

Gdański Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa
I Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej
II Zakład Radiologii

Anna Szymańska-Dubowik

**PORÓWNANIE PRZYDATNOŚCI
OBRAZOWANIA DYFUZJI TOMOGRAFII
REZONANSU MAGNETYCZNEGO I
ELASTOGRAFII
ULTRASONOGRAFICZNEJ W OCENIE
WŁÓKNIENIA WĄTROBY**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor pracy:
Dr hab. Edyta Szurowska

Gdańsk 2014

Pragnę serdecznie podziękować dr hab. Edycie Szurowskiej za mobilizację, cenne uwagi i nieocenioną pomoc w powstaniu niniejszej pracy.

Dziękuję dr Mirosławie Dubaniewicz-Wyberalskiej za życzliwość i wsparcie organizacyjne.

Dziękuję dr hab. Katarzynie Sikorskiej za pomoc w zebraniu grupy badanej USG.

Dziękuję mojemu mężowi za pomoc komputerową i wsparcie.

Pracę poświęcam pamięci mojego Taty i Dziadka.

Spis treści

1	WSTĘP	17
1.1	DEFINICJA WŁÓKNIENIA WĄTROBY	18
1.2	ETIOLOGIA WŁÓKNIENIA WĄTROBY	18
1.3	CZYNNIKI RYZYKA	19
1.4	EPIDEMIOLOGIA	20
1.5	PATOFIZJOLOGIA	20
1.5.1	<i>Budowa prawidłowej tkanki wątrobowej.....</i>	<i>20</i>
1.5.2	<i>Budowa zmienionej w przebiegu włóknienia tkanki wątrobowej i procesy w niej zachodzące.....</i>	<i>21</i>
1.6	OBRAZ KLINICZNY	23
1.7	LECZENIE	24
1.8	ROKOWANIE	26
1.9	POWIKŁANIA	27
1.10	DIAGNOSTYCZNE METODY OCENY WŁÓKNIENIA WĄTROBY	28
1.10.1	<i>Biopsja wątroby.....</i>	<i>28</i>
1.10.2	<i>Metody obrazowe</i>	<i>29</i>
1.10.3	<i>Testy serologiczne</i>	<i>40</i>
1.10.4	<i>Testy oddechowe.....</i>	<i>46</i>
2	CELE PRACY	49
3	MATERIAŁ I METODY	51
3.1	OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ I KONTROLNEJ USG I MR KRYTERIA WŁĄCZENIA I WYŁĄCZENIA DO GRUPY BADANEJ ORAZ PRZECIWSKAZANIA	51
3.1.1	<i>Charakterystyka grupy USG.....</i>	<i>52</i>
3.1.2	<i>Charakterystyka grupy kontrolnej USG</i>	<i>53</i>
3.2	CHARAKTERYSTYKA GRUPY MR	53
3.2.1	<i>Charakterystyka grupy badanej MR</i>	<i>53</i>
3.2.2	<i>Charakterystyka grupy kontrolnej MR.....</i>	<i>54</i>
3.3	METODYKA BADAŃ	55
3.3.1	<i>Elastografia USG wątroby metodą ARFI.....</i>	<i>55</i>
3.3.2	<i>Badanie MR wątroby z obrazowaniem zależnym od dyfuzji</i>	<i>56</i>
3.4	ANALIZA STATYSTYCZNA	58
4	WYNIKI	59
4.1	OBRAZOWANIE ZA POMOCĄ ELASTOGRAFII USG (ARFI)	59
4.1.1	<i>Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem wieku i płci</i>	<i>59</i>
4.1.2	<i>Charakterystyka grupy badanej pod względem stopnia włóknienia określonego histopatologicznie w biopsji skrawkowej.....</i>	<i>59</i>
4.1.3	<i>Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem prędkości fali odkształcenia, ilości płytek (PLT), najdłuższego wymiaru śledziony, wskaźnika płytki/śledziona, wartości aminotransferazy alaninowej (ALT).....</i>	<i>60</i>
4.1.4	<i>Różnicowanie osób zdrowych i z włóknieniem wątroby na podstawie wartości SWV – analiza skupień</i>	<i>61</i>
4.1.5	<i>Różnicowanie osób zdrowych i z włóknieniem wątroby na podstawie wartości SWV – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC.....</i>	<i>61</i>
4.1.6	<i>Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie pomiaru SWV – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC</i>	<i>62</i>
4.1.7	<i>Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie wartości wskaźnika płytki/śledziona – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC.....</i>	<i>63</i>
4.1.8	<i>Analiza różnic i korelacji w grupie badanej</i>	<i>65</i>

4.1.9	<i>Analiza różnic i korelacji w grupie kontrolnej USG</i>	69
4.2	OBRAZOWANIE MR ZALEŻNE OD DYFUZJI	71
4.2.1	<i>Porównanie grupy badanej i kontrolnej MR pod względem wieku i płci</i>	71
4.2.2	<i>Charakterystyka grupy badanej MR pod względem stopnia włóknienia określonego histopatologicznie w biopsji skrawkowej</i>	71
4.2.3	<i>Porównanie średniej wartości współczynnika ADC, wskaźnika płytki/śledziona, ilości płytek (PLT), najdłuższego wymiaru śledziona w grupie badanej i kontrolnej MR</i>	72
4.2.4	<i>Różnicowanie osób zdrowych i z włóknieniem wątroby na podstawie wartości współczynnika ADC zależnie od parametru b – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC</i>	74
4.2.5	<i>Różnicowanie osób zdrowych oraz chorych z włóknieniem wątroby na podstawie wartości wskaźnika płytki/śledziona – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC</i>	75
4.2.6	<i>Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie pomiaru ADC w zależności od parametru b- analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC</i>	75
4.2.7	<i>Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie wartości wskaźnika płytki/śledziona – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC</i>	77
4.2.8	<i>Analiza wartości wskaźnika płytki/śledziona w grupie badanej pomiędzy poszczególnymi podgrupami F</i>	79
4.2.9	<i>Analiza różnic i korelacji w grupie badanej</i>	79
5	DYSKUSJA	83
5.1	CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ I METODYKI PRACY	84
5.2	ANALIZA WYNIKÓW ELASTOGRAFII USG PRZEPROWADZONEJ METODĄ ARFI W OCENIE STOPNIA ZAAWANSOWANIA WŁÓKNIENIA	85
5.3	ANALIZA WYNIKÓW DYFUZJI MR W OCENIE STOPNIA ZAAWANSOWANIA WŁÓKNIENIA	90
5.4	ANALIZA PORÓWNIANIA SKUTECZNOŚCI DIAGNOSTYCZNEJ DYFUZJI MR I ELASTOGRAFII USG PRZEPROWADZONEJ METODĄ ARFI	99
5.5	ANALIZA PRZYDATNOŚCI WSPÓŁCZYNNIKA PŁYTKI/ŚLEDZIONA W OCENIE STOPNIA ZAAWANSOWANIA WŁÓKNIENIA WĄTROBY	100
5.6	OGRANICZENIA I ZALETY PRACY	102
6	WNIOSKI	103
7	STRESZCZENIE	105
8	SUMMARY	107
	BIBLIOGRAFIA	109

Spis rycin

Rycina 1.1. Podział wątroby na segmenty według Couinauda; modyfikacja własna.....	30
Rycina 3.1. Elastografia USG metodą ARFI.....	55
Rycina 3.2. Obrazowanie MR zależne od dyfuzji.....	57

Spis tabel

Tabela 1.1. Skala Childa-Trucotte'a-Pugha.....	26
Tabela 1.2. Stopień włóknienia (<i>staging</i>) według skali Scheuera	29
Tabela 1.3. Objawy ultrasonograficzne w marskości wątroby.....	34
Tabela 1.4. Cechy morfologiczne marskości wątroby możliwe do uwidocznienia w USG, TK, MR	36
Tabela 1.5. Panele diagnostyczne oparte na pośrednich surowiczych markerach włóknienia – czułość i swoistość.....	44
Tabela 1.6. Najważniejsze bezpośrednie markery fibrynogenezy i fibrylizy.....	46
Tabela 1.7. Testy oddechowe stosowane w hepatologii	47
Tabela 3.1. Charakterystyka grupy badanej pod względem wieku i płci	52
Tabela 3.2. Charakterystyka grupy badanej USG pod względem etiologii zapalenia wątroby	53
Tabela 3.3. Charakterystyka grupy kontrolnej USG pod względem wieku i płci.....	53
Tabela 3.4. Charakterystyka grupy badanej MR pod względem wieku i płci.....	54
Tabela 3.5. Charakterystyka grupy badanej MR pod względem etiologii zapalenia wątroby .	54
Tabela 3.6. Charakterystyka grupy kontrolnej MR pod względem wieku i płci	54
Tabela 4.1. Porównanie rozkładu płci pomiędzy grupą badaną USG a grupą kontrolną.....	59
Tabela 4.2. Charakterystyka grupy badanej pod względem stopnia włóknienia określonego w biopsji	59
Tabela 4.3. Porównanie grupy badanej i kontrolnej USG pod względem średnich wartości parametrów: SWV, PLT, najdłuższego wymiaru śledziony, wskaźnika płytki/śledziona, ALT	60
Tabela 4.4. Charakterystyka rozkładu płci w grupach badanej (B) i kontrolnej (K)	71
Tabela 4.5. Charakterystyka grupy badanej pod względem stopnia włóknienia określonego w biopsji	71
Tabela 4.6. Porównanie grupy badanej (B MRI) i kontrolnej (K MRI) MR pod względem średniej wartości współczynnika ADC, wskaźnika płytki/śledziona, najdłuższego wymiaru śledziony oraz ilości płytek (PLT)	72
Tabela 4.7. Punkty odcięcia	74
Tabela 4.8. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru ADC w zależności od wyniku odcięcia dla poszczególnych podgrup włóknienia	76
Tabela 4.9. Porównanie skuteczności percepcji wnioskowania o różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia w obrazowaniu MR zależnym od dyfuzji i elastografii USG metodą ARFI	81

Spis wykresów

Wykres 4.1. Różnicowanie osób zdrowych od osób z włóknieniem na podstawie pomiaru wartości SWV.....	61
Wykres 4.2. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru SWV dla poszczególnych podgrup włóknienia.	62
Wykres 4.3. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC wskaźnika płytki/śledziona dla poszczególnych podgrup włóknienia.	64
Wykres 4.4. Porównanie wartości SWV w zależności od stopnia włóknienia (F) określonego w biopsji	65
Wykres 4.5. Różnice w wieku chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji w grupie badanej	66
Wykres 4.6. Różnica w ilości płytek u chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji w grupie badanej.....	66
Wykres 4.7. Różnice wskaźnika płytki/śledziona u chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji w grupie badanej	67
Wykres 4.8. Analiza korelacji wieku chorych w grupie badanej z wartościami SWV	68
Wykres 4.9. Analiza korelacji wartości SWV w grupie badanej z wartością ALT	68
Wykres 4.10. Analiza korelacji wieku z wartością SWV w grupie kontrolnej	69
Wykres 4.11. Różnice w wartości SWV w zależności od płci w grupie kontrolnej.....	70
Wykres 4.12. Różnice wieku z zależności od płci w grupie kontrolnej	70
Wykres 4.13. Średnia wartość współczynnika ADC zależnie od wartości parametru b w grupie badanej i kontrolnej MR.....	72
Wykres 4.14. Średnia wartość współczynnika ADC w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną MR dla parametru b = 0-500	73
Wykres 4.15. Wartość współczynnika ADC punktu odcięcia zależnie od wartości parametru b w grupie badanej MR	74
Wykres 4.16. Różnicowanie F1 + F2 vs F3 + F4 w zależności od wartości ADC dla różnych b .	77
Wykres 4.17. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC o przydatności wskaźnika płytki/śledziona w różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia.	78
Wykres 4.18. Porównanie wartości wskaźnika płytki/śledziona pomiędzy poszczególnymi podgrupami F	79

Skróty używane w tekście

ADC (<i>apparent diffusion coefficient</i>) – współczynnik dyfuzji
AIUM (<i>American Institute of Ultrasound in Medicine</i>) – Amerykański Instytut Ultradźwięków w Medycynie
ALP – fosfataza zasadowa
ALT – aminotransferaza alaninowa
APRI (<i>AST to Platelet Ratio Index</i>) – test oparty na badaniach laboratoryjnych opisujący włóknienie wątroby
ARFI (<i>acoustic radiation force impulse</i>) – elastograficzna ocena twardości tkanki za pomocą ultradźwięków
AST – aminotransferaza asparaginianowa
AUC (<i>area under the curve</i>) – pole powierzchni pod krzywą
BMI (<i>body mass index</i>) – wskaźnik masy ciała
CD (<i>color doppler</i>) – kolorowy doppler
CEUS (<i>contrast-enhanced ultrasound imaging</i>) – badanie ultrasonograficzne po dożylnym podaniu środka kontrastującego
ChE – cholinesteraza
ICAM-1 (<i>intracellular adhesion molecule</i>) – cząsteczki adhezyjne
IVIM-DWI (<i>intravoxel incoherent motion</i>)-DWI – model oceny dyfuzji w obrazowaniu od niej zależnym
DWI (<i>diffusion weighted imaging</i>) – obrazowanie zależne od dyfuzji
ECM (<i>extracellular matrix</i>) – macierz pozakomórkowa
FDP – fluorodeoksyglukoza
FFE (<i>fast field echo</i>) – sekwencja gradientowa T1-zależna w MRI
FIB-4 index – test oparty na badaniach laboratoryjnych opisujący włóknienie wątroby
FLASH (<i>fast low – angle shot</i>) – sekwencja gradientowa T1-zależna w MRI
FNH (<i>focal nodular hyperplasia</i>) – ogniskowy przerost guzkowy
FSE / TSE (<i>fast spin echo / turbo spin echo</i>) – szybkie sekwencje spinowe
Gd-BOPTA – gadobenat dimegluminy
GD-EOB-DTPA – kwas gadoksetowy
GGTP – gamma-glutamylotranspeptydaza
GRASS (<i>gradient-recalled acquisition in steady state</i>) – sekwencja gradientowa T1-zależna w MRI
HA – kwas hialuronowy
HASTE (<i>half Fourier single-shot turbo spin-echo</i>) – sekwencja T2-zależna w MRI
HBV (<i>hepatitis B virus</i>) – wirus zapalenia wątroby typu B
HCC (<i>hepatocellular carcinoma</i>) – rak wątrobowokomórkowy
HCV (<i>hepatitis C virus</i>) – wirus zapalenia wątroby typu C
HDV (<i>hepatitis D virus</i>) – wirus zapalenia wątroby typu D
IGF-1 (<i>insulin-like growth factor 1</i>) – insulinopodobny czynnik wzrostu 1

LDH – dehydrogenaza mleczanowa
MELD (<i>model for end-stage liver disease</i>) – model matematyczny opisujący ryzyko zgonu chorych z marskością wątroby na podstawie oznaczeń laboratoryjnych
METAVIR – skala oceny histopatologicznej włóknienia stosowana w wirusowych zapaleniach wątroby
MMP-3 – metaloproteinaza macierzy typu 3
MMP-9 – metaloproteinaza macierzy typu 9
MR (<i>magnetic resonance</i>) – rezonans magnetyczny
MRE (<i>magnetic resonance elastography</i>) – elastografia rezonansu magnetycznego
MRI (<i>magnetic resonance imaging</i>) – obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego
MRS (<i>magnetic resonance spectroscopy</i>) – spektroskopia rezonansu magnetycznego
MT1-MMP 1 lub 2 – metaloproteinaza błonowa macierzy zewnątrzkomórkowej typu 1 lub 2
NAFLD (<i>nonalcoholic fatty liver disease</i>) – niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby
NK (<i>natural killers</i>) – subpopulacja limfocytów: naturalni zabójcy
NMR (<i>nuclear magnetic resonance</i>) – jądrowy rezonans magnetyczny
PBC (<i>primary biliary cirrhosis</i>) – pierwotna marskość żółciowa wątroby
PD (<i>pulsed Doppler</i>) – Doppler pulsacyjny
PDGF (<i>platelet-derived growth factor</i>) – płytkowy czynnik wzrostu
PSC (<i>primary sclerosing cholangitis</i>) – pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych
PET/CT – pozytonowa emisyjna tomografia komputerowa
PGA index – nazwa panelu diagnostycznego
PICP – N-końcowy peptyd prokolagenu typu I
PIIINP – N-końcowy peptyd prokolagenu typu III
PLT – liczba płytek krwi
RES (<i>reticulo-endothelial system</i>) – układ siateczkowo-śródbłonkowy
ROC/ROC curve (<i>receiver operating characteristic curve</i>) – krzywa charakterystyki skuteczności percepcji/krzywa ROC
ROI (<i>region of interest</i>) – obszar zainteresowania
SBP (<i>spontaneous bacterial peritonitis</i>) – samoistne bakteryjne zapalenie otrzewnej
SD (<i>standard deviation</i>) – odchylenie standardowe
SE (<i>spin echo</i>) – sekwencja echa spinowego
SHASTA – nazwa panelu diagnostycznego
SNR (<i>signal to noise ratio</i>) – stosunek sygnału do szumu
SPARC (<i>secreted acidic cysteine rich glycoprotein</i>) – glikoproteina bogata w cysteinę
SPECT (<i>single photon emission computed tomography</i>) – tomografia emisyjna pojedynczych fotonów
SPIO (<i>superparamagnetic iron oxide</i>) – środek kontrastujący stosowany w rezonansie magnetycznym, superparamagnetyczny tlenek żelaza
SWE (<i>real-time shear elastography</i>) – elastografia dynamiczna fali poprzecznej
SWV (<i>shear wave velocity</i>) – prędkość fali odkształcenia

TE (<i>transient elastography</i>) – elastografia ultrasonograficzna
TGF-alfa (<i>transforming growth factor alfa</i>) – transformujący czynnik wzrostu alfa
TGF-beta (<i>transforming growth factor beta</i>) – transformujący czynnik wzrostu beta
TIMP-1 i 2 – tkankowe inhibitory metaloproteinaz 1 i 2
TIPSS (<i>transjugular intrahepatic portosystemic shunt</i>) – przeszcyjna wewnątrzwątrobowa przetoka wrotno-systemowa
TK – tomografia komputerowa
TNF-alfa (<i>tumor necrosis factor alpha</i>) – czynnik martwicy nowotworów alfa
TSE (<i>dual-echo-turbo spin echo</i>) – sekwencja T2-zależna w MRI
T1-zależny – obraz zależny od czasu relaksacji T1
T2-zależny – obraz zależny od czasu relaksacji T2
USG – ultrasonografia
VEGF (<i>endothelial growth factor</i>) – czynnik wzrostu śródbłónka
VIBE (<i>volumetric interpolated breath- hold examination</i>) – sekwencja gradientowa T1-zależna w MRI wykonywana na wstrzymanym oddechu
WZW – wirusowe zapalenie wątroby
YKL-40 (<i>Chitinase-3-like protein 1</i>) – glikoproteina

1 Wstęp

Przewlekłe choroby wątroby, czyli wszystkie patologie wątroby trwające dłużej niż pół roku, stanowią z racji swojej częstości występowania istotny problem dzisiejszej medycyny. Najczęstszą przewlekłą patologią wątroby jest jej przebudowa marska, do której prowadzą prawie wszystkie długotrwałe choroby tego narządu. Szczególnie istotnymi zjawiskami zwiększającymi zachorowalność na marskość wątroby są epidemia wirusowego zapalenia wątroby typu B i C oraz dotycząca społeczeństw uprzemysłowionych plaga otyłości powodująca niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby [1, 2]. Również spożycie alkoholu w ilości ponad dwie jednostki u kobiet i ponad trzy jednostki u mężczyzn na dobę uznaje się za istotny czynnik będący przyczyną włóknienia i marskości wątroby [3]. Podstępny przebieg, nieskuteczna profilaktyka, trudności w rozpoznaniu i brak efektywnego leczenia choroby są przyczyną wzrostu liczby zgonów spowodowanych przewlekłymi chorobami wątroby [4].

Włóknienie wątroby występuje w przebiegu wielu różnorodnych etiologicznie jednostek chorobowych, a jego istota ciągle nie jest do końca poznana. Zarówno mechanizmy inicjujące włóknienie, warunkujące jego przebieg, jak i metody diagnostyki oraz leczenia są przedmiotem interdyscyplinarnych badań ostatnich lat. Rozpoznanie, ocena stopnia zaawansowania, a także monitorowanie wyników terapii nadal przysparzają wielu problemów. Poszukiwane są czułe, specyficzne i nieinwazyjne metody diagnostyki, które pozwolą na jak najszybsze wdrożenie leczenia w fazie, w której proces może być odwracalny. Duże znaczenie ma także monitorowanie postępu choroby, prognozowanie i wykrywanie ewentualnych powikłań, których końcowym etapem są przebudowa marska i niewydolność wątroby. W badaniach stwierdzono, że u chorych z niealkoholową stłuszczeniową chorobą wątroby (NAFLD, *nonalcoholic fatty liver disease*) wystąpienie włóknienia wątroby w istotny sposób zwiększa ryzyko zgonu z powodu chorób układu sercowonaczyniowego [5]. Ponadto ocena włóknienia wątroby jest istotnym elementem kwalifikacji do terapii przeciwwirusowej u chorych z wirusowym zapaleniem wątroby (WZW) typu C [6].

Niekwestionowanym osiągnięciem współczesnej medycyny jest przeszczepianie wątroby, niestety nie jest to leczenie przyczynowe. Obecnie nie są dostępne skuteczne metody przyczynowej terapii włóknienia i zapobiegania marskości. Chorzy w końcowej fazie choroby są narażeni na ciężkie powikłania, takie jak: krwawienia z żyłaków przełyku, wodobrzusze, zespół wątrobowo-nerkowy czy rak wątrobowokomórkowy, które drastycznie pogarszają długoterminowe rokowanie.

W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój technik obrazowych, nie tylko morfologicznie opisujących stan narządu, ale także dostarczających dodatkowych informacji służących poszerzeniu całościowej oceny klinicznej procesu chorobowego. Do tych technik należą między innymi: obrazowanie zależne od dyfuzji (DWI, *diffusion weighted imaging*) w tomografii rezonansu magnetycznego oraz technika elastograficznej oceny

twardości tkanki wątrobowej za pomocą ultradźwięków (ARFI, *acoustic radiation force impulse*). Są to stosunkowo nowe techniki, należące do odrębnych dziedzin radiologii, które wciąż jeszcze nie zostały dostatecznie przebadane pod kątem przydatności w diagnostyce włóknienia. Ich lepsze poznanie może się przyczynić do poprawy efektywności wykrywania tej choroby, leczenia i monitorowania jej przebiegu.

1.1 Definicja włóknienia wątroby

Włóknienie to proces chorobowy będący odpowiedzią na przewlekłe uszkodzenie wątroby wywołane przez różne czynniki etiologiczne działające na tkankę wątrobową przez okres od kilku miesięcy do kilku lat [7]. Najczęściej są to zakażenia wirusami HBV i HCV, alkohol, choroby metaboliczne i autoimmunologiczne. Istotą włóknienia jest nadmierne gromadzenie się macierzy łącznotkankowej oraz niewydolność procesów odpowiedzialnych za jej degradację, czego skutkiem jest ztwardnienie i bliznowacenie tkanki wątrobowej. Włóknienie wątroby może być odwracalne we wczesnych stadiach, zaawansowana postać prowadzi do marskości, której konsekwencją jest przebudowa strukturalna i naczyniowa narządu [8].

1.2 Etiologia włóknienia wątroby

Czynniki etiologiczne włóknienia wątroby możemy podzielić na:

1. Wirusowe,
2. Autoimmunologiczne,
3. Metaboliczne,
4. Toksyczne,
5. Naczyniowe,
6. Związane z zaburzeniami odpływu żółci z wątroby,
7. Idiopatyczne.

Do rozwoju włóknienia najczęściej prowadzą wirusy HCV, HBV i HDV, które wywołują przewlekłe zapalenie wątroby typu C, B i D. Wirus HBV jest wirusem DNA, a HCV i HDV – wirusami RNA. Zakażenie HDV najczęściej ma charakter koinfekcji z HBV.

Wśród chorób wywołanych przez czynniki autoimmunologiczne można wymienić: autoimmunologiczne zapalenie wątroby, autoimmunologiczne zapalenie dróg żółciowych, pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych, pierwotną marskość żółciową. Natomiast do chorób wywołanych przez czynniki metaboliczne należą: niealkoholowa choroba stłuszczeniowa wątroby (zespół metaboliczny), wrodzona hemochromatoza, choroba Wilsona, niedobór alfa-1-antytrypsyny i porfiria. Najczęstszymi czynnikami toksycznymi prowadzącymi do włóknienia wątroby są alkohol oraz takie leki, jak: metotreksat, tamoksyfen, amiodaron, azatiopryna, witamina A, a także toksyny przemysłowe. Przyczynami naczyniowymi mogą być: prawokomorowa zastoinowa niewydolność serca, zespół Budda-

Chiariego oraz choroba wenookluzyjna (zespół niedrożności sinusoidów). Łagodne i nowotworowe zwężenia dróg żółciowych są odpowiedzialne za zaburzenia odpływu żółci z wątroby [9].

Szybkość włóknienia jest różna u poszczególnych chorych i zależy między innymi od czynników etiologicznych. W zapaleniu wątroby wywołanym przez wirusy HCV i HBV włóknienie postępuje dość wolno, szybszą dynamikę obserwuje się natomiast w przebiegu alkoholowej choroby wątroby. Wszystkie czynniki uszkadzające wątrobę mogą doprowadzić do marskości, czyli nieodwracalnej fazy choroby, przy czym współistnienie kilku z nich, na przykład zakażenia wirusem HCV i nadużywania alkoholu czy zakażenia dwoma wirusami na przykład HCV i HIV, może przyspieszyć tempo procesu. W Polsce najczęstszymi przyczynami włóknienia wątroby są alkohol oraz zakażenia wirusami HBV i HCV [10].

