

Nowe techniki nieinwazyjnej oceny uszkodzenia wątroby

- Wojciech Jańczyk
 - Elżbieta Jurkiewicz, Paulina Chodnicka
 - Aldona Wierzbicka,
 - Piotr Socha
-
- W odniesieniu do biopsji wątroby

Elastografia dynamiczna (Fibroscan®)



Wojciech Jańczyk

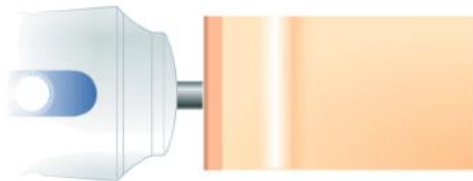
Klinika Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii
IP-CZD, Warszawa, 2024

Fibroscan

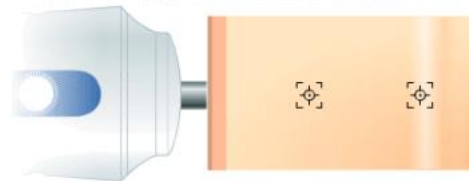
ocena sztywności/włóknienia i stłuszczenia wątroby



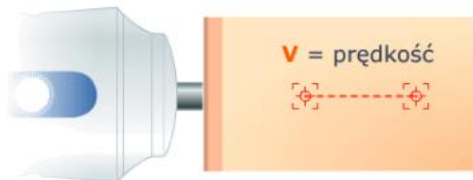
Przetwornik głowicy w kontakcie ze skórą pacjenta wytwarza mechaniczny impuls, który zamienia się w falę



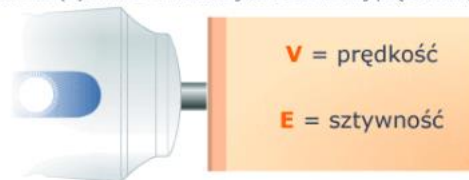
Fala przechodzi przez tkanki podskórne i dochodzi do wątroby. W tym czasie głowica wytwarza ultradźwięki, które służą pomiarowi prędkości rozchodzenia się fali.



Algorytm analizuje otrzymywane dane ultrasonograficzne oraz oblicza prędkość rozchodzenia się fali: V



Im większa sztywność tkanki wątroby tym większa prędkość rozchodzenia się fali
Sztywność (E) w kPa obliczana jest z ustalonej prędkości (V)



S Probe

CAP

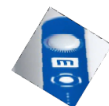


S PROBE MAIN FEATURES

Examination available	S1	S2
Probe Ultrasound frequency	5 MHz	
Examination depths	15-40 mm	20-50 mm
Explored volume	2 cm ³	2.4 cm ³
Examination criteria	TP ≤ 45 cm	45 cm < TP ≤ 75 cm

M Probe

CAP



M PROBE MAIN FEATURES

Examination available	M (Medium)
Probe Ultrasound frequency	3.5 MHz
Examination depths	25-65 mm
Explored volume	3 cm ³
Examination criteria	<ul style="list-style-type: none">75cm < Thoracic perimeter < 110 cmSkin Liver Capsule Distance (SCD) < 2.5 cm
Specifications	CAP measurement available

XL Probe

CAP



XL PROBE MAIN FEATURES

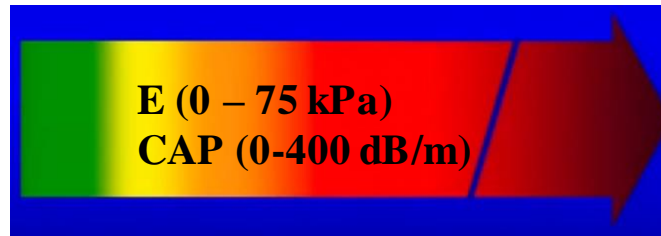
Examination available	XL
Probe ultrasound frequency	2.5 MHz
Examination depths	35-75 mm
Explored volume	3 cm ³
Examination criteria	2.5 cm < Skin-Liver Capsule Distance (SCD) < 3.5 cm

Elastografia dynamiczna Fibroscan

Technika nieinwazyjna, niebolesna

Szybka, wynik do 5 minut

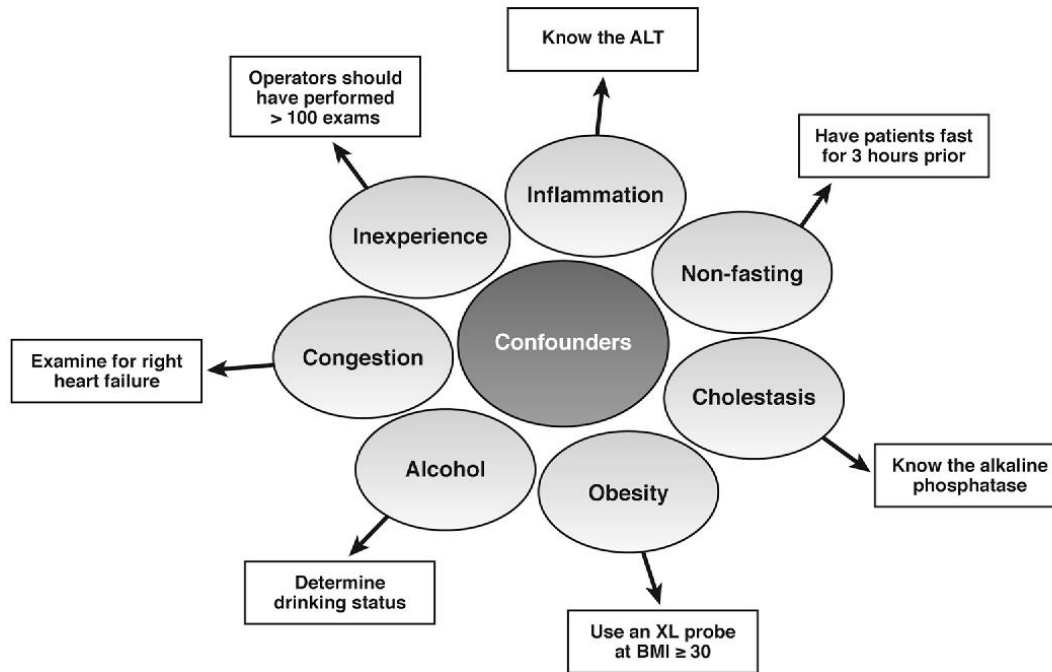
Mobilna, powtarzalna



Ocena ilościowa:

- sztywności / włóknienia wątroby - *liver stiffness* (E) [kPa]
- stłuszczenia wątroby – *Controlled Attenuation Parameter* (CAP) [dB/m]

