

lek. Natalia Mikołajczyk-Korniak

**Porównanie oceny histopatologii i nieinwazyjnych metod
diagnostycznych w rozpoznawaniu włóknienia wątroby
u biorców przeszczepu wątroby**

(streszczenie)

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych
w zakresie medycyny

Promotor: dr hab. n. med. Teresa Bączkowska

Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych
Instytut Transplantologii im. Prof. Tadeusza Orłowskiego
Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą I Wydziału Lekarskiego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2018

Porównanie oceny histopatologii i nieinwazyjnych metod diagnostycznych w rozpoznawaniu włóknienia wątroby u biorców przeszczepu wątroby

Wstęp

Stadium włóknienia wątroby i oszacowanie dynamiki tego procesu u pacjentów po przeszczepieniu wątroby jest podstawowym elementem w ocenie rokowania przeżycia przeszczepionego narządu. Wiedza dotycząca stopnia zaawansowania włóknienia wątroby pozwala zaplanować i wdrożyć odpowiednio wcześniej profilaktykę, bądź postępowanie terapeutyczne. Według aktualnego stanu wiedzy włóknienie wątroby jest procesem częściowo odwracalnym.

Najczęstszym wskazaniem do przeszczepienia wątroby u osób dorosłych w krajach rozwiniętych jest marskość spowodowana przewlekłym zakażeniem wirusem zapalenia wątroby typu C (WZW C). Istotnym problemem jest nawrót choroby podstawowej. W przypadku braku kontroli nad aktywnością choroby i szybkiej utraty przeszczepionej wątroby, ponowna kwalifikacja do zabiegu retransplantacji może stanowić trudność. Głównym wyzwaniem w prowadzeniu osób po transplantacji wątroby jest leczenie nawrotu zakażenia HCV, ponieważ u tych pacjentów przebieg choroby bywa szybszy i agresywniejszy, w porównaniu do osób immunokompetentnych. Jednym z podstawowych kryteriów, branych pod uwagę w podejmowaniu decyzji o kwalifikacji do leczenia przeciwwirusowego, jest ocena stopnia zaawansowania włóknienia wątroby przeszczepionej. Określenie stanu zaawansowania włóknienia jest też ważne dla celów przyjęcia odpowiedniej strategii kontroli nad rozwojem raka wątrobowokomórkowego, który w tej grupie chorych znacząco zwiększa śmiertelność.

Podstawowym badaniem określającym stopień włóknienia wątroby jest biopsja i ocena histopatologiczna bioptatu. Metoda ta, zwana powszechnie „złotym standardem”, ma niestety wiele ograniczeń. Jest inwazyjna, kosztowna i obciążona ryzykiem błędów próbkowania oraz subiektywności w ocenie. Potrzebne jest określenie nieinwazyjnej, porównywalnej w ocenie ze „złotym standardem” i powtarzalnej metody oceny stopnia zaawansowania włóknienia wątroby, aby zapewnić bezpieczeństwo chorym z grup wysokiego ryzyka okołozabiegowego, wyeliminować błąd jakości i wielkości materiału bioptatu, a nadto znacznie zredukować koszty związane z hospitalizacją chorego. Progresa włóknienia wątroby nie ma charakteru liniowego, co skłania do poszukiwania metod oceny tego procesu, które będą miały charakter powtarzalny i jednocześnie bezpieczny. W zakresie badań radiologicznych stosowana jest elastografia dynamiczna, a spośród badań serologicznych, w ocenie włóknienia można posłużyć się markerami pośrednimi, używanymi w badaniu FibroTest (alfa2-makroglobulina, apolipoproteina A1, haptoglobina, GGTP, bilirubina, ALT) oraz markerami bezpośrednimi w teście ELF (Enhanced Liver Fibrosis Test - kwas hialuronowy, aminokońcowy propeptyd prokolagenu typu III, inhibitor metaloproteinazy I macierzy pozakomórkowej).

