromsøundersøkelsene. Det var forhøyede verdier av leverenzymene ASAT og gamma-GT derimot ikke.

I den univariate logistiske regresjonsanalysen ga forhøyet verdi av ALAT en høyere oddsratio for koronarsykdom enn risikofaktorer slik som tidlig eller nåværende røyking, eller å ha en BMI som klassifiseres som overvektig eller fedme. Forhøyet verdi av ALAT ga også en oddsratio som var nesten like høy som det å ha eller ha hatt diabetes, eller det å ha høyt kolesterol, som begge er veletablerte risikofaktorer for kardiovaskulær sykdom.

I den multivariate logistiske regresjonsanalysen, hvor resultatet var justert for andre variabler, var oddsratioen for koronarsykdom når man har forhøyet ALAT noe lavere, og  $p$ -verdien var noe høyere. Resultatet var dog fortsatt statistisk signifikant. Det var derimot de veletablerte kardiovaskulære risikofaktorene høyt blodtrykk eller diabetes ikke lenger, når man justerte for de andre variablene i den multivariate analysen.

Resultatene for ALAT fremstår dermed å stemme overens med hypotesen i oppgaven. Hvorfor resultatene for ASAT og gamma-GT ikke fremstår å stemme overens med hypotesen, gir de statistiske analysene ingen svar på. På generell basis kan man dog si at ALAT er den mest sensitive markøren for levercelleskade, mens ASAT og gamma-GT er mindre sensitive og mer uspesifikke (4). Forhøyet verdi av ALAT har kanskje også sterkest assosiasjon til NAFLD av de ulike leverenzymene, selv om forhøyet gamma-GT heller ikke er uvanlig hos personer med NAFLD (1). ALP kan også være forhøyet ved NAFLD (1), men ble ikke målt sammen med de andre leverenzymene i Tromsø 6, og er således ikke med i de statistiske analysene i denne oppgaven.

Det bør også nevnes at forhøyet verdi av ALAT, kanskje som forventet, var omtrent 3-4 ganger mer prevalent i studiepopulasjonen enn forhøyet verdi av ASAT eller gamma-GT var. Hva de potensielle implikasjonene for resultatet i de statistiske analysene dette skulle kunne være, er svært vanskelig å forutsi.

Som nevnt i innledningsdelen er det en økende mengde forskning som tyder på at NAFLD er assosiert med forhøyet risiko for kardiovaskulær sykdom, selv om det er vanskelig å bevise kausaliteten i denne sammenhengen (8). I forskning som undersøker sammenhengen mellom NAFLD og kardiovaskulær sykdom, er diagnosen NAFLD ofte satt ved hjelp av ultralyd, CT, MR eller leverbiopsi. I denne oppgaven valgte vi å undersøke sammenhengen mellom forhøyede leververdier og kardiovaskulær sykdom, uten at vi kunne si om de forhøyede leververdiene i studiepopulasjonen var forårsaket av NAFLD, eller av andre tilstander som potensielt også kan øke risikoen for kardiovaskulær sykdom. Hensikten med dette var å vurdere om forhøyede leverenzzymer potensielt kan være en av parameterne man kan benytte seg av for å vurdere hvilke individer i en generell populasjon som kan ha nytte av å bli videre utredet for NAFLD, med tanke på å forebygge kardiovaskulær sykdom. I denne oppgaven var det som nevnt kun forhøyet ALAT som var signifikant assosiert med forhøyet risiko for koronarsykdom i studiepopulasjonen.

Hvorvidt forhøyede verdier av ALAT er tydelig assosiert med forhøyet risiko for kardiovaskulær sykdom eller ikke, er et omdiskutert tema. Noe forskning tyder på at det er en tydelig sammenheng (24, 25), mens annen forskning tyder på at det er usikker (26-29) eller ingen sammenheng (30-32). Det er også forskning som tyder på at forhøyet gamma-GT, men ikke forhøyet ALAT, kan predikere økt risiko for kardiovaskulær sykdom (33, 34). Dette stemmer ikke overens med funnene i denne oppgaven. Det er usikkert om sammenhengen mellom forhøyet gamma-GT og kardiovaskulær sykdom er forårsaket av, eller påvirket av, en assosiasjon mellom forhøyet gamma-GT og NAFLD.

Til dags dato har man ingen forskning som med sikkerhet kan si om forhøyede leverenzzymer effektivt kan benyttes til å predikere risiko for kardiovaskulær sykdom, altså om forhøyede leverenzzymer kan benyttes for å vurdere hvilke individer i en generell populasjon som kan ha nytte av å bli videre utredet/behandlet med tanke på å forebygge kardiovaskulær sykdom. Forskingen konkluderes stort sett med at det er nødvendig med flere studier av høy kvalitet for å besvare dette spørsmålet (8, 29). Denne oppgaven kan ikke direkte bidra til å gi noen økt kunnskap med tanke på dette spesifikke forskningsspørsmålet, men vi har vist at forhøyet verdi av ALAT fremstår å være assosiert med økt risiko for koronarsykdom i studiepopulasjonen og at vi ikke ser en slik assosiasjon for gamma-GT eller ASAT.

Hovedstyrken til denne oppgaven er at tallmaterialet vi har brukt i de statistiske analysene er innhentet fra en studiepopulasjon (Tromsøundersøkelsen), som i stor grad er ment å representere den generelle befolkningen i et nord-europeisk land. Dette var utvilsomt gunstig da hensikten med oppgaven var å studere sammenhengen mellom NAFLD, forhøyede leverenzymmer og assosiasjonen til kardiovaskulær sykdom i en generell befolkning. Funnene i oppgaven kan dermed tenkes å kunne ekstrapoleres til den generelle (nord-europeiske) befolkningen. Totalt sett hadde vi også en ganske stor studiepopulasjon ( $n = 8\,906$ ).

Til tross for at Tromsøundersøkelsen i stor grad er ment å representere den (voksne) befolkningen i Tromsø kommune, så vil det alltid være slik at studiepopulasjonen avviker i større eller mindre grad fra den generelle befolkningen. En av faktorene som påvirker dette avviket ved Tromsøundersøkelsen er hvem som blir invitert til undersøkelsen, altså en form for bevisst seleksjon. I Tromsø 6 var de største inviterte aldersgruppene 40-49 år og 60-69 år, mens de minste var 30-39 år og 80-87 år (19). Det var også en viss forskjell i antall menn og kvinner som ble invitert i de ulike aldersgruppene (19).

En annen faktor som påvirker avviket er hvordan fremmøteprosenten er i de ulike inviterte aldersgruppene, altså en form for selvseleksjon. I Tromsø 6 var deltakelsen hos både menn og kvinner høyest blant individer i aldersgruppen 60-69 år, mens den var lavest i den yngste og den eldste aldersgruppen (19). Dette kan tenkes å være forårsaket av at de eldste og sykeste ikke kan delta, og at de yngste og mest friske ikke vil delta i undersøkelsen. Det var også en viss kjønnsforskjell i fremmøteprosenten, hvor deltakelsen var høyere blant kvinner enn blant menn i de fleste aldersgrupper (19).

Studiepopulasjonen i Tromsøundersøkelsen er altså ikke et nøyaktig gjennomsnitt av befolkningen i Tromsø kommune, men anses likevel å være relativt representativ for den generelle befolkningen. Hvilke potensielle konsekvenser avviket i studiepopulasjonen fra den generelle befolkningen eventuelt kan ha for de statistiske analysene i oppgaven, er svært vanskelig å skulle forutsi. I Tromsø 6 var tilnærmet alle deltakerne (>96 %) over 40 år, og det er dermed ikke usannsynlig at den totale sykdomsbyrden i studiepopulasjonen er noe høyere enn i den generelle befolkningen. Det er heller ikke usannsynlig at mange av de

andre variablene i de statistiske analysene i oppgaven avviker noe fra den generelle befolkningen.