Fibroscan - ograniczenia



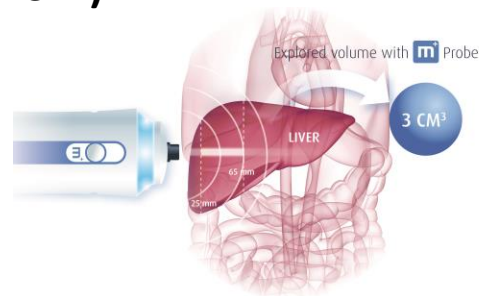
Walidacja w chorobach wątroby u dzieci

Tapper E, CGH 2015
Castera L, J Hepatol
2015

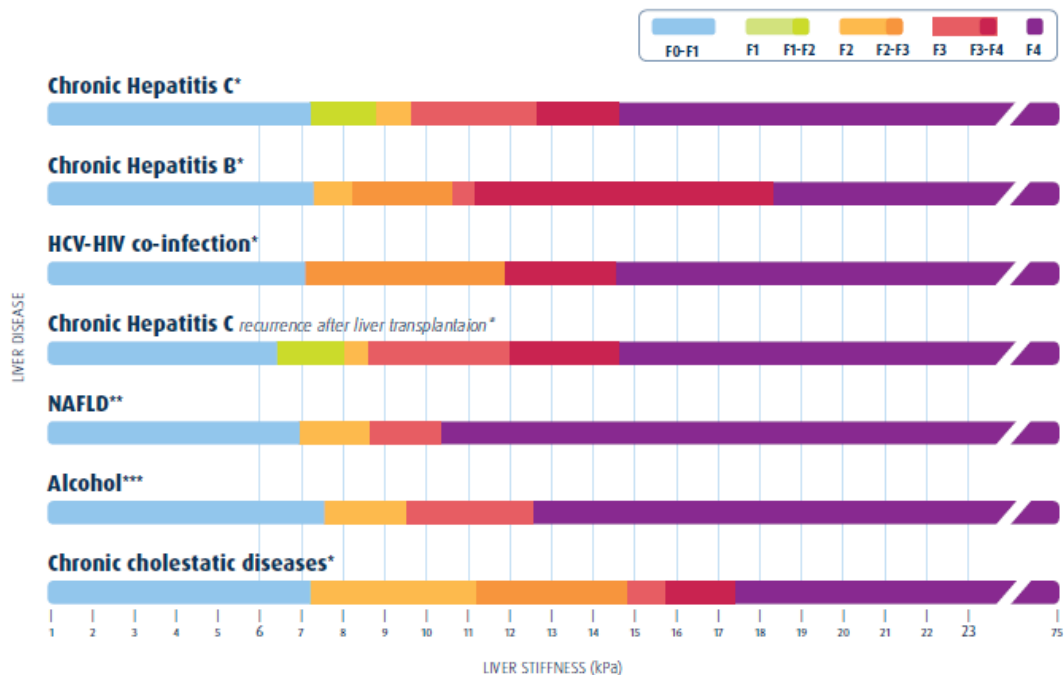
Fibroscan – włóknienie wątroby

Ocena spoistości/włóknienia wątroby (E, LSM)

- ocena ilościowa [kPa]
- bardzo dobra walidacja u dorosłych
- czułość, swoistość: 80-100%
- ROC >0.9 dla marskości wątroby
- wysoka wartość predykcyjna negatywna (NPV) dla marskości wątroby
- F1, F2 vs. F3, F4



Fibroscan – włóknienie wątroby



* **Skala Metavir:** de Lédinghen; J. Gastroent Clin Bio 2008

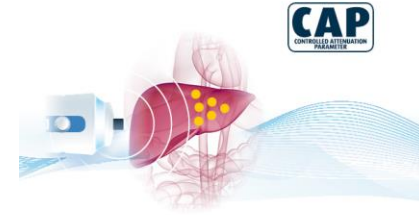
** **Skala Brunt:** Wong; Hepatology 2010

*** **Skala Brunt:** Pavlov CS; Cochrane database systrev, 2015.

Fibroscan – stłuszczenie wątroby

Controlled Attenuated Parameter (CAP)

- ocena ilościowa stłuszczenia wątroby [dB/m]
- czułość: 90%, swoistość: 80%
- wykrywa stłuszczenie >5%



	$S_G \geq S1$ ($\geq 11\%$ steatosis)	$S_G \geq S2$ ($\geq 34\%$ steatosis)	$S_G = S3$ ($\geq 67\%$ steatosis)
Optimal cut-off	237.7	259.4	292.3
AUC	0.91 (0.86~0.97)	0.95 (0.91~1)	0.89 (0.75~1)
Se	0.91 (0.86~0.96)	0.89 (0.82~0.96)	1 (1~1)
Sp	0.81 (0.74~0.89)	0.86 (0.78~0.93)	0.78 (0.60~0.97)
PPV	0.87 (0.81~0.94)	0.80 (0.71~0.89)	0.28 (0.13~0.43)
NPV	0.87 (0.80~0.93)	0.92 (0.87~0.98)	1 (1~1)

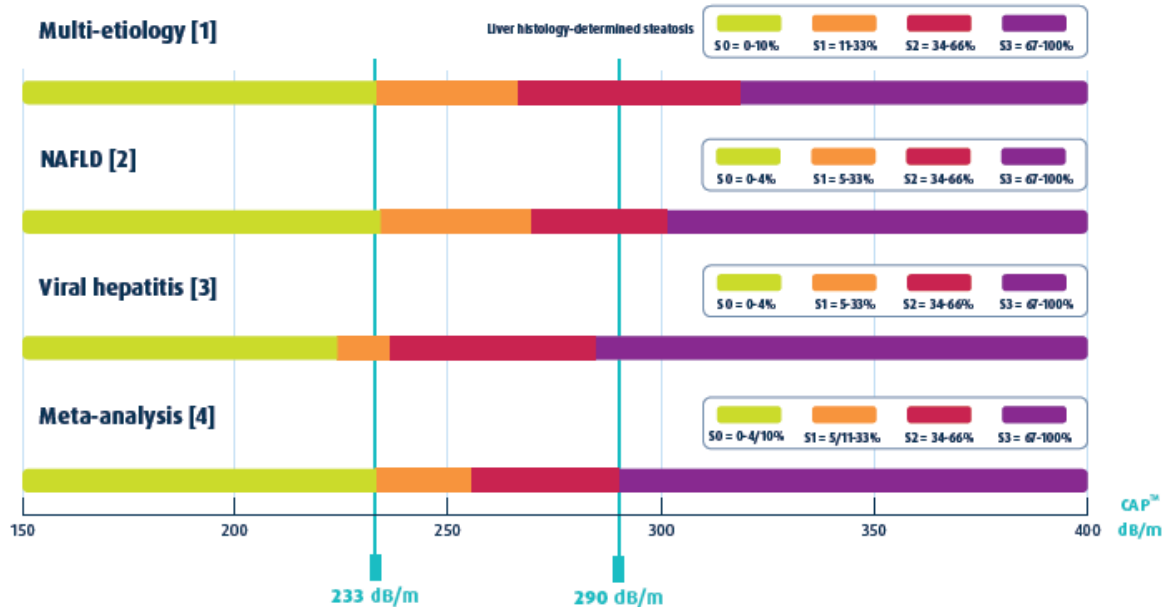
N=115 pacjentów; NAFLD

	S0 vs. S1-S3	S0-S1 vs. S2-S3	S0-S2 vs. S3*
AUC	0.823 (0.809-0.837)	0.865 (0.850-0.880)	0.882 (0.858-0.906)
Sensitivity	0.688 (0.600-0.750)	0.773 (0.690-0.838)	0.882 (0.765-0.956)
False negative rate (1-sensitivity)	0.312 (0.250-0.400)	0.227 (0.162-0.310)	0.118 (0.044-0.235)
Specificity	0.822 (0.761-0.897)	0.812 (0.749-0.879)	0.776 (0.720-0.821)
False positive rate (1-specificity)	0.178 (0.103-0.239)	0.188 (0.121-0.251)	0.224 (0.179-0.280)
Optimal cut-off, dB/m	248 (237-261)	268 (257-284)	280 (268-294)