W zależności od rodzaju czynników etiologicznych zarówno przypadki włóknienia, jak i marskości wątroby można podzielić na:

1. Pozapalne: będące konsekwencją infekcji wirusowych, najczęściej w wyniku zakażenia HBV i HCV oraz zapaleń autoimmunologicznych; proces włóknienia dotyczy tutaj przestrzeni wrotnych, gdzie następuje rozplem tkanki łącznej wzdłuż śródzrązkowych odgałęzień żyły wrotnej.
2. Żółciowe: spowodowane przewlekłym zastojem żółci na przykład w przebiegu stwardniającego zapalenia dróg żółciowych czy jatrogennych uszkodzeń zewnątrz-wątrobowych dróg żółciowych; charakterystyczne w tych przypadkach jest włóknienie przestrzeni wrotnych, tworzenie łącznotkankowych przegród wrotno-wrotnych z ominięciem centralnej części płacika wątrobowego.
3. Sercowe: spowodowane przez choroby utrudniające odpływ krwi żyłnej z wątroby; istotą procesu włóknienia w tej grupie jest martwica krwotoczna centralnych stref płacików wątrobowych z ominięciem przestrzeni wrotnych i okołowrotnych.
4. Alkoholowe: początkowo dochodzi do uszkodzeń w trzeciej strefie zrazika wątrobowego, a w przypadkach dalszego nadużywania etanolu uszkodzeniu ulega cały zrazik wątrobowy. Obserwuje się ciała Mallorego-Dencka i charakterystyczne przegrody środkowo-wrotne.
5. Na podłożu niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby: charakterystyczne jest wysycenie kolagenem sinusoidów środkowej części płacików [9].

1.3 Czynniki ryzyka

Do czynników ryzyka rozwoju włóknienia zalicza się: wiek chorego, u którego stwierdzono obecność włóknienia w preparacie pobranym podczas pierwszorazowej biopsji, natomiast w przypadku etiologii wirusowej: wiek pacjenta, w którym doszło do zakażenia [11]. Według niektórych autorów także płeć męska, otyłość, cukrzyca, zawartość żelaza w tkance wątrobowej oraz stopień aktywności martwiczo-zapalnej stanowią czynniki ryzyka [12]. Z wiekiem chorego następuje przyspieszenie progresji włóknienia, czego pośrednim dowo-

dem jest obserwowane u pacjentów po transplantacji wątroby rosnące tempo tego procesu wraz z wiekiem dawcy narządu [13].

1.4 Epidemiologia

Włóknienie wątroby obserwuje się w wielu jednostkach chorobowych jako reakcję na przewlekłe uszkodzenie tkanki wątrobowej. Dostępne są dane dotyczące marskości wątroby i śmiertelności w jej przebiegu, które odzwierciedlają liczbę chorych w nieodwracalnej i terminalnej fazie choroby. W Polsce w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat śmiertelność z powodu marskości wątroby stale rosła. Wśród mężczyzn zwiększyła się z 7,3 na 100 tysięcy mieszkańców w latach 60. XX wieku, poprzez 12,7 w latach 70., 14,9 w latach 80., 19,6 w latach 90. do 22,7 w 2000-2002. U kobiet śmiertelność wzrosła od 3,6 na 100 tysięcy mieszkańców w latach 60., poprzez 4,0 w latach 70., 4,5 w latach 80., 5,5 w latach 90. do 6,2 w 2000-2002. Warto zauważyć, że od lat 60. śmiertelność z powodu marskości wątroby wzrosła dwukrotnie wśród kobiet, a wśród mężczyzn trzykrotnie.

W Europie śmiertelność z powodu marskości wątroby w latach 2000-2002 wśród mężczyzn była najwyższa na Węgrzech i wynosiła 103,0 na 100 tysięcy mieszkańców, natomiast wśród kobiet najwyższą śmiertelność odnotowano w Mołdawii i wyniosła ona 74,9 na 100 tysięcy mieszkańców [14].

1.5 Patofizjologia

1.5.1 Budowa prawidłowej tkanki wątrobowej

Tkanka wątrobowa zbudowana jest z elementów komórkowych oraz macierzy pozakomórkowej. Osiemdziesiąt procent elementów komórkowych tkanki wątrobowej stanowią hepatocyty, pozostałą część nieparenchymalne komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego (RES, *reticulo-endothelial system*), w skład którego wchodzi komórki śródbłonka, makrofagi (komórki Browicza-Kupffera) oraz komórki gwiaździste (zwane także komórkami Ito, okołozatokowymi lub lipocytami).

Najmniejszą jednostką strukturalną wątroby jest płacik (zrazik) wątrobowy, który w przybliżeniu ma kształt pięcio- lub sześciokąta. W jego środkowej części przebiega żyła centralna. Pomiędzy płacikami znajdują się przestrzenie wrotne zawierające naczynia krwionośne i przewody żółciowe. Przestrzenie te stanowią szkielet łącznotkankowy wątroby, gdzie następuje pierwszy etap spływu chłonki z przestrzeni okołozatokowych (Dissego). Hepatocyty w płaciku układają się w beleczyki. W płaciku wątrobowym wyróżniamy 3 strefy: środkową (okołocentralną), pośrednią i obwodową (okołowrotną).

W normalnych warunkach w przestrzeniach oddzielających hepatocyty od naczyń zatokowych (przestrzeniach Dissego) znajduje się niewielka ilość (0,6% masy narządu) macierzy pozakomórkowej (ECM, *extracellular matrix*) [15, 16]. Macierz pozakomórkową

budują: kolagen, glikoproteiny, glikozaminoglikany, proteoglikany, białka macierzy zewnątrzkomórkowej oraz czynniki wzrostu. W prawidłowej wątrobie, głównie w torebce oraz w okolicy dużych naczyń, występuje kolagen typu I, III i V oraz XI (zwane tworzącymi włókna). W mniejszych ilościach spotykamy także kolagen typu IV, VI i XIV (zwany unduliną) oraz kolagen XVIII. Glikoproteiny oraz białka zawierają depozyty fibronektyny, lamininy, tenascyny, SPARC oraz czynnik von Willebranda. Proteoglikany zawierają głównie siarczan heparanu, a także niewielkie ilości dekorinu, biglikanów, fibromoduliny, agrekanu, glicykanu, ksyndekanu i lumikanu [12, 17].

1.5.2 Budowa zmienionej w przebiegu włóknienia tkanki wątrobowej i procesy w niej zachodzące

W przebiegu włóknienia w wątrobie rośnie ilość oraz gęstość macierzy pozakomórkowej. Zawartość kolagenu typu I, III i IV oraz VI wzrasta od 3 do 10 razy, podobnie glikoprotein oraz glikozamonoglikanów. Siarczan chondroityny i dermatanu zastępują siarczan heparanu [17]. Zmiany te powodują wytwarzanie i odkładanie elementów łącznotkankowych odpowiedzialnych za powstanie blizny. Hepatocyty tracą mikrokosmki, zanikają kanały śródbłonkowe, w których odbywa się transport substancji z sinusoidów do hepatocytów. Dochodzi także do aktywacji angiogenezy, w której uczestniczą czynniki wzrostu, takie jak: PDGF (*platelet-derived growth factor*), VEGF (*endothelial growth factor*) oraz inne mediatory, jak: tlenek azotu i tlenek węgla. Wzrasta opór naczyniowy, obserwuje się uaktywnienie receptorów błon komórkowych, zwłaszcza integryn, które wpływają na pobudzenie i migrację komórek gwiaździstych. Uwalniane są czynniki wzrostu z przestrzeni pozakomórkowej. Wzmożona sztywność tkanki, którą możemy ocenić w badaniach obrazowych, jest odzwierciedleniem wzrostu gęstości i ilości ECM [18, 19]. Na jej biologiczną aktywność wpływają integryny, białka adhezyjne, receptory macierzy komórkowej oraz cytokiny. Najlepiej znaną cytokiną jest TGF-beta-1: która stymuluje transkrypcję kolagenu w komórkach gwiaździstych.

Najważniejszą z komórek uczestniczących w procesie włóknienia jest komórka gwiaździsta zawierająca retinoidy (metabolity witaminy A). Jej aktywacja w miejscu największego uszkodzenia tkanki wątrobowej powoduje jej przekształcenie w proliferujące, zdolnego do wytwarzania elementów macierzy łącznotkankowej miofibroblasta. Komórki te uwalniają chemokiny oraz inne substancje zaburzające prezentację istotnych receptorów zapalnych, takich jak cząstki ICAM-1 (ryc. 1.1). Aktywacja komórek gwiaździstych prowadzi do wytwarzania, odkładania się macierzy łącznotkankowej oraz powstania blizny [20, 21].

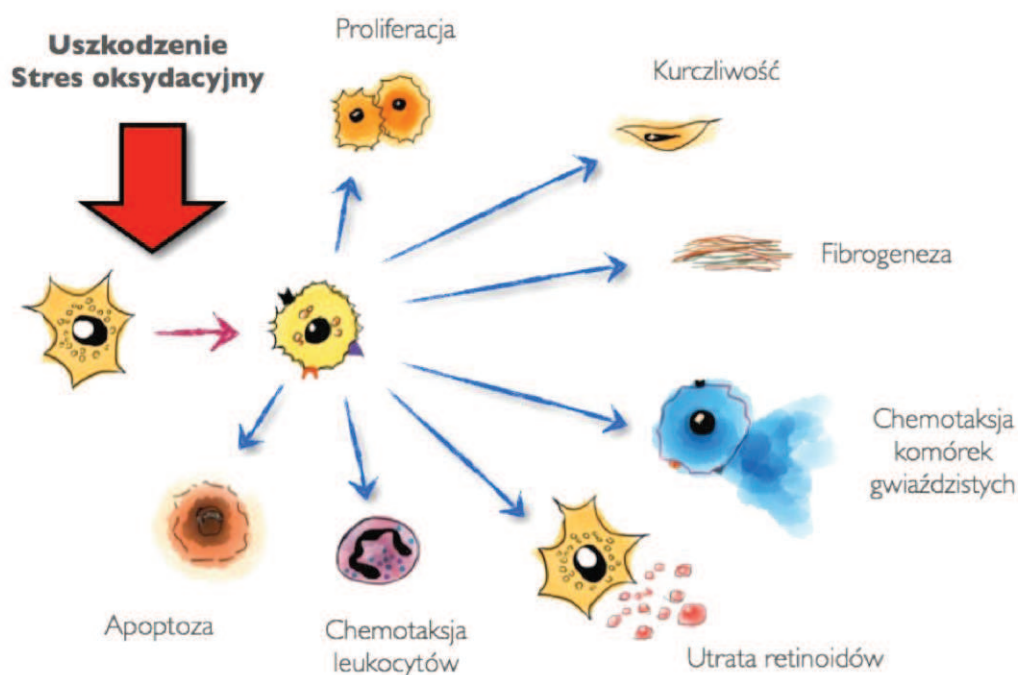
Ważne znaczenie mają także limfocyty CD8+ oraz komórki śródbłonka sinusoidów, których obecność stanowi mikrośrodowisko dla aktywacji komórek gwiaździstych. Komórki biorące udział w fibrogeniezie wywodzą się także z fibroblastów przestrzeni wrotnej, fibrocytów, komórek szpiku kostnego i powstają w wyniku przekształcenia nabłonka mezenchymalnego [22, 23].

W warunkach fizjologicznych istnieje równowaga pomiędzy produkcją a degradacją macierzy pozakomórkowej. Włóknienie jest wynikiem zwiększonego wytwarzania tkanki łącznej, ale także niewydolności mechanizmów odpowiedzialnych za jej degradację. W procesie rozpadu prawidłowej macierzy biorą udział metaloproteinazy należące do grupy wapnionależnych enzymów zdolnych do rozkładu substancji kolagenowych i niekolagenowych. Najważniejsze z nich to: metaloproteinaza macierzy typu 2 (gelatynaza) i typu 9 (gelatynaza 9), rozkładające kolagen typu IV oraz tkankowy inhibitor MT1-MMP 1 lub 2, uaktywniające MMP2. Znaczenie ma także stromelyzyna-1 rozkładająca proteoglikany i glikoproteiny oraz uaktywniająca kolagenazy [18, 23].

Włóknienie jest procesem wieloetapowym, składa się z trzech podstawowych faz: przedzapalnej (inicjacji zmian), zapalnej (utrwalenia zmian) i pozapalnej. W pierwszej z nich dochodzi do pobudzenia komórek gwiaździstych głównie na drodze parakrynej poprzez martwicę i apoptozę hepatocytów. W tym procesie bierze udział insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1, *insulin-like growth factor 1*).

W drugiej z faz oprócz komórek gwiaździstych uczestniczą także leukocyty, płytki krwi, komórki śródbłonna sinusoidów, komórki Browicza-Kupffera. Te ostatnie oraz neutrofile wytwarzają związki wolnorodnikowe, które dodatkowo stymulują komórki gwiaździste, doprowadzając do ich przekształcenia w miofibroblasty. Wówczas następuje gromadzenie się tkanki łącznej w przestrzeniach Dissego. Naczynia zatokowe nabywają niepełne błony podstawne, a sinusoidy strukturalne upodabniają się do naczyń kapilarnych. W fazie pozapalnej miofibroblasty same wytwarzają cytokiny wywołujące efekty auto- i parakryne. Uszkodzenie komórek śródbłonna stymuluje produkcję fibronektyny odpowiedzialnej za przekształcenie TGF-beta w formę aktywną, która jest jedną z najsilniejszych profibrotycznych cytokin. Na tym etapie proces włóknienia staje się nieodwracalny. Za aktywację genów powodujących fibrogenezę odpowiadają: transformujący czynnik wzrostu (TGF-beta), płytkowe czynniki wzrostu (PDGF- 1,2,3 i 4), endotelina 1, niektóre adipokiny, na przykład leptyna. W marskości przebudowie i nadmiernemu gromadzeniu macierzy łącznotkankowej towarzyszy zmiana architektoniki wątroby dotycząca organizacji komórkowej i naczyniowej narządu. Rozpoznanie opiera się na badaniu histopatologicznym, w którym widoczna jest obecność guzków regeneracyjnych zastępujących prawidłowy bełczkowy układ hepatocytów oraz przegród łącznotkankowych [24].

Rycina 1.1. Zmiany fenotypowe po aktywacji komórki gwiaździstej; zmodyfikowano za Scott L Friedman [21].



1.6 Obraz kliniczny

Nie ma typowych objawów klinicznych charakterystycznych i swoistych dla procesu włóknienia wątroby, co utrudnia i często opóźnia rozpoznanie. U większości chorych występują jednakowe objawy początkowe: osłabienie, problemy z koncentracją i objawy dyspeptyczne. Symptomatologia w stadiach zaawansowanych wiąże się ściśle z etiologią. W chorobie alkoholowej stwierdza się: utratę łaknienia, pajączki naczyniowe, rumień dłoni, obrzęk ślinianek, feminizację i osłabienie libido oraz objawy bezpośrednio wynikające z przewlekłego alkoholizmu, jak: neuropatię obwodową, otępienie oraz przykurcze Dupuytren'a. Symptomy te są wyrazem nadciśnienia wrotnego, niedożywienia i zaburzonej funkcji wątroby [25].

W chorobach zapalnych – zakażeniach wirusami HCV, HBV i HDV początkowo występują objawy grypopodobne, a następnie pojawiają się osłabienie, obniżone łaknienie, nudności, wzdęcia, bóle w nadbrzuszu i prawym podżebrzu. Kluczowym objawem jest żółtaczka, czasem obserwuje się świąd. W badaniu przedmiotowym stwierdza się powiększenie wątroby, niekiedy także śledziony.

W autoimmunologicznym zapaleniu wątroby objawy są podobne do tych, które występują w zapaleniach wirusowych. U kobiet mogą się także pojawić zaburzenia miesiączkowania.

W niealkoholowej chorobie tłuszczowej wątroby u większości pacjentów nie stwierdza się żadnych dolegliwości, u części obserwuje się niecharakterystyczne uczucie dyskomfortu w prawym podżebrzu, zmęczenie i osłabienie, czasem zmiany skórne.

Dla uszkodzeń polekowych wątroby charakterystyczne są zmiany skórne pod postacią zwiewnych wysypek. Mogą wystąpić gorączka, bóle i zapalenia ścięgien, powiększenie węzłów chłonnych, eozynofilia, małopłytkowość lub leukopenia.

W chorobach związanych z zaburzeniami odpływu żółci, na przykład w stwardniającym zapaleniu dróg żółciowych, w obrazie klinicznym dominują osłabienie, świąd, bóle brzucha i żółtaczka. Może się pojawiać nawracająca gorączka, często z dreszczami [26].

Marskość jest końcowym stadium przewlekłych chorób wątroby o różnej etiologii. Do typowych jej objawów należą: żółtaczka (zażółcenie skóry powłok, zwykle widoczne, gdy stężenie bilirubiny w surowicy wynosi powyżej 1,8-2 mg/dl), wodobrzusze, obrzęki obwodowe, wybroczyny (wynik niedoboru czynników krzepnięcia i płytek krwi) oraz pajęczki naczyniowe (poszerzone tętniczki skórne o różnym stopniu nasilenia, które są wyrazem nadciśnienia wrotnego), rumień dłoni (zaczerwienienie kłębu i kłębika—nie jest swoistym objawem, ale występuje u 75% chorych z marskością wątroby), świąd skóry i ślady po zadrapaniach, zmiany owłosienia (ubytek owłosienia w okolicy łonowej, pachowej) i w obrębie płytki paznokciowej (poszerzenie obłączka, kształt szkiełka zegarkowego), zaniki mięśni, ginekomastia, przykurcz Dupuytrena (zwykle 4. i 5. palca dłoni), obrzęk ślinianek, poszerzenie naczyń żylnych powłok brzusznych w wyniku rekanalizacji żyły pępkowej (głowa Meduzy), powiększenie wątroby (marska wątroba może być także prawidłowej wielkości lub atroficzna) oraz śledziony. Ponadto stwierdza się hipogonadyzm: u mężczyzn zanik jąder, u kobiet zaburzenia miesiączkowania oraz spadek libido [27].

1.7 Leczenie

Mimo coraz lepszego poznania przyczyn i mechanizmów włóknienia wątroby nadal nie istnieją swoiste metody jego leczenia. Postępowanie terapeutyczne polega na leczeniu objawowym oraz eliminacji czynników uszkadzających tkankę wątrobową i koncentruje się przede wszystkim na hamowaniu procesów zapalnych w tkance, a nie na tłumieniu samego włóknienia.

W przyszłości terapia prawdopodobnie będzie ukierunkowana na stabilizację komórek gwiaździstych i mediatorów fibrogeny jako najważniejszych czynników wpływających na osłabienie włóknienia. Aktualnie założeniem postępowania antyfibrotycznego jest eliminacja czynników uszkadzających tkankę wątrobową poprzez hamowanie procesów zapalnych tłumiących aktywację komórek gwiaździstych, sprzyjających degeneracji macierzy pozakomórkowej i apoptozie komórek gwiaździstych. Wykluczenie powyższych czynników jest najbardziej efektywnym sposobem zapobiegania włóknieniu. Przykładami takiego postępowania mogą być: usunięcie nadmiaru żelaza na drodze upustów krwi w hemochromatozie, farmakologiczne zmniejszanie wchłaniania miedzi w chorobie Wilsona, abstynencja w alkoholowej chorobie wątroby oraz eliminacja wirusów i terapia przeciw-wirusowa w wirusowym zapaleniu wątroby. U chorych w wymienionych sytuacjach klinicznych obserwuje się histologiczną, laboratoryjną i kliniczną poprawę po usunięciu czynnika sprawczego.

Innym mechanizmem wykorzystywanym w leczeniu włóknienia wątroby jest zahamowanie reakcji zapalnej. Zmniejszenie aktywacji immunologicznej wątroby można osiągnąć między innymi dzięki terapii glikokortykosteroidami u chorych z autoimmunologicznym zapaleniem wątroby, co pozwala uzyskać okresy długotrwałej remisji choroby. Glikokortykosteroidy nie są jedynymi substancjami o działaniu immunosupresyjnym. Dane dostępne w literaturze [28] wskazują na przeciwzapalny wpływ kofeiny, prawdopodobnie na drodze blokowania działania adenozyiny [29]. Spośród innych substancji hamujących włóknienie wymienia się kwas ursodeoksycholowy (podawany chorym z pierwotną marskością żółciową) oraz kolchicynę. Substancja ta bywa stosowana w leczeniu pierwotnej marskości wątroby mimo braku bezpośredniego hamowania procesu włóknienia, gdyż powoduje poprawę wyników badań laboratoryjnych. Nie wpływa na czas przeżycia ani na opóźnienie przeszczepu wątroby. Podejmowano również próby terapii innymi lekami, takimi jak: Malotilat [30], antagoniści TNF-alfa (Etanercept) [31] i interleukina 10 [32], jednak w badaniach klinicznych III fazy nie wykazano dostatecznej skuteczności ani bezpieczeństwa ich stosowania we włóknieniu.

Immunomodulacja, mająca na celu regulację działania subpopulacji limfocytów, zwanych komórkami NK (*natural killers*), wykazującymi zdolność do eliminacji komórek gwiaździstych z wątroby, jest kolejnym mechanizmem, który próbuje się wykorzystać w leczeniu włóknienia wątroby. Substancje, które posiadają tę zdolność, są obecnie intensywnie badane. Wątrobowy czynnik wzrostu wykazuje silne działanie przeciwwłóknieniowe, co zostało udowodnione w badaniach na modelach zwierzęcych – opiera się na zahamowaniu TGF-beta pobudzającego produkcję kolagenu, zatrzymaniu wzrostu i apoptozie komórek gwiaździstych [33]. Badania inhibitorów kaspaz – enzymatycznych białek biorących udział w procesach sygnałowych towarzyszących apoptozie, mających zapobiegać obumieraniu hepatocytów, zostały wstrzymane. Powodem były obawy dotyczące zwiększenia ryzyka wystąpienia nowotworów na skutek braku eliminacji komórek z mutacjami DNA.

Zahamowanie aktywacji komórek gwiaździstych wątroby, które biorą udział w procesie włóknienia, wydaje się atrakcyjną alternatywą terapeutyczną. Przeciwwłóknieniowy wpływ interferonu nie jest zaskoczeniem ze względu na jego działanie hamujące transkrypcję genów kodujących kolagen. Skuteczność interferonu została udowodniona w pracach oceniających jego zastosowanie w leczeniu WZW typu C. Niestety, działania tego nie potwierdzono w dużym randomizowanym badaniu [34]. Chociaż interferon gamma powoduje zmniejszenie syntezy kolagenu i fibronektyny w hodowli tkankowej pobudzonych komórek gwiaździstych wątroby, próby kliniczne wykazały wynik ujemny [35]. Podobnie nie udowodniono skuteczności terapeutycznej cannabinoidów ani sylimaryny. Inhibitory enzymu konwertującego, antagoniści TGF-beta czy antagoniści receptora endoteliny wymagają dalszych badań i oceny ich skuteczności oraz bezpieczeństwa.

Podsumowując, w chwili obecnej najskuteczniejszą formą postępowania pozwalającą ograniczyć włóknienie wątroby jest eliminacja czynnika uszkodzającego. Na razie na dalszy plan schodzą specyficzne formy terapii. Pewnym wyjątkiem jest stosowanie steroi-

dów w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby i kwasu ursodeoksycholowego, który wszedł na stałe do leczenia pierwotnej marskości żółciowej.

1.8 Rokowanie

Rokowanie we włóknieniu wątroby zależy od etiologii, stopnia zaawansowania procesu, obecności powikłań i chorób współistniejących. Podstawowymi parametrami prognostycznymi są wydolność metaboliczna wątroby i istnienie powikłań nadciśnienia wrotnego. Wieloparametryczne badania próbują ocenić rokowanie pacjentów z marskością wątroby na podstawie danych klinicznych i laboratoryjnych. W tym celu opracowano dwa podstawowe modele: klasyfikację Childa-Turcotte'a-Pugha [36] oraz skalę MELD (*model for end-stage liver disease*) [37]. Pierwsza z nich szacuje zaawansowanie, ryzyko chirurgiczne i ogólną prognozę. Druga określa pilność transplantacji u chorych oczekujących na zabieg, korelując z 3- i 6-miesięcznym przeżyciem pacjentów z niewyrównaną marskością wątroby [38].

Skala Childa-Turcotte'a-Pugha proponuje podział pacjentów na trzy klasy na podstawie wskaźników klinicznych i laboratoryjnych (tab. 1.1), szacując ryzyko zgonu chorych poddanych zabiegom chirurgicznym w porównaniu z czasem przeżycia chorych nieoperowanych, gdzie prawdopodobieństwo przeżycia 1. roku w klasie A wynosi 100%, w klasie B 80%, a w klasie C 45% [39].

Tabela 1.1. Skala Childa-Trucotte'a-Pugha

Wskaźniki kliniczne i laboratoryjne	Punkty: 1	Punkty: 2	Punkty: 3
Bilirubina [mg/dl]	< 2	2-3	> 3
Albumina [g/dl]	> 3,5	2,8-3,5	< 2,8
Wodobrzusze	Brak	Śladowe/niestałe	Duże/lekooporne
Wskaźnik Quicka lub Czas protrombinowy [s] lub INR	> 50% < 4 < 1,7	40-50% 4-6 1,7-2,3	< 40% > 6 > 2,3
Encefalopatia	Brak	Stopień 1-2	Stopień 3-4
Suma punktów	5-6 klasa A 7-9 klasa B 10-15 klasa C		

Skala MELD uwzględnia u dorosłych trzy parametry: wartości bilirubiny, INR i kreatyniny. Jej podstawowym zastosowaniem jest prognozowanie ewentualnych powikłań pooperacyjnych i kwalifikacja pacjentów do przesyłnej wewnątrzwątrobowej przetoki wrotno-systemowej (TIPS, *transjugular intrahepatic portosystemic shunt*). Wynik powyżej 24 punktów dyskwalifikuje chorego z zabiegu TIPS, natomiast jest wskazaniem do prze-

szczepu wątroby. Wynik pomiędzy 15 a 24 wymaga konsultacji i wspólnej decyzji specjalistów dotyczącej ewentualnej terapii TIPS. Najlepsze rokowanie jest u chorych z wynikiem poniżej 14 punktów [40].

Na podstawie tej skali szacuje się także procent rocznego przeżycia chorych czekających na przeszczep oraz tych po transplantacji wątroby. Im niższy wynik, tym lepsze rokowanie. Na przykład MELD 10 wskazuje na 90-procentowe prawdopodobieństwo przeżycia wśród pacjentów oczekujących na przeszczep i 83-procentowe wśród osób po transplantacji w ciągu 1 roku [41].

1.9 Powikłania

Marskość wątroby jest ostatnim, nieodwracalnym stadium zaawansowania włóknienia. Jedyną znaną metodą postępowania w tej postaci choroby jest transplantacja narządu. We wcześniejszych etapach można uzyskać poprawę, a nawet odwrócić proces włóknienia. W momencie pojawienia się powikłań marskości wątroby mówimy o jej dekompenсации, co znacznie pogarsza rokowanie.