En annen styrke ved oppgaven er at vi har gjort både univariat og multivariat logistisk regresjonsanalyse, hvor vi har inkludert flere ulike risikofaktorer for kardiovaskulær sykdom. I den multivariate analysen er altså assosiasjonen mellom forhøyet ALAT og utkommevariabelen *koronarsykdom* justert for en rekke andre risikofaktorer. Det var derfor mulig å konkludere med at forhøyet ALAT fremstår å være en uavhengig risikofaktor.

Denne oppgaven har flere begrensninger og potensielle svakheter. En av begrensningene er at det kun ble målt leverenzymer (ALAT, ASAT og gamma-GT) hos 5 425 av totalt 12 984 deltakere i Tromsø 6. Det hadde vært ønskelig at det hadde blitt målt leverenzymer hos alle deltakerne.

En potensiell svakhet ved oppgaven, var at når vi beregnet hvor mange i studiepopulasjonen i oppgaven ( $n = 8\,906$ ) som hadde fått koronarsykdom (etter våre kriterier) i tiden mellom Tromsø 6 og Tromsø 7, så kom vi frem til en relativt liten gruppe ( $n = 266$ ). I denne gruppen som fikk koronarsykdom var det enda færre man også hadde målt leverenzymer hos i Tromsø 6 ( $n = 137$ ). Vi satt altså igjen med en relativt liten gruppe som hadde fått koronarsykdom, hvor vi også hadde verdier av leverenzymer, noe som potensielt kan ha påvirket resultatet av de statistiske analysene.

Flere av variablene som vi brukte i oppgaven, deriblant forekomsten av hjerteinfarkt og angina pectoris, var kun selvrapportert blant deltakerne i Tromsø 6, og ikke ytterligere kvalitetssikret med for eksempel oppslag i deltakernes pasientjournaler. Dette er en begrensning i oppgaven, og kan potensielt ha påvirket resultatene vi fikk, spesielt med tanke på at gruppen som fikk koronarsykdom var relativt liten.

Variabelen *har eller har hatt diabetes* som vi brukte i oppgaven, var i Tromsø 6 en dikotomert (ja/nei) variabel. Dette er noe uheldig, fordi effekten av diabetes på risikoen for andre sykdommer er sterkt avhengig av blant annet verdien av langtidsblodsukkeret (HbA1c – glykosylert hemoglobin A1c) over tid, og hvor mange år man totalt sett har hatt diabetes. Vi valgte likevel å ta med denne variabelen i de statistiske analysene, da tilstedeværelsen av diabetes sannsynligvis kan være viktig i samspillet mellom NAFLD, det metabolske syndrom



og kardiovaskulær sykdom. Det bemerkes dog at det å ha eller å ha hatt diabetes i Tromsø 6 ikke var en statistisk signifikant risikofaktor for utkommevariabelen *koronarsykdom* i den multivariate analysen i oppgaven, til tross for at diabetes er en velkjent risikofaktor for kardiovaskulær sykdom.

For variabelen *BMI* (Body mass index), som vi selv klassifiserte ut fra målt høyde og vekt i Tromsø 6, og som vi benyttet i de statistiske analysene i oppgaven, valgte vi å ikke inkludere de som etter WHO's klassifikasjon (22) var undervektige ( $BMI < 18,5$ ). Dette var sannsynligvis en liten del av studiepopulasjonen, og vi vurderte denne gruppen som mindre relevant for oppgaven. For variabelen *kolesterol*, valgte vi å kun inkludere total-kolesterol i de statistiske analysene i oppgaven, og ikke LDL eller HDL. Høyt kolesterol (etter våre kriterier) var en statistisk signifikant risikofaktor for utkommevariabelen *koronarsykdom* i både den univariate og den multivariate analysen, men vi vet ikke hvilke effekter høye/lave verdier av LDL eller HDL potensielt kunne ha hatt for resultatene.

En annen begrensning i denne oppgaven er at når vi har undersøkt assosiasjonen mellom forhøyet ALAT og fremtidig risiko for kardiovaskulær sykdom, så har vi utelukkende fokusert på assosiasjonen mellom forhøyet ALAT og koronarsykdom, og ikke undersøkt for eksempel assosiasjonen til hjerneslag eller perifer karsykdom. Vi vet følgelig ikke om resultatene i denne oppgaven er overførbare til andre typer av kardiovaskulær sykdom enn koronarsykdom. Å studere assosiasjonen mellom forhøyede leverenzymmer og hjerneslag i studiepopulasjonen som deltok i både Tromsø 6 og Tromsø 7, kunne ha vært av interesse i en forlengelse av denne oppgaven eller i en annen oppgave.

I de statistiske analysene i denne oppgaven har vi ikke justert for studiepopulasjonens alkoholforbruk. Et høyt alkoholforbruk kan som kjent gi skade på leveren, og det kan tenkes at forhøyet verdi av leverenzymmer hos noen av personene i studiepopulasjonen kan ha vært forårsaket av alkohol. Dette er noe uheldig, da vi i denne oppgaven hovedsakelig har vært interessert av NAFLD som årsak til forhøyede leverenzymmer og assosiasjonen til kardiovaskulær sykdom. Vi vet følgelig ikke om alkohol, eller eventuelt andre faktorer slik som virale hepatitter eller levertoksiske medikamenter, har hatt en konfunderende effekt i de statistiske analysene i oppgaven.

Hovedbegrensningen i denne oppgaven er dog at resultatene av de statistiske analysene med stor sannsynlighet påvirkes av hvordan vi har valgt å sette «cut-off»-verdiene, som skal skille mellom normale og unormale verdier, for de ulike variablene. Vi har heller ikke tatt hensyn til kjønn eller alder når vi har satt disse «cut-off»-verdiene. For ALAT valgte vi for eksempel å sette «cut-off»-verdien mellom normal og forhøyet på 45 U/L for menn og kvinner samlet. Dette til tross for at den øvre normalgrensen for ALAT hos menn har blitt økt til 70 U/L i Norge i moderne tid (21). Vi har ikke undersøkt hvordan andre «cut-off»-verdier for ALAT potensielt kunne ha påvirket resultatene av de statistiske analysene.

Fordi referanseverdien for ALAT er kontroversiell, kan man argumentere for at det hadde vært mer gunstig å dele inn ALAT-verdiene i tertiler, slik Schindhelm og medarbeidere gjorde i deres studie hvor de undersøkte om ALAT kunne predikere risikoen for koronare hendelser, i stedet for å sette én bestemt grense mellom normal og forhøyet (24).

Også for andre variabler, slik som de etablerte risikofaktorene *høyt blodtrykk*, *høyt kolesterol* og *høy hsCRP*, kan «cut-off»-verdiene vi valgte ha påvirket resultatene av de statistiske analysene. For blodtrykk valgte vi for eksempel å følge nyere amerikanske retningslinjer når vi definerte hva som var normalt blodtrykk og hva som var ugunstig høyt, og satt «cut-off»-verdien på 130 mmHg i systolisk blodtrykk (23). Dette i motsetning til retningslinjene i Norge, hvor «cut-off»-verdien normalt sett er 140 mmHg i systolisk blodtrykk.

Disse variablene kunne man også ha valgt å dele inn i tertiler, i stedet for å sette én bestemt grense mellom normal og forhøyet, men dette ville utvilsomt ha økt kompleksiteten i de statistiske analysene.

Det er noe vanskelig å vurdere implikasjoner av funnene i denne oppgaven. Våre resultater viste at forhøyet ALAT var en risikofaktor for koronarsykdom i vår studiepopulasjon, men som tidligere nevnt har man i forskning fått svært ulike resultater når man har undersøkt om forhøyet ALAT kan predikere kardiovaskulær sykdom. Vi vurderer at det likevel potensielt kan være av interesse å forske mer på denne assosiasjonen. En svakhet ved oppgaven er dog at vi ikke har utført interaksjonsanalyser mellom de ulike variablene i den multivariate logistiske regresjonsanalysen. Dette bør man vurdere å gjøre hvis det skal forskes videre på problemstillingen i denne oppgaven.