Metaanaliza 19 badań; n=2735 pacjentów; NAFLD 20%
BMI 25+/-3.9; F3-4 25%; S1-3 49%

Sasso M, Ultr Med. Biol. 2010
Karas T J Hepatol 2017

CAP – Controlled Attenuation Parameter



[1] De Ledinghen, V, Liver Int. 2012

[2] Karlas, T. Plos One 2014

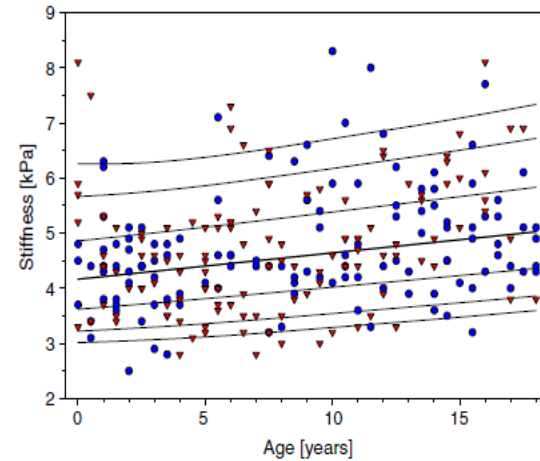
[3] Mi, Y.Q. Dig Dis Sci 2015

[4] Shi, K.Q J Gastr Hepatol. 2014

Fibroscan w badaniach pediatrycznych

Fibroscan – zastosowanie u dzieci

- 975 badań u zdrowych dzieci 0-18 lat
- Największy odsetek niepowodzeń < 5rż – 27%
- Średnia spoistość wątroby (LSM) 4.4 ± 1.08 kPa



	0–5 years	6–11 years	12–18 years
	Measurements		
Valid	239	268	320
Invalid [% of total]	87 [27%]	26 [9%]	36 [10%]
IQR/LSM of valid LSM (mean/SD)	0.16/0.06	0.14/0.06	0.12/0.06
	Shots		
Valid	2,981	2,921	3,477
Invalid [% of total]	513 [15%]	325 [10%]	286 [8%]

Fibroscan – włóknienie wątroby

- 128 pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby, 1mż-27 rż;
- Porównanie LSM z włóknieniem w biopsji wątroby
- 8.6 kPa optymalny cut-off dla zaawansowanego włóknienia (F3/4)
- Fibroscan lepszy w ocenie F3/4 u dzieci z przewlekłymi chorobami wątroby aniżeli surowicze markery włóknienia (HA, YKL-40)

AUROC 0.83

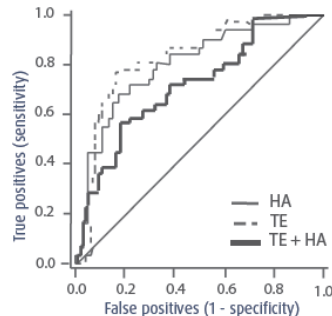
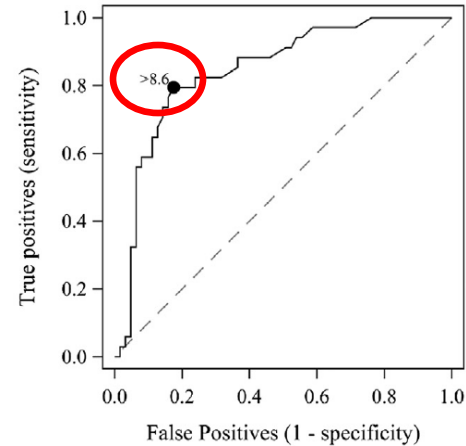


Figure 1: AUCs of TE, HA, and TE-HA combination for diagnosing F3-F4 fibrosis (n=88)



N*	METAVIR Stage		P
	F0 - F2 (N = 63)	F3 - F4 (N = 34)	
97	6.1 (4.9, 7.6)	14.6 (8.9, 22.6)	<.0001

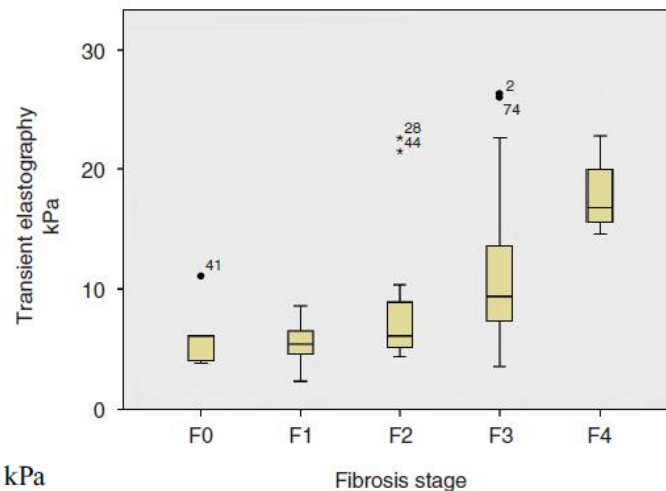
*Group 2 (serum + TE)

TE (kPa)

Lee, J Pediatrics 2013

Fibroscan – włóknienie wątroby

- 104 dzieci, średnio 13.6 lat;
- AIH 27; NAFLD 37; po Ltx 16; hepatitis B/C 8; ch. Wilsona 5; i inne
- AUROC \geq F2 0.78, \geq F3 0.79 ; F4 0.96,
- Największa czułość dla marskości wątroby



	AUC	Cutoff, kPa
\geq F1	0.81	6.1
\geq F2	0.78	6.9
\geq F3	0.79	7.5
F4	0.96	14.1

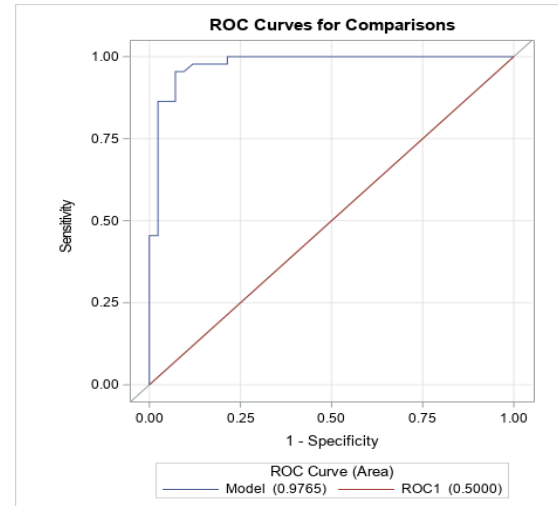
Fitzpatrick E, JPGN 2013

Autoimm. zapalenie wątroby

N=86; śr. 14 lat; AIH
Fibroscan vs biopsja wątroby

LSM silny związek z włóknieniem wątroby
 $r=0.81$, $p<0.0001$

Fibroscan dla zaawansowanego włóknienia
($F\geq 3$)
AUROC 0.95
optymalny punkt odcięcia 8.3 kPa.