Krwawienie z żyłaków przełyku to ciężkie powikłanie, do którego może dojść w przebiegu marskości wątroby. Żyłaki przełyku to kolaterale łączące krążenie wrotne z systemowym. Zwykle występują w 1/3 dolnej części przełyku. Krwawienie z żyłaków pojawia się u 25-40% chorych z marskością. O wystąpieniu krwawienia decydują: lokalizacja żyłaków, wielkość i ich morfologia. Najważniejszymi trzema czynnikami ryzyka krwawienia są: średnica żyłaków powyżej 5 mm, pręgi i wiśniowe plamy na ich powierzchni oraz marskość wątroby w stopniu C wg skali Childa-Turcotte'a-Pugha.

Żyłaki żołądka występują rzadziej (średnio u 20% chorych z marskością).

Wodobrzusze to patologiczne gromadzenie płynu w przestrzeni wewnątrzotrzewnowej. Wiąże się z powstaniem nadciśnienia wrotnego (gdy wartość ciśnienia w układzie wrotnym przekracza 12 mm Hg) oraz nerkową retencją sodu i wody, która powoduje hiperwolemię układu naczyniowego. Chorzy bez nadciśnienia wrotnego nie wykazują cech wodobrzusza. Zwykle pojawia się ono w ciągu 10 lat od momentu rozpoznania skompensowanej marskości. Powstanie wodobrzusza jest wynikiem zmian anatomicznych, patofizjologicznych i biochemicznych w przebiegu marskości.

Samoistne bakteryjne zapalenie otrzewnej (SBP, *spontaneous bacterial peritonitis*) to infekcja bakteryjna, do której może dojść u chorych z marskością wątroby w przebiegu wodobrzusza. Jest jednym z najcięższych powikłań choroby i cechuje się dużą śmiertelnością. Rozpoznanie opiera się na stwierdzeniu w płynie puchlinowym granulocytów obojętnochłonnych w ilości powyżej 250/mm³ lub na pozytywnym wyniku posiewu płynu.

Kolejnym ciężkim powikłaniem marskości wątroby jest **zespół wątrobowo-nerkowy**, będący czynnościową przednerkową niewydolnością nerek w przebiegu niewydolności wątroby. Występuje u chorych ze zdekompenowaną marskością, piorunującą niewydolnością wątroby oraz w ostrym alkoholowym zapaleniu wątroby. Czynnikiem indukującymi zespół wątrobowo-nerkowy są: krwotok z żyłaków przełyku, samoistne bakte-

ryjne zapalenie otrzewnej, forsowna diuretykoterapia. Typowym objawem jest narastający skąpomocz. Wyróżnia się dwie postacie kliniczne: typ I – szybko postępujący i typ II – wolno postępujący.

Encefalopatia wątrobowa jest zespołem potencjalnie odwracalnych objawów neurologiczno-psychiatrycznych będących późnym powikłaniem marskości wątroby. Podstawowymi objawami są zaburzenia snu (bezsenna lub hipersomnia), grubofaliste drżenia mięśniowe, wygórowane odruchy ścięgniste oraz objawy pozapiramidowe.

U chorych z marskością wątroby wzrasta prawdopodobieństwo rozwoju **raka wątrobowokomórkowego** (HCC, *hepatocellular carcinoma*). Grupę wysokiego ryzyka stanowią pacjenci z przewlekłymi zakażeniami wątroby wirusami hepatotropowymi, hemochromatozą, pierwotną marskością żółciową oraz marskością alkoholową. Chorzy powinni pozostawać pod kontrolą poradni hepatologicznych i regularnie wykonywać kontrolne badanie USG jamy brzusznej.

Zespół wątrobowo-płucny występuje u 4-47% chorych z przewlekłymi chorobami wątroby. Jest zaburzeniem utlenowania krwi tętniczej z powodu poszerzenia łożyska naczyń płucnych. Objawy kliniczne są wynikiem zarówno niewydolności wątroby, jak i płuc. Najczęstszymi objawami są hipoksemia i ortodeoxia. Wyróżnia się 4 stopnie zaawansowania zespołu. W stopniu bardzo ciężkim ciśnienie parcjalne tlenu wynosi poniżej 50 mm Hg, a gradient pęcherzykowo-tętniczy jest wyższy lub równy 15 mm Hg [42].

1.10 Diagnostyczne metody oceny włóknienia wątroby

Wykrycie włóknienia u chorych z przewlekłymi chorobami wątroby może być trudne. Wczesne rozpoznanie, prognozowanie przebiegu oraz monitorowanie leczenia to podstawowe cele metod diagnostycznych [43]. Możemy je podzielić na inwazyjne i nieinwazyjne. Podstawową procedurą inwazyjną jest biopsja wątroby. Wśród technik nieinwazyjnych wyróżniamy: metody obrazowe, testy surowicze oraz testy oddechowe.

1.10.1 Biopsja wątroby

Biopsja wątroby jest uważana za złoty standard diagnostyczny. Najczęściej wykonuje się biopsje przezskórne, chirurgiczne i laparoskopowe. Pozwalają one na ocenę stopnia zaawansowania włóknienia i procesu zapalnego. Wynik badania histopatologicznego determinuje dalsze leczenie, jest istotny zwłaszcza przy współistnieniu kilku jednostek chorobowych [44]. Histopatologiczna ocena zasięgu włóknienia opiera się na jednej z kilku używanych skal.

W wirusowym lub autoimmunologicznym zapaleniu wątroby najczęściej wykorzystuje się skalę Scheuera (tab. 1.2) lub METAVIR, Ishaka (zmodyfikowaną skalę Knodell) lub skalę Batts i Ludwiga. Wszystkie dzielą włóknienie na 5 stopni i mają podobne cechy, gdzie F0 to brak włóknienia, a F4 odpowiada marskości.

Brunt opracował w 1999 roku skalę dla niealkoholowej choroby tłuszczeniowej wątroby, która została zmodyfikowana w 2005 roku i także dzieli włóknienie na 5 podgrup [45].

Tabela 1.2. Stopień włóknienia (*staging*) według skali Scheuera

Stopień włóknienia	Obserwowane zmiany w badaniu histopatologicznym
0	norma, pojedyncze włókna kolagenowe w przestrzeniach wrotnych
1	włóknienie w obrębie przestrzeni wrotnych (brak przegród)
2	włóknienie okołowrotne i ewentualnie pojedyncze włóknienie przęsłowe z zachowaniem struktury zrazika (rzadkie przegrody)
3	obecność licznych przęseł włóknistych z zaburzeniem architektoniki zrazików, bez odczynu regeneracyjnego (liczne przegrody)
4	rozsiane włóknienie lub marskość

[46]

Pomimo swojej wartości diagnostycznej biopsja jest badaniem inwazyjnym, bolesnym i trudnym do zaakceptowania przez niektórych pacjentów. Niesie ze sobą ryzyko powikłań (krwawienie, odma opłucnowa, zgon) oraz pomyłek dotyczących różnych interpretacji tego samego wycinka przez poszczególnych patologów lub nawet tego samego patologa. Obróbka materiału jest kosztowna i czasochłonna. Chociaż włóknienie jest procesem obejmującym cały narząd, jego miejscowe nasilenie może być różne i wpływać na „błąd próbki” [47, 48]. Aktualne badania koncentrują się na poszukiwaniu nieinwazyjnych, szybkich i bezbolesnych metod oceny włóknienia wątroby.

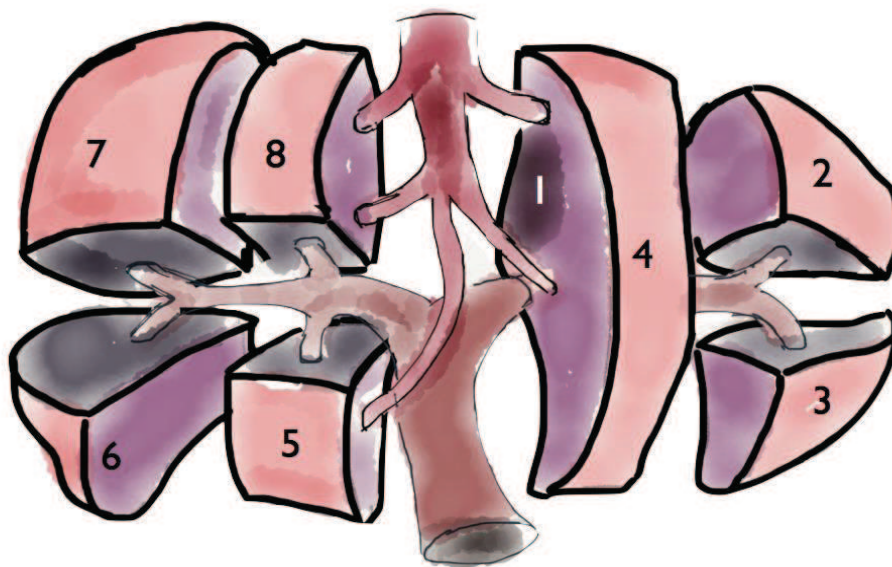
1.10.2 Metody obrazowe

1.10.2.1 Anatomia radiologiczna. Prawidłowy obraz wątroby w badaniach obrazowych

Wątroba jest największym narządem mięsowym i gruczołowym jamy brzusznej, wypełnia prawe podżebrze, prawe i środkowe podbrzusze, sięgając do lewej linii środkowo-obojużkowej; waży 1200-1500 g. Ograniczona jest przez powierzchnię przeponową, którą przylega do przepony i powierzchnię trzewną, którą sąsiaduje z prawą nerką i nadnerczem, okrężnicą poprzeczną i pęcherzykiem żółciowym oraz żołądkiem. Składa się z czterech płatów: prawego, lewego, ogoniastego i czworobocznego. Prawy płat jest wyraźnie większy od lewego, lewy płat od czworobocznego oddziela więzadło obłe. Płat ogoniasty leży po stronie grzbietowo-ogonowej prawego płata, jest ograniczony przez żyłę wrotną, żyłę główną dolną i więzadło żylne. Płat czworoboczny znajduje się na dolnej powierzchni wątroby, ograniczają go łożysko pęcherzyka żółciowego, żyła wrotna i więzadło obłe. Niektórzy autorzy na podstawie przebiegu dróg żółciowych dzielą wątrobę funkcjonalnie na dwa płaty: prawy i lewy, a miejscem podziału jest szczelina pośrodkowa, biegnąca od lewej strony dołu pęcherzyka żółciowego do lewej strony dołu żyły głównej dolnej. Najważ-

niejszymi naczyniami zaopatrującymi wątrobę są tętnica wątrobowa i żyła wrotna, które uchodzą do wnęki wątroby oraz żyły wątrobowe. Żółć zbierana jest przez system przewodów żółciowych, które łączą się w przewód żółciowy wspólny opuszczający wątrobę brzusznie od żyły wrotnej. Wątroba otrzymuje około 15-20% całkowitej puli krwi, ma podwójne unaczynienie: 25% pochodzi od tętnicy wątrobowej i pełni funkcję odżywczą, natomiast 75% z żyły wrotnej i doprowadza krew w celu aktywacji procesów metabolicznych. W praktyce klinicznej istotne znaczenie ma podział wątroby na osiem segmentów, z których każdy stanowi odrębny anatomicznie fragment unaczyniony przez gałąź żyły wrotnej i tętnicy wątrobowej, drenowany przez wewnątrzwątrobowy przewód żółciowy (ryc. 1.2). Żyły wątrobowe leżą pomiędzy segmentami. Taki podział umożliwia skuteczne resekcyjne leczenie chirurgiczne [49].

Rycina 1.1. Podział wątroby na segmenty według Couinauda; modyfikacja własna



1 – płąt ogoniasty, 2 – subsegment lewy boczny górny, 3 – subsegment lewy boczny dolny, 4 – subsegment lewy przyśrodkowy, 5 – subsegment prawy przedni dolny, 6 – subsegment prawy tylny dolny, 7 – subsegment prawy tylny górny, 8 – subsegment prawy przedni górny [50]

Ultrasonografia (USG), tomografia komputerowa (TK) i rezonans magnetyczny (MR, *magnetic resonance*) dobrze obrazują miąższ wątroby. Przesiewową metodą pierwszego rzutu u chorych z dolegliwościami ze strony jamy brzusznej jest ultrasonografia, a następnie dynamiczne TK z podaniem środka kontrastującego. Rezonans magnetyczny wykonuje się jako badanie kolejnego rzutu oraz u chorych, u których nie ma możliwości podania jodowego środka kontrastującego. Badanie MR uznaje się za najdokładniejszą z nieinwazyjnych technik oceny wątroby, mimo gorszej niż TK rozdzielczości przestrzennej.

W badaniu USG prawidłowa wątroba jest jednorodna, o podobnej lub nieco wyższej echogeniczności niż miąższ nerek, o gładkiej powierzchni zewnętrznej i ostrym dolnym brzegu. Wielkość wątroby u zdrowego człowieka nie powinna przekraczać 11 (12) cm w linii środkowoobojczykowej (wymiar górno-dolny) i 10-15 cm w wymiarze podłużnym. Średnica żyły wrotnej nie powinna przekraczać 12 mm, a żyły wątrobowej 10 mm. Żyły wątrobowe widoczne są jako tubularne, bezechowe struktury łączące się z żyłą główną dolną. Gałęzie żyły wrotnej, tętnice wątrobowe i przewody żółciowe, otoczone przez tkankę włóknisto-tłuszczową, tworzą triady wrotne [44].

W badaniu TK prawidłową wątrobę cechuje jednorodna gęstość, współczynnik osłabienia promieniowania na zdjęciach bez kontrastu powinien wynosić: 55-65 j.H. (40-70 j.H). Gęstość niezakontrastowanego miąższu jest zazwyczaj wyższa niż gęstość naczyń krwionośnych i o około 7-8 j.H. wyższa od gęstości śledziony. Średni wymiar narządu w osi pionowej zazwyczaj wynosi 13,5 cm. Wielorzędowa TK pozwala na skanowanie całej wątroby w ciągu kilku sekund przy pojedynczym wstrzymaniu oddechu. Badanie jest wykonywane w protokole trój- lub czterofazowym. Dynamiczna TK z użyciem środka kontrastującego zwiększa swoistość i pozwala na wykrywanie zmian w różnych fazach badania. Środek kontrastujący podaje się dożylnie przez strzykawkę automatyczną w ilości średnio 80-150 ml z prędkością 2,5-4 ml/s. Rutynowe opóźnienie wynosi zwykle około 25 sekund od rozpoczęcia podawania środka kontrastującego w fazie tętnicznej i około 60 sekund w fazie żyłnej. Zdjęcia wykonywane są z kolimacją 1,25-2,5 mm, grubość warstw zwykle wynosi 5 mm. Faza bez kontrastu stanowi punkt odniesienia w określaniu wzmocnienia zmian ogniskowych, a także w zaburzeniach gęstości i stłuszczeniu. W fazie tętnicznej wykrywane są bogato unaczynione zmiany ogniskowe. W fazie żyłnej miąższ wątroby ulega najsilniejszemu wzmocnieniu – zmiany o ubogim unaczynieniu są wówczas hipodensyjne na tle zakontrastowanego miąższu. Faza późna umożliwia rozpoznanie i różnicowanie naczynek oraz guzów włóknistych [48].

W badaniu MR prawidłowy miąższ wątroby jest jednorodnie hiperintensywny w porównaniu z mięśniami w obrazach T1-zależnych, wraz ze zwiększaniem zależności od czasu T2 miąższ staje się bardziej hipointensywny. Naczynia wątrobowe są hipointensywne w stosunku do miąższu w obrazach T1-zależnych i hiperintensywne w T2-zależnych. Nie ma uniwersalnego protokołu badania MR wątroby. Podstawą są obrazy T1- i T2-zależne, a także z saturacją tkanki tłuszczowej bez podania środka kontrastującego, a następnie badanie dynamiczne po podaniu środka kontrastującego. Badanie planowane jest na podstawie danych i wstępnego rozpoznania klinicznego. Istotą jest uzyskanie jak najlepszego kontrastu zmian względem miąższu przy zminimalizowaniu artefaktów oddechowych dzięki szybkim sekwencjom na wstrzymanym oddechu [51]. Podstawowymi sekwencjami w obrazach T1-zależnych są sekwencje gradientowe, na przykład sekwencja FLASH (*fast low-angle shot*), FFE (*fast field echo*), GRASS (*gradient-recalled acquisition in steady state*), które można wykonać w technice wstrzymanego oddechu oraz sekwencja VIBE (*volumetric interpolated breath-hold examination*), pozwalająca na skrócenie czasu akwizycji. Przydatne jest także zastosowanie techniki supresji tkanki tłuszczowej w celu

zwiększenia kontrastowości otrzymanego obrazu. Istotnymi sekwencjami w obrazach T2-zależnych są szybkie sekwencje SE (FSE) i sekwencje hybrydowe, na przykład HASTE (*half Fourier single-shot turbo spin-echo*) oraz w aparatach wysokopolowych sekwencje TSE (*dual-echo-turbo spin echo*). Drogi żółciowe można dobrze uwidocznić w obrazach T2*-zależnych oraz wysoko T2-zależnych. Wykorzystuje się także obrazowanie dyfuzyjne wątroby.

W badaniu dynamicznym szybkie sekwencje T1-zależne wykonywane są po podaniu zewnątrzkomórkowego środka kontrastującego. Akwizycję rozpoczyna się 15-20 sekund po podaniu środka, aby uzyskać obrazy w fazie tętnicznej, a po 30-60 sekundach w fazie wrotnej. Można także przeprowadzić akwizycję w fazie równowagi – około 2-5 minut po podaniu kontrastu. W badaniach MR wątroby wykorzystuje się trzy grupy środków kontrastujących: zewnątrzkomórkowe (zawierają gadolin, mają właściwości paramagnetyczne, skracają czas relaksacji T1), hepatotropowe (kompleksy gadolinu lub manganu, część wychwytywana jest przez hepatocyty i wydzielana z żółcią, także mają właściwości paramagnetyczne, skracają czas relaksacji T1) i specyficzne dla układu siateczkowo-śródbłonkowego (wychwytywane przez ten układ, zwłaszcza przez komórki Kupffera w wątrobie; zawierają małe cząsteczki tlenku żelaza otoczone dekstranem lub karboksydekstranem, mają właściwości superparamagnetyczne, skracają czas relaksacji T2, wpływają także na czas relaksacji T1).

1.10.2.2 Klasyczne metody obrazowe i ich modyfikacje w ocenie włóknienia

Najważniejsze stosowane w diagnostyce wątroby metody obrazowe stanowią **ultrasonografia i ultrasonografia dopplerowska, tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny**. Morfologicznie obrazują one zmiany zachodzące w tym narządzie, są wykorzystywane do rozpoznawania zaawansowanego włóknienia i marskości wątroby oraz ich powikłań, charakteryzują się wysoką swoistością, ale dość niską czułością. Wczesne fazy włóknienia w większości przypadków nie są możliwe do wykrycia z użyciem tych technik.

Najnowsze i najbardziej obiecujące metody obrazowe oceniają twardość tkanki wątrobowej i dzięki temu wykrywają włóknienie i stopień jego zaawansowania (*staging*). Należą do nich: **elastografia ultrasonograficzna, elastografia rezonansu magnetycznego**, inne techniki ultrasonograficzne, jak: **ARFI oraz SWE** (*real-time shear elastography*). Ważne znaczenie w wykrywaniu i różnicowaniu włóknienia ma także DWI, będąca sekwencją obrazowania wykorzystywaną w rezonansie magnetycznym.

Ultrasonografia i ultrasonografia dopplerowska

Ultrasonografia jest podstawową metodą używaną w diagnostyce wątroby. Pozwala na prostą, powtarzalną i taną ocenę wielkości, zarysów zewnętrznych, echogeniczności i echostruktury narządu, stwierdzenie zmian ogniskowych, ocenę dróg żółciowych oraz w USG dopplerowskim ocenę naczyń krwionośnych. Uwidocznia patologiczne zmiany

w okolicznych narządach i przestrzeni zaotrzewnowej, na przykład towarzyszące marskości wodobrzusze. Czułość metody w wykrywaniu marskości wynosi: 87-100%, swoistość: 81,5-93,5% [51]. Ograniczeniami są subiektywizm oceny (wymagane jest doświadczenie badającego) oraz duża masa ciała chorego. Również wolny płyn w jamie brzusznej znacznie utrudnia ocenę. Integralną częścią badania wątroby jest ocena układu żyły wrotnej w celu wykrycia cech nadciśnienia wrotnego pod postacią poszerzenia układu żylnego i powstania krążenia obocznego, które widoczne jest jako sieć poszerzonych naczyń żylnych: okołowątrobowych, żołądkowo-przełykowych, śledzionowo-nerkowych, odbytniczych i okołopępkowych. Żyła wrotna ma wówczas szerokość powyżej 13 mm, a żyła śledzionowa i krezkowa górna powyżej 10 mm. W badaniu można również wykryć splenomegalię, obrzęk krezki i wodobrzusze. Sonografia dopplerowska ocenia drożność, prędkość, kierunek i objętość przepływu w naczyniach trzewnych, różnicuje stopień nadciśnienia wrotnego, wykrywa zakrzepicę żyły wrotnej, obrazuje przepływ w naczyniach krążenia obocznego.

Początkowe fazy włóknienia zwykle są ultrasonograficznie nieuchwytnie. Dopiero zaawansowane stadium pod postacią zwiększenia ilości tkanki łącznej włóknistej, a zwłaszcza marskość, w której pojawiają się zaburzenia struktury zrazików i zaburzenia ukrwienia, mogą być ultrasonograficznie rozpoznane w sposób pewny (tab. 1.3). Ultrasonografia łącznie z USG dopplerowskim może dostarczyć więcej informacji na temat kompensacji marskości. Znaczenie samej ultrasonografii dopplerowskiej jako izolowanej metody diagnostycznej ma ograniczoną wartość, jednak łącznie z klasyczną oceną ultrasonograficzną, ze spektrum przepływu w żyłach wątrobowych oraz metodami biochemicznymi, może mieć istotne znaczenie [52]. Zastosowanie badania USG z dożylnym podaniem środka kontrastującego (CEUS, *contrast-enhanced ultrasound imaging*) nie jest rutynowo stosowane w diagnostyce włóknienia wątroby, gdyż nie pozwala na rozróżnienie jego poszczególnych stopni [53].

Ultrasonografia i ultrasonografia dopplerowska mają ograniczone znaczenie w ocenie początkowych stadiów włóknienia wątroby, natomiast pozwalają na pewne rozpoznanie zmian zaawansowanych, w tym ocenę marskości oraz jej powikłań, na przykład zakrzepicy żyły wrotnej.

Tabela 1.3. Objawy ultrasonograficzne w marskości wątroby

Wielkość wątroby	Prawidłowa Powiększona Zanikowa Nieregularna przebudowa wątroby: powiększenie lewego płata i płata ogoniastego, zmniejszenie objętości płata prawego
Kontury wątroby	Kształt dwuwypukły Zaokrąglony płąt Pofałdowany drobno- i gruboziarnisty kontur (szczególnie powierzchni grzbietowej i płata ogoniastego)
Struktura	Nieregularna ech wewnętrznych Guzki regeneracyjne
System żył wrotnych	Poszerzone pasma okołowrotne. Skrócone i zamknięte odgałęzienia żyły wrotnej Ubogie w naczynia obwodowe części wątroby („przycięte drzewo” wrotne)
Naczynia oboczne	Zrekanalizowane więzadło obłe
Elastyczność	Zmniejszona lub zniesiona elastyczność narządu podczas badania

[54]

Tomografia komputerowa

Podobnie jak ultrasonografia, TK umożliwia ocenę miększu wątroby, dróg żółciowych oraz unaczynienia narządu, a spostrzegane zmiany możliwe są do wykrycia w przebiegu zaawansowanego procesu włóknienia i marskości. Ograniczeniami tej techniki diagnostycznej są: narażenie chorego na promieniowanie jonizujące, ewentualne powikłania po dożylniej iniekcji środka kontrastującego oraz artefakty. Obszary zwłóknień są hipodensyjne zarówno przed, jak i po podaniu środka kontrastującego w fazie tętnicznej i żylniej. Blizny łącznotkankowe ulegają wzmocnieniu jedynie w fazie śródmiąższowej. U 15% chorych z marskością można uwidocznnić rozlane, klinowatego kształtu, rozchodzące się obwodowo obszary obniżonej gęstości odpowiadające włóknieniu, zwłaszcza w segmencie przyśrodkowym lewego płata i w przednim płata prawego, a także wciągnięcie torebki wątroby [55, 56].

Wyróżniamy trzy morfologiczne typy marskości: drobnoguzkową (średnica guzków nie przekracza 3 mm), wielkoguzkową (średnica guzków od 3 mm do kilku cm) oraz mieszaną. Guzki regeneracyjne powodują powstanie guzkowatego zarysu wątroby, są widoczne dopiero w późnym stadium choroby. Mogą powodować efekt masy i wykazują osłabienie promieniowania w stosunku do otaczającego miększu. Nie są otoczone torebką, posiadają głównie unaczynienie żyłne (od żyły wrotnej) i

przewody żółciowe. W 25% gromadzą żelazo (guzki syderotyczne), co wiąże się z większym ryzykiem przemiany w raka wątrobowokomórkowego. Przed podaniem środka kontrastującego guzki są izodensyjne lub nieco hiperdensyjne w stosunku do otaczającego miększu w zależności od stopnia stłuszczenia narządu. Guzki syderotyczne są hiperdensyjne. Po podaniu środka kontrastującego guzki mogą być izodensyjne lub nieco hiperdensyjne w zależności od perfuzji. Guzki dysplastyczne występują u 15-25% chorych z marskością wątroby, są uznawane za stan przednowotworowy. Zwykle są większe niż guzki regeneracyjne i mają nieregularne zarysy zewnętrzne. Są one izodensyjne w badaniu bez podania środka kontrastującego, mogą być izo- lub hipodensyjne we wszystkich fazach ze wzmocnieniem kontrastowym. Zdarzają się także guzki dysplastyczne silnie unaczynione w fazie tętnicznej, które mogą być hiperdensyjne w arteriopoportografii TK.