## 5 Konklusjon

Resultatene i denne oppgaven viser at forhøyede verdier av ALAT fremstår å være en uavhengig risikofaktor for fremtidig kardiovaskulær sykdom i studiepopulasjonen, men at dette ikke stemmer for forhøyede verdier av gamma-GT og ASAT. For én av de målte leververdiene i Tromsø 6 kan vi dermed konkludere med at hypotesen i oppgaven fremstår å stemme.

Dette kan tenkes å tyde på at forhøyede leverenzymmer potensielt kan være en av parameterne man i fremtiden kan benytte seg av for å vurdere hvilke individer i en generell populasjon som kan ha nytte av å bli videre utredet for NAFLD, med tanke på å forebygge kardiovaskulær sykdom. Det er dog nødvendig med ytterligere forskning av høy kvalitet for å undersøke om dette stemmer.

## 6 Referanser

1. Kechagias S. Icke-alkolorsakad fettleversjukdom. In: Hultcrantz R, Bergquist A, Lindgren S, Simrén M, Stål P, Suhr OB, editors. *Gastroenterologi och hepatologi*. 1. ed. Sweden: Liber; 2011. p. 554-63.
2. Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review. *JAMA*. 2015;313(22):2263-73.
3. Hagstrom H, Hoffstedt J, Reynisdottir S. New guidelines for NAFLD – a Swedish perspective. *Lakartidningen*. 2017;114.
4. Brekke O-L. Diagnostikk av leversykdommer. In: Hagve T-A, Berg JP, editors. *Klinisk biokjemi og fysiologi*. 5. ed. Norway: Gyldendal; 2015. p. 301-14.
5. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol*. 2009;51(6):1061-7.
6. Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2011;34(4):729-49.
7. Matteoni C, Younossi Z, Gramlich T, Boparai N, Liu Y, McCullough A. Nonalcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1413-9.
8. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, Zoppini G, Barbui C. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *Journal of Hepatology*. 2016;65(3):589-600.
9. Oni ET, Agatston AS, Blaha MJ, Fialkowd J, Cury R, Sposito A, et al. A systematic review: Burden and severity of subclinical cardiovascular disease among those with nonalcoholic fatty liver; Should we care? *Atherosclerosis*. 2013;230(2):258-67.
10. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*. 2015;62(1 Suppl):S47-64.
11. Ballestri S, Lonardo A, Bonapace S, Byrne CD, Loria P, Targher G. Risk of cardiovascular, cardiac and arrhythmic complications in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(7):1724-45.
12. Puchner SB, Lu MT, Mayrhofer T, Liu T, Pursnani A, Ghoshhajra BB, et al. High-Risk Coronary Plaque at Coronary CT Angiography Is Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Independent of Coronary Plaque and Stenosis Burden: Results from the ROMICAT II Trial. *Radiology*. 2015;274(3):693-701.
13. Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(6):330-44.
14. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;363(14):1341-50.
15. Lonardo A, Sookoian S, Pirola CJ, Targher G. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of cardiovascular disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1136-50.
16. VanWagner LB, Wilcox JE, Colangelo LA, Lloyd-Jones DM, Carr JJ, Lima JA, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with subclinical myocardial remodeling and dysfunction: A population-based study. *Hepatology*. 2015;62(3):773-83.
17. Targher G, Valbusa F, Bonapace S, Bertolini L, Zenari L, Rodella S, et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Is Associated with an Increased Incidence of Atrial Fibrillation in Patients with Type 2 Diabetes. *Plos One*. 2013;8(2).

18. Mantovani A, Pernigo M, Bergamini C, Bonapace S, Lipari P, Valbusa F, et al. Heart valve calcification in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2015;64(8):879-87.
19. Eggen AE, Mathiesen EB, Wilsgaard T, Jacobsen BK, Njolstad I. The sixth survey of the Tromso Study (Tromso 6) in 2007-08: Collaborative research in the interface between clinical medicine and epidemiology: Study objectives, design, data collection procedures, and attendance in a multipurpose population-based health survey. *Scandinavian Journal of Public Health*. 2013;41(1):65-80.
20. Grønn KW. Tromsø 7 [Internet] Tromsø: UiT: Universitetet i Tromsø - Norges arktiske universitet; 2017 [cited 2018 MAY 15]. Available from: [https://uit.no/forskning/forskningsgrupper/sub?sub\\_id=503778&p\\_document\\_id=367276](https://uit.no/forskning/forskningsgrupper/sub?sub_id=503778&p_document_id=367276).
21. Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Martensson A, et al. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest*. 2004;64(4):271-84.
22. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee, WHO technical report series 854. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1995.
23. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Jr., Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(19):e127-e248.
24. Schindhelm RK, Dekker JM, Nijpels G, Bouter LM, Stehouwer CD, Heine RJ, et al. Alanine aminotransferase predicts coronary heart disease events: a 10-year follow-up of the Hoorn Study. *Atherosclerosis*. 2007;191(2):391-6.
25. Yun KE, Shin CY, Yoon YS, Park HS. Elevated alanine aminotransferase levels predict mortality from cardiovascular disease and diabetes in Koreans. *Atherosclerosis*. 2009;205(2):533-7.
26. Dunn W, Xu R, Wingard DL, Rogers C, Angulo P, Younossi ZM, et al. Suspected nonalcoholic fatty liver disease and mortality risk in a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(9):2263-71.
27. Goessling W, Massaro JM, Vasan RS, D'Agostino RB, Sr., Ellison RC, Fox CS. Aminotransferase levels and 20-year risk of metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease. *Gastroenterology*. 2008;135(6):1935-44, 44 e1.
28. Kunutsor SK, Apekey TA, Khan H. Liver enzymes and risk of cardiovascular disease in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Atherosclerosis*. 2014;236(1):7-17.
29. Targher G, Byrne CD. Circulating Markers of Liver Function and Cardiovascular Disease Risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(11):2290-6.
30. Olynyk JK, Knuiman MW, Divitini ML, Davis TM, Beilby J, Hung J. Serum alanine aminotransferase, metabolic syndrome, and cardiovascular disease in an Australian population. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(7):1715-22.
31. Ruhl CE, Everhart JE. Elevated serum alanine aminotransferase and gamma-glutamyltransferase and mortality in the United States population. *Gastroenterology*. 2009;136(2):477-85 e11.

32. Ghouri N, Preiss D, Sattar N. Liver enzymes, nonalcoholic fatty liver disease, and incident cardiovascular disease: a narrative review and clinical perspective of prospective data. *Hepatology*. 2010;52(3):1156-61.
33. Fraser A, Harris R, Sattar N, Ebrahim S, Smith GD, Lawlor DA. Gamma-glutamyltransferase is associated with incident vascular events independently of alcohol intake: analysis of the British Women's Heart and Health Study and Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(12):2729-35.
34. Koehler EM, Sanna D, Hansen BE, van Rooij FJ, Heeringa J, Hofman A, et al. Serum liver enzymes are associated with all-cause mortality in an elderly population. *Liver Int*. 2014;34(2):296-304.

## 7 Tabeller

### Tabell I

Referanseverdier for utvalgte leverenzymmer og valgte «cut-off»-verdier i oppgaven for disse leverenzymene:

	REFERANSEVERDI MENN	REFERANSEVERDI KVINNER	«CUT-OFF»-VERDI I OPPGAVEN
ALAT	10-70 U/L	10-45 U/L	45 U/L
ASAT	15-45 U/L	15-35 U/L	40 U/L
GAMMA-GT	<40 år: 10-80 U/L >40 år: 15-115 U/L	<40 år: 10-45 U/L >40 år: 10-75 U/L	100 U/L (alle aldre)

Forkortelser: ALAT = Alanin aminotransferase, ASAT = Aspartat aminotransferase, Gamma-GT = gammaglutamyltransferase. Verdierne oppgis i Unit/Litre (enzymenhet/liter).