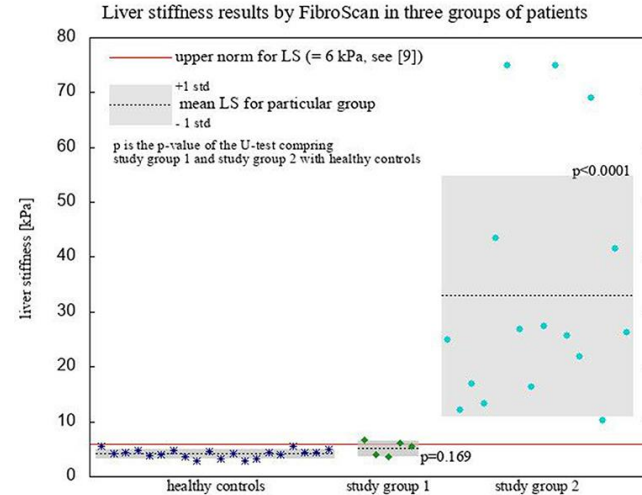
Jańczyk W, Grajowska W, Kmiotek J. i wsp. Use of transient elastography for accurate staging of liver fibrosis and predicting complications in children with autoimmune hepatitis. Liver Int (submitted)

Wrodzone włóknienie wątroby

N=21; Fibroscan ARPKD vs. kontrola
E- 22 vs. 4.25 kPa, ($p < 0.0001$).

W grupie z zaawansowanym włóknieniem ($E > 6.9$ kPa) splenomegalia 87.5%, trombocytopenia 69%

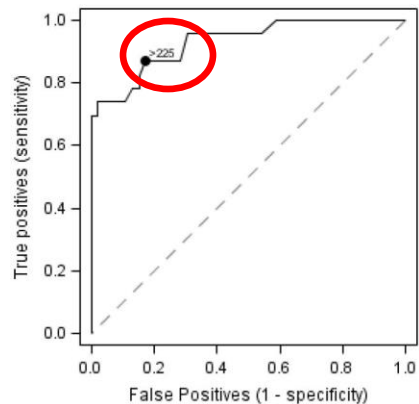
Żyłki przetyku - w grupie z zaawansowanym włóknieniem wątroby.



Wicher D. i wsp. Transient Elastography for Detection of Liver Fibrosis in Children With Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease. *Front. Pediatr.* 2018

CAP – stłuszczenie wątroby

- 69 pacjentów (wiek 16.0 ± 2.9 lat; 62% chłopcy), 23 miało stłuszczenie w biopsji
- Punkt odcięcia dla CAP -225 dB/m optymalny dla rozpoznania stłuszczenia wątroby u dzieci, podobnie jak u pacjentów dorosłych
- Deasai NK, J Pediatr 2016



- 305 dzieci, Fibroscan / USG
- Punkt odcięcia dla CAP < 249 dB/m wyklucza stłuszczenie wątroby z dużą swoistością

•Ferraioli G, BioMed Central 2017

Nieinwazyjne metody oceny włóknienia wątroby

Paulina Chodnicka, Zakład Diagnostyki Obrazowej



Elastografia rezonansu magnetycznego (MRE)

Zalety

- Nie wymaga przygotowania
- Nie wymaga podania kontrastu
- Ocena wątroby na 4 poziomach
- Niezależne od anatomii
- Dobre wykrywanie znacznego zwłóknienia i marskości
- Dobra zgodność między obserwatorami

Wady

- Wiek pacjenta
- Wymaga współpracy pacjenta, technika obrazowania na wstrzymanym oddechu



Grant wewnętrzny - materiał i metody

- 61 pacjentów z AIH, 28 pacjentów po LTx
- MRE + biopsja
- Średnia wieku 14,16 (5-18)
- Średnia sprężystości wątroby
AIH $3,27 \pm 1,1$, LTx $2,86 \pm 1,01$ kPa
- Grupa kontrolna 16
- MRE
- Średnia wieku 14,43 (10-17)
- Średnia sprężystości wątroby
 $2,38 \pm 0,37$ kPa
- 100 pacjentów w programie PLO, średnia sprężystość
 $2,34 \pm 0,4$ kPa



Grantu wewnętrzny - wyniki

W grupie pacjentów po LTx MRE wykazało czułość (80%) i swoistość (91.30%) w różnicowaniu znacznego zwłóknienia (Ishak 4 and 5) i marskości (Ishak 6) od normy i łagodnego oraz umiarkowanego zwłóknienia (Ishak 0, 1, 2, 3) dla punktu odcięcia 3.06 kPa. AUC dla ROC 0.865, $p < 0.05$.

W grupie pacjentów z AIH MRE wykazało czułość (76.19%) i swoistość (82.50%) w różnicowaniu znacznego zwłóknienia (Ishak 4 and 5) i marskości (Ishak 6) od normy i łagodnego oraz umiarkowanego zwłóknienia (Ishak 0, 1, 2, 3) dla punktu odcięcia 3.23 kPa. AUC dla ROC 0.828, $p < 0.05$.

Wysoki stopień zgodności między obserwatorami Weighted Kappa 0,86.



Elastografia USG

Zalety

Czas trwania (?)

Wady

- Zależne od techniki oraz doświadczenia badającego
- Wymaga współpracy pacjenta
- Tylko fragment wątroby
- Zależne od anatomii



Elastografia MR vs USG

MR

- Mniej zależne od współpracy pacjenta oraz warunków anatomicznych
- Obiektywne
- Ocenia większy obszar wątroby

USG

- Brak przeciwwskazań do wykonania badania (tj. klaustrofobia, elementy metalowe)



Opracowanie i wdrożenie innowacyjnej technologii produkcji przetworów warzywnoowocowych nowej generacji wzbogaconych błonnikowym preparatem ze skrobi ziemniaczanej o właściwościach prebiotycznych z przeznaczeniem dla dzieci i młodzieży, akronim PreSTFibre4kids.

- Kwas hialuronowy (HA) jest nieinwazyjnym biomarkerem zwłóknienia wątroby w przebiegu niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (NAFLD).

24

Biochemiczne wskaźniki stłuszczenia wątroby

- Pośrednie: wskaźniki procesów zapalnych
- AST, ALT, GGT, ApoA1, bilirubina, cholesterol, triglicerydy

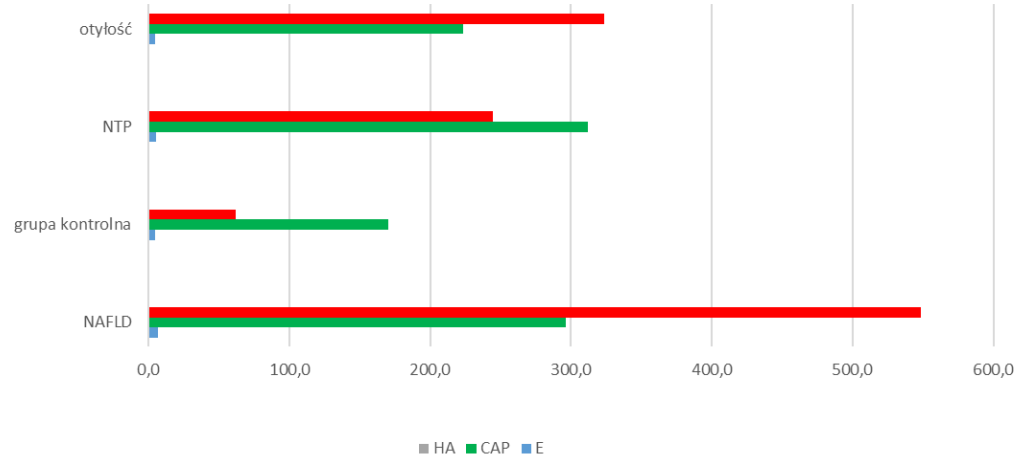
- Bezpośrednie: wskaźniki syntezy/degradacji substancji międzykomórkowej:
- Kwas hialuronowy,
- aminopeptyd prokolagenu III (PIIINP),
- kolagen IV, kolagen VI,
- metaloproteinazy i ich tkankowe inhibitory (TIMP-1, TIMP-2),
- laminina,
- YKL-40, czynniki wzrostowe i in.