Tomografia komputerowa pozwala na kompleksową ocenę struktur jamy brzusznej i takich zmian współistniejących z marskością, jak: powiększenie śledziony, cechy nadciśnienia wrotnego oraz jego powikłań. Umożliwia wykrycie obniżonego przepływu wrotnego i kompensacyjnego wzrostu przepływu tętniczego (arterializacji) miększu wątroby. Spiralne TK jest uważane za czulszą metodę wykrywania włóknienia niż USG. Trwają prace nad zastosowaniem perfuzji TK do oceny włóknienia, choć do tej pory znalazła ona zastosowanie raczej do wykrywania zmian ogniskowych, w tym wczesnych ognisk HCC w marskiej wątrobie, podobnie jak CEUS i w mniejszym stopniu PET/CT [57, 58]. Tomografia komputerowa ma istotne znaczenie w wykrywaniu HCC w marskiej wątrobie, choć zmiany te są lepiej widoczne w MRI, gdzie tworzą charakterystyczny obraz „guzka wewnątrz guzka”. Syderotyczne guzki gromadzące miedź i żelazo można także dobrze zlokalizować w badaniu MR.

Rezonans magnetyczny

Włóknienie, w przeciwieństwie do marskości, nadal jest trudne do identyfikacji w konwencjonalnym MR, podobnie jak w omówionych powyżej USG czy TK. W badaniu MR u chorych w stadium poprzedzającym wystąpienie marskości oraz u pacjentów z wczesnymi jej objawami parenchyma ma zwykle normalny sygnał lub wykazuje jego niespecyficzną niejednorodność [59]. Gdy pojawia się marskość, jej rozpoznanie nie przysparza większych trudności. W badaniu MR bez podania środka kontrastującego można wykryć włókniste przegrody i mosty pod postacią siateczkowatych struktur o niskim sygnale w obrazach T1-zależnych i wysokim w T2-zależnych, które z reguły lokalizują się w otoczeniu guzków regeneracyjnych. Charakteryzują się one pośrednim i wysokim sygnałem w obrazach T1-zależnych bez środka kontrastującego oraz pośrednim i niskim w T2-zależnych. Niektóre mogą zawierać żelazo (guzki syderotyczne) i stawać się hipointensywne w obrazach T2 i T2*-zależnych albo zawierać tłuszcz i tracić sygnał w przeciwfazie (*out-of-phase*) w porównaniu z fazą (*in-phase*). Fibrotyczne blizny i mostki nie zawierają żelaza ani tłuszczu. Dożylnie podanie środków kontrastujących ułatwia identyfikację włóknienia

w MR. Środki kontrastujące oparte na bazie gadolinu (Gd-BOPTA, GD-EOB-DTPA) mają powinowactwo do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, więc większość z nich powoduje rosnące wzmocnienie sygnału w fazie żyłnej i równowagi we włóknieniu wątroby w obrazach T1-zależnych. Środki kontrastujące oparte na bazie gadolinu mogą również wzmocniać połączenia tętniczo-wrotne w fazie tętnicznej i obszary zapalenia, nie są jednak ich markerem. Po podaniu SPIO prawidłowa parenchyma ma niższą intensywność sygnału w obrazach T2-zależnych, a obszary włóknienia w wątrobie o obniżonej ilości komórek Browicza-Kupffera stają się widoczne jako hiperintensywne, gdyż pochłaniają mniej tlenu żelaza niż prawidłowy mięsz [60].

Tabela 1.4 zawiera wspólne cechy charakterystyczne marskości wątroby możliwe do uwidocznienia za pomocą USG, TK i MR. Wykazują one wysoką swoistość dla rozpoznania marskości, ale niską czułość w wykrywaniu wcześniejszych stadiów włóknienia [9].

Tabela 1.4. Cechy morfologiczne marskości wątroby możliwe do uwidocznienia w USG, TK, MR

Faza wczesna	Faza późna
<p>Wątroba powiększona lub prawidłowa</p> <p>Zanik segmentu IV</p> <p>Niejednorodne stłuszczenie</p>	<p>Nierówny, guzkowaty zarys wątroby</p> <p>Zanik płata prawego (segment VI i VII) oraz IV</p> <p>Powiększenie płata lewego (segment I i III)</p> <p>Poszerzenie żyły wrotnej (> 13 mm)</p> <p>Widoczne naczynia krążenia obocznego</p> <p>Powiększenie dołu pęcherzyka żółciowego</p> <p>Poszerzenie szczelin między płatami i segmentami</p> <p>Nacieki tłuszczowe i niejednorodność miąższu</p> <p>Obszary włóknienia</p> <p>Guzki regeneracyjne lub dysplastyczne</p> <p>Rak wątrobowokomórkowy</p>

Obrazowanie zależne od dyfuzji

Po raz pierwszy kliniczne zastosowanie obrazowania zależnego od dyfuzji zostało opisane w 1986 roku przez Le Bihana [61]. W latach 90. ubiegłego stulecia nastąpił jego intensywny rozwój głównie w diagnostyce chorób ośrodkowego układu nerwowego. Obecnie najczęstszym wskazaniem do wykonania DWI jest identyfikacja

wczesnych cech niedokrwienia w mózgowiu. Metoda jest także szeroko stosowana w badaniach jamy brzusznej, a zwłaszcza wątroby. Jej zaletami są krótki czas trwania, łatwość dołączenia sekwencji do istniejących protokołów, powtarzalność, brak zastosowania środka kontrastującego i dodatkowego oprogramowania [62].

Dyfuzja jest fizyczną właściwością cząsteczek zależną od ich energii cieplnej. Podstawą tego zjawiska wykorzystywanego w badaniach metodą rezonansu magnetycznego jest „beładny” ruch protonów cząsteczek wody, zwany ruchem Browna. Obrazowanie dyfuzyjne MR wykorzystuje wielokierunkowość dyfuzji protonów cząsteczek wody w obrębie tkanek. W trakcie badania stosowane są cewki gradientowe zmieniające swą biegunowość, odbywa się znakowanie spinów protonów ruchomych i stacjonarnych. Obszary o odmiennym sygnale w DWI powstają w wyniku przesunięcia fazowego pomiędzy rozfazowanymi spinami ruchomych protonów cząsteczek wody a stacjonarnymi protonami ulegającymi fazowaniu. Współczynnik dyfuzji (ADC, *apparent diffusion coefficient*) określa szybkość dyfuzji, jest proporcjonalny do jej intensywności w badanym obszarze i mianowany w mm^2/s . Znając jego wartość liczbową, można przygotować mapy ADC umożliwiające interpretację dyfuzji w badanym obszarze. Kolejnym parametrem mającym istotne znaczenie jest czynnik b mianowany w s/mm^2 . W obrazowaniu wątroby stosuje się b o wartości: od 0 do 800 - 1000. Wartość b zależy od współczynnika żyromagnetycznego, amplitudy gradientu dyfuzji i jego czasu trwania oraz czasu pomiędzy kolejnymi impulsami. Zwykle ADC szacuje się na podstawie pomiaru utraty sygnału pomiędzy skanami o różnych wartościach b, przy czym wymagane są co najmniej dwie wartości czynnika b. W większości ośrodków stosuje się trzy lub więcej wartości b.

W celu zmierzenia szybkości dyfuzji wykorzystuje się silny gradient w krótkim czasie, a następnie kolejny, prowadzący do wyrównania faz spinów protonów wodoru w cząsteczce wody. Cząsteczki wody, które w wyniku procesów patologicznych nie będą mogły się poruszać, znajdą się w zasięgu drugiego gradientu, co zostanie zobrazowane jako obszar wysokiego sygnału. W DWI obszary o niskiej dyfuzji to obszary o wysokim sygnale, natomiast wysoka dyfuzja w obrębie zmiany odpowiada niskiemu sygnałowi. Odwrotnie jest na mapach ADC: o ograniczeniu dyfuzji mówimy, gdy obszar ma niski sygnał. Znajduje to praktyczne zastosowanie w diagnostyce zmian nowotworowych: tkanka o dużej gęstości komórkowej – tak jak tkanka nowotworowa – charakteryzuje się zmniejszoną przestrzenią zewnątrzkomórkową i zwiększoną gęstością błon komórkowych, tak więc powoduje restrykcję dyfuzji wody. Zmiany martwicze i torbielowate nie wykazują cech restrykcji dyfuzji wody – ruch protonów cząsteczek wody jest swobodny, nieograniczony [63, 64].

Wyróżnia się dyfuzję izotropową, gdy wszystkie kierunki ruchu są jednakowo uprzywilejowane, na przykład w przestrzeni zewnątrzkomórkowej wątroby, oraz dyfuzję anizotropową, gdy uprzywilejowane są tylko niektóre kierunki, na przykład ruch wzdłuż włókien nerwowych.

W marskości wątroby obserwuje się spadek wartości ADC. Ta obserwacja stała się punktem wyjścia dla prób wykorzystania zjawiska dyfuzji w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia wątroby, przyjmując hipotezę, że powoduje ono restrykcję dyfuzji cząsteczek wody. W zdrowej wątrobie, w przestrzeniach oddzielających hepatocyty od naczyń zatokowych (przestrzeniach Dissego) znajduje się niewielka ilość substancji pozakomórkowej – obserwuje się więc swobodny ruch cząsteczek wody, nie ma cech ograniczenia dyfuzji. We włóknieniu zmienia się struktura macierzy (odkładanie włókien kolagenu, glikoprotein i proteoglikanów), co skutkuje obniżeniem dyfuzji w przestrzeniach pozakomórkowych – dyfuzji zewnątrzkomórkowej, czyli izotropowej. Ograniczenie przepływu substancji pomiędzy hepatocytami a krwią powoduje restrykcję także dyfuzji wewnątrzkomórkowej – anizotropowej. Użycie dyfuzji jako biomarkera włóknienia może stanowić wyzwanie dla badacza ze względu na niełatwą interpretację obrazów ADC, na które najprawdopodobniej wpływają: perfuzja, stłuszczenie wątroby, zawartość żelaza w wątrobie, a także procesy zapalne. Istotne znaczenie mają także: siła pola magnetycznego, czas repetycji i echa, wartości b oraz parametry techniczne używanego sprzętu. [65, 66].

1.10.2.3 Metody pomiaru twardości tkanki wątrobowej w ocenie włóknienia

Elastografia ultrasonograficzna (sonoelastografia)

Elastografia ultrasonograficzna (sonoelastografia) to metoda pomiaru twardości tkanki wątrobowej (*liver stiffness measurement*) przy użyciu ultradźwięków, zwana TE (*transient elastography*) lub Fibroscan od nazwy głowicy emitującej w głąb wątroby falę mechaniczną o niskiej amplitudzie i częstotliwości (głowica wibracyjna 50 Hz), będącej jednocześnie przekaźnikiem (analyzer ultradźwiękowy 5 MHz). Szybkość rozchodzenia się fali ultradźwiękowej zależy od stopnia sztywności tkanki – im wyższy stopień włóknienia, tym szybciej fala się rozchodzi. Parametr ten mierzy się w jednostkach naprężenia – kilopaskalach (kPa) na podstawie współczynnika elastyczności materii. Objętość próbki wykorzystywanej do badania wynosi średnio 4-5 cm³, reprezentacja miąższu wątroby jest więc większa niż w biopsji. Badanie trwa około 5 minut i jest łatwe do wykonania. Ograniczeniami metody są otyłość, wodobrzusze oraz wąskie przestrzenie międzyżebrowe technicznie utrudniające badanie [67, 68, 69].

Elastografia rezonansu magnetycznego

Elastografia rezonansu magnetycznego to metoda pomiaru twardości tkanki wątrobowej z użyciem niskiej częstotliwości drgań wysyłanych do wątroby. Badanie to wymaga podłączenia przetwornika elektryczno-mechanicznego, który w kontakcie ze ścianą jamy brzusznej pacjenta generuje fale mechaniczne o częstotliwościach pomiędzy 40 a 120 Hz. Obrazy otrzymuje się za pomocą sekwencji gradientowych w momencie rozchodzenia się

fal w wątrobie. Gradienty są podobne do stosowanych w DWI i w angiografii MR, ale zsynchronizowane z falami mechanicznymi. Rezultatem są obrazy, które poprzez specjalny algorytm są przetwarzane na ilościowe mapy, zwane elastogramami z użyciem koloru. Twardość tkanki wątrobowej mierzy się za pomocą obszaru zainteresowania (ROI, *region of interest*) na elastogramach. Według najnowszych badań skuteczność tej metody jest wyższa niż elastografii ultrasonograficznej, zwłaszcza dla różnicowania pomiędzy podgrupami włóknienia o wyższym stopniu zaawansowania (F2 vs F3 vs F4) [70, 71]. Jej zaletą jest objęcie skanowaniem całego narządu, nie istnieje więc zależność od okna akustycznego i objętości ROI, metoda pozwala także na badanie otyłych pacjentów. Ograniczeniem są natomiast uwarunkowania techniczne: konieczność zastosowania źródła wytwarzającego fale mechaniczne, odpowiedniego oprogramowania oraz doświadczenie w analizie i interpretacji elastogramów [72, 73].

Elastograficzna ocena twardości tkanki za pomocą ultradźwięków metodą ARFI

Koncepcja oceny właściwości materialnych ośrodka na podstawie jego odpowiedzi na siłę wywieraną przy zastosowaniu metody ARFI została opisana przez Sugimoto w 1990 roku, a następnie była rozwijana przez kolejnych badaczy: Dymplinga, Nightingale, Hartleya, Sarvazyana [74]. Istota zjawiska wiąże się z rozprzestrzenianiem się fal dźwiękowych w rozproszonym ośrodku i polega na przekazywaniu prędkości fali do ośrodka, co powoduje jej pochłonięcie lub odbicie. Rezultatem przyłożenia siły do tkanki jest powstanie fali odkształcenia. Do otrzymania zogniskowanej wiązki akustycznej stosuje się ARF (*acoustic radiation force impulse*) w określonym, ograniczonym obszarze. Istotą jest oddziaływanie ultradźwięków na małą objętość badanej tkanki przez krótki czas, co powoduje jej odkształcenie i może zostać oszacowane za pomocą metod opartych na korelacji ultradźwiękowej. Metoda ta dostarcza informacji o odpowiedzi danej tkanki na impuls mechaniczny, co określa jej właściwości elastyczne. Podstawą obrazowania za pomocą ultradźwięków jest pomiar prędkości rozchodzenia się fali odkształcenia umożliwiający ocenę twardości badanej tkanki. Wysokiej częstotliwości pulsacyjny impuls akustyczny (trwający poniżej 1 ms) wysyłany jest z sondy z właściwą częstotliwością, powodując lokalne mechaniczne odkształcenie tkanki w wybranym ROI w trakcie prezentacji B w czasie rzeczywistym. Ta reakcja może być monitorowana przestrzennie i czasowo. Odkształcenie tkanki w ROI powoduje powstanie tak zwanych fal odkształcenia, których prędkość (SWV, *shear wave velocity*) można zmierzyć w metrach na sekundę (m/s). Wielkość odkształcenia jest odwrotnie proporcjonalna do twardości danej tkanki – zwykle wynosi około 10 mikronów. Objętość ROI może wynosić od 1 do 8 mm³. Głowica ultrasonograficzna posiada podwójną funkcję: generuje ultrasonograficzne pulsy oraz rejestruje odkształcenie badanej tkanki. Potencjalne zastosowanie ARFI dotyczy przede wszystkim tkanek leżących powierzchownie ze względu na łatwy dostęp w czasie badania i umożliwia wykrycie oraz ocenę zmian patologicznych w tkankach miękkich, a także zmian miażdżycowych w tętnicach (ocena blaszek miażdżycowych). Metoda ARFI jest wykorzystywana w różnicowaniu

zmian ogniskowych w tarczycy, gruczołach sutkowych, mięśniach, węzłach chłonnych, ale także w narządach mięszowych jamy brzusznej. Badanie to jest bezpieczne dla pacjentów. Ryzyko wywołania biologicznych efektów niepożądanych nie jest większe niż przy użyciu kolorowego Dopplera. W diagnostyce wątroby ARFI może mieć zastosowanie do oceny włóknienia jako alternatywa dla biopsji, a także dla innych badań obrazowych, jak na przykład TE, przy znacznie prostszym przeprowadzeniu badania i tańszym oprogramowaniu wchodzącym w skład nowoczesnych aparatów ultrasonograficznych. To umożliwia wykonanie badania elastograficznego w trakcie rutynowego USG. Ważne są także niski koszt oraz powtarzalność metody [75, 76]. Wartość SVW w wątrobie zwykle mierzy się w próbce (ROI) o kształcie cylindra i wymiarach 0,5 cm długości, 0,4 cm szerokości, ustawionej 5,5-6 cm poniżej powierzchni skóry, w odległości 2 cm poniżej torebki wątroby. W obszarze ROI nie powinny znajdować się naczynia krwionośne, przewody żółciowe ani zmiany ogniskowe, na przykład torbiele. Wykonuje się kilka pomiarów SWV i podaje ich średnią jako wynik ostateczny.

Elastografia dynamiczna fali poprzecznej

Elastografia dynamiczna fali poprzecznej (SWE, *real-time shear elastography*) jest metodą opartą na tych samych zasadach co TE. Określa prędkość, z jaką fala poprzeczna rozchodzi się w tkance wątrobowej (*shear wave*) i w ten sposób mierzy jej sztywność [77].

1.10.3 Testy serologiczne

Testy serologiczne służą ocenie zarówno bezpośrednich, jak i pośrednich markerów włóknienia, tworząc panele diagnostyczne zbudowane z rutynowych i nierutynowo wykonywanych oznaczeń. Rutynowe oznaczanie aktywności wybranych enzymów ma na celu wykrywanie i ocenę uszkodzenia hepatocytów, zaburzeń syntezy i aktywności białek. Enzymy charakteryzują się wysoką czułością, ale niską swoistością w wykrywaniu patologii wątroby, dlatego uzyskane wyniki należy interpretować łącznie z obrazem klinicznym. Aktywność enzymów oznacza się metodami kinetycznymi i wyraża w jednostkach międzynarodowych na litr (IU/l). Normy podawane przez poszczególne laboratoria mogą się różnić w zależności od metod oznaczania. Podstawowymi enzymami badanymi w chorobach wątroby są: aminotransferazy – alaninowa (ALT) i asparaginianowa (AST), fosfatasa zasadowa (ALP), gamma-glutamylotransferaza (GGTP), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), cholinesteraza (ChE), bilirubina, białka osocza i amoniak.

Aminotransferaza alaninowa i asparaginianowa katalizują przyłączenie grup gamma-aminowych alaniny i asparagianinu do ketoglutaranu. Aminotransferaza alaninowa jest enzymem wyłącznie cytoplazmatycznym, względnie swoistym dla hepatocytów. Aminotransferaza asparaginianowa jest enzymem cytoplazmatycznym, a w 5% także mitochondrialnym. Występuje nie tylko w hepatocytach, ale również w sercu, mięśniach szkieletowych, nerkach, mózgu i erytrocytach. Wartości prawidłowe dla obu enzymów,

oznaczane w temperaturze 37⁰C, wynoszą poniżej 40 IU/l. Zwiększenie aktywności aminotransferaz obserwuje się w ostrych wirusowych zapaleniach wątroby (A-E oraz wywołanych przez EBV i CMV), przewlekłych wirusowych zapaleniach wątroby typu B i C, stłuszczeniu i stłuszczeniowym zapaleniu wątroby, hemochromatozie, uszkodzeniu przez leki i toksyny, autoimmunologicznym zapaleniu wątroby, chorobie Wilsona, niedoborze alfa-1-antytrypsyny i celiakii. Bardzo duże zwiększenie aktywności aminotransferaz (ponad 15-krotne) może także występować w ostrym niedokrwieniu wątroby, zamknięciu tętnicy wątrobowej czy ostrym zespole Budda i Chiarięgo.

Fosfataza alkaliczna bierze udział w transporcie jonów fosforanowych przez błony komórkowe, nie jest swoista tylko dla wątroby, gdyż występuje także w łożysku, nerkach, błonie śluzowej jelita i osteoblastach kości. Wartość prawidłowa u dorosłych wynosi poniżej 270 IU/l. Służy przede wszystkim rozpoznawaniu cholestazy i uszkodzenia hepatocytów. Jej stężenie rośnie między innymi w marskości wątroby, w zapaleniach wątroby, w pierwotnym stwardniającym zapaleniu wątroby, w naciekających chorobach wątroby, jak sarkoidoza czy gruźlica, w raku wątrobowokomórkowym oraz przerzutach do wątroby. Zwiększoną aktywność ALP stwierdza się także w chorobach kości, nerek oraz w zastoinowej niewydolności serca.

Gamma-glutamylotransferaza jest enzymem błonowym występującym w hepatocytach, komórkach bliższych kanalików nerkowych, trzustce, jelicie i nabłonku dróg żółciowych. Polscy uczeni: Edward Szczeklik i Marian Orłowski jako pierwsi wprowadzili GGTP do diagnostyki chorób wątroby. Norma dla mężczyzn wynosi poniżej 40, a dla kobiet poniżej 35 IU/l. Przyczynami zwiększonej aktywności zwykle są: cholestaza, uszkodzenie hepatocytów o różnej etiologii, choroby z naciekaniem miększu wątroby oraz nadużywanie alkoholu.

Dehydrogenaza mleczanowa katalizuje reakcję utleniania kwasu mlekowego do kwasu pirogronowego. Występuje we wszystkich komórkach ustroju, jest enzymem cytoplazmatycznym. Składa się z dwóch podjednostek i pięciu izoenzymów. Izoenzymy LDH4 i LDH5 są swoiste dla wątroby i mięśni szkieletowych. U dorosłych wartość prawidłowa wynosi poniżej 480 IU/l. Zwiększenie aktywności LDH jest nieswoiste; oprócz chorób wątroby może wystąpić między innymi w zawale serca, urazach, nowotworach oraz chorobach mięśni szkieletowych.

Cholinestara powstaje w wątrobie i jest wydzielana do krwi. Występuje także w trzustce, błonie śluzowej jelita, śledzionie i układzie nerwowym. Jest markerem wydolności wątroby. Jej poziom zmniejsza się w chorobach miększu wątroby, między innymi w marskości, zapaleniach, przerzutach nowotworowych, ale także w niedożywieniu, przewlekłej niewydolności serca oraz terapii estrogenami.

Bilirubina jest końcowym produktem przemiany hemu hemoglobiny, który jest jej głównym źródłem i stanowi około 70-80%, a 20-30% pochodzi z rozpadu innych hemoprotein w wątrobie. Katabolizm hemoglobiny odbywa się w śledzionie, wątrobie i szpiku kostnym. Hem ulega rozkładowi do biliwerdyny w układzie siateczkowo-śródbłonkowym, a następnie do bilirubiny w osoczu. Oznacza się bilirubinę sprzężoną (bezpośrednią) i cał-

kowitą. Prawidłowy poziom bilirubiny całkowitej wynosi 5,1-20,5 $\mu\text{mol/l}$ (0,3-1,2 mg/dl); a bilirubiny sprzężonej 1,7-6,8 $\mu\text{mol/l}$ (0,1-0,4 mg/dl). Żółtaczka pojawia się, gdy stężenie bilirubiny przekracza 45 $\mu\text{mol/l}$. Ze względu na przyczyny żółtaczkę dzieli się na: przedwątrobową (np. w zespole Gilberta, żółtaczce noworodków), wewnątrzwątrobową (np. w wirusowym zapaleniu wątroby, uszkodzeniu wątroby przez alkohol czy leki) i pozawątrobową (np. w kamicy przewodu żółciowego wspólnego, raku trzustki czy stwardniającym zapaleniu dróg żółciowych).

W diagnostyce chorób wątroby znajduje zastosowanie oznaczanie **białek osocza**: albumin, ceruloplazminy i transferyny, a także czasu protrombinowego oraz elektroforezy białek surowicy. Ich ocena służy monitorowaniu czynności wątroby w chorobach przewlekłych. Na przykład w marskości wątroby frakcja albumin jest zwykle zmniejszona, a gamma-globulin rośnie.

Amoniak jest produktem deaminacji aminokwasów. Jego usuwanie z ustroju następuje poprzez produkcję mocznika w wątrobie. Stężenie amoniaku rośnie w ciężkich uszkodzeniach wątroby, na przykład w encefalopatii wątrobowej [78].

1.10.3.1 Pośrednie markery włóknienia

Pośrednie markery włóknienia dostarczają informacji o funkcji wątroby. Większość z nich jest używana w praktyce klinicznej w celu potwierdzenia obecności marskości i odróżnienia łagodnej postaci włóknienia od jego zaawansowanego stadium. Podstawowe panele diagnostyczne opierają się głównie na pośrednich markerach włóknienia ze względu na łatwość ich oznaczania, dobrą dostępność i przystępną cenę (tab. 1.5). W ich skład wchodzi zwykle rutynowe badania biochemiczne stosowane w postaci algorytmów.

Najprostszym stosowanym testem jest stosunek aminotransferazy asparaginianowej do alaninowej (**ASP/ALT**), którego wartość prawidłowa wynosi 0,8; natomiast gdy przekracza 1 rozpoznaje się marskość wątroby.

Kolejnym prostym testem jest **APRI**. Wyraża on stosunek aminotransferazy asparaginianowej do liczby płytek krwi wg wzoru:

$$\text{APRI} = \frac{\text{AST (U/l)}}{\text{liczba płytek (10}^9\text{/l)}} \times 100$$

gdzie wartość 0,7 świadczy o zaawansowanym włóknieniu, a wartość powyżej 1 o marskości [79].

PGA index obejmuje oznaczenie wskaźnika protrombinowego, gammaglutamylotranspeptydazy oraz gamma-globuliny. Charakteryzuje się dość wysoką czułością i swoistością. Jest wykorzystywany w przewlekłych chorobach wątroby, zwłaszcza o etiologii alkoholowej [80].

Fibroindex, opracowany przez Koda i współpracowników, oparty jest na takich zmiennych, jak: stężenie AST, liczba płytek i stężenie gamma-globuliny. Jego wartość oblicza się według wzoru:

$$\text{FIBROINDEX} = 1,738 - 0,064 (\text{liczba płytek } [10^9/\text{L}]) + 0,005 (\text{AST IU/L}) + 0,463 (\text{g-globulina } [\text{g/dL}])$$

Punktem odcięcia dla identyfikacji znacznego włóknienia jest wartość na poziomie 0,83. Prawdopodobieństwo wystąpienia zaawansowanego włóknienia przy wartości AUC powyżej 2,25 wynosi 94,6%, natomiast poniżej 2,25 tylko 64,2% [81].