### Tabell II

Aldersfordeling av studiepopulasjonen i Tromsø 6:

ALDERSGRUPPER (ÅR)	ANTALL	PROSENT
30-39	509	3,9
40-49	3574	27,5
50-59	2436	18,8
60-69	4102	31,6
70-79	1829	14,1
80+	531	4,1
TOTALT	12981	100,0

### Tabell III

Valgte BMI-grupper i oppgaven etter WHO's klassifikasjon:

BMI	WHO KLASSIFIKASJON
18,5 – 24,9	Normalvektig
25 – 29,9	Overvektig
30+	Fedme

Forkortelser: BMI = Body mass index, WHO = World Health Organization.



## Tabell IV

Karakteristikk av studiepopulasjonen i oppgaven:

STUDIEPOPULASJONEN	
N	8906
MENN	4130 (46,4 %)
KVINNER	4776 (53,6 %)
ALDER (ÅR)	55,8 (11,2)
BMI (KG/M <sup>2</sup> , N = 8899)	26,9 (4,18)
NORMALVEKTIG	3143 (35,3 %)
OVERVEKTIG	4003 (45,0 %)
FEDME	1753 (19,7 %)
RØYKING TIDLIGERE	3823 (43,4 %)
RØYKING NÅVÆRENDE	1583 (18,0 %)
HØY HSCRP	1620 (18,4 %)
HØYT BLODTRYKK	4590 (51,8 %)
HØYT KOLESTEROL	7448 (84,4 %)
DIABETES	338 (3,9 %)
FORHØYET ALAT	441 (11,8 %)
ASAT	161 (4,3 %)
GT	112 (3,0 %)

Forkortelser: BMI = Body mass index, hsCRP = høysensitiv C-reaktivt protein, ALAT = Alanin aminotransferase, ASAT = Aspartat aminotransferase, Gamma-GT = gammaglutamyltransferase.

Data presenteres som gjennomsnittsverdier (SD - standarddeviasjon) eller antall (%).

## Tabell V

Påvirkning av ulike variabler i den 6. Tromsøundersøkelsen på risikoen for å ha fått koronarsykdom i tiden mellom den 6. og den 7. Tromsøundersøkelsen i studiepopulasjonen i oppgaven:

	UNIVARIAT ANALYSE			MULTIVARIAT ANALYSE (N = 3401)		
	OR	95 % KI	p-verdi	OR	95 % KI	p-verdi
MANNLIG KJØNN	2,40	1,85; 3,11	<0,0005	2,87	1,93; 4,27	<0,0005
ALDERSGR. 30-39						
40-49	0,68	0,26; 1,76	0,428	1,79	0,22; 14,3	0,583
50-59	1,64	0,65; 4,14	0,296	3,62	0,47; 27,6	0,215
60-69	2,48	1,01; 6,13	0,049	5,17	0,693; 38,5	0,109
70-79	4,58	1,82; 11,5	0,001	9,02	1,18; 69,1	0,034
80+	2,46	0,57; 10,5	0,225	0,00	0,00; -	0,998
HØY HSCRP	1,71	1,30; 2,26	<0,0005	1,77	1,19; 2,65	0,005
HØYT KOLESTEROL	2,07	1,33; 3,21	0,001	2,86	1,36; 6,03	0,006
RØYKING ALDRI						
TIDLIGERE	1,39	1,04; 1,85	0,025	1,00	0,66; 1,53	0,986
NÅVÆRENDE	1,80	1,29; 2,52	0,001	1,96	1,22; 3,24	0,006
HØYT BLODTRYKK	2,50	1,91; 3,28	<0,0005	1,42	0,92; 2,20	0,111
DIABETES	2,07	1,28; 3,35	0,003	1,94	0,95; 3,93	0,067
BMI NORMALVEKTIG						
OVERVEKTIG	1,67	1,25; 2,24	0,001	1,39	0,89; 2,19	0,151
FEDME	1,46	1,02; 2,10	0,039	1,15	0,66; 2,01	0,617
HØY ASAT	1,84	0,95; 3,59	0,072			

HØY GAMMA-GT	0,95	0,34; 2,62	0,920			
HØY ALAT	1,90	1,23; 2,93	0,004	1,78	1,18; 2,83	0,015
MODELLOPPSUMMERING					R <sup>2</sup> = 0,117	

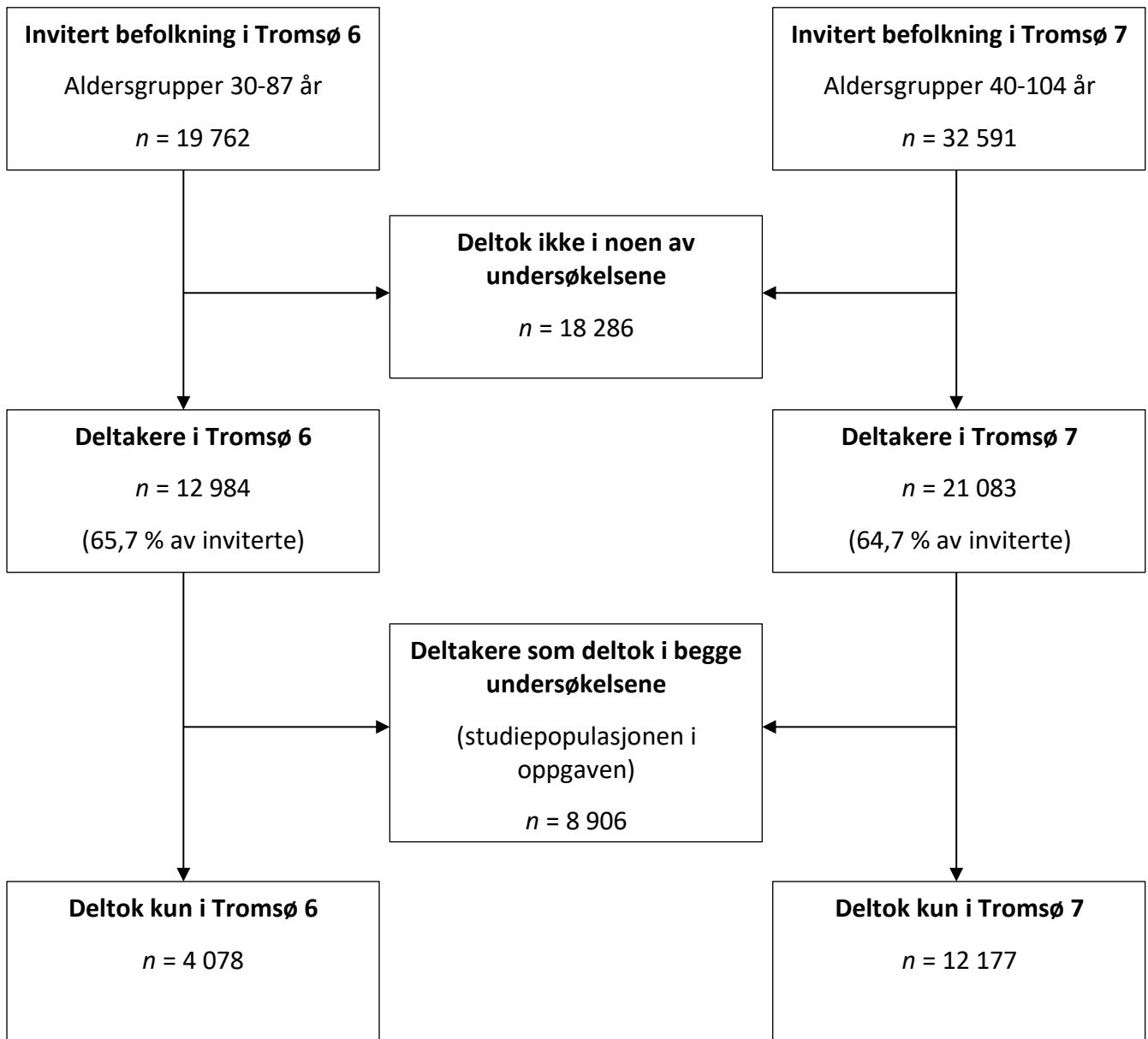
Forkortelser: BMI = Body mass index, hsCRP = høysensitiv C-reaktivt protein, ALAT = Alanin aminotransferase, ASAT = Aspartat aminotransferase, Gamma-GT = gammaglutamyltransferase.