Cel pracy:

1. Porównanie metod diagnostycznych oceniających stopień włóknienia wątroby u pacjentów po transplantacji: biopsji wątroby - jako metody referencyjnej, elastografii dynamicznej oraz testów oceniających pośrednie i bezpośrednie markery włóknienia wątroby z krwi - FibroTestu i testu ELF.
2. Wskazanie optymalnej, nieinwazyjnej techniki oceniającej stopień włóknienia wątroby przeszczepionej, jako alternatywy dla biopsji wątroby.
3. Wyznaczenie punktu odcięcia, który określi istotne klinicznie etapy włóknienia wątroby przeszczepionej dla elastografii dynamicznej, FibroTestu i testu ELF.
Istotne klinicznie etapy włóknienia wątroby w skali METAVIR (F0-4) to:
 - znaczne włóknienie $F \geq 2$
 - zaawansowane włóknienie $F \geq 3$
 - marskość $F=4$
4. Analiza potencjalnych czynników ryzyka włóknienia wątroby u osób po transplantacji wątroby:
 - czynniki zależne od dawcy narządu: wiek i płeć, BMI, czas pobytu dawcy na OIT;
 - czynniki zależne od przeszczepionego narządu: uszkodzenie związane z rewaskularyzacją;
 - czynniki związane z biorcą narządu: epizody ostrego odrzucania, infekcja CMV, powikłania żółciowe i naczyniowe w okresie potransplantacyjnym;
 - powikłania metaboliczne u biorcy: cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia lipidowe, BMI biorcy.

Grupa badana i metody: Pacjenci

Do prospektywnego badania zakwalifikowano 62 pacjentów po przeszczepieniu wątroby z powodu jej niewydolności z różnych przyczyn; większość stanowili chorzy z marskością własnej wątroby o etiologii HCV. Badanie prowadzono w okresie od sierpnia 2014 r. do lutego 2016 r.

Ponadto, badając potencjalne przyczyny włóknienia wątroby przeszczepionej, retrospektywnie analizowano wyniki 56 pacjentów, u których po roku od przeszczepienia wątroby stwierdzono w biopsji

włóknienie w stadium $F \geq 2$. Grupę kontrolną w tej analizie stanowiło 75 chorych, u których po roku od transplantacji stwierdzono w biopsji $F=0$ lub $F=1$.

U wszystkich pacjentów zabieg transplantacji wątroby wykonano w Klinice Chirurgii Ogólnej i Transplantacyjnej Instytutu Transplantologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, a długoterminową opiekę nad tymi pacjentami sprawują lekarze Kliniki Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych, w Instytucie Transplantologii im. Profesora Tadeusza Orłowskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Badania histopatologiczne

Biopsję wątroby wykonywano ze wskazań, w przypadku pogorszenia czynności wątroby, bądź planowo, jako biopsje protokolarne. Do histopatologicznej oceny stopnia włóknienia wątroby zastosowano pięciostopniową skalę MERTAVIR (F0-F4). Biopsje oceniane były również pod kątem obecności ostrego odrzucania komórkowego (AR). Eksplantowaną wątrobę każdego pacjenta oceniano pod względem wyjściowego stopnia włóknienia oraz zmian odpowiadających rakowi wątrobowokomórkowemu (HCC).

Badania radiologiczne

W okresie okołobiopsyjnym pacjenci mieli wykonaną elastografię dynamiczną w Pracowni Elastografii w Wojewódzkim Szpitalu Zakaźnym w Warszawie. Sprężystość tkanki wątrobowej przedstawiono w kilopaskalach, a wyniki odpowiednio skorelowano z wynikiem biopsji wątroby w skali METAVIR.

Badania laboratoryjne

Z krwi pobranej w przeddzień lub w dniu biopsji analizowano podstawowe parametry funkcji wątroby oraz morfologię, alfa-fetoproteinę (AFP), wiramię HCV RNA. Zostały też oznaczone pośrednie i bezpośrednie markery włóknienia wątroby.

Ponadto, w badanej grupie oceniono częstość powikłań żółciowych i naczyniowych po transplantacji oraz występowanie cukrzycy, zarówno cukrzycy przed przeszczepieniem jak i cukrzycy potransplantacyjnej (NODAT).