FIB-4 index to panel diagnostyczny stworzony na podstawie wielośrodkowego badania 505 chorych zakażonych HCV z koinfekcją HIV. Chorych podzielono na 3 grupy zaawansowania włóknienia na podstawie oceny histopatologicznej za pomocą skali Ishacka. Uwzględniając dane uzyskane w badaniu, skonstruowano algorytm oparty na takich markerach, jak: ALT, ASP, liczba płytek, wiek i opracowano wzór:

$$\text{FIB} - 4 = \text{wiek} \times \frac{\text{AST (U/L)}}{\text{liczba płytek } (10^9/\text{L}) \times \text{ALT (U/L)}^{1/2}}$$

Na podstawie krzywej ROC wyznaczono dwa punkty odcięcia. Dla wartości AUC poniżej 1,45 prawdopodobieństwo wykluczenia zaawansowanego włóknienia wynosi 89-90%, a dla AUC powyżej 3,25 – 65%. Algorytm wykrywa więc wysoki stopień zaawansowanego włóknienia, zwłaszcza w przewlekłym zakażeniu HCV [82].

Fibrotest (Fibrosure) umożliwia odróżnienie umiarkowanej postaci włóknienia (F0-F1) od istotnej (F2-F4) za pomocą pomiaru następujących białek osocza: alfa-2 makroglobuliny, haptoglobiny, gamma-globuliny, apolipoproteiny A1, gamma-glutamylotranspeptydazy oraz całkowitego stężenia bilirubiny w surowicy. Model ten zawiera jednak kilka niestandardowo oznaczanych białek, co łącznie z dodatkowym kosztem może wpływać na ograniczenie zastosowywania tej metody. Według przeprowadzonych badań użycie Fibrotestu może zredukować liczbę biopsji nawet do 46% [83].

Forns index to test, na który składają się 4 parametry: liczba płytek, gamma-glutamylotranspeptydaza, stężenie cholesterolu i wiek. Podobnie do Fibrotestu różnicuje niewielkie i zaawansowane włóknienie (AUROC: 0,81). Na podstawie jego wartości ocenia się także odpowiedź na terapię antywirusową w leczeniu zakażenia HCV.

Fibrometer to algorytm składający się z następujących parametrów: liczby płytek, protrombiny, AST, alfa-2 makroglobuliny, kwasu hialuronowego, mocznika i wieku.

ActiTest jest modyfikacją Fibrotestu, do którego dodano wartość ALT. Jest przydatny do identyfikacji zaawansowanego włóknienia i stanu zapalnego.

Kolejne stosowane panele diagnostyczne to: **Hepascore**, na który składają się: stężenie gamma-glutamylotranspeptydazy, całkowite stężenie bilirubiny w surowicy, ALT, kwas hialuronowy, alfa-2 makroglobulina, wiek i płeć; **NAFLD fibrosis score**; **BARD score**.

Simple test (prosty test), który uwzględnia następujące parametry: wiek, glikemia, wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*), poziom płytek, albumina, AST/ALT, różnicuje łagodne i zaawansowane włóknienie [84, 85].

Proteomix i Glikomix to metody spektroskopowej oceny białek osocza [86].

FIB-4, Fibroindex, APRI i Forns index to testy, których zastosowanie jest rekomendowane w algorytmie postępowania w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C [87, 88].

Tabela 1.5. Panele diagnostyczne oparte na pośrednich surowiczych markerach włóknienia – czułość i swoistość

Panel diagnostyczny	Czułość (%)	Swoistość (%)
AST/ALT	53	100
APRI	83,5	66,7
PGA index	91	81
Fibroindex	81	84
FIB-4	70	74
FibroTest/FibroSure	75	85
Forns	63	89
Simple test	78	58

[89]

1.10.3.2 Bezpośrednie markery włóknienia

Bezpośrednie markery włóknienia dostarczają informacji o zmianie metabolizmu w obrębie macierzy pozakomórkowej, są więc swoistymi markerami zmian pojawiających się w przebiegu procesu włóknienia (tabela 1.6). Można je podzielić na trzy grupy:

1. **Markery związane z odkładaniem się elementów łącznotkankowych w macierzy.**
2. **Markery związane z degradacją macierzy.**
3. **Cytokiny i chemokiny.**

Do markerów związanych z odkładaniem się elementów łącznotkankowych w macierzy należy **N-końcowy peptyd prokolagenu typu I (PICP)**. Pozwala on na wykrywanie marskości wątroby, jego poziom wzrasta w umiarkowanym i zaawansowanym włóknieniu, jednak jest mniej czuły niż kolagen typu IV czy PIIINP [90].

N-końcowy peptyd prokolagenu typu III (PIIINP) koreluje ze stężeniem aminotransferaz w surowicy u chorych z zapaleniem wątroby oraz ze stężeniem bilirubiny u chorych z marskością. Jego poziom podnosi się w ostrych i przewlekłych chorobach wątroby. Oddaje on histologiczny stopień zaawansowania włóknienia w chorobie alkoholowej wątroby, wirusowym zapaleniu wątroby czy pierwotnej marskości żółciowej. Spadek i normalizację jego poziomu obserwuje się u chorych po odstawieniu alkoholu oraz jako pozytywną odpowiedź na leczenie immunosupresyjne [91].

Poziom **kolagenu typu I** wzrasta we wszystkich typach włóknienia. W aktywacji komórek gwiaździstych rośnie 60-70-krotnie. Istnieje korelacja z histopatologicznymi typami włóknienia, ale nie z aktywnością zapalną [92].

Poziom **kolagenu typu IV** rośnie u chorych z przewlekłymi chorobami wątroby. Istnieje silna korelacja ze stopniem włóknienia, zwłaszcza w alkoholowym uszkodzeniu wątroby. Jego czułość w przewlekłym zapaleniu wątroby jest większa niż lamininy, kwasu hialuronowego oraz PIIINP. W różnicowaniu umiarkowanej i zaawansowanej postaci włóknienia od włóknienia łagodnego lub jego braku wykazuje większą wartość diagnostyczną niż poziom płytek [93].

Laminina jest glikoproteiną wytwarzaną przez komórki gwiaździste, odkładaną wokół naczyń i w przestrzeniach okołozatokowych. Jej poziom koreluje ze stopniem zaawansowania włóknienia i procesu zapalnego. Jest czułym i specyficznym markerem ostrego alkoholowego zapalenia wątroby. Wydaje się skuteczniejszym markerem niż PIIINP, ale nie tak dobrym jak kolagen IV w przewidywaniu stopnia włóknienia w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby.

Kwas hialuronowy (HA) to glikozamonoglikan syntetyzowany przez komórki gwiaździste. Jego podwyższone stężenie świadczy o wzmożeniu fibrogenezy. Dobrze koreluje ze stopniem zaawansowania włóknienia w chorobie alkoholowej, wirusowym zapaleniu wątroby typu B i C. Stężenie HA wydaje się najbardziej przydatnym z markerów włóknienia wątroby, jest niezależnym czynnikiem prognostycznym ciężkich powikłań marskości u chorych z HCV. Spadek stężenia koreluje z poprawą i skuteczną odpowiedzią na monoterapię interferonem, wzrost świadczy o progresji procesu włóknienia [94]. Pomiar HA wchodzi w skład takich paneli diagnostycznych, jak: Hepascore, Fibrospect II, SHASTA.

Chondreks (YKL-40) to glikoproteina wcześniej opisana u chorych z zapaleniem stawów. Jej stężenie w surowicy wzrasta u pacjentów z alkoholową chorobą wątroby, koreluje ze stopniem włóknienia oraz stężeniem HA [95].

Do markerów związanych z degradacją macierzy należą: **metaloproteinaza macierzy typu 2 (MMP-2)**, która jest wydzielana przez aktywne komórki gwiaździste w przewlekłych chorobach wątroby i której stężenie wzrasta przy obecności kolagenu typu I, **metaloproteinaza macierzy typu 3 (MMP-3)** oraz **metaloproteinaza macierzy typu 9 (MMP-9)**, wydzielana przez aktywne komórki Kupffera i prawdopodobnie aktywowana przez komórki gwiaździste. Jej stężenie rośnie u chorych z rakiem wątrobowokomórkowym. Istotne znaczenie pełnią także **tkankowe inhibitory 1 i 2 (TIMP-1 i 2)**, które modulują aktywację i działanie metaloproteaz. Inhibitor TIMP-1 kontroluje aktywność większości MMP, TIMP-2 jest specyficznym inhibitorem MMP-2. Wzrost ich stężenia obserwuje się w przewlekłych chorobach wątroby, na przykład w WZW typu C, gdzie koreluje z progresją włóknienia [96].

Do cytokin i chemokin należą: **transformujący czynnik wzrostu beta (TGF-beta)**, **transformujący czynnik wzrostu alfa (TGF-alfa)** oraz **płytkowy czynnik wzrostu (PDGF)**. Czynnik TGF-beta stymuluje wytwarzanie macierzy pozakomórkowej przez komórki gwiaździste. Jego stężenie rośnie wraz ze wzrostem stężenia kolagenu typu I, a spada jako odpo-

wiedź na redukcję aktywności martwiczo-zapalnej w terapii interferonem, co koreluje ze stopniem zaawansowania klinicznego i histopatologicznego w HCV [97]. Czynniki TGF-alfa stymuluje mitozę hepatocytów, odgrywa rolę w hepatokarcynogenezie. Jego stężenie rośnie u chorych z marskością, koreluje ze stężeniem bilirubiny i ze skalą Childa-Pugha oraz stopniem ciężkości dysfunkcji wątroby [98].

Tabela 1.6. Najważniejsze bezpośrednie markery fibrynogenezy i fibrynolizy

Markery związane z odkładaniem się elementów łącznotkankowych w macierzy	Markery związane z degradacją macierzy	Cytokiny
PICP	MMP-2	TGF-beta-1
PIIINP	MMP-9	TGF-alfa
Kolagen typu IV	TIMP-1	PDGF
YKL-40	TIMP-2	
Laminina		
HA		

Wyróżnia się trzy podstawowe panele diagnostyczne oparte na bezpośrednich markerach włóknienia: **FibroSpect II**, który składa się z oceny stężenia kwasu hialuronowego, TIMP-1 i alfa-2-makroglobuliny, **SHASTA**, na który składają się kombinacja stężenia kwasu hialuronowego, AST i albuminy oraz **European Liver Fibrosis panel (ELP)**, który bierze pod uwagę wiek, stężenie kwasu hialuronowego, TIMP-1 oraz PIIINP. Wymienione testy nie są rutynowo stosowane.

1.10.4 Testy oddechowe

Testy oddechowe wykorzystują stabilne izotopy, najczęściej ^{13}C , w celu nieinwazyjnej oceny metabolicznej enzymów i funkcji wątroby, a także jej rezerwy czynnościowej. Substrat wchłania się z przewodu pokarmowego i drogą krążenia wrotnego trafia do wątroby, gdzie jest metabolizowany z uwolnieniem $^{13}\text{CO}_2$, który wraz z izotopem jest wydalany z wydychanym powietrzem i w odpowiednich odstępach czasowych mierzony za pomocą spektrometru masowego. W zależności od miejsca reakcji testy ^{13}C możemy podzielić na: mikrosomalne, cytoplazmatyczne i mitochondrialne (tab. 1.7). Są one rzadko wykorzystywane w diagnostyce klinicznej ze względu na wysoki koszt odczynników oraz aparatury stosowanej do odczytu próbek. Ograniczeniami testów są: płeć, wiek, palenie tytoniu oraz leki wpływające na metabolizm substratu [99].

Najczęściej wykonywanym izotopowym badaniem oddechowym jest **test oddechowy z aminopiryną (Aminopyrine Breath Test)**, w którym znacznik w hepatocytach jest metabolizowany przez monooksygenazy cytochromu P450 do formaldehydu i aminoantypiryny, a formaldehyd do $^{13}\text{CO}_2$. Uzyskane wyniki pozwalają różnicować osoby zdrowe od

pacjentów z przewlekłą chorobą wątroby oraz chorych z włóknieniem od chorych z marskością, u których test ten jest narzędziem prognostycznym wystąpienia ciężkich powikłań (skuteczniejszym niż skala MELD). Nie jest on przydatny w określaniu pośrednich stadiów zaawansowania włóknienia, ale może mieć znaczenie w rozpoznawaniu, monitorowaniu postępu oraz prognozowaniu marskości wątroby u pacjentów z zaawansowanym włóknieniem.

Dobrze przebadanym narzędziem jest także test **oddechowy z metacetyną (Methacetin Breath Test)**, która jest rozkładana przez enzymy cytochromu P450 do acetaminofenu i $^{13}\text{CO}_2$. Test ten wykazuje wyższą czułość i swoistość niż APRI i AST/ALT, dobrze różnicuje pacjentów zdrowych od chorych z zaawansowanym włóknieniem i marskością. Może być przydatny do monitorowania pacjentów oczekujących na przeszczep, jednak podobnie jak test z aminopiryną, nie rozróżnia pośrednich, a zwłaszcza łagodnych i umiarkowanych stadiów włóknienia [100].

Tabela 1.7. Testy oddechowe stosowane w hepatologii

Test	Substrat	Enzym
Mikrosomalny	Aminopiryna	P450 (CYP1A2?, 2C9?, 3A4?)
	Fenacetyna	CYP1A2 (CYP2E1)
	Metacetyna	CYP1A2
	Kofeina	CYP1A2 (CYP2E1, 3A3, 2B6)
	Diazepam	CYP2C19 (CYP3A)
	Erytromycyna	CYP3A (CYP3A4, A5, A7?)
Cytoplazmatyczny	Galaktoza	Galaktokinaza
	Fenylalanina	Hydroksylaza
Mitochondrialny	Kwas alfa-ketokapronowy	Kompleks dehydrogenazy alfa-ketokwasu
	Metionina	Enzymy cyklu Krebsa
	Kwas kapronowy	Enzymy cyklu Krebsa

Przeprowadzono wiele badań w celu znalezienia najskuteczniejszych metod diagnostyki laboratoryjnej i obrazowej procesu włóknienia. Do tej pory żaden z algorytmów nie wydaje się jedynym i właściwym sposobem postępowania. Obserwuje się dynamiczny rozwój zwłaszcza technik diagnostycznych, które dostarczają coraz więcej informacji potrzebnych w praktyce klinicznej. Zgodnie ze stanem aktualnej wiedzy powinno się więc diagnozować i monitorować chorych w sposób kompleksowy, zarówno z użyciem testów laboratoryjnych, jak i badań obrazowych.

2 Cele pracy

Głównym celem pracy jest porównanie przydatności współczynnika dyfuzji (ADC) wyznaczonego na podstawie obrazowania dyfuzji badania MR oraz prędkości fali odkształcenia (SWV) zmierzonej w ultrasonograficznej elastografii wykonanej za pomocą ARFI w ocenie stopnia włóknienia wątroby.

Cele szczegółowe to:

- Ocena przydatności współczynnika dyfuzji (ADC) wyznaczonego na podstawie obrazowania MR w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia wątroby oraz osób zdrowych.
- Ocena przydatności prędkości fali odkształcenia (SWV) zmierzonej w elastografii USG metodą ARFI w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia wątroby oraz osób zdrowych.
- Analiza przydatności współczynnika płytki/śledziona i liczby płytek krwi w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia wątroby.

Hipoteza badawcza:

- Współczynnik dyfuzji wyznaczony na podstawie obrazowania dyfuzji metodą MR i prędkość fali odkształcenia zmierzona w sonoelastografii ARFI umożliwiają ocenę stopnia włóknienia wątroby i pozwalają na różnicowanie osób zdrowych i chorych.
- Współczynnik płytki/śledziona może być przydatnym wskaźnikiem w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia.

3 Materiał i metody

3.1 Ogólna charakterystyka grupy badanej i kontrolnej USG i MR Kryteria włączenia i wyłączenia do grupy badanej oraz przeciwwskazania

W latach 2009-2013 w Zakładzie Radiologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego zbadano 131 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C i/lub B, u których histopatologicznie stwierdzono włóknienie wątroby. Grupę badawczą stanowiło 100 kolejnych pacjentów, którzy spełnili kryteria włączenia do badania omówione poniżej, skierowanych z Kliniki Chorób Zakaźnych i Poradni Hepatologicznej Pomorskiego Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy w Gdańsku. Dla chorych opracowano krótką informację o badaniu, wyjaśniającą także założenia projektu badawczego.

U każdego chorego wykonano biopsję skrawkową wątroby w okresie od 0 do 18 miesięcy przed badaniem i określono histopatologicznie stopień włóknienia według skali Scheuera, gdzie F0 oznacza stan prawidłowy lub pojedyncze włókna kolagenowe w przestrzeniach wrotnych, F1 – włóknienie w obrębie przestrzeni wrotnych, F2 – włóknienie okołowrotne i ewentualnie pojedyncze włóknienie przęsłowe z zachowaniem struktury zrazika, F3 – obecność licznych przęsł włóknistych z zaburzeniem architektониki zrazików, bez odczynu regeneracyjnego, a F4 to rozsiane włóknienie lub marskość. W przypadku pośredniej histopatologicznej oceny stopnia włóknienia przyjmowano wyższą wartość F, na przykład przy ocenie F1/F2 – wartość F2. U wszystkich pacjentów potwierdzono serologiczne markery zakażenia wirusami HBV, HCV lub obydwoma wirusami jednocześnie za pomocą testów enzymatycznych: Cobas CoreTM, Roche Diagnostics GmbH, Germany, zastosowanych zgodnie z zaleceniami producenta. Zakażenie wirusem HCV zostało potwierdzone na podstawie testu RNA (Cobas Amplicor HCV Test ver. 2,0, Roche Diagnostics Inc., USA).

Grupę kontrolną stanowiło 99 osób bez znanej choroby wątroby, z prawidłowymi wynikami badań laboratoryjnych. Kolejni pacjenci kierowani byli na badanie z Kliniki Chorób Zakaźnych i Poradni Hepatologicznej Pomorskiego Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy w Gdańsku oraz Kliniki i Poradni Gastroenterologicznej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku.

Grupę badaną i kontrolną podzielono na dwie podgrupy: USG i MR w zależności od zastosowanej metody oceny wątroby.

Na realizację projektu badawczego uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej ds. Badań Klinicznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Kryteriami włączenia do grupy badanej były: uzyskanie pomiarów założonych parametrów: ADC i SWV, wyrażenie świadomej pisemnej zgody na udział w projekcie i ocenę radiologiczną wątroby, aktualne wyniki badań laboratoryjnych i histopatologicznych wątroby, a także morfologii krwi oraz brak przeciwwskazań do wykonania USG i MR.

Kryteria wyłączenia z grupy badanej obejmowały: brak uzyskania pomiarów założonych parametrów (w MR obecność artefaktów uniemożliwiających ocenę współczynnika ADC minimum na 5 skanach, w USG brak uzyskania 10 pomiarów SWV), brak wyrażenia świadomej pisemnej zgody na udział w projekcie, przeciwwskazania do wykonania USG lub MR oraz brak badań laboratoryjnych i histopatologicznych wątroby i morfologii krwi.

Nie ma jednoznacznych **przeciwwskazań względnych i bezwzględnych do wykonania USG**. Mówi się o utrudnieniu badania w razie nieprzygotowania (gdy chory nie jest na czczo) i braku współpracy ze strony pacjenta (brak możliwości wstrzymania oddechu przy wykonywaniu pomiaru) oraz o problemach z oceną spowodowanych otyłością, rozdęciem pętli jelitowych, świeżymi ranami i drenami.

Przeciwwskazania względne i bezwzględne do badania MR dotyczą chorych: z wszczepionymi stymulatorami/kardiowerterami-defibrylatorami serca, po zabiegach z założonymi klipsami z metali ferromagnetycznych, po wszczepieniu implantów ślimakowych oraz urządzeń elektrycznych, elektronicznych, pomp infuzyjnych, z wewnątrzczodołowymi metalicznymi ciałami obcymi, cierpiących na klaustrofobię, pobudzonych i niespokojnych, z ruchami mimowolnymi, w ciężkim stanie ogólnym, w ciąży (bezwzględne przeciwwskazanie w I trymestrze), ze znacznym upośledzeniem funkcji nerek w przypadku konieczności podania środków kontrastujących.

3.1.1 Charakterystyka grupy USG

Charakterystyka grupy badanej USG

U 40 chorych miąższ wątroby oceniono w elastografii ultrasonograficznej (sonoelastografii) metodą ARFI, polegającą na obrazowaniu odkształceń struktur wewnątrztkankowych z wykorzystaniem technologii *Virtual Touch Tissue Imaging* przy użyciu aparatu Siemens Acuson 2000. Dokonano pomiaru względnej elastyczności tkanek na podstawie wartości średniej dla 10 pomiarów prędkości SWV. Grupa składała się z 21 kobiet (52,50%) i 19 mężczyzn (47,50%) w wieku od 23 do 72 lat (średnia: 48,12 roku, odchylenie standardowe (SD, *standard deviation*) wynosiło 11,29). Charakterystykę grupy kontrolnej ze względu na wiek i płeć przedstawiono w tabeli 3.1.

Tabela 3.1. Charakterystyka grupy badanej pod względem wieku i płci

	N	%	WIEK			
			Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Kobiety	21	52,5	49,1	10,3	26,4	70
Mężczyźni	19	47,5	46,9	12,4	22,9	71,5
Razem	40	100	48,12	11,29	23	72

Wśród badanych 30 chorych było zakażonych wirusem HCV (75%), 8 – wirusem HBV (20%), a u 2 chorych stwierdzono jednoczesne zakażenie HCV i HBV (5%). Charakterystykę pacjentów ze względu na etiologię zapalenia wątroby przedstawiono w tabeli 3.2.

Tabela 3.2. Charakterystyka grupy badanej USG pod względem etiologii zapalenia wątroby

Rodzaj infekcji wirusowej	Liczba chorych	Odsetek (%)
HCV	30	75
HBV	8	20
HCV + HBV	2	5

3.1.2 Charakterystyka grupy kontrolnej USG

Grupa kontrolna USG liczyła 40 osób. Warunkiem włączenia do programu w tej grupie były prawidłowe parametry wątrobowe (ALT, AST, GGT, bilirubina) oznaczone w surowicy krwi, prawidłowa morfologia krwi i negatywny wywiad w kierunku chorób wątroby. Badaniem objęto pacjentów z Kliniki Gastroenterologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego oraz 9 zdrowych ochotników. W grupie kontrolnej nie wykonano biopsji. Wśród uczestników było 25 kobiet (62,50%) i 15 mężczyzn (37,50%) w wieku od 19 do 84 lat (średnia: 47,20 roku, odchylenie standardowe SD: 18,6). Charakterystykę ze względu na wiek i płeć przedstawiono w tabeli 3.3.

Tabela 3.3. Charakterystyka grupy kontrolnej USG pod względem wieku i płci

	N	%	WIEK			
			Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Kobiety	25	62,5	51,4	19,8	19	84
Mężczyźni	15	37,5	40,2	14,3	21	65
Razem	40	100	47,20	18,6	19	84

3.2 Charakterystyka grupy MR

3.2.1 Charakterystyka grupy badanej MR

W grupie badanej liczącej 60 chorych oceniono wątrobę metodą rezonansu magnetycznego z obrazowaniem dyfuzyjnym. Określono współczynnik dyfuzji dla różnych wartości czynnika b: 0-15, 0-30, 0-100, 0-300, 0-500 s/mm². Grupę badaną stanowiło 28 kobiet (46,67%) i 32 mężczyzn (53,33%) w wieku od 18 do 84 lat (średnia: 53,77 roku, SD: 12,87). Charakterystykę ze względu na wiek i płeć przedstawiono w tabeli 3.4.

Tabela 3.4. Charakterystyka grupy badanej MR pod względem wieku i płci

	N	%	WIEK			
			Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Kobiety	28	46,67	56	9,3	25	74
Mężczyźni	32	53,33	51,6	13,1	18	84
Razem	60	100	53,7	11,66	18,00	84,00

Wśród badanych 53 pacjentów było zakażonych wirusem HCV (88,33 %), 6 osób wirusem HBV (10%), a u 1 chorego stwierdzono jednoczesne zakażenie wirusami HCV i HBV (1,67%). Charakterystykę chorych ze względu na etiologię zapalenia wątroby przedstawiono w tabeli 3.5.

Tabela 3.5. Charakterystyka grupy badanej MR pod względem etiologii zapalenia wątroby

Rodzaj infekcji wirusowej	Liczba chorych	Odsetek (%)
HCV	53	88,33
HBV	6	10,00
HCV + HBV	1	1,67

3.2.2 Charakterystyka grupy kontrolnej MR

Grupę kontrolną stanowiło 59 pacjentów z prawidłowymi parametrami wątrobowymi, u których badanie MR wykonano z powodu podejrzenia łagodnych zmian w wątrobie. W skład grupy weszło 20 mężczyzn (33,89%) i 39 kobiet (66,10%) w wieku od 24 do 81 lat (średnia: 53,61 roku, SD: 13,6). Charakterystykę ze względu na wiek i płeć przedstawiono w tabeli 3.6.