Univariat og multivariat binær logistisk regresjonsanalyse med koronarsykdom som avhengig variabel.

## 8 Figurer

**Figur 1**

Deltakelse i den 6. og 7. Tromsøundersøkelsen, og utvelgelse av studiepopulasjonen i oppgaven:



## 9 Andre vedlegg



---

<b>Region:</b> REK nord	<b>Saksbehandler:</b>	<b>Telefon:</b>	<b>Vår dato:</b> 29.08.2017	<b>Vår referanse:</b> 2017/1376/REK nord
			<b>Deres dato:</b> 13.06.2017	<b>Deres referanse:</b>
Vår referanse må oppgis ved alle henvendelser				

Eyvind Paulssen  
Institutt for klinisk medisin

### 2017/1376 Ikke-alkoholisk fettlever og kardiovaskulære risikofaktorer

**Forskningsansvarlig:** Universitetssykehuset Nord-Norge HF  
**Prosjektleder:** Eyvind Paulssen

Vi viser til søknad om forhåndsgodkjenning av ovennevnte forskningsprosjekt. Søknaden ble behandlet av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK nord) i møtet 17.08.2017. Vurderingen er gjort med hjemmel i helseforskningsloven (hfl.) § 10.

#### Prosjektleders prosjekttale

*Prosjektet har som formål å fastslå hvor mange som har fått diagnosen ikke-alkoholisk fettleversykdom (NAFLD) i etterkant av den 6. Tromsøundersøkelsen (Tromsø 6, 2007-08), samt å undersøke assosiasjoner mellom denne tilstanden og ulike kardiovaskulære risikofaktorer. Oppgaven baseres på data innhentet fra Tromsø 6 (n=5000). I denne delpopulasjonen vil det undersøkes hvor mange som fikk diagnosen NAFLD i etterkant av undersøkelsen, og videre vil det i et underutvalg på 100 insidencaser av NAFLD undersøkes validiteten av den sykehusbaserte diagnosen (UNN). Dette for å vurdere om diagnosen NAFLD i UNNs register er valid nok til å kunne brukes videre. Etter dette vil assosiasjonen mellom forhøyede leverenzymmer i studiepopulasjonen i Tromsø 6 og alder, kjønn, BMI, samt kardiovaskulære risikofaktorer i Tromsø 6 og Tromsø 7 undersøkes. Det vil også undersøkes hvor mange som fikk diagnosen uten økning i leverenzymmer, og deres kardiovaskulære risiko.*

#### Om prosjektet

Det søkes om å benytte data fra den 6. Tromsøundersøkelsen (5000 deltakere der leverenzymmer ble målt) og data fra den 7. Tromsøundersøkelsen (risikofaktorer for hjerte-/karsykdom), samt data fra elektronisk journal ved UNN (Diagnosekode K76.0 (fettlever), gjennomført ultralyd ved Gastrolab, UNN (Prosedyrekode SJX0AK) med funn).

Formålet er økt kunnskap om fettlever og dens selvstendige rolle som risikofaktor for hjerte-/karsykdom.

#### Vurdering av samtykke

Det fremgår av søknaden at «For deltakere i Tromsøundersøkelsen brukes generelt samtykke. For tilgang til enkeltpersoners journal vil spesielt samtykke innhentes.»

Det fremgår for informasjonsbrosjyren for T6 at «Opplysninger om deg fra den sjette Tromsøundersøkelsen kan bli knyttet sammen med opplysninger fra tidligere Tromsøundersøkelser. For enkelte prosjekter kan det være aktuelt å sammenstille opplysninger om deg med opplysninger fra barn, søsken, foreldre og besteforeldre hvis disse har deltatt i Tromsøundersøkelsen».

---

**Besøksadresse:**  
MH-bygget UIT Norges arktiske  
universitet 9037 Tromsø

**Telefon:** 77646140  
**E-post:** rek-nord@asp.uit.no  
**Web:** <http://helseforskning.etikkom.no/>

All post og e-post som inngår i  
saksbehandlingen, bes adressert til REK  
nord og ikke til enkelte personer

Kindly address all mail and e-mails to  
the Regional Ethics Committee, REK  
nord, not to individual staff

spesialisthelsetjenesten til bruk i forskning på sykdommer og helseproblemer som er nevnt i denne brosjyren, for eksempel hjerte-karsykdom, diabetes og beinbrudd. I slike tilfeller innhentes nytt samtykke, eller annen type godkjenning (dispensasjon fra taushetsplikten).»

Fra informasjonsbrosjyren for T7 står det at «Hvis du sier ja til å delta i studien, samtykker du til at dine opplysninger og prøver kan brukes videre i forskning på ubestemt tid.»

Deltagerne har samtykket til at det gis adgang til bruk av «Opplysninger du har gitt i tidligere runder av Tromsundersøkelsen hvis du har deltatt i Tromsundersøkelsen før, og videre at gis det adgang til bruk av «Helseopplysninger om deg fra primær- og spesialisthelsetjenesten.»

Formålet for den omsøkte studien er økt kunnskap om fettlever og dens selvstendige rolle som risikofaktor for hjerte-/karsykdom. Forskning på hjerte-/karsykdom er et av hovedformålene både for T6 og T7, den omsøkte studien ansees således for å ligge innenfor et av hovedområdene for T6 og T7

Komiteen har vurdert at samtykkeskrivet for T6 og T7 er dekkende for det som skal gjøre i denne studien. I vurderingen ligger det også en avveining av hva som er påregnelig sett fra deltagerens side. Når det gjelder forskning inne kjerneområdene for T6 og T7 ansees det for påregnelig for deltager at de innsamlede data blir benyttet til nettopp slik forskning. Og videre, dersom komiteen skulle pålegge prosjekter å innhente nye samtykker for forskning som ligger innen kjerneområdet, ville dette medføre et økende trykk på deltagerne for stadige nye samtykker. Et bredt samtykke er nettopp ment å motvirke den type forskningstrettehet hos deltagerne. Deltagerne vil i tillegg være informert om studien via hjemmesiden til Tromsundersøkelsen og personlig informasjon jf. konsesjon datert 07.09.2015.

Det forhold at komiteen finner at T6 og T7 er dekkende for denne studien, innebærer at en forhåndsgodkjenning fra REK anses som tilstrekkelig hjemmelsgrunnlag for å innhente journalopplysninger og man trenger således ikke gå veien om et ekstra samtykke for å utlevere journalopplysninger.

#### **Vedtak**

*Med hjemmel i helseforskningsloven §§ 2 og 10 godkjennes prosjekt.*

#### **Sluttmelding og søknad om prosjektendring**

Prosjektleder skal sende sluttmelding til REK nord på eget skjema senest 01.12.2018, jf. hfl. § 12. Prosjektleder skal sende søknad om prosjektendring til REK nord dersom det skal gjøres vesentlige endringer i forhold til de opplysninger som er gitt i søknaden, jf. hfl. § 11.

#### **Klageadgang**

Du kan klage på komiteens vedtak, jf. forvaltningsloven § 28 flg. Klagen sendes til REK nord. Klagefristen er tre uker fra du mottar dette brevet. Dersom vedtaket opprettholdes av REK nord, sendes klagen videre til Den nasjonale forskningsetiske komité for medisin og helsefag for endelig vurdering.