Wyniki:

1. Obszar pola pod krzywą (AUROC) dla przewidywania znacznego włóknienia ($F \geq 2$), zaawansowanego włóknienia ($F \geq 3$) i marskości ($F=4$) dla całej badanej grupy, niezależnie od etiologii marskości wątroby własnej wyniósł odpowiednio:
 - a) w przypadku elastografii dynamicznej 0.5938, 0.8952, 0.9583,
 - b) w przypadku testu ELF 0.7295, 0.7072, 0.8409.Analogicznie, AUROC dla prognozowania stadiów włóknienia $F \geq 2$, $F \geq 3$, $F=4$ dla grupy pacjentów z marskością wątroby własnej o etiologii HCV wyniósł:
 - a) dla elastografii dynamicznej 0.6021, 0.9375, 0.950.
 - b) dla testu ELF 0.7233, 0.6741, 0.8281.
 - c) dla FibroTestu 0.4863, 0.8049, 0.8723.
2. Analizując krzywe AUROC stwierdzono, że elastografia dynamiczna, spośród porównywanych metod wydaje się być najbardziej optymalną techniką nieinwazyjną, mogącą stanowić, w określonych sytuacjach, alternatywę dla biopsji, w szczególności dla oceny stadiów równych lub wyższych zaawansowanemu włóknieniu wątroby.
3. Wartości odcięcia dla diagnostyki poszczególnych etapów włóknienia:
 - a) Dla elastografii dynamicznej, w całej badanej grupie, to jest niezależnie od etiologii niewydolności wątroby własnej, celem określenia nasilenia włóknienia wątroby w określonym stadium wyznaczono optymalny punkt odcięcia:
 - dla znacznego włóknienia ($F \geq 2$), wyznaczono wartość 4.65 kPa (czułość 89.47%, swoistość 29.11%, NPV 63.64%, PPV 66.67%),
 - dla zaawansowanego włóknienia ($F \geq 3$) wartość ta wynosiła 8.3 kPa (czułość 88.89%, swoistość 81.13%, NPV 97.73%, PPV 44.44%),
 - dla marskości ($F=4$) 12.65 kPa (czułość 100%, swoistość 93.33%, NPV 100%, PPV 33.33%).W grupie pacjentów z marskością pozapalną wątroby własnej o etiologii HCV, punkty odcięcia dla elastografii dynamicznej wynosiły odpowiednio:
 - w stadium $F \geq 2$: 4.55 kPa (czułość 94.12%, swoistość 27.78%, NPV 71.43%, PPV 71.11%),
 - w stadium $F \geq 3$: 8.25 kPa (czułość 100%, swoistość 77.27%, NPV 100%, PPV 44.44%),
 - w stadium $F=4$ 12.65 kPa (czułość 100%, swoistość 92%, NPV 100%, PPV 33.33%).
 - b) Analogicznie wyznaczono punkty odcięcia dla testu ELF w całej grupie:
 - w stadium $F \geq 2$ wartość ta wynosiła 9.27 (czułość 77.78%, swoistość 71.43%, NPV 65.22%, PPV 82.35%),
 - w stadium $F \geq 3$: 10.07 (czułość 66.67%, swoistość 75%, NPV 92.31%, PPV 33.33%),
 - w stadium $F=4$: 10.07 (czułość 100%, swoistość 70.91%, NPV 100%, PPV 11.11%).Odpowiednio, u pacjentów z wywiadem marskości pozapalnej w wątrobie własnej o etiologii HCV:

Odpowiednio, u pacjentów z wywiadem marskości pozapalnej w wątrobie własnej o etiologii HCV:

- w stadium $F \geq 2$: 9.45 (czułość 73.53%, swoistość 68.75%, NPV 55%, PPV 83.33%),
 - w stadium $F \geq 3$: 11.43 (czułość 50%, swoistość 95.24%, NPV 90.91%, PPV 66.67%),
 - w stadium $F=4$: 10.07 (czułość 100%, swoistość 68.75%, NPV 100%, PPV 11.76%).
- c) W grupie pacjentów z wywiadem HCV, wartość odcięcia dla FibroTestu wynosiła:
- w stadium $F \geq 2$: 0.72 (czułość 26.47%, swoistość 86.67%, NPV 34.21%, PPV 81.82%),
 - w stadium $F \geq 3$: 0.4 (czułość 100%, swoistość 53.66%, NPV 100%, PPV 29.63%),
 - w stadium $F=4$: 0.76 (czułość 100%, swoistość 87.23%, NPV 100%, PPV 25%).
4. Analiza potencjalnych czynników ryzyka włóknienia:
- a) W analizie jednoczynnikowej zależności ryzyka włóknienia wątroby od wieku dawcy nie wykazano istotności statystycznej ($p=0.37$).
 - b) W analizie jednoczynnikowej zależności ryzyka włóknienia wątroby od płci dawcy nie wykazano istotności statystycznej ($p=1$).
 - c) BMI dawcy jako potencjalny, izolowany czynnik ryzyka włóknienia wątroby nie osiągnął istotności statystycznej w grupie pacjentów ze stwierdzonym na podstawie biopsji włóknieniem $F \geq 2$ ($p=0.238$).
 - d) W analizie jednoczynnikowej zależności ryzyka włóknienia wątroby od czasu zimnego niedokrwienia nie wykazano istotności statystycznej ($p=0.1$). Zależności tej nie wykazano również w przypadku czasu pobytu dawcy na OIT ($p=0.3$).
 - e) Rozkład obecności cukrzycy w grupie pacjentów ze stwierdzonym w biopsji włóknieniem $F \geq 2$ był bliski istotności statystycznej ($p=0.074$).
 - f) Rozkład obecności nadciśnienia tętniczego w grupie pacjentów ze stwierdzonym włóknieniem w biopsji $F \geq 2$ nie wykazał istotności statystycznej $F < 2$ ($p=0.2038$).
 - g) Analiza wieloczynnikowa wykazała zależność progresji włóknienia do stopnia $F \geq 2$ stwierdzonego na podstawie biopsji rok po transplantacji w grupie pacjentów z marskością wątroby własnej o etiologii HCV, w przypadku współistnienia epizodu ostrego odrzucania oraz, gdy jednocześnie biorcy przeszczepiono wątrobę od dawcy powyżej 45 roku życia ($p=0.007$).
 - h) Ponadto, również w grupie pacjentów z marskością wątroby własnej o etiologii HCV, zależność ta występowała w sytuacji, gdy czas zimnego niedokrwienia wynosił powyżej 8 godzin, w przypadku gdy biorcą była kobieta i dawcą była również kobieta ($p=0.005$).
 - i) W grupie tej wykazano związek progresji włóknienia w przypadku, gdy dawca miał powyżej 45 lat i jednocześnie u biorcy wątroby występowały epizody ostrego odrzucania, powikłania żółciowe oraz naczyniowe ($p=0.02$).
 - j) Wykazano istotne statystycznie różnice między grupą kontrolną a badaną (włóknienie w biopsji po roku od transplantacji w stadium $F < 2$) w zależności od czasu nawrotu HCV: do 6 miesiąca i do roku od transplantacji wątroby ($p=0.0001$).

Wnioski:

1. Elastografia dynamiczna w porównaniu do testu ELF i FibroTestu jest metodą najdokładniej oceniającą włóknienie w stadium marskości ($F=4$), stwierdzonej na podstawie biopsji wątroby. Test ELF, spośród badanych nieinwazyjnych metod, najlepiej określa znaczne włóknienie ($F \geq 2$). FibroTest nie przewyższył żadnej z badanych metod w skuteczności oceny poszczególnych stadiów nasilenia włóknienia wątroby.
2. Wyniki badań nieinwazyjnych oceniających włóknienie wątroby przeszczepionej nie są równoważne z wynikiem biopsji gruboigłowej. Metody te nie mogą w pełni zastąpić biopsji. W zakresie diagnostyki włóknienia wątroby, szczególnie w jego zaawansowanych stadiach, możliwe jest zastosowanie elastografii dynamicznej w połączeniu z testem ELF, jako nieinwazyjnej alternatywy dla biopsji wątroby.
3. Wyznaczone punkty odcięcia dla poszczególnych istotnych klinicznie etapów włóknienia wątroby stanowią cenną informację w interpretacji wyników w grupie pacjentów po przeszczepieniu wątroby. Wyniki te różnią się nieznacznie pomiędzy grupą chorych z marskością wątroby własnej o etiologii HCV, a całą badaną grupą.
4. W celu opracowania indywidualnej strategii zapobiegania utracie przeszczepu konieczna jest każdorazowo identyfikacja kluczowych czynników ryzyka progresji włóknienia wątroby przeszczepionej, zależnych od biorcy i dawcy oraz związanych z zabiegiem przeszczepienia.

I. Budman

Chyżyński