Materiał i metody

- Do badania przekrojowego włączono 120 dzieci, które podzielono na cztery grupy:
- 22 z otyłością (wiek $15 \pm 1,45$ roku, BMI/IOTF $2,30 \pm 0,39$),
- 45 z NAFLD (wiek $15,9 \pm 0,39$; BMI-IOTF $2,43 \pm 1,05$),
- 25 z HP (wiek $15,5 \pm 1,94$ lat, BMI-IOTF $2,59 \pm 0,66$)
- i 28 dzieci z grupy kontrolnej z prawidłowym BMI (średni wiek $15,4 \pm 1,59$ lat, BMI-IOTF $0,27 \pm 0,77$).
- Oceniono parametry antropometryczne, stężenie glukozy we krwi na czczo (FBG), insulinę, profil lipidowy i kwas hialuronowy. Ocenę modelu homeostazy insulinooporności (HOMA-IR) obliczono na podstawie FBG i insuliny.

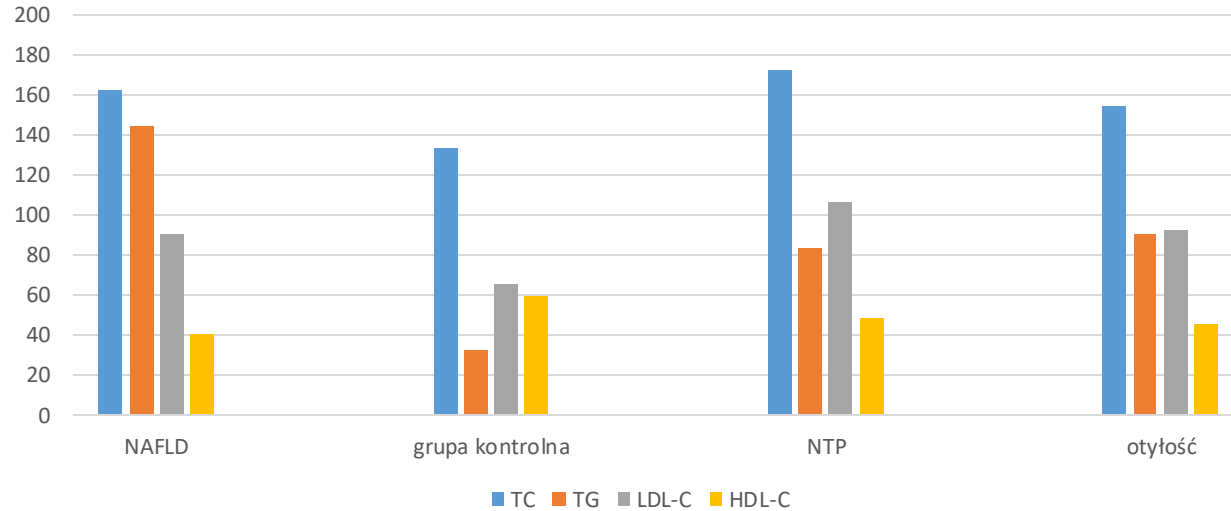
Wyniki

Analiza parametrów CAP i stężenia HA w badanej grupie



Wyniki

Stężenie lipidów i lipoprotein w badanych grupach



Wnioski:

- U dzieci z otyłością i jej powikłaniami (NAFLD, HP) zaobserwowano zwiększone stężenie kwasu hialuronowego, co ma związek z insulinoopornością i stopniem otyłości.
- Kwas hialuronowy jest biomarkerem stłuszczenia wątroby

- Narodowe Centrum Nauki UMO-2018/31/B/NZ5/02735 –
- „Odpowiedź immunologiczna a skład mikrobioty jelitowej u dzieci z niealkoholową chorobą stłuszczeniową wątroby i nadciśnieniem tętniczym pierwotnym”

- a) z dystrybucją różnych subpopulacji limfocytów krwi obwodowej,
- b) profilem odpowiedzi jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMCs) na stymulację przez metabolity mikroflory (ekstrakty alkoholowe z próbek kału) w zakresie:
 - a) produkcji cytokin pro- i przeciw-zapalnych,
 - b) charakterystyki fenotypowej, tj. dystrybucji i stanu aktywacji limfocytów T o funkcji immunoregulacyjnej (komórki T-reg, B reg),
 - c) profilem ekspresji genów (transkryptom)

Biochemiczna ocena progresji przewlekłego zapalenia wątroby do marskości

- *Funkcja dyskryminująca oparta o wyniki oznaczeń:*
- fibronektyny
- czasu protrombinowego
- Pseudocholinoesterazy(PCHE)
- ALT
- dysmutazy nadtlenkowej (SOD)
- *N-acetylo- β -glukozaminidazy(β -NAG)*

- ***ClinicalChemistry2001;47:1696-1700***

Funkcje wątroby upośledzone w jej marskości

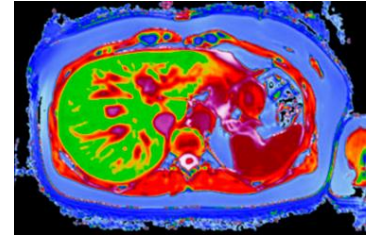
- Synteza **białek**
- albumina
- czynniki krzepnięcia
- Udział w przemianach i gromadzeniu **glukozy**
- Udział w przemianach **lipidów**
- Synteza **kwasów żółciowych**
- Detoksykacja
- cykl mocznikowy
- biotransformacja substancji endo-i egzogennych
- Gromadzenie wit. B12i kwasu foliowego; hydroksylacjavit. D

NMR

- **Wieloparametryczny rezonans magnetyczny (mpMRI)**

ang. Multiparametric Magnetic Resonance Imaging

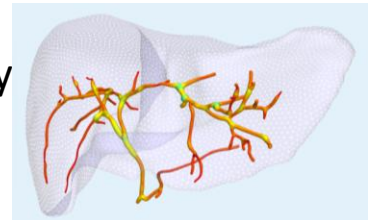
LiverMultiScan™, Perspectum Diagnostics Ltd., Oxford