Med vennlig hilsen

May Britt Rossvoll  
sekretariatsleder

**Kopi til:**Markus.rumpsfeld@unn.no

## 10 Sammen drag av kunnskapsevalueringer

<b>Reference:</b> Targher G, Byrne CD, Lonardo A, Zoppini G, Barbui C. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. Journal of Hepatology. 2016;65(3):589-600.			<b>GRADE</b>
			Strength of recommendation      Moderate
			Grade:      Ila
Purpose	Materials and Methods	Results	Discussion/comments
There have been many studies of the effects of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the risk of cardiovascular disease (CVD), but these have produced conflicting results. We performed a meta-analysis of these studies to quantify the magnitude of the association between NAFLD (and NAFLD-severity) and risk of CVD events.	<i>Study design:</i> Review article (meta-analysis)  <i>Inclusion-/exclusion-criteria:</i> Studies were included if they were observational, prospective or retrospective studies that reported fatal and/or non-fatal CVD events in adult patients (>18 years old) with NAFLD as compared with adult individuals without NAFLD. Study participants were of either sex with no restrictions in terms of comorbid conditions. We included only studies in which the diagnosis of NAFLD was based on either radiological imaging or histology in the absence of competing causes of hepatic steatosis. Exclusion criteria were as follows: 1) studies that used only serum liver enzyme levels to diagnose NAFLD; 2) studies conducted in pediatric population (<18 years old); 3) studies performed in patients with NAFLD who received liver transplants; and 4) studies that compared long-term adverse outcomes of fibrosing NASH and NASH-cirrhosis with patients with chronic liver diseases of other etiology.  <i>Data:</i> 16 unique, observational prospective and retrospective cohort studies (6 community-based cohorts, 5 outpatient cohorts, 2 hospital-based-cohorts, 3 selected cohorts)  <i>Methods:</i> We searched PubMed, Google scholar, and Web of Science databases using terms “NAFLD”, “cardiovascular events”, “cardiovascular mortality”, “prognosis” and their combinations to identify observational studies published through January 2016.	A total of 16 unique, observational prospective and retrospective studies with 34,043 adult individuals (36.3% with NAFLD) and approximately 2,600 CVD outcomes (>70% CVD deaths) over a median period of 6.9 years were included in the final analysis.  Patients with NAFLD had a higher risk of fatal and/or non-fatal CVD events than those without NAFLD (random effect odds ratio [OR] 1.64, 95% CI 1.26–2.13).  Patients with more ‘severe’ NAFLD were also more likely to develop fatal and nonfatal CVD events (OR 2.58; 1.78–3.75). Sensitivity analyses did not alter these findings. Funnel plot and Egger’s test did not reveal significant publication bias.	- Does the review explicitly report and perform a comprehensive and reproducible literature search? <b>YES</b> - Does the review formulate a clearly focused question? <b>NO</b> - Does the review’s methods section explicitly state the basis for inclusion or exclusion of primary studies? <b>YES</b> - Does the review report data from primary studies (e.g. size, results from individual studies)? <b>YES</b> - Does the review assess the methodological quality of primary studies, and take these into account where necessary? <b>CAN’T TELL</b> - Meta-analysis: does the review combine primary studies appropriately? <b>YES</b> - Meta-analysis: does the review state how results are combined statistically? <b>YES</b> - Meta-analysis: does the review report absolute numbers as well as appropriate summary statistics? <b>YES</b> - Does the review discuss the reasons for any variations/heterogeneity between individual studies/overall results? <b>CAN’T TELL</b>  <i>Strengths:</i> Our meta-analysis provides the most comprehensive assessment and robust evidence to date of the association between NAFLD (as diagnosed either by imaging or by histology) and incidence of major CVD events and death. It includes multiple cohort studies that had recruited participants from general populations, therefore reducing any effects of clinically evident pre-existing disease on NAFLD.  <i>Limitations:</i> We were unable to fully examine the impact of adjustment for all known and potential CVD risk factors and also combine models in studies that adjusted for the same set of confounding factors, because of the varying degree of confounder adjustment across the individual studies (indeed, in a large part of the published studies the adjustment for established CVD risk factors and potential confounding factors is often incomplete).
Conclusion	NAFLD is associated with an increased risk of fatal and non-fatal CVD events. However, the observational design of the studies included does not allow to draw definitive causal inferences.		
Country	Two authors assessed the risk of bias independently. Since all the included studies were nonrandomized and had a cohort design, the Newcastle–Ottawa scale(NOS) was used to judge study quality, as recommended by the Cochrane collaboration.		
Multiple			
Year, data collection	The results of studies were pooled and an overall estimate of odds ratio (OR) was obtained from a random effects model, as this methodology takes into account any differences between studies even if there is no statistically significant heterogeneity. Publication bias was evaluated using the funnel plot and Egger’s regression test.		
2003-16			

<b>Reference:</b> VanWagner LB, Wilcox JE, Colangelo LA, Lloyd-Jones DM, Carr JJ, Lima JA, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with subclinical myocardial remodeling and dysfunction: A population-based study. <i>Hepatology</i> . 2015;62(3):773-83.			<b>GRADE</b>
			Strength of recommendation: <b>Moderate</b>
			Grade: <b>IIC</b>
Purpose	Materials and Methods:	Results	Discussion/comments
Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and heart failure (HF) are obesity-related conditions with high cardiovascular mortality. Whether NAFLD is independently associated with subclinical myocardial remodeling or dysfunction among the general population is unknown.	<p><i>Study design:</i> Cross-sectional study</p> <p><i>Methods:</i> We performed a cross-sectional analysis of 2,713 participants from the multicenter, community-based Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study who underwent concurrent computed tomography (CT) quantification of liver fat and comprehensive echocardiography with myocardial strain measured by speckle tracking during the Year-25 examination (age, 43-55 years; 58.8% female and 48.0% black). NAFLD was defined as liver attenuation &lt; 40 Hounsfield units after excluding other causes of liver fat. Subclinical left ventricular (LV) systolic dysfunction was defined using values of absolute peak global longitudinal strain (GLS). Diastolic dysfunction was defined using Doppler and tissue Doppler imaging markers.</p>	<p>Prevalence of NAFLD was 10.0%. Participants with NAFLD had lower early diastolic relaxation (<math>e'</math>) velocity (<math>10.8 \pm 2.6</math> vs. <math>11.9 \pm 2.8</math> cm/s), higher LV filling pressure (<math>E/e'</math> ratio: <math>7.7 \pm 2.6</math> vs. <math>7.0 \pm 2.3</math>), and worse absolute GLS (<math>14.2 \pm 2.4\%</math> vs. <math>15.2 \pm 2.4\%</math>) than non-NAFLD (<math>P &lt; 0.0001</math> for all).</p> <p>When adjusted for HF risk factors or body mass index, NAFLD remained associated with subclinical myocardial remodeling and dysfunction (<math>P &lt; 0.01</math>).</p> <p>The association of NAFLD with <math>e'</math> velocity (<math>B = -0.36</math> [standard error = 0.15] cm/s; <math>P = 0.02</math>), <math>E/e'</math> ratio (<math>B = 0.35</math> [0.16]; <math>P = 0.03</math>), and GLS (<math>B = 20.42</math> [0.18]%; <math>P = 0.02</math>) was attenuated after controlling for visceral adipose tissue.</p> <p>Effect modification by race and sex was not observed.</p>	<p>- Was the population the sample is obtained from clearly defined? <b>Yes</b></p> <p>- Was the sample representative of the population? <b>Yes</b></p> <p>- Was the data collection standardized? <b>Yes</b></p> <p>- Was objective criteria used for the assessment of the outcomes? <b>Yes</b></p> <p>- Was the data analysis standardized? <b>Yes</b></p> <p><i>Strengths:</i> The strengths of the present study include our large, well-characterized population-based cohort of both whites and blacks, a NAFLD prevalence that is consistent with published population estimates, the use of tissue Doppler imaging and speckle-tracking analysis to assess subclinical myocardial dysfunction, and the measurement of a comprehensive set of metabolic covariates, particularly VAT. Thus, our findings are more generalizable to the U.S. population, compared to previously published findings in small, selected samples of NAFLD patients. Importantly, we excluded participants with known CLD and those with other potential reasons for increased hepatic fat, and thus were able to isolate those with the highest likelihood of having NAFLD in a subclinical state.</p> <p><i>Limitations:</i> Our findings are cross-sectional; therefore, neither temporal nor causal relationships can be inferred. CT is a relatively insensitive measure of hepatic fat, compared to hepatic triglyceride content measured by proton magnetic resonance spectroscopy (magnetic resonance spectroscopy), which may bias our results toward the null and underestimate the strength of the association between NAFLD and subclinical myocardial remodeling/dysfunction.</p>
Conclusion	<p><i>Inclusion/exclusion-criteria:</i> There were 3,498 participants (45.5% male, 50.5% black) that attended the CARDIA Year-25 exam. Participants were excluded from the CT exam if they were pregnant, weighed more than 450 lbs., or were unable to fit within the CT gantry (<math>n = 28</math>). We also excluded those missing measurements for liver fat (<math>n = 304</math>), those without an echocardiogram or with poor speckletraced images (<math>n = 27</math>), 62 participants with a medically verified history of acute myocardial infarction (MI), angina or HF, those with a self-reported history of hepatitis C or cirrhosis (<math>n = 30</math>), and those with a risk factor for chronic liver disease (CLD; e.g., intravenous drug use [IDU]) or with a potential cause of secondary hepatic steatosis (HS; <math>n = 338</math>): alcohol consumption <math>&gt;20</math> g/day in women and <math>&gt;30</math> g/day in men (<math>n = 179</math>), self-reported human immunodeficiency virus (HIV; <math>n = 22</math>), previous IDU (<math>n = 93</math>), and medications known to cause HS (e.g., valproic acid, methotrexate, tamoxifen, and/or amiodarone; <math>n = 44</math>). The remaining 2,713 participants formed the sample population.</p>		
Country	United States of America		
Year, data collection	2010-11		