Tabela 3.6. Charakterystyka grupy kontrolnej MR pod względem wieku i płci

	N	%	WIEK			
			Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Kobiety	39	66,10	52,6	13,6	24	76
Mężczyźni	20	33,89	55,4	13,7	24	81
Razem	59	100	53,61	13,62	24	81

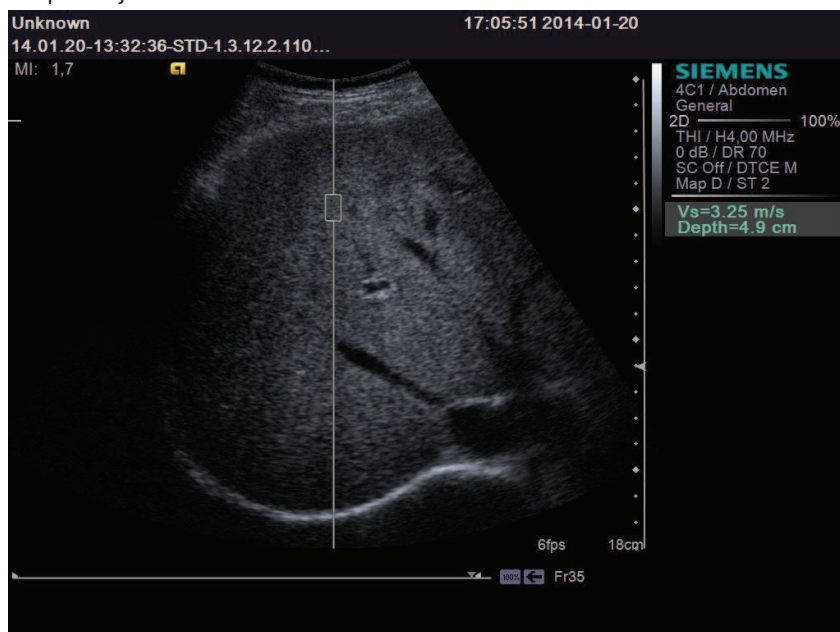
3.3 Metodyka badań

3.3.1 Elastografia USG wątroby metodą ARFI

Badanie sonoelastograficzne wątroby wykonano za pomocą ARFI, czyli metodą obrazowania odkształceń struktur wewnątrztkankowych przy użyciu aparatu Acuson 2000 (Siemens Medical Solutions), z wykorzystaniem technologii *Virtual Touch Tissue Imaging* oraz głowicy typu convex C1 o częstotliwości 4 MHz w trakcie prezentacji B w czasie rzeczywistym (ryc. 3.1). Chorzy kierowani byli z Poradni Hepatologicznej Pomorskiego Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy w Gdańsku. W dniu badania zgłaszali się na czczo (minimum 8 godzin bez jedzenia). Sonoelastografię wątroby poprzez przestrzenie międzyżebrowe wykonywano u pacjentów leżących na plecach, z podniesionym i ułożonym swobodnie pod głową prawym ramieniem, w pozycji umożliwiającej oddychanie. Obejmowało ono prawy płac wątroby w celu uzyskania standaryzacji i porównania z wynikiem MR. Badanie poprzedzała rutynowa ocena ultrasonograficzna wątroby i innych narządów jamy brzusznej. Obszar ROI o kształcie cylindra i wymiarach 0,5 cm długości, 0,4 cm szerokości ustawiono manualnie 5,5-6 cm poniżej powierzchni skóry, około 2 cm poniżej torebki wątroby, omijając naczynia krwionośne, drogi żółciowe i zmiany ogniskowe. U każdego chorego wykonano 10 pomiarów prędkości fal odkształcenia w ROI, na krótkim bezdechu. Wynik uzyskany w metrach na sekundę stanowił średnią 10 pomiarów SWV. Doktorantka starała się, aby ROI znajdował się centralnie pod środkową częścią głowicy. Następnie mierzono najdłuższy wymiar śledzony (w mm). Analizowano także współczynnik płytki/śledzona i liczbę płytek krwi dla każdego chorego.

Rycina 3.1. Elastografia USG metodą ARFI

Chory z zaawansowanym włóknieniem w pozycji leżącej na plecach, z odchylną prawą kończyną górną. Głowica ultrasonograficzna przyłożona poprzez międzyżebra. Bramka ROI umieszczona w prawym płacie wątroby, 2 cm poniżej torebki.



3.3.2 Badanie MR wątroby z obrazowaniem zależnym od dyfuzji

Badanie MR wątroby wykonano aparatem 1,5 T (Signa Horizon LX, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA), przy użyciu 8-kanalowej cewki powierzchniowej dedykowanej do diagnostyki jamy brzusznej – torsopa (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA). Obejmowało ono sekwencje SPGR (TR/TE ms – 160/6) i TSE (2500/100) w obrazach T1 i T2-zależnych, w płaszczyźnie poprzecznej i czołowej, bez podania środka kontrastującego, a także sekwencje z saturacją tkanki tłuszczowej: FSE BH + FatSat (2320/97,1) oraz fSPGR (160/6) (ryc. 2.3). Grubość warstwy wynosiła 5 mm, odległość między warstwami (*gap*) – 1 mm, FOV – 40 x 35 cm, matryca – 256 x 256 oraz 128 x 256.

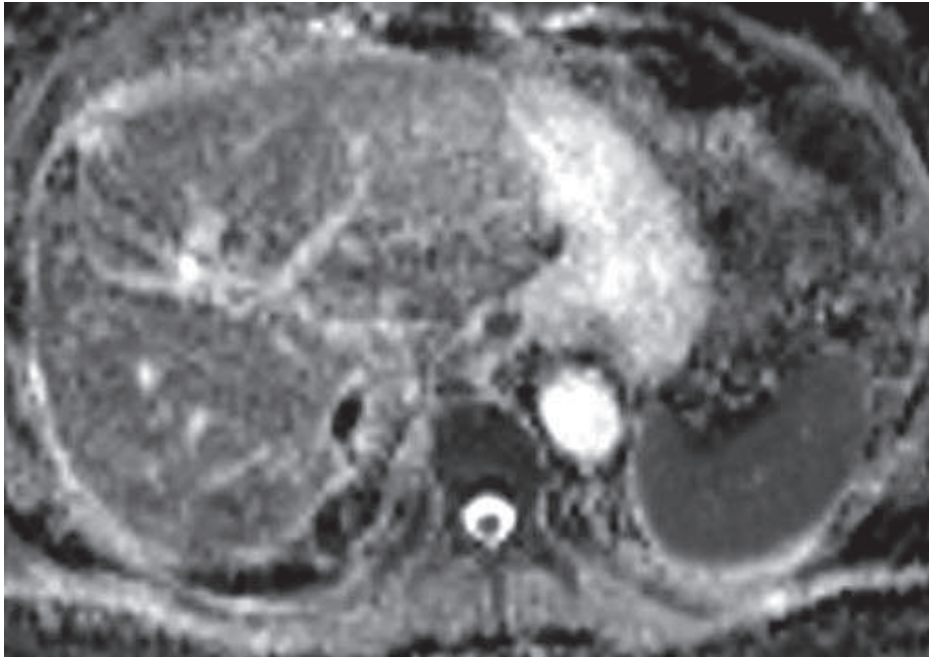
Obrazowanie zależne od dyfuzji zostało wykonane przy użyciu sekwencji echa planarnego w płaszczyźnie poprzecznej (*transverse echo planar imaging*) przy różnych wartościach parametru b: 0-15; 0-30; 0-100, 0-300; 0-500 (s/mm²). Średnia intensywność sygnału wątroby była obliczana przy użyciu konsoli stacji diagnostycznej AW 4.4 (Advantage Windows, General Electric Medical System, WI, USA) na podstawie trzech różnych pomiarów, poprzez ręczne ustawienie ROIs na pięciu kolejnych skanach w obrębie tylnych segmentów prawego płata wątroby, z dala od dużych naczyń i zmian ogniskowych. Pole ROI wynosiło 1,5–2 cm. Uzyskiwano ilościowe pomiary ADC w ROI ręcznie umieszczonych na mapach DWI. Mierzono ADC tylko na dobrej jakości obrazach, w jednorodnym obszarze parenchymy, wolnym od artefaktów związanych z chemicznym przesunięciem i podatnością magnetyczną.

W płaszczyźnie czołowej w obrazach T2-zależnych mierzono najdłuższy wymiar śledzony (mm). Znając liczbę płytek, wyznaczano stosunek płytki/długość śledzony wg wzoru:

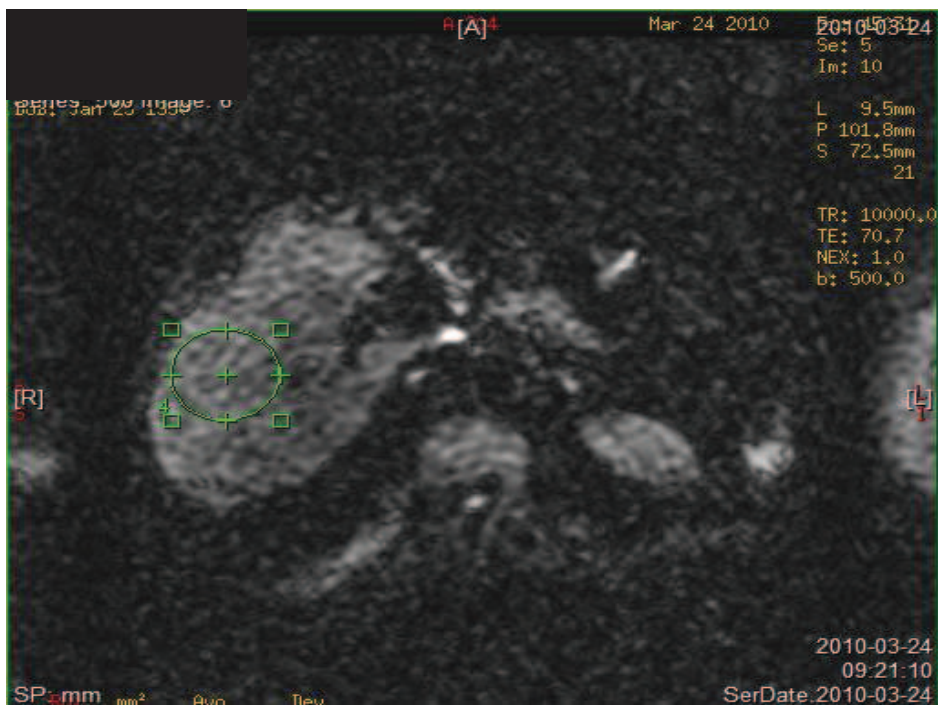
$$\frac{\text{ilość płytek} \left(\frac{10^3}{\text{mm}^3} \right)}{\text{najdłuższy wymiar śledzony (mm)}}$$

Rycina 3.2. Obrazowanie MR zależne od dyfuzji

Chory z marskością wątroby. Mapa ADC dla $b = 500 \text{ [s/mm}^2\text{]}$. Obserwujemy niski sygnał wątroby.



Pacjent z grupy kontrolnej. Pomiar wartości ADC w ROI dla $b = 500 \text{ [s/mm}^2\text{]}$.



3.4 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu STATISTICA 10.0 (licencja GUMed). W pierwszym etapie procedury oceniano badane zmienne pod kątem rozkładu danych i typu rozkładu wartości, używając testu Kołmogorova-Smirnova i Shapiro-Wilka, który pozwolił na sprawdzenie hipotezy o normalności ich rozkładu.

W celu porównania wartości cech ilościowych pomiędzy badanymi grupami zastosowano analizę wariancji ANOVA wraz z analizą post-hoc. Testy te służą do porównania różnic zmiennych ilościowych dla więcej niż dwóch grup. Przykładem może być porównanie poszczególnych podgrup według stopnia włóknienia F, porównanie wartości SWV w zależności od stopnia włóknienia F określonego w biopsji, wykazanie różnic w wieku, ilości płytek, wartości wskaźnika płytki/śledziona u chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji.

Test U-Manna Whitneya zastosowano dla porównania różnic zmiennych ilościowych pomiędzy dwoma grupami (sprawdzenie analizy post-hoc ANOVA, porównanie grupy badanej i kontrolnej, wykazanie różnic w wartości SWV w zależności od płci, różnic wieku w zależności od płci, porównanie średniej wartości współczynnika ADC, wskaźnika płytki/śledziona, ilości płytek, najdłuższego wymiaru śledziona w grupie badanej i kontrolnej).

Zależności pomiędzy zmiennymi jakościowymi oceniono testem Chi2 i testem różnic pomiędzy dwoma składnikami struktury (odsetki oraz liczebność). Oceny zależności pomiędzy dwiema zmiennymi ilościowymi dokonano przy użyciu analizy korelacji Pearsona i przedstawiano ją za pomocą współczynnika korelacji (np. analiza korelacji wieku z wartością SWV, analiza korelacji wartości SWV z wartością ALT).

W celu określenia skuteczności percepcji wnioskowania w obrazowaniu MR zależnym od dyfuzji i elastografii USG metodą ARFI w ocenie włóknienia wątroby przeprowadzono analizę ROC, wykorzystując zestaw medyczny programu STATISTICA. Wyznaczano wartości prawdziwie dodatnie, prawdziwie ujemne, fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne oraz czułości, swoistości, wartości predykcyjne dodatnie, wartości predykcyjne ujemne, iloraz wiarygodności wyniku dodatniego, iloraz wiarygodności wyniku ujemnego i dokładność. Wartość punktu odcięcia oceniano na podstawie czułości i swoistości oraz krzywej ROC.

Zmienne ilościowe opisywano za pomocą średniej (mediany) oraz odchylenia standardowego (zakresu górnego i dolnego kwartyła). Wyniki analizy przedstawiono na wykresach ramkawy za pomocą mediany wraz z zakresem górnego i dolnego kwartyła oraz minimum i maksimum wyników. Wartość statystyki $p \leq 0,05$ przyjęto za istotność statystyczną.

4 Wyniki

4.1 Obrazowanie za pomocą elastografii USG (ARFI)

4.1.1 Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem wieku i płci

Grupy badana i kontrolna były porównywalne pod względem rozkładu płci ($p = 0,29$), nie różniły się także ze względu na wiek ($p = 0,92$). Porównanie grup pod względem płci przedstawiono w tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Porównanie rozkładu płci pomiędzy grupą badaną USG a grupą kontrolną

GRUPA	KOBIETY	MĘŻCZYŹNI	OGÓŁEM
BADANA	21	19	40
KONTROLNA	25	15	40
BADANA (%)	45,65	55,88	
KONTROLNA (%)	54,35	44,12	
OGÓŁEM	46	34	80

4.1.2 Charakterystyka grupy badanej pod względem stopnia włóknienia określonego histopatologicznie w biopsji skrawkowej

W grupie badanej u 3 chorych (7,5%) występowało włóknienie wątroby określone w biopsji jako F0, u 13 chorych (32,5%) jako F1, u 14 chorych (35%) jako F2, u 7 chorych (17,5%) jako F3 oraz u 3 chorych (7,5%) jako F4. Charakterystykę pacjentów ze względu na stopień włóknienia przedstawiono w tabeli 4.2.

Tabela 4.2. Charakterystyka grupy badanej pod względem stopnia włóknienia określonego w biopsji

Stopień włóknienia	Liczba chorych	Odsetek (%)
F0	3	7,50
F1	13	32,50
F2	14	35,00
F3	7	17,50
F4	3	7,50

4.1.3 Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem prędkości fali odkształcenia, ilości płytek (PLT), najdłuższego wymiaru śledziona, wskaźnika płytki/śledziona, wartości aminotransferazy alaninowej (ALT)

Pomiędzy grupami badaną i kontrolną wykazano znamienne statystycznie różnice w wartości wszystkich ocenianych parametrów:

- A. SWV (m/s)
- B. ilości płytek (G/l)
- C. najdłuższego wymiaru śledziona (w mm)
- D. wskaźnika płytki/śledziona
- E. wartości aminotransferazy alaninowej

Dane przedstawiono w tabeli 4.3.

Tabela 4.3. Porównanie grupy badanej i kontrolnej USG pod względem średnich wartości parametrów: SWV, PLT, najdłuższego wymiaru śledziona, wskaźnika płytki/śledziona, ALT

	Średnia	Średnia	SD	SD	
	Grupa		Grupa		
Parametr	badana	kontrolna	badana	kontrolna	P
SWV: m/s	2,174	1,551	0,6871	0,451	0,000038
PLT: G/l	201,250	281,725	62,7374	93,353	0,000013
śledziona w mm	99,375	89,075	19,1655	13,308	0,003040
Wskaźnik plt/śledz	2023,925	3179,125	766,1500	1096,387	0,000001
ALT	72,400	22,725	61,4382	15,507	0,000000

W grupie badanej uzyskano znamienne wyższe wartości SWV ze średnią 2,17 m/s w porównaniu do grupy kontrolnej ze średnią wartością SWV: 1,55 m/s, ($p = 0,000038$).

W grupie badanej stwierdzono znamienne niższe ilości płytek krwi: 201,2 G/l w porównaniu do grupy kontrolnej, w której uzyskano wartości: 281,7 G/l, ($p = 0,000013$).

W grupie badanej stwierdzono znamienne wyższe wartości najdłuższego wymiaru śledziona ze średnią: 99,3 mm w porównaniu do grupy kontrolnej: 89 mm, ($p = 0,003007$).

W grupie badanej stwierdzono znamienne niższe wartości wskaźnika płytki/śledziona: 2023,9 w porównaniu do grupy kontrolnej, w której uzyskano wartość: 3179,1 ($p = 0,000001$).

W grupie badanej stwierdzono znamienne wyższe wartości aminotransferazy alaninowej ze średnią wartością: 72,4 w porównaniu do grupy kontrolnej, w której uzyskano wartość: 22,7, ($p = 0,000000$).

4.1.4 Różnicowanie osób zdrowych i z włóknieniem wątroby na podstawie wartości SWV – analiza skupień

Przeprowadzono analizę skupień ze względu na rozkład wartości SWV w grupie USG (badanej łącznie z kontrolną). Na podstawie wcześniejszego porównania oraz przy założeniu, że chorzy charakteryzują się wyższymi wartościami SWV wyodrębniono 2 podgrupy. Podgrupę I o wyższych wartościach SWV roboczo potraktowano jako chorych, podgrupę II jako zdrowych:

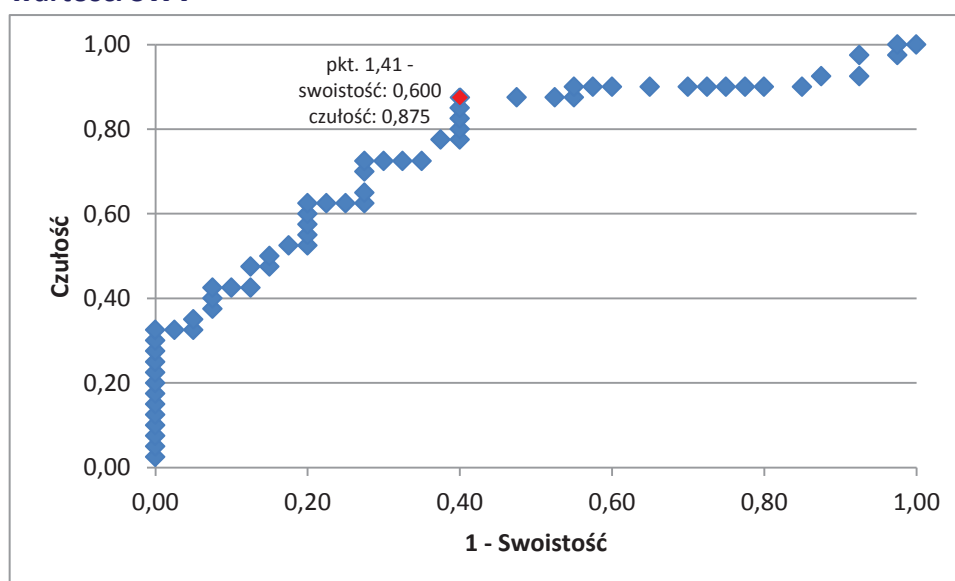
- I. O średniej wartości 2,6 m/s – 30 osób
- II. O średniej wartości 1,4 m/s – 50 osób

Analiza wykazała, że 8 badanych z grupy kontrolnej miało wysokie wartości SWV (w stosunku do ogólnego rozkładu w całej grupie: chorych i kontrolnej analizowanych łącznie) i znalazło się w podgrupie I. Fakt ten należy powiązać z innymi (pozawątrobowymi) patologiami wpływającymi na podwyższenie wartości SWV. Natomiast 18 badanych z grupy „chorych” o najniższych wartościach SWV przyporządkowano do podgrupy II – zdrowych.

4.1.5 Różnicowanie osób zdrowych i z włóknieniem wątroby na podstawie wartości SWV – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC

Przeprowadzono analizę skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC pomiaru SWV dla różnicowania grupy osób zdrowych i z włóknieniem, co przedstawiono na wykresie 4.1. Jako punkt odcięcia przyjęto wartość SWV: 1,41 m/s (czułość: 0,875, swoistość: 0,600, AUC: 0,768).

Wykres 4.1. Różnicowanie osób zdrowych od osób z włóknieniem na podstawie pomiaru wartości SWV



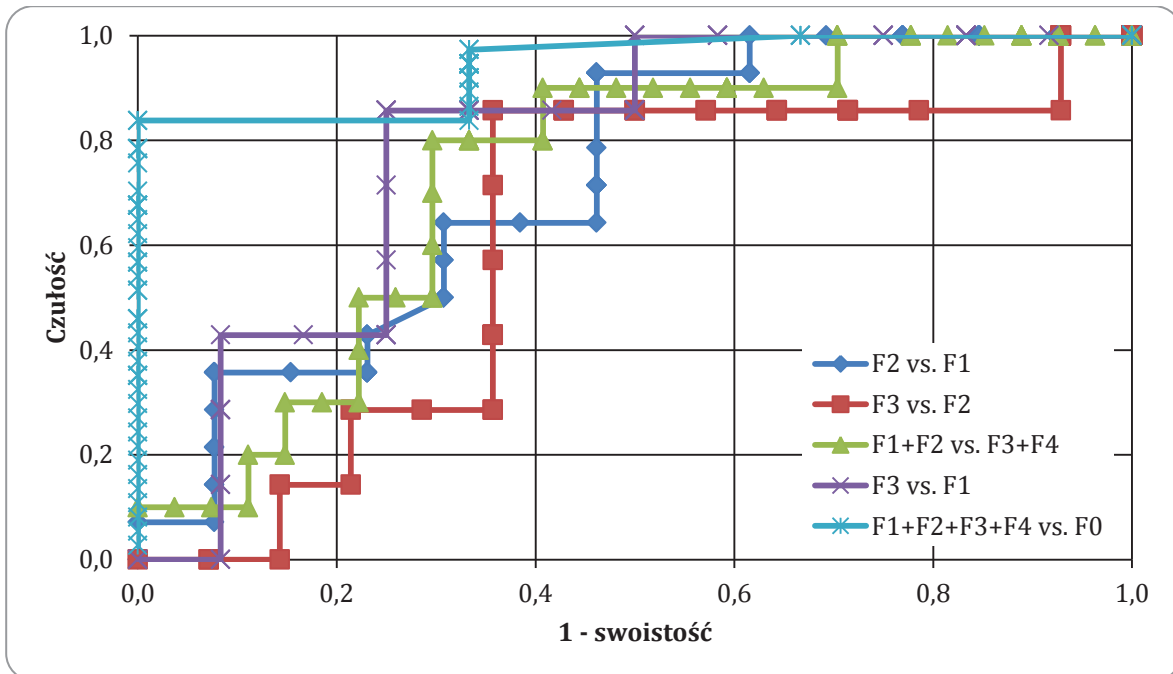
4.1.6 Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie pomiaru SWV – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC

Wykonano analizę skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru SWV w zależności od wartości punktów odcięcia dla poszczególnych podgrup włóknienia:

- F1 + F2 vs F3 + F4 – punkt odcięcia to wartość SWV: 2,32 m/s (czułość: 0,704; swoistość: 0,800; AUC: 0,730)
- F2 vs F1 – punkt odcięcia to wartość SWV: 1,67 m/s (czułość: 0,929; swoistość: 0,500; AUC: 0,705)
- F3 vs F1 – punkt odcięcia to wartość SWV: 2,32 m/s (czułość: 0,857; swoistość: 0,750; AUC: 0,786)
- F3 vs F2 – punkt odcięcia to wartość SWV: 2,4 m/s (czułość: 0,857; swoistość: 0,643; AUC: 0,612)
- F3 vs F4 – nie udało się oszacować najlepszej wartości SWV punktu odcięcia, przy którym czułość i swoistość będzie miała jednocześnie wysoką wartość
- F1 + F2 + F3 + F4 vs F0 – punkt odcięcia to wartość SWV: 1,55 m/s (czułość: 0,838; swoistość: 1,000; AUC: 0,941)

Dane przedstawiono na wykresie 4.2.

Wykres 4.2. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru SWV dla poszczególnych podgrup włóknienia.



Wykonana analiza wykazała wysoką skuteczność wnioskowania (94%) o obecności włóknienia (F1 + F2 + F3 + F4) lub jego braku (F0) w różnicowaniu pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby. Zaobserwowano także wysoką czułość (84%) i swoistość (100%). Wysoką sku-

teczność wnioskowania (79%) na podstawie pomiaru SWV wykazano również w różnicowaniu niewielkiego (F1) od zaawansowanego włóknienia (F3) z czułością: 86% i swoistością: 75% oraz dość wysoką w różnicowaniu niewielkiego i umiarkowanego włóknienia (F1 + F2) od zaawansowanego (F3 + F4): 73%, z czułością: 70% i swoistością: 80%. Niską skuteczność elastografii USG wykazano dla różnicowania podgrup: F1 vs F2 (70%) i F3 vs F2 (61%) przy dość wysokiej czułości – odpowiednio: 93 i 86% oraz niskiej swoistości – odpowiednio: 50 i 64%. Ze względu na małą liczebność nie udało się zróżnicować grupy F3 od F4.

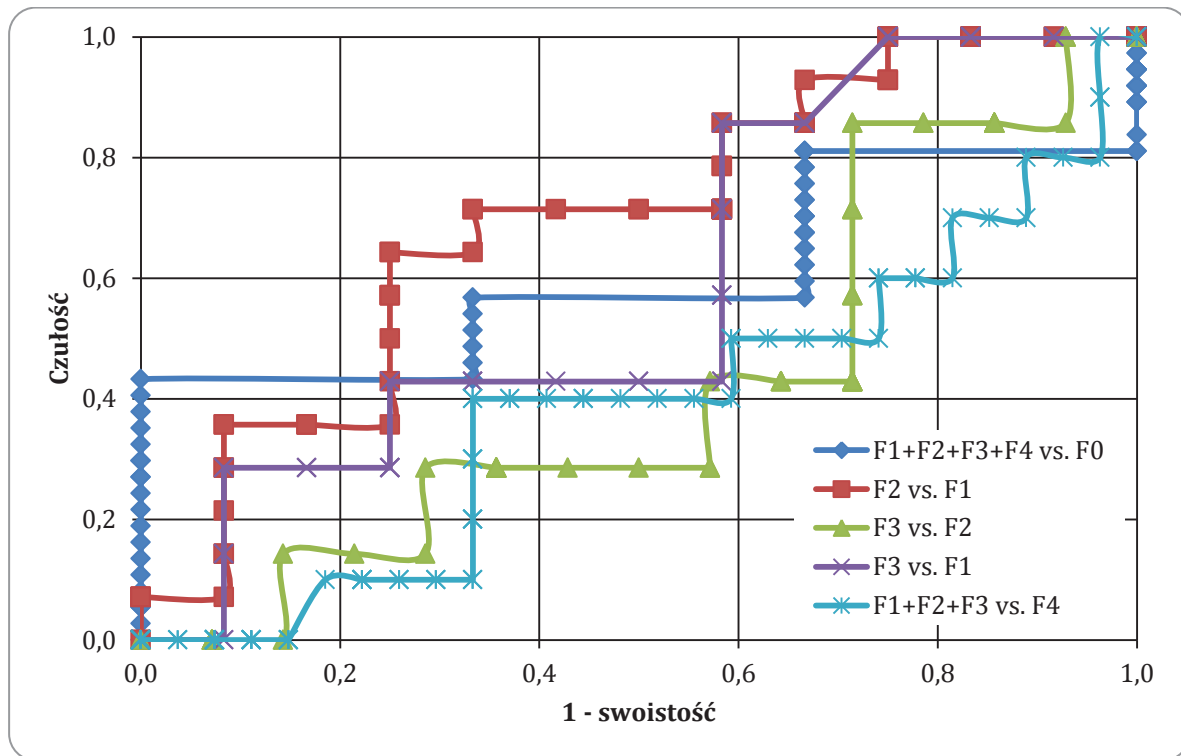
4.1.7 Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie wartości wskaźnika płytki/śledziona - analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC

Przeprowadzono analizę skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC w zależności od wartości wskaźnika płytki/śledziona dla poszczególnych podgrup włóknienia:

- a) F1 + F2 + F3 + F4 od F0 – punkt odcięcia to wartość 1814 (czułość: 0,432; swoistość: 1,000; AUC: 0,604)
- b) F2 od F1 – punkt odcięcia to wartość 1964 (czułość: 0,643; swoistość: 0,750; AUC: 0,696)
- c) F3 od F1 – punkt odcięcia to wartość 2585,5 (czułość: 0,857; swoistość: 0,417; AUC: 0,589)
- d) F3 od F2 – punkt odcięcia to wartość 2541 (czułość: 0,857; swoistość: 0,286; AUC: 0,418).
- e) F1 + F2 + F3 vs F4 – punkt odcięcia to wartość 500 (czułość: 0,029; swoistość: 1,000; AUC: 0,108).