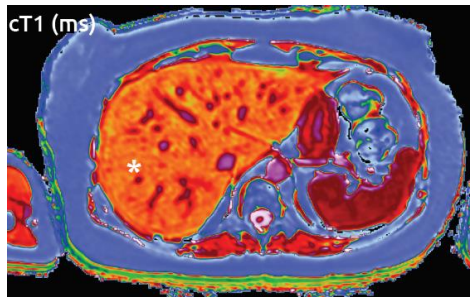
- **Ilościowa ocena dróg żółciowych metodą rezonansu magnetycznego (MRCP+™)**

ang. Quantitative Magnetic Resonance Cholangiopancreatography

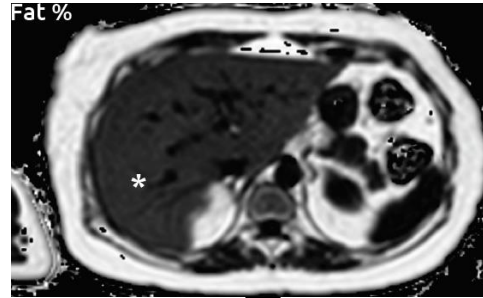
Perspectum Diagnostics Ltd., Oxford



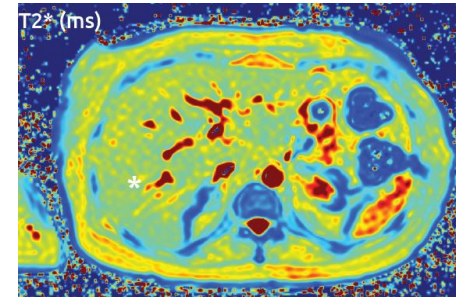
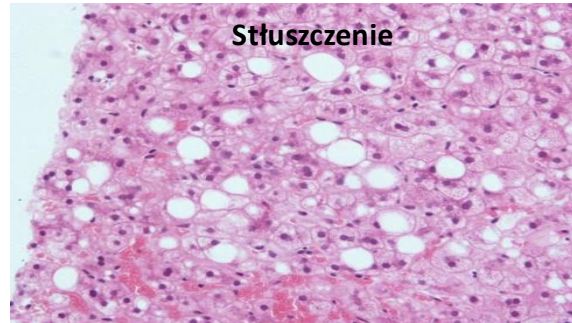
LiverMultiScan™



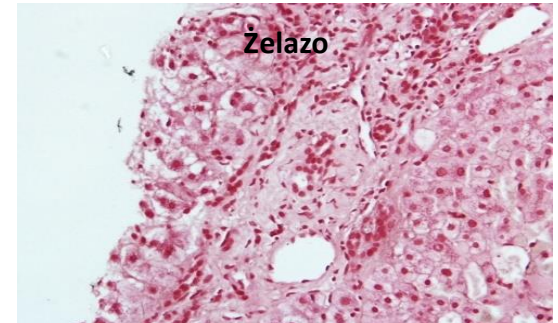
cT1



PDFF



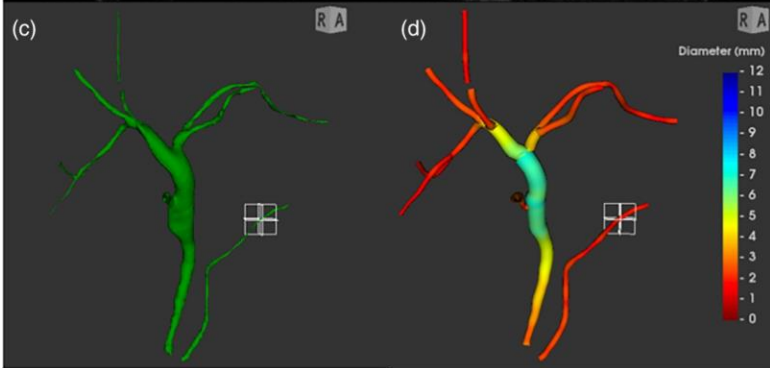
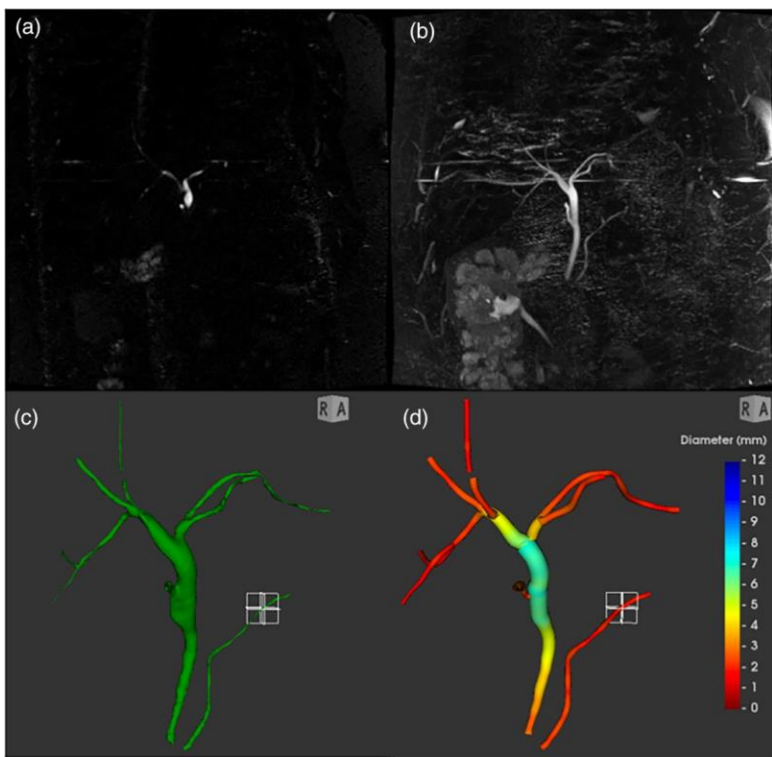
Sekwencja T2*



MRCP+™

model 3D drzewa żółciowego

liczne dane ilościowe dot. anatomii i morfologii przewodów żółciowych:
m.in. objętość dróg żółciowych, średnica, zwężenia/poszerzenia

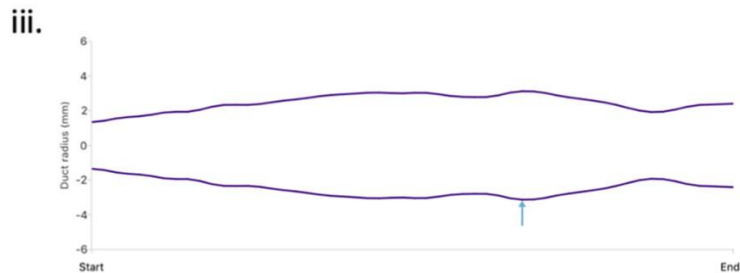
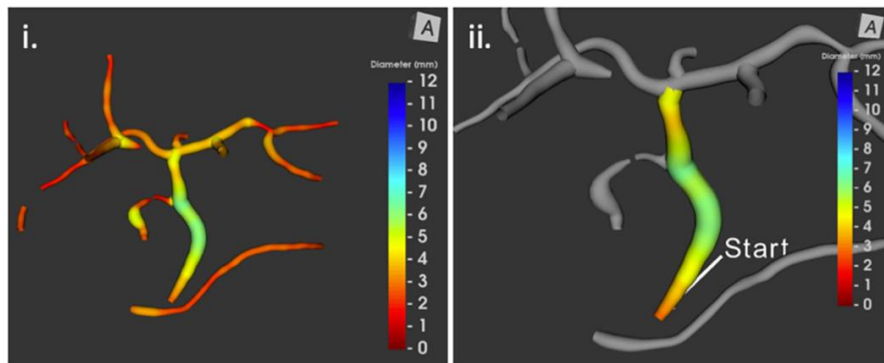