<b>Reference:</b> Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review. JAMA. 2015;313(22):2263-73.			<b>GRADE</b>
			Strength of recommendation      Strong to moderate
			Grade:      Ila
Purpose	Materials and Methods	Results	Discussion/comments
To illustrate how to identify patients with nonalcoholic fatty liver disease at greatest risk of nonalcoholic steatohepatitis and cirrhosis; to discuss the role and limitations of current diagnostics and liver biopsy to diagnose nonalcoholic steatohepatitis; and to provide an outline for the management of patients across the spectrum of nonalcoholic fatty liver disease.	<p><i>Study design:</i> Review article</p> <p><i>Materials and methods:</i> A literature review was conducted in PubMed to identify relevant articles published through February 28, 2015. The search terms NAFLD and cirrhosis, mortality, biomarkers, and treatment were used to identify articles for consideration and were divided into those identified, the number of published clinical trials, and the number referenced.</p>	<p>Sixty-six percent of patients older than 50 years with diabetes or obesity are thought to have nonalcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis.</p> <p>Even though the ability to identify the nonalcoholic steatohepatitis subtype within those with nonalcoholic fatty liver disease still requires liver biopsy, biomarkers to detect advanced fibrosis are increasingly reliable.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Does the review explicitly report and perform a comprehensive and reproducible literature search? <b>YES</b></li> <li>- Does the review formulate a clearly focused question? <b>NO</b></li> <li>- Does the review's methods section explicitly state the basis for inclusion or exclusion of primary studies? <b>NO</b></li> <li>- Does the review report data from primary studies (e.g. size, results from individual studies)? <b>NO</b></li> <li>- Does the review assess the methodological quality of primary studies, and take these into account where necessary? <b>CAN'T TELL</b></li> <li>- Meta-analysis: does the review combine primary studies appropriately? <b>CAN'T TELL</b></li> <li>- Meta-analysis: does the review state how results are combined statistically? <b>NO</b></li> <li>- Meta-analysis: does the review report absolute numbers as well as appropriate summary statistics? <b>NO</b></li> <li>- Does the review discuss the reasons for any variations/heterogeneity between individual studies/overall results? <b>Can't tell</b></li> </ul> <p><i>Strengths:</i> Review article based on several RCTs and meta-analyses, as well as observational studies.</p> <p><i>Limitations:</i> Not exclusively based on RCTs or meta-analyses.</p>
Conclusion	For NAFLD and cirrhosis, there were 3396 identified, 163 clinical studies reviewed, and 31 referenced; mortality, 537 identified, 163 clinical studies reviewed, and 11 referenced; biomarkers, 1117 identified, 73 clinical studies reviewed, and 31 referenced; and treatment, 3107 identified, 223 clinical studies reviewed, and 33 referenced.	Lifestyle modification is the foundation of treatment for patients with nonalcoholic steatosis. Available treatments with proven benefit include vitamin E, pioglitazone, and obeticholic acid; however, the effect size is modest (<50%) and none is approved by the US Food and Drug Administration.	
Between 75 million and 100 million individuals in the United States are estimated to have nonalcoholic fatty liver disease and its potential morbidity extends beyond the liver. It is important that primary care physicians, endocrinologists, and other specialists be aware of the scope and long-term effects of the disease. Early identification of patients with nonalcoholic steatohepatitis may help improve patient outcomes through treatment intervention, including transplantation for those with decompensated cirrhosis.	<p>The same study often appeared in more than 1 search. Priority was given to well-powered randomized clinical trials, prospective cohort studies, and longitudinal observational studies.</p> <p>Articles were excluded if similar findings were illustrated by other larger studies or those that were better controlled. Retrospective or smaller studies were excluded if controlled prospective data were available. Overall, 14 randomized clinical trials, 19 cohort or case control studies, 1 population-based study, 7 meta-analyses, 2 practice guidelines, and 43 classified as other were used for this analysis.</p>	<p>Lifestyle modification is the foundation of treatment for patients with nonalcoholic steatosis. Available treatments with proven benefit include vitamin E, pioglitazone, and obeticholic acid; however, the effect size is modest (&lt;50%) and none is approved by the US Food and Drug Administration.</p> <p>The association between nonalcoholic steatohepatitis and cardiovascular disease is clear, though causality remains to be proven in well-controlled prospective studies. The incidence of nonalcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma is increasing and up to 50% of cases may occur in the absence of cirrhosis.</p>	
Country			
United States of America			
Year, data collection			
2015			