Dane przedstawiono na wykresie nr 4.3.

Wykres 4.3. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC wskaźnika płytki/śledziona dla poszczególnych podgrup włóknienia.

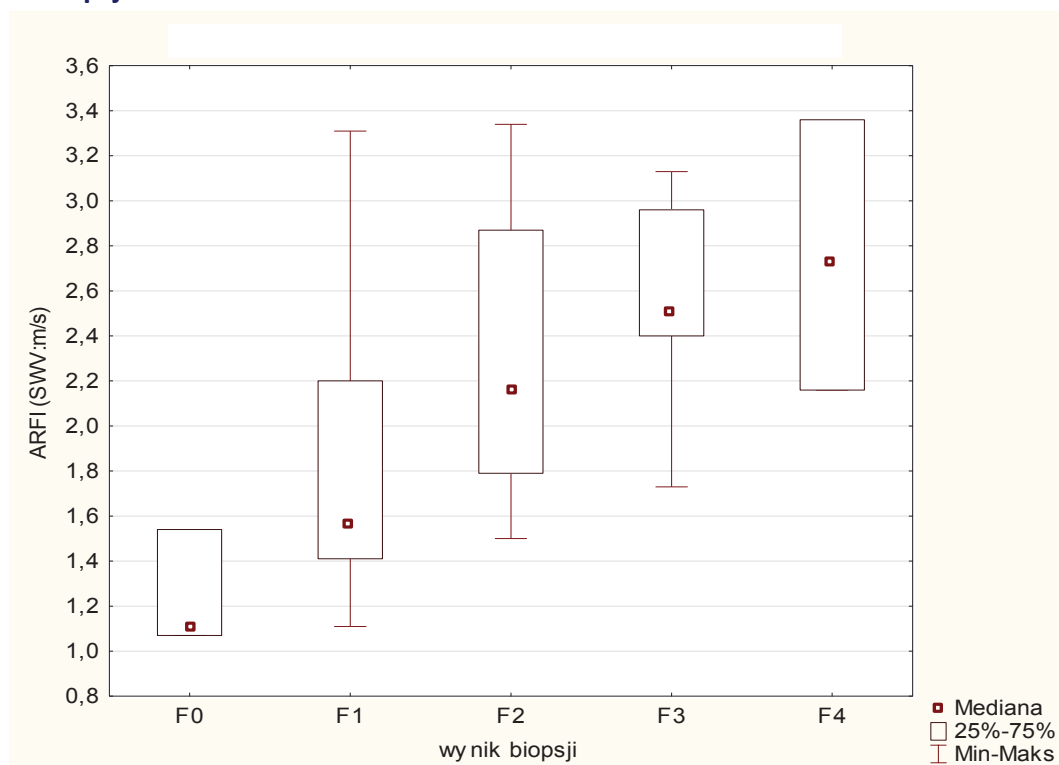


Wykonana analiza wykazała dość niską skuteczność wnioskowania (42-70%) o poszczególnych stopniach włóknienia za pomocą wskaźnika płytki/śledziona z czułością 3-86% i znacznym rozrzutem wyników swoistości: 29-100%. Najwyższą skuteczność zanotowano w różnicowaniu F1 od F2 – prawie 70%.

4.1.8 Analiza różnic i korelacji w grupie badanej

Analiza wykazała istotne statystycznie różnice w wartości SWV w zależności od stopnia włóknienia określonego w biopsji, co przedstawiono na wykresie 4.4. ($p = 0,0057$).

Wykres 4.4. Porównanie wartości SWV w zależności od stopnia włóknienia (F) określonego w biopsji

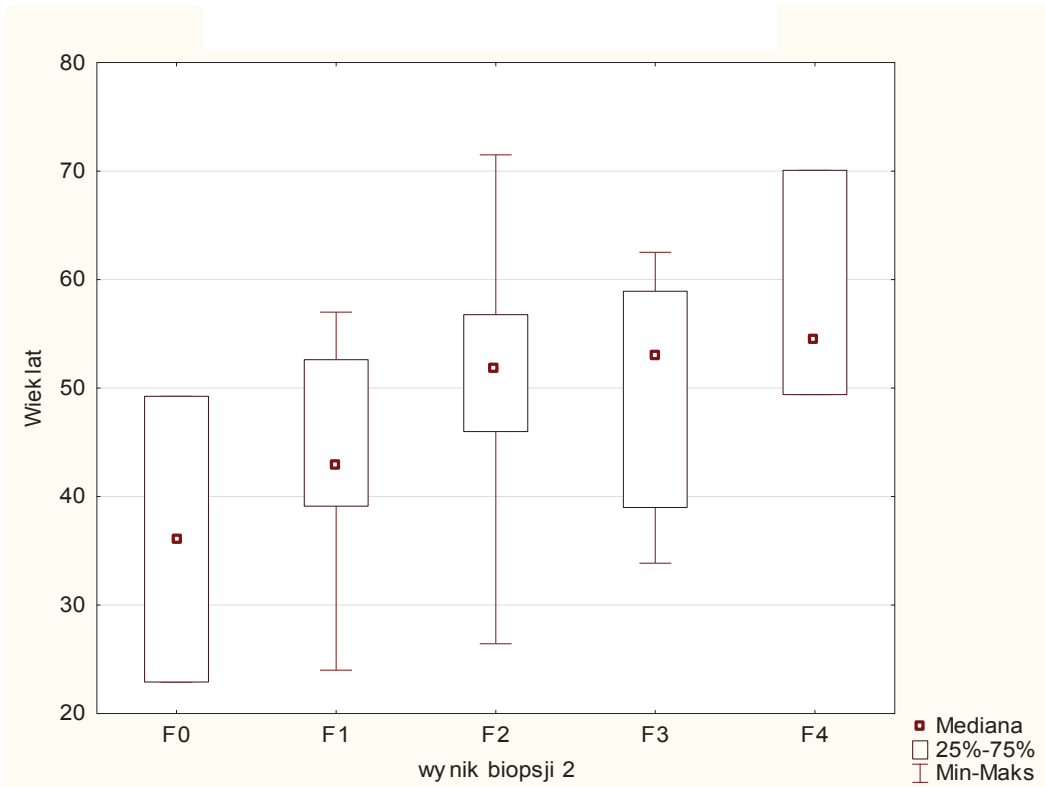


Analiza wykazała różnice istotne statystycznie w prędkości SWV pomiędzy F0 vs F2 ($p = 0,006$), F0 vs F3 ($p = 0,002$) i F0 vs F4 ($p = 0,003$). Różnice istotne statystycznie w prędkości SWV wykazano także pomiędzy F1 vs F2 ($p = 0,049$), F1 vs F3 ($p = 0,020$), F1 vs F4 ($p = 0,027$) oraz pomiędzy F2 vs F0 ($p = 0,006$) i F2 vs F1 ($p = 0,049$). Nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy podgrupami F0 vs F1, F2 vs F3, F2 vs F4 oraz F3 vs F4.

Na podstawie analizy wykazano różnice istotne statystycznie i na granicy istotności w wieku chorych, ilości płytek, wskaźniku płytki/śledziona oraz wartości aminotransferazy alaninowej pomiędzy poszczególnymi stopniami włóknienia F:

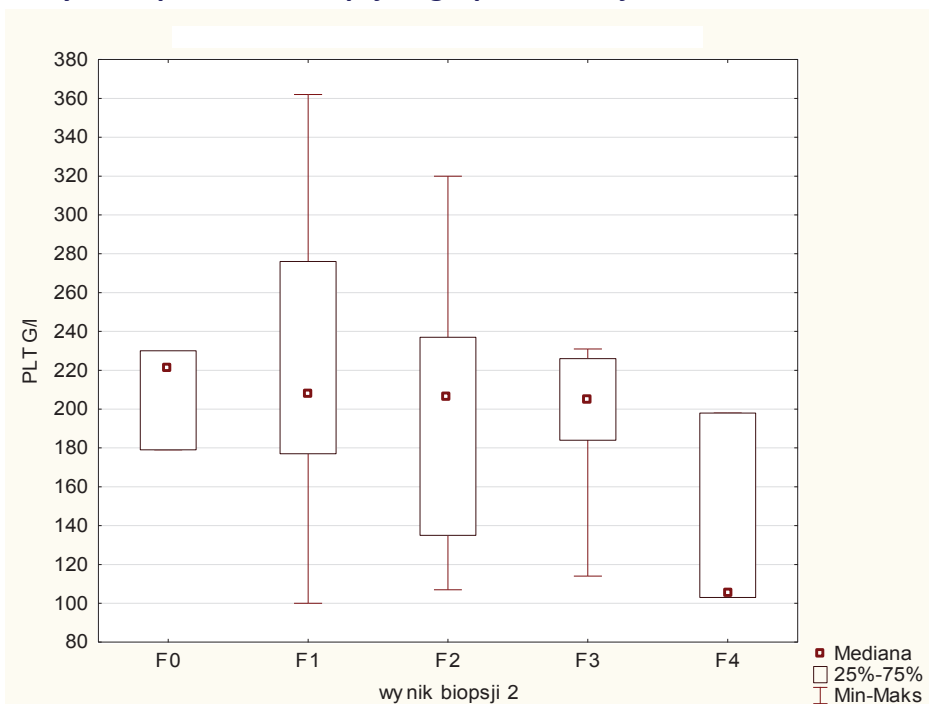
A) Różnica istotna statystycznie w wieku dotyczyła podgrup włóknienia: F0 vs F2 ($p = 0,039$) i F0 vs F4 ($p = 0,016$), co obrazuje wykres 4.5.

Wykres 4.5. Różnice w wieku chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji w grupie badanej



B) Różnica istotna statystycznie w ilości płytek dotyczyła podgrupy F1 vs F4 ($p = 0,033$), co przedstawiono na wykresie 4.6.

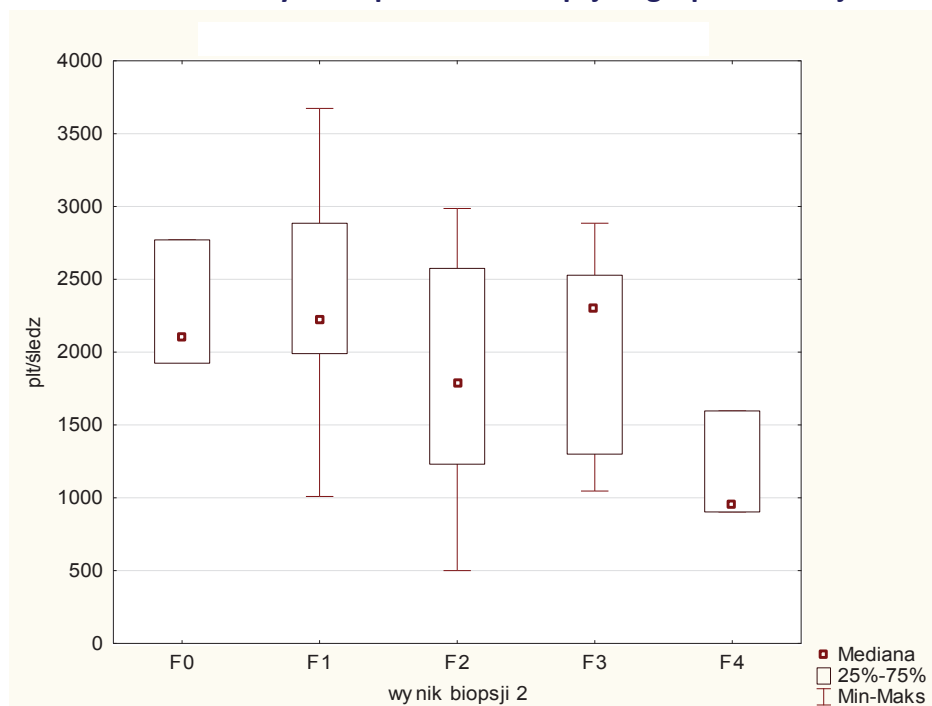
Wykres 4.6. Różnica w ilości płytek u chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji w grupie badanej



Wykazano także różnicę istotną statystycznie w ilości płytek pomiędzy podgrupami F0 + F1 + F2 + F3 vs F4 ($p = 0,028$), co umożliwia na podstawie tego parametru odróżnianie chorych z marskością od osób zdrowych i z włóknieniem.

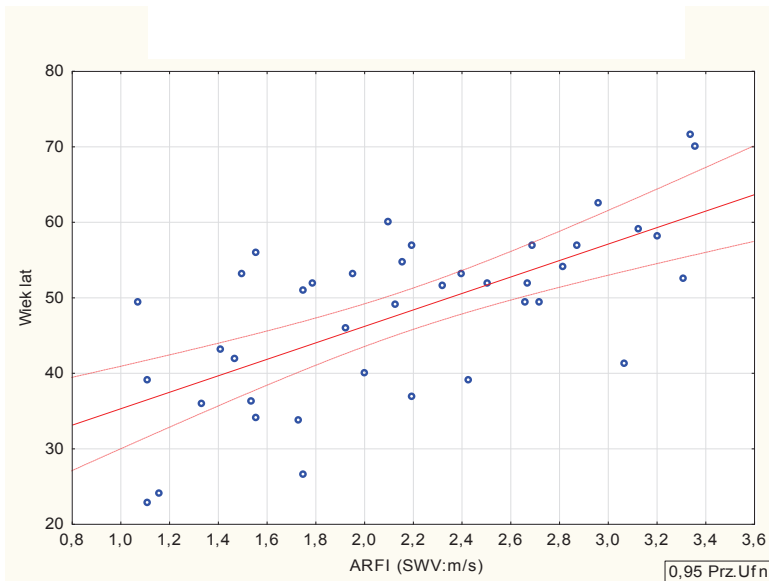
C) Różnica istotna statystycznie we wskaźniku płytki/śledziona dotyczyła podgrupy F1 vs F4 ($p = 0,012$), co przedstawiono na wykresie 4.7.

Wykres 4.7. Różnice wskaźnika płytki/śledziona u chorych z poszczególnymi stopniami włóknienia określonymi na podstawie biopsji w grupie badanej



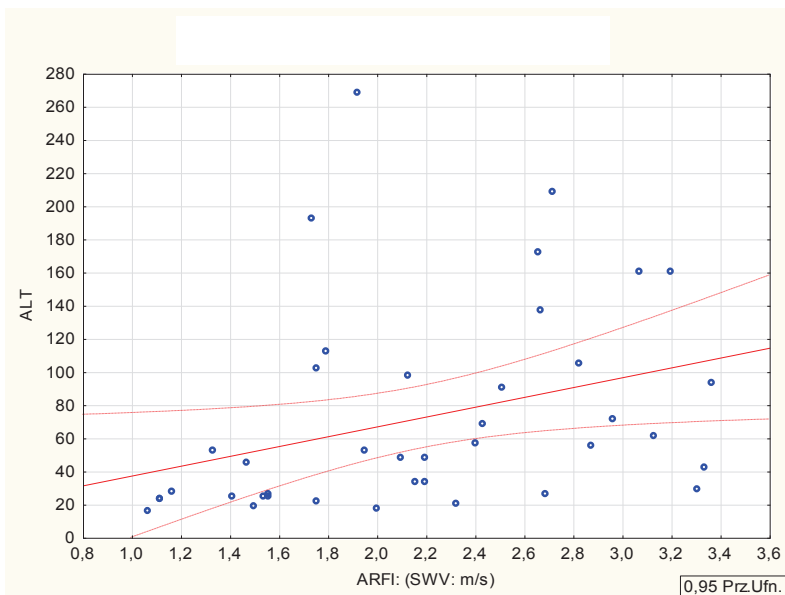
W analizie korelacji wieku i płci z badanymi parametrami: SWV, ilość płytek, najdłuższy wymiar śledziony, wskaźnik płytki/śledziona oraz wartość aminotransferazy alaninowej wykazano dodatnią korelację wieku z wartością SWV (współczynnik korelacji: 0,66), to znaczy wraz z wiekiem rosła wartość SWV. Zależność tę przedstawiono na wykresie 4.8.

Wykres 4.8. Analiza korelacji wieku chorych w grupie badanej z wartościami SWV



Analiza korelacji wartości SWV z badanymi parametrami: ilość płytek, najdłuższy wymiar śledziony, wskaźnik płytki/śledziona oraz wartość aminotransferazy alaninowej wykazała dodatnią korelację wartości SWV ze stężeniem ALT (współczynnik korelacji: 0,33), to znaczy wraz ze wzrostem wartości SWV rosła wartość ALT, co zobrazowano na wykresie 4.9.

Wykres 4.9. Analiza korelacji wartości SWV w grupie badanej z wartością ALT

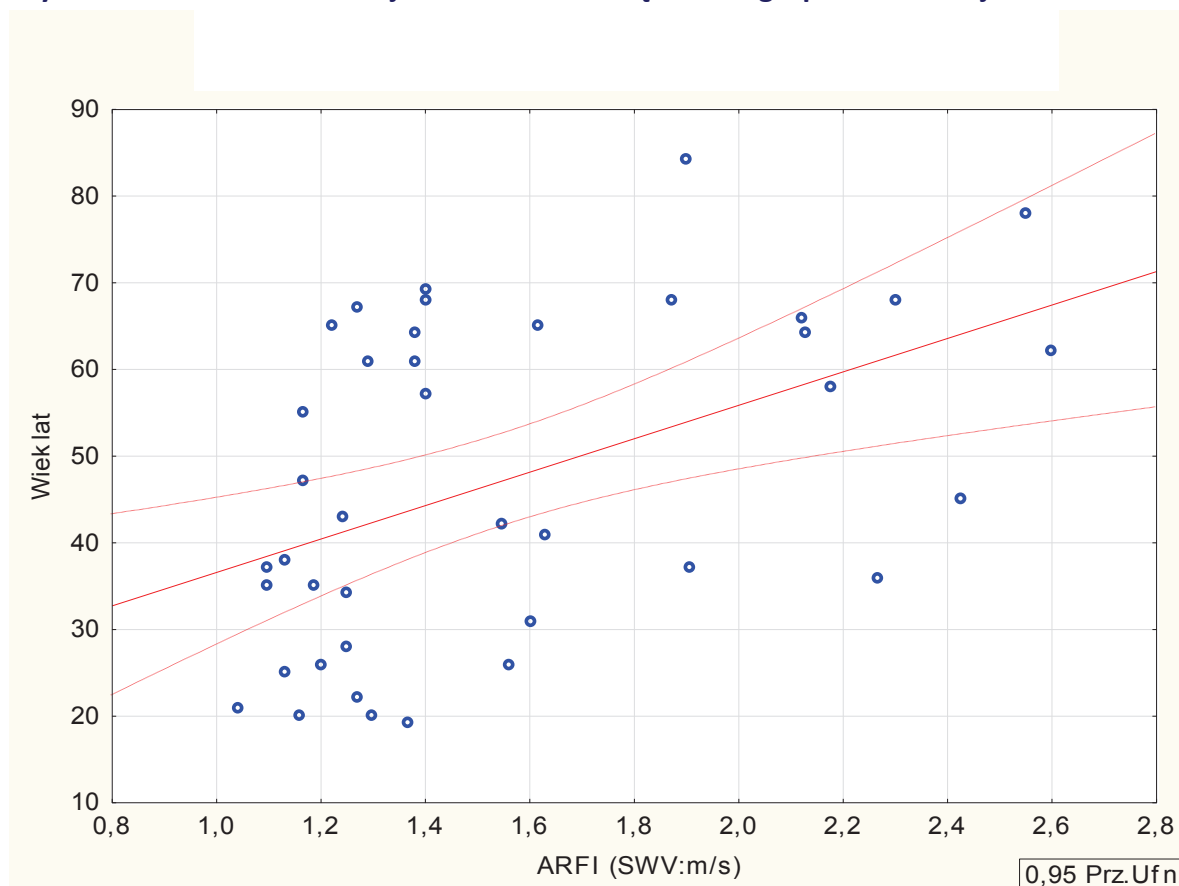


4.1.9 Analiza różnic i korelacji w grupie kontrolnej USG

4.1.9.1 Analiza korelacji wieku i płci z badanymi parametrami: SWV, ilość płytek, najdłuższy wymiar śledziony, wskaźnik płytki/śledziona oraz wartość aminotransferazy alaninowej

A) Analiza wykazała dodatnią korelację wieku z wartością SWV (współczynnik korelacji: 0,47), co przedstawiono na wykresie 4.10.

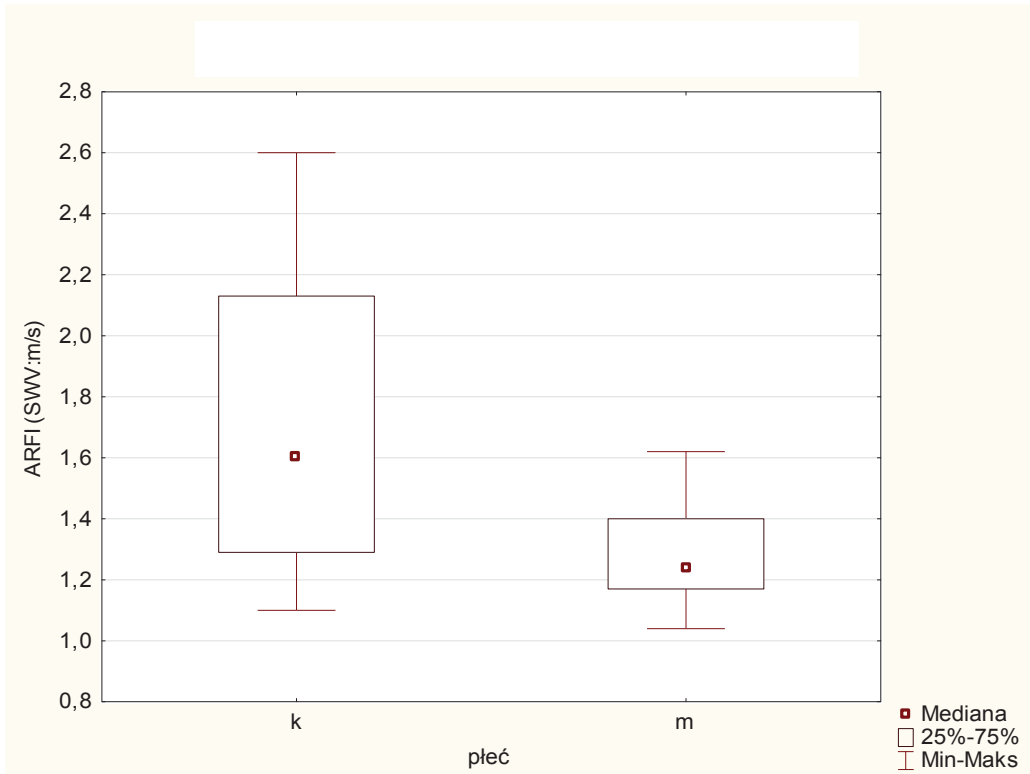
Wykres 4.10. Analiza korelacji wieku z wartością SWV w grupie kontrolnej



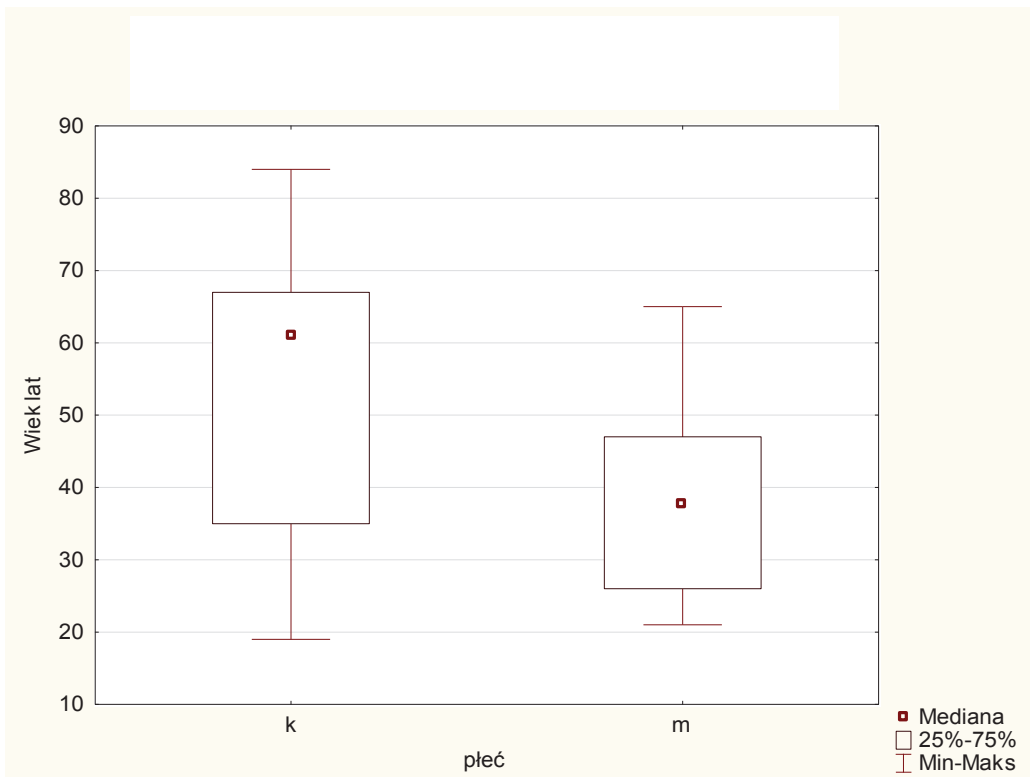
B) Analiza wykazała różnice istotne statystycznie w wartości SWV w zależności od płci.