Porównanie metod MRCP i MRCP+

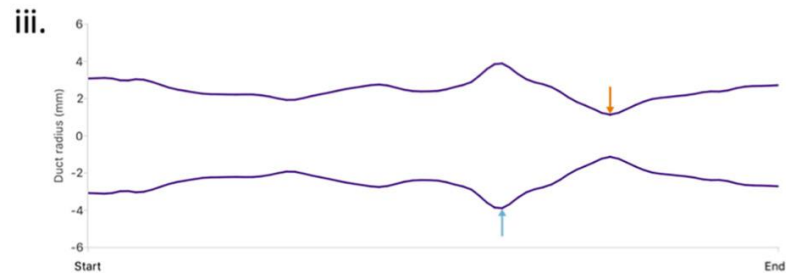
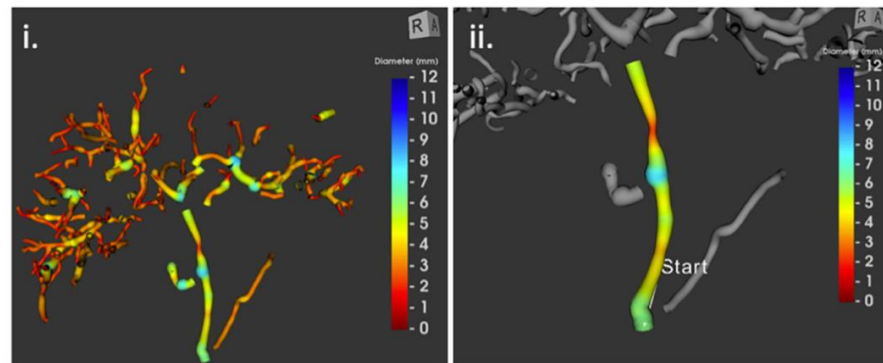
- (a) Przekrój czołowy przez skany 3D MRCP, w pobliżu rozwidlenia.
- (b) Projekcja maksymalnej intensywności (MIP) na wszystkich przekrojach.
- (c) Renderowanie powierzchni wzmocnionych przewodów.
- (d) Ilościowy model MRCP+, z drogami żółciowymi i przewodem trzustkowym pokolorowanymi według średnicy.
- (e) Wykres modelowanego profilu średnicy wzdłuż długości przewodu trzustkowego (pomarańczowe i niebieskie strzałki - automatycznie zidentyfikowane punkty, w których średnica jest o ponad 30% węższa lub szersza niż sąsiednie obszary).