<b>Reference:</b> Puchner SB, Lu MT, Mayrhofer T, Liu T, Pursnani A, Ghoshhajra BB, et al. High-Risk Coronary Plaque at Coronary CT Angiography Is Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Independent of Coronary Plaque and Stenosis Burden: Results from the ROMICAT II Trial. <i>Radiology</i> . 2015;274(3):693-701.		<b>GRADE</b>	
		Strength of recommendation	Moderate
		Grade:	IIc
Purpose	Materials and Methods	Results	Discussion/comments
To determine the association between nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the presence of high-risk coronary atherosclerotic plaque as assessed with coronary computed tomographic (CT) angiography.	<p><i>Study design:</i> Cross-sectional study</p> <p><i>Materials and methods:</i> This study was approved by the local ethics committees; informed consent was obtained.</p> <p>Patients randomized to the coronary CT angiography arm of the Rule Out Myocardial Infarction using Computer Assisted Tomography, or ROMICAT, II trial who underwent both nonenhanced CT to assess calcium score and contrast material–enhanced coronary CT angiography were included.</p> <p>Readers assessed coronary CT angiography images for the presence of coronary plaque, significant stenosis (&gt;50%), and high-risk plaque features (positive remodeling, CT attenuation , 30 HU, napkin-ring sign, spotty calcium).</p> <p>NAFLD was defined as hepatic steatosis at nonenhanced CT (liver minus spleen CT attenuation , 1 HU) without evidence of clinical liver disease, liver cirrhosis, or alcohol abuse.</p> <p>To determine the association between high-risk plaque and NAFLD, univariable and multivariable logistic regression analyses were performed, with high-risk plaque as a dependent variable and NAFLD, traditional risk factors, and extent of coronary atherosclerosis as independent variables.</p>	<p>Overall, 182 (40.9%) of 445 patients had CT evidence of NAFLD.</p> <p>High-risk plaque was more frequent in patients with NAFLD than in patients without NAFLD (59.3% vs 19.0%, respectively; P , .001).</p> <p>Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) increases the likelihood of the presence of high-risk coronary plaques by approximately six times (odds ratio [OR], 6.48; 95% confidence interval [CI]: 4.17, 10.06; P , .001).</p> <p>In multivariable logistic regression analysis, the association between NAFLD and high-risk plaque (OR, 2.13; 95% CI: 1.18, 3.85; P = .012) persists after adjustment for traditional cardiovascular risk factors (age, sex, body mass index, arterial hypertension, diabetes mellitus, dyslipidemia, current or former smoking) and the extent and severity of coronary artery disease (CAD) (significant CAD with stenosis &gt;50%, number of segments with noncalcified plaque, coronary calcium score).</p>	<p>- Was the population the sample is obtained from clearly defined? <b>Yes</b></p> <p>- Was the sample representative of the population? <b>NO</b></p> <p>- Was the data collection standardized? <b>Yes</b></p> <p>- Was objective criteria used for the assessment of the outcomes? <b>Yes</b></p> <p>- Was the data analysis standardized? <b>Yes</b></p> <p><i>Strengths:</i> In our study, we performed a more extensive evaluation of high-risk plaques, including the presence of spotty calcium and napkin-ring sign. We also found that NAFLD was associated with high-risk plaque. This association persisted after adjusting for cardiovascular risk factors, BMI, presence of significant CAD (&gt;50% stenosis), and extent of coronary atherosclerosis. Patients with NAFLD were approximately twice as likely to have high-risk plaque features.</p> <p>Our observation provides an interesting insight into the relationship between NAFLD and coronary atherosclerosis. It raises a possibility that patients with NAFLD are not only more prone to develop CAD, but they are specifically more likely to develop high-risk coronary plaques.</p> <p><i>Limitations:</i> Our study had several limitations. First, this study was performed in patients with acute chest pain who were examined in the emergency department. The prevalence of cardiovascular risk factors, metabolic syndrome, and NAFLD were likely higher than in the general population. However, 44% of our patients had no evidence of coronary atherosclerosis, and only 9% of patients had significant CAD (&gt;50% stenosis).</p> <p>The burden of CAD was significantly lower compared with some other studies in which the association of CAD and NAFLD was explored. We were not able to quantify the amount of abdominal visceral fat.</p> <p>The data on alcohol consumption and history of liver disease were obtained from medical records rather than a validated questionnaire. Thus, the amount of alcohol consumption might have been underreported.</p>
Conclusion	NAFLD is associated with advanced high-risk coronary plaque, independent of traditional cardiovascular risk factors and the extent and severity of coronary artery disease.		
Country	United States of America		
Year, data collection	2010-2012		

<b>Reference:</b> Oni ET, Agatston AS, Blaha MJ, Fialkowd J, Cury R, Sposito A, et al. A systematic review: Burden and severity of subclinical cardiovascular disease among those with nonalcoholic fatty liver; Should we care? <i>Atherosclerosis</i> . 2013;230(2):258-67.			<b>GRADE</b>	
			Strength of recommendation	Moderate
			Grade:	Ila
<b>Purpose</b>	<b>Materials and Methods</b>	<b>Results</b>	<b>Discussion/comments</b>	
<p>Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is an emerging disease and a leading cause of chronic liver disease. The prevalence in the general population is approximately 15-30% and it increases to 70-90% in obese or diabetic populations. NAFLD has been linked to increased cardiovascular disease (CVD) risk. It is therefore critical to evaluate the relationship between markers of subclinical CVD and NAFLD.</p>	<p><i>Study design:</i> Review article</p> <p><i>Methods:</i> We performed a computerized search of databases; including PubMed at the National Library of Medicine, Embase and the web of Science, using key words and mesh terms: "Non-alcoholic Fatty Liver Disease", "hepatic steatosis", "atherosclerosis", "cardiovascular diseases", "endothelial dysfunction" and "coronary disease". The literature search was carried out up to December 2012 and limited to only publish articles in English language. There were no country restrictions and abstracts were reviewed for appropriateness on the research issue by the authors. Individual articles had to meet the following criteria to be included in the analysis:</p> <p>Observational or cohort (population-based or hospital-based) case-control studies that provided data dealing with non-alcoholic fatty liver disease and sub-clinical cardiovascular disease, Studies conducted in adult populations and Studies that clearly defined NAFLD and the subclinical CVD.</p> <p>We discarded studies that included cardiovascular events. We also examined the references of all studies from the initial search for additional references. Reviewed studies were limited to those published in peer-reviewed journals. Full text review of the selected articles was conducted to confirm their inclusion. Extracted data on the studies, participant characteristics and results were entered into tables. The final data was collated and presented in the text.</p>	<p>Twenty-seven studies were included in the review; 16 (59%) presented the association of NAFLD and carotid intima-media thickness (CIMT), 7 (26%) the association with coronary calcification and 7 (26%) the effect on endothelial dysfunction and 6 (22%) influence on arterial stiffness.</p> <p>CIMT studies showed significant increases among NAFLD patients compared to controls. These were independent of traditional risk factors and metabolic syndrome. The association was similar in coronary calcification studies.</p> <p>The presence of NAFLD is associated with the severity of the calcification. Endothelial dysfunction and arterial stiffness showed significant independent associations with NAFLD.</p> <p>Two studies argued the associations were not significant; however, these studies were limited to diabetic populations.</p>	<p>- Does the review explicitly report and perform a comprehensive and reproducible literature search? <b>YES</b></p> <p>- Does the review formulate a clearly focused question? <b>NO</b></p> <p>- Does the review's methods section explicitly state the basis for inclusion or exclusion of primary studies? <b>YES</b></p> <p>- Does the review report data from primary studies (e.g. size, results from individual studies)? <b>YES</b></p> <p>- Does the review assess the methodological quality of primary studies, and take these into account where necessary? <b>Can't tell</b></p> <p>- Meta-analysis: does the review combine primary studies appropriately? <b>YES</b></p> <p>- Meta-analysis: does the review state how results are combined statistically? <b>CAN'T TELL</b></p> <p>- Meta-analysis: does the review report absolute numbers as well as appropriate summary statistics? <b>NO</b></p> <p>- Does the review discuss the reasons for any variations/heterogeneity between individual studies/overall results? <b>CAN'T TELL</b></p> <p><i>Strengths:</i> In our comprehensive systematic review of twenty-seven studies there was strong evidence that non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with subclinical atherosclerosis. This association was independent of traditional risk factors and metabolic syndrome across a wide range of patient population. The findings are similar to that from a systematic review of seven published studies (total of 3497 subjects) that reported a significant association between NAFLD and CIMT.</p> <p><i>Limitations:</i> All the studies have been cross sectional and as a result causality cannot be determined. Although several longitudinal epidemiologic studies of variable strengths have been conducted, many depending on liver enzymes and in small populations have suggested significant increased risk for future CVD independent of other risk factors including diabetes, there is a need for follow up studies to assess the rapid progression of atherosclerosis and development of new plaques in NAFLD.</p> <p>It is important to understand the association between NALFD and cardiac events; and if they can be explained by an increased subclinical CVD burden.</p>	
<b>Conclusion</b>				
<p>There is evidence to support the association of NAFLD with subclinical atherosclerosis independent of traditional risk factors and metabolic syndrome. However, there is need for future longitudinal studies to review this association to ascertain causality and include other ethnic populations.</p>				
<b>Country</b>				
Multiple				
<b>Year, data collection</b>				
2013				