MRCP+™

(a) Zdrowy ochotnik

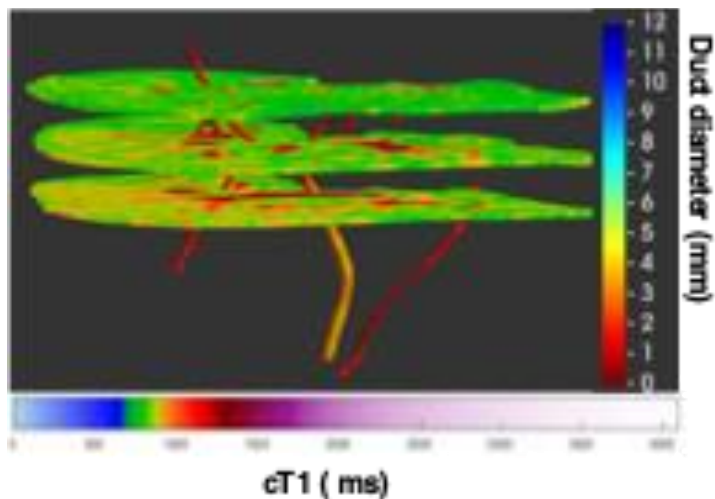


(b) Chory

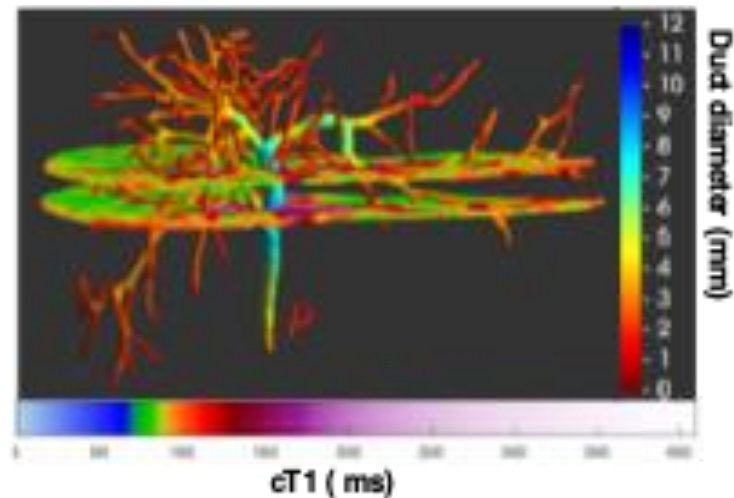


Połączenie obrazów *LiverMultiScan*TM i *MRCP+*TM

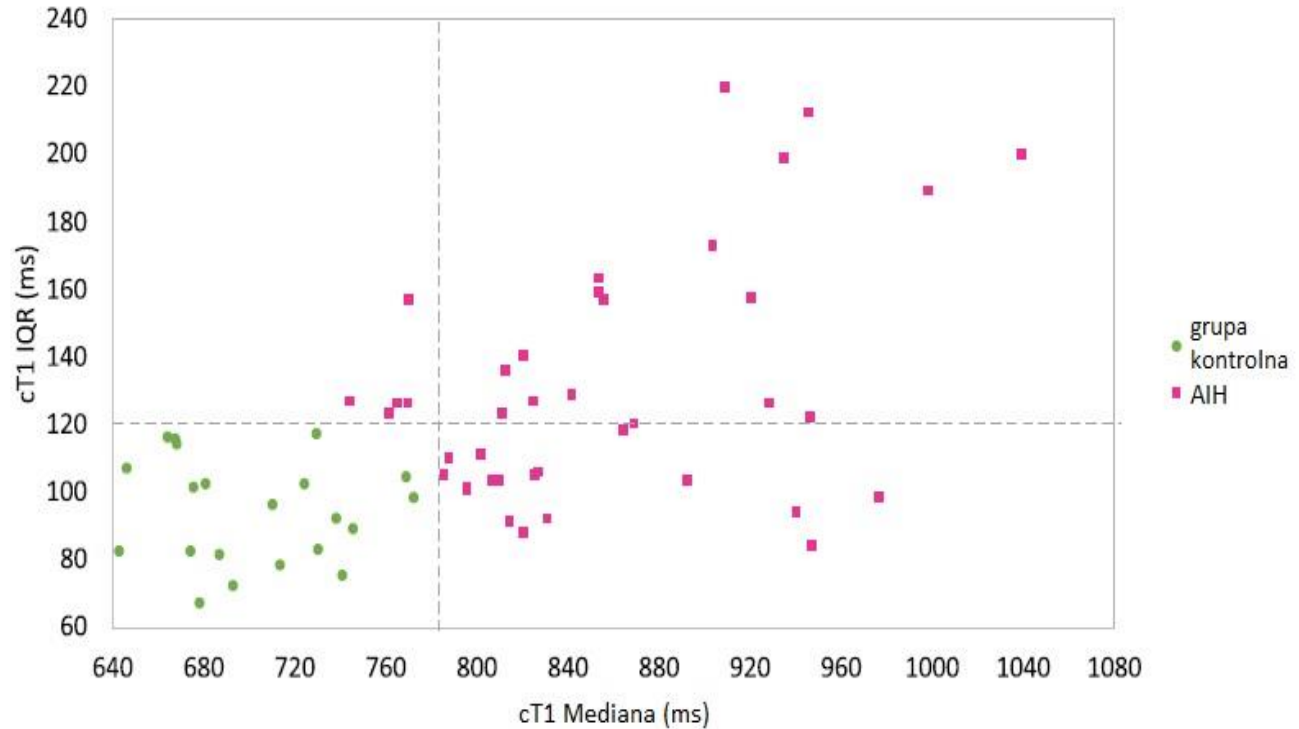
A Zdrowy ochotnik



B AIH



Wyniki



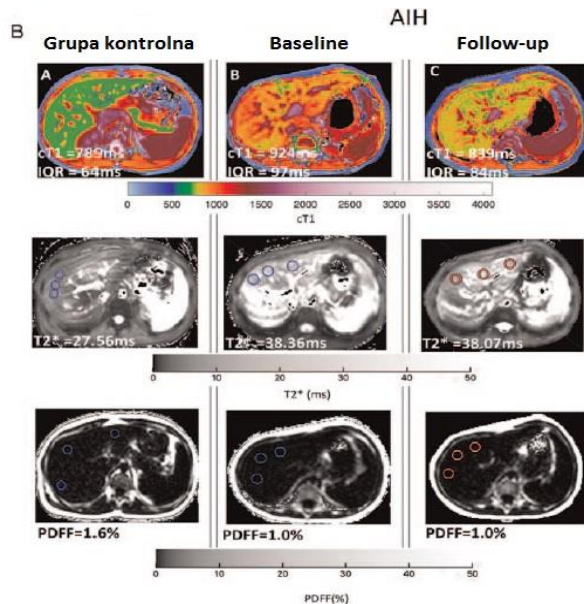
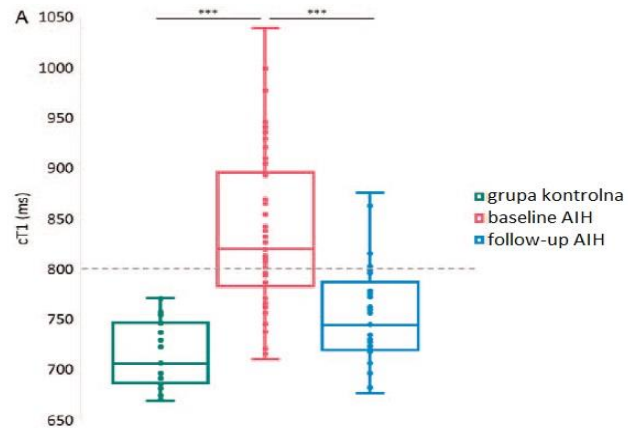
Wartość cT1 była istotnie wyższa u chorych z AIH w porównaniu do grupy kontrolnej.
 $876.65 \pm 71 \text{ms}$ vs. $714.86 \pm 33.02 \text{ms}$, $p < 0.01$

Wyniki

U wyjściowo nieleczonych pacjentów z AIH potwierdzono cechy uszkodzenia wątroby i obecności zmian zapalnych w porównaniu z grupą kontrolną.

U większości pacjentów, u których po leczeniu potwierdzono zmniejszenie stopnia nasilenia zapalenia i włóknienia, nastąpił istotny spadek wartości cT1 (od średniej 876 do 745 ms, $p=0.0002$) w ocenie kontrolnej po 16.2 miesiącach (9-22 miesięcy).

U sześciu pacjentów stwierdzono obecność włóknienia w biopsji wątroby oraz podwyższony cT1 w mpMRI (wskazujący na obecność włóknienia i zapalenia) pomimo remisji biochemicznej (normalizacji ALT, AST i IgG).



Wnioski

Wykazano **możliwość wykorzystania** mpMRI w nieinwazyjnej ocenie podstawowej aktywności autoimmunizacyjnej choroby wątroby u dzieci.

Potwierdzono związek między cT1 a wybranymi cechami histologicznymi choroby (zapalenie wrotne i zrazikowe).

Wykazano, że cT1 można wykorzystać jako **dodatkowy biomarker** do oceny aktywności choroby i uszkodzenia wątroby, **przydatny w monitorowaniu leczenia**.

Badanie zidentyfikowało mpMRI jako **potencjalne narzędzie do nieinwazyjnego monitorowania AIH** i uzasadnia przyszłe prospektywne badania kliniczne w celu pełnego zbadania użyteczności tej metody w praktyce klinicznej.

Wnioski

- MRCP+ dostarcza **licznych danych ilościowych**, które można wykorzystać do oceny drzewa żółciowego oraz które mogą skutecznie **uwydatnić różnice** między pacjentami z ASC a pacjentami z AIH.
- Łącząc dane ilościowe MRCP+, które precyzują względne nasilenie zarówno zwężeń, jak i poszerzeń (charakterystycznych dla SC) z całkowitą liczbą poszerzeń w drogach żółciowych, osiągnięto **korzystny model różnicujący** chorych z ASC i AIH.
- Dalsze rozwijanie metody MRCP+ może stanowić **istotne** wsparcie technik radiologicznych w diagnostyce i monitorowaniu autoimmunizacyjnych chorób wątroby u dzieci.

Publikacje

- [Quantitative multiparametric MRI as a non-invasive stratification tool in children and adolescents with autoimmune liver disease.](#) **Janowski K**, Shumbayawonda E, Cheng L, Langford C, Dennis A, Kelly M, Pronicki M, Grajkowska W, Wozniak M, Pawliszak P, Chełstowska S, Jurkiewicz E, Banerjee R, Socha P. *Sci Rep.* 2021 Jul 27;11(1):15261.
- [Multiparametric MRI as a Noninvasive Monitoring Tool for Children With Autoimmune Hepatitis.](#) **Janowski K**, Shumbayawonda E, Dennis A, Kelly M, Bachtiar V, DeBroda D, Langford C, Thomaidis-Brears H, Pronicki M, Grajkowska W, Wozniak M, Pawliszak P, Chełstowska S, Jurkiewicz E, Banerjee R, Socha P. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2021 Jan 1;72(1):108-114
- [Quantitative MR in Paediatric Patients with Wilson Disease: A Case Series Review.](#) **Janowski K**, Shumbayawonda E, Kelly M, Ferreira C, Pronicki M, Grajkowska W, Naorniakowska M, Pawliszak P, Chełstowska S, Jurkiewicz E, Banerjee R, Socha P. *Children (Basel).* 2022 Apr 25;9(5):613.