Kobiety miały istotnie wyższy średni poziom SWV: 1,6 m/s w porównaniu do mężczyzn: 1,25 m/s, ($p = 0,007$). Kobiety były nieco starsze: ze średnią wieku 51,4 lat w porównaniu do mężczyzn ze średnią wieku 40,2 lat, jednak nie uzyskano różnicy istotnej statystycznie ($p = 0,070$). Dane przedstawiono na wykresach 4.11 i 4.12.

Wykres 4.11. Różnice w wartości SWV w zależności od płci w grupie kontrolnej



Wykres 4.12. Różnice wieku z zależności od płci w grupie kontrolnej



4.1.9.2 Analiza korelacji SWV z badanymi parametrami (ilość płytek, najdłuższy wymiar śledziony, wskaźnik płytki/śledziona oraz wartość ALT)

Analiza korelacji SWV z badanymi parametrami (ilość płytek, najdłuższy wymiar śledziony, wskaźnik płytki/śledziona oraz wartość ALT) nie wykazała istotnych zależności.

4.2 Obrazowanie MR zależne od dyfuzji

4.2.1 Porównanie grupy badanej i kontrolnej MR pod względem wieku i płci

Grupy badana i kontrolna były porównywalne pod względem wieku ($p = 0,87$). Wykazano istotne statystycznie różnice w rozkładzie płci ($p = 0,03$), co przedstawiono w tabeli 4.4.

Tabela 4.4. Charakterystyka rozkładu płci w grupach badanej (B) i kontrolnej (K)

	Mężczyźni	Kobiety
B	53,33%	46,67%
K	33,90%	66,10%

4.2.2 Charakterystyka grupy badanej MR pod względem stopnia włóknienia określonego histopatologicznie w biopsji skrawkowej

W grupie badanej u 9 chorych (15%) występowało włóknienie wątroby określone w biopsji jako F1, u 15 chorych (25%) jako F2, u 9 chorych (15%) jako F3, u 27 chorych (45%) jako F4. Charakterystykę pacjentów ze względu na stopień włóknienia przedstawiono w tabeli 4.5.

Tabela 4.5. Charakterystyka grupy badanej pod względem stopnia włóknienia określonego w biopsji

Stopień włóknienia wątroby	Liczba chorych	Odsetek (%)
F1	9	15,00
F2	15	25,00
F3	9	15,00
F4	27	45,00

4.2.3 Porównanie średniej wartości współczynnika ADC, wskaźnika płytki/śledziona, ilości płytek (PLT), najdłuższego wymiaru śledziony w grupie badanej i kontrolnej MR

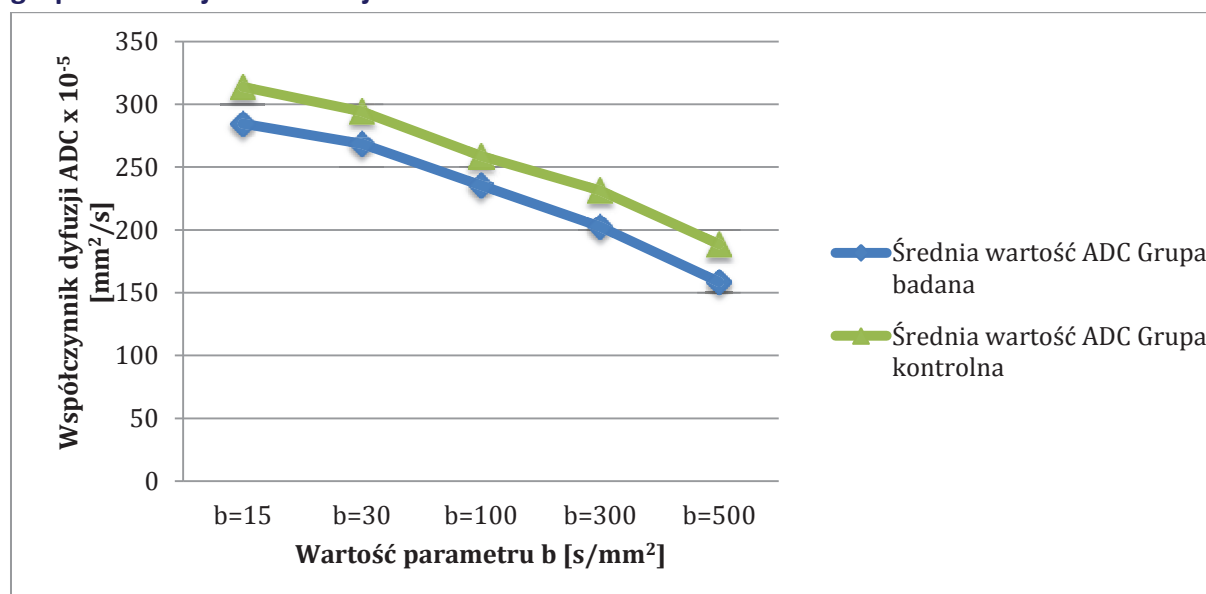
Wykonana analiza wykazała istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą badaną a kontrolną we wszystkich ocenianych parametrach ($p \leq 0,05$), co przedstawiono w tabeli 4.6.

Tabela 4.6. Porównanie grupy badanej (B MRI) i kontrolnej (K MRI) MR pod względem średniej wartości współczynnika ADC, wskaźnika płytki/śledziona, najdłuższego wymiaru śledziony oraz ilości płytek (PLT)

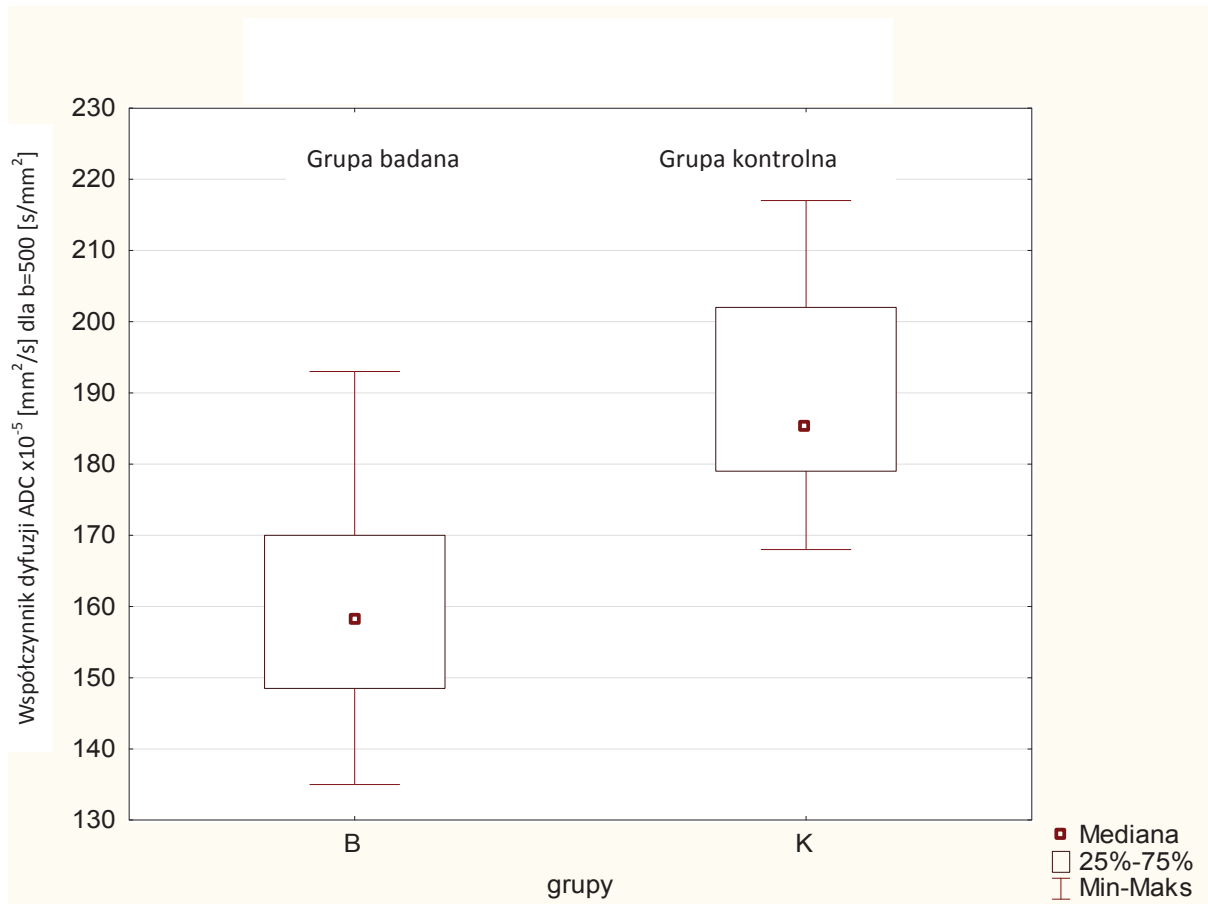
	Średnia	SD	Średnia	SD	
	B MRI	B MRI	K MRI	K MRI	P
ADC [mm^2/s] dla $b = 15$	284,552	24,4341	313,756	10,014	0,000000
ADC [mm^2/s] dla $b = 30$	268,500	14,5093	294,321	12,640	0,000000
ADC [mm^2/s] dla $b = 100$	235,404	17,1629	258,952	10,455	0,000000
ADC [mm^2/s] dla $b = 300$	202,630	16,9052	231,414	16,906	0,000000
ADC [mm^2/s] dla $b = 500$	158,417	12,7907	188,695	12,971	0,000000
Wskaźnik plt/śledziona	1511,836	985,2951	2014,193	1539,275	0,040830
śledziona – najdłuższy wymiar [mm]	121,483	20,4645	95,881	8,648	0,000000
PLT: G/l	180,965	82,7274	289,590	51,084	0,000000

- A. Przy wszystkich wartościach b uzyskano niższą średnią wartość ADC w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną, co przedstawiono na wykresie 4.13, dla $b = 0-500$ na wykresie 4.14.

Wykres 4.13. Średnia wartość współczynnika ADC zależnie od wartości parametru b w grupie badanej i kontrolnej MR



Wykres 4.14. Średnia wartość współczynnika ADC w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną MR dla parametru b = 0-500



- B. Wskaźnik PLT/śledziona był znamienne wyższy w grupie kontrolnej ze średnią wartością 2014,2 w porównaniu z grupą badaną ze średnią wartością: 1511,83, ($p=0,0408$). Odchylenie standardowe wyniosło: 985,2 w grupie badanej i 1539,2 w grupie kontrolnej.
- C. W grupie badanej stwierdzono znamienne wyższe wartości najdłuższego wymiaru śledziona ze średnią: 121,4 mm w porównaniu do grupy kontrolnej: 95,8 mm, ($p = 0,000000$). Odchylenie standardowe wyniosło: 20,4 w grupie badanej i 8,6 w grupie kontrolnej.
- D. W grupie badanej stwierdzono znamienne niższą ilość płytek krwi ze średnią: 180,9 G/l w porównaniu do grupy kontrolnej: 289,5 G/l, ($p = 0,000000$). Odchylenie standardowe wyniosło: 82,7 w grupie badanej i 51,0 w grupie kontrolnej.
- E. Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie pomiędzy średnią wartością ADC u kobiet i mężczyzn w grupie badanej dla wszystkich wartości b (np. dla $b = 500$ wartość ta wyniosła dla kobiet $150,107 \text{ mm}^2/\text{s}$ i dla mężczyzn $166,717 \text{ mm}^2/\text{s}$) w porównaniu z grupą kontrolną ($181,030 \text{ mm}^2/\text{s}$ vs $196,360 \text{ mm}^2/\text{s}$).

4.2.4 Różnicowanie osób zdrowych i z włóknieniem wątroby na podstawie wartości współczynnika ADC zależnie od parametru b - analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC

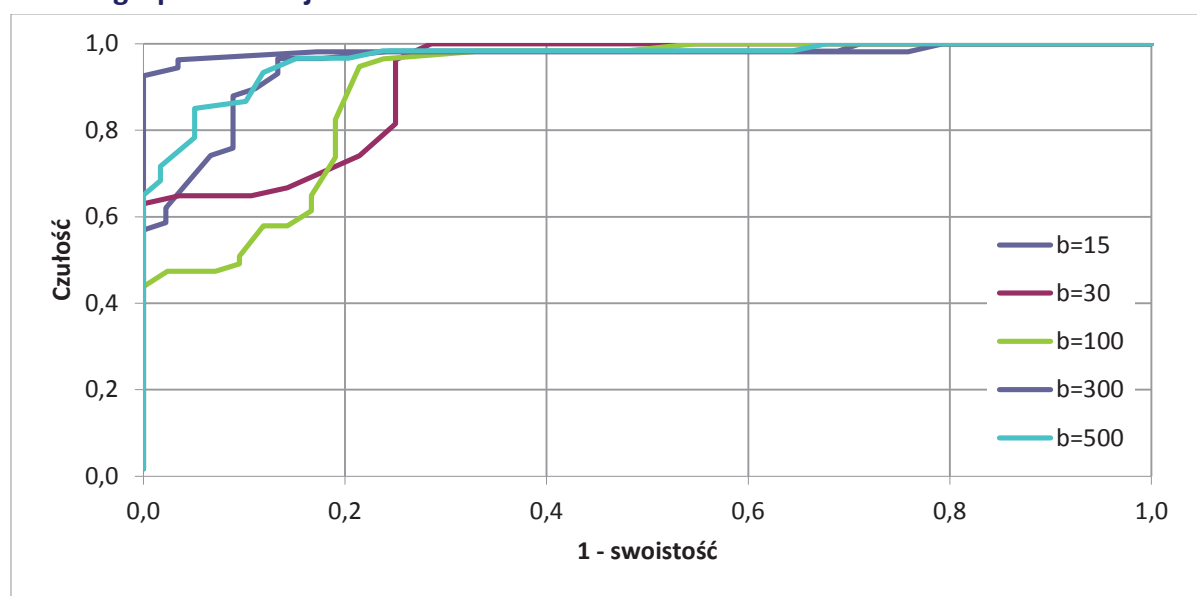
Przeprowadzono analizę skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC dla wartości ADC zależnie od parametru b w celu różnicowania grupy osób zdrowych oraz z włóknieniem. Punkty odcięcia przedstawiono w tabeli 4.7.

Tabela 4.7. Punkty odcięcia

Współczynnik b	Wartość ADC odcięcia x 10 ⁻³ mm ² /sec	Czułość	Swoistość	AUC (pole pod krzywą)
15	3,02	0,966	0,807	0,96
30	2,84	1,000	0,750	0,93
100	2,51	0,947	0,810	0,91
300	2,21	0,981	0,966	0,99
500	1,74	0,967	0,881	0,97

Wykres 4.15 przedstawia wartość współczynnika ADC punktu odcięcia zależnie od wartości parametru b w grupie badanej MR

Wykres 4.15. Wartość współczynnika ADC punktu odcięcia zależnie od wartości parametru b w grupie badanej MR



Analiza ROC wykazała bardzo wysoką skuteczność (91-99%) metody w różnicowaniu obecności lub braku włóknienia u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby. Pomiar współczynnika ADC wątroby przy $b = 300 \text{ s/mm}^2$ umożliwia prawie pewne różnicowanie tych pacjentów (AUC wynosi 99%) przy czułości 98% i swoistości 96%, również przy $b = 500 \text{ s/mm}^2$ różnicowanie jest wysoce skuteczne (AUC wynosi 97%) przy czułości 96,7% i swoistości 88%.

4.2.5 Różnicowanie osób zdrowych oraz chorych z włóknieniem wątroby na podstawie wartości wskaźnika płytki/śledziona – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC

Przeprowadzono analizę skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywej ROC wskaźnika płytki/śledziona dla różnicowania grupy osób zdrowych i chorych z włóknieniem. Jako punkt odcięcia przyjęto wartość wskaźnika 2085,7. Przy tak ustawionym progu, wartości czułości, swoistości i AUC, wynoszą odpowiednio: 76%, 64% i 60%.

4.2.6 Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie pomiaru ADC w zależności od parametru b- analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC

Wykonano analizę skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru ADC w zależności od wyniku odcięcia dla poszczególnych podgrup włóknienia. Dane przedstawiono w tabeli 4.8.

Tabela 4.8. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru ADC w zależności od wyniku odcięcia dla poszczególnych podgrup włóknienia

	Współczynnik b [s/mm ²]	Wartość ADC odcięcia [x10 ⁻³ mm ² /s]	Czułość	Swoistość	AUC
					(pole pod krzywą)
Różnicowanie F1 + F2 vs F3 + F4 w zależności od ADC dla różnych b	15	2,93	0,971	0,917	0,931
	30	2,73	1	0,909	0,975
	100	2,48	0,97	0,792	0,941
	300	2,08	0,938	1	0,985
	500	1,62	0,889	1	0,962
Różnicowanie F1 vs F2 w zależności od wartości ADC dla różnych b	15	2,98	0,6	0,778	0,696
	30	2,81	0,533	1	0,767
	100	2,51	0,933	0,222	0,47
	300	2,14	0,533	1	0,795
	500	1,7	0,667	0,778	0,793
Różnicowanie F1 vs F3 w zależności od wartości ADC dla różnych b	15	2,92	1	1	1
	30	2,77	1	1	1
	100	2,47	0,788	0,889	0,852
	300	2,11	0,889	1	0,992
	500	1,66	1	1	1
Różnicowanie F2 vs F3 w zależności od wartości ADC dla różnych b	15	2,93	1	0,867	0,881
	30	2,73	1	0,867	0,93
	100	2,48	0,889	0,8	0,804
	300	2,08	0,889	1	0,93
	500	1,6	0,889	1	0,989
Różnicowanie F3 vs F4 w zależności od wartości ADC dla różnych b	15	2,87	0,875	0,769	0,8
	30	2,68	1	0,669	0,82
	100	2,41	1	0,96	0,96
	300	2,04	1	0,75	0,74
	500	1,51	0,889	0,667	0,52

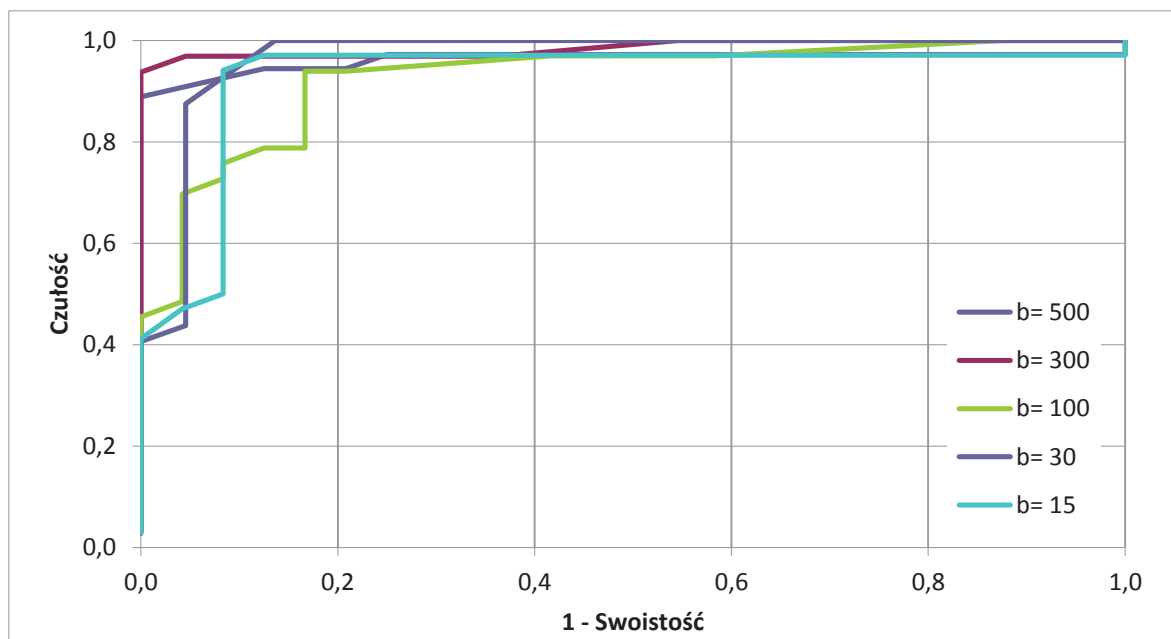
W wykonanej analizie wykazano 100% skuteczność wnioskowania na podstawie pomiaru ADC w różnicowaniu niewielkiego włóknienia w stopniu F1 od zaawansowanego w stopniu F3 przy wszystkich wartościach czynnika b, dla b = 15, 30 i 500 s/mm² czułość i swoistość wyniosła 100% (wykres 4.16).

Wysoką skuteczność (93-98,5%) stwierdzono w odróżnianiu niewielkiego i umiarkowanego (F1, F2) od zaawansowanego włóknienia i marskości (F3, F4) przy wysokiej czułości (89-100%) oraz swoistości metody (79-100%), AUC było najwyższe dla b = 300 s/mm².

Dobrą skuteczność diagnostyczną wykazano w różnicowaniu F2 vs F3 (80-98%) z najwyższą swoistością dla b = 500 s/mm².

Niską skuteczność stwierdzono dla różnicowania F1 vs F2, w przedziale wartości: 47-79%, chociaż najwyższe z uzyskanych wartości AUC przy wartości b=300 i 500, pozwalają na zróżnicowanie tych dwóch podgrup włóknienia z akceptowalną skutecznością na poziomie 79%. W różnicowaniu F3 vs F4 uzyskano AUC w zakresie: 52-96% z najwyższą wartością skuteczności: 96% dla b=100, z czułością 100% i swoistością 96%.

Wykres 4.16. Różnicowanie F1 + F2 vs F3 + F4 w zależności od wartości ADC dla różnych b



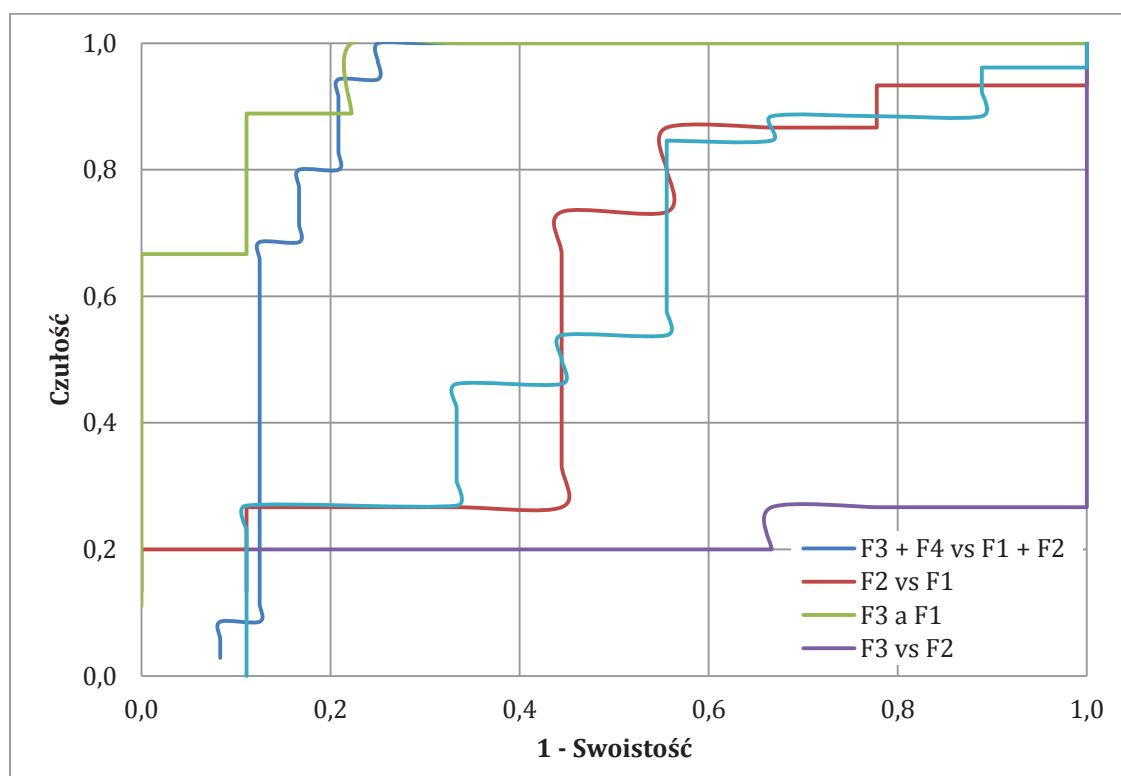
4.2.7 Ocena stopnia włóknienia wątroby na podstawie wartości wskaźnika płytki/śledziona – analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC

Przeprowadzono analizę skuteczności wnioskowania o wartości współczynnika płytki/śledziona na podstawie krzywych ROC. Punkty odcięcia przedstawiono poniżej:

- Dla podgrup F3 + F4 od F1 + F2 – punkt odcięcia to wartość 1982,3 (czułość: 1,000; swoistość: 0,759; AUC: 0,86).
- Dla podgrupy F2 od F1 – punkt odcięcia to wartość 2800 (czułość: 0,867; swoistość: 0,444; AUC: 0,59).
- Dla podgrupy F3 od F1 – punkt odcięcia to wartość 1775,7 (czułość: 0,889; swoistość: 0,889; AUC: 0,95).
- Dla podgrupy F3 od F2 – punkt odcięcia to wartość 1305 (czułość: 0,889; swoistość: 0,133; AUC: 0,21).
- Dla podgrupy F4 od F3 – punkt odcięcia to wartość 1364,9 (czułość: 0,846; swoistość: 0,444; AUC: 0,57).

Wykonana analiza wykazała wysoką skuteczność wnioskowania (95%) o różnicowaniu zaawansowanego (F3) od niewielkiego włóknienia (F1) z tą samą wartością czułości i swoistości: 89%. Podobne wyniki są widoczne w analizie podgrup F3 + F4 vs F1 + F2 ze skutecznością wnioskowania 86%, czułością 100%, swoistością 76%. Najniższą skuteczność wykazało różnicowanie podgrupy F3 vs F2 – tylko 21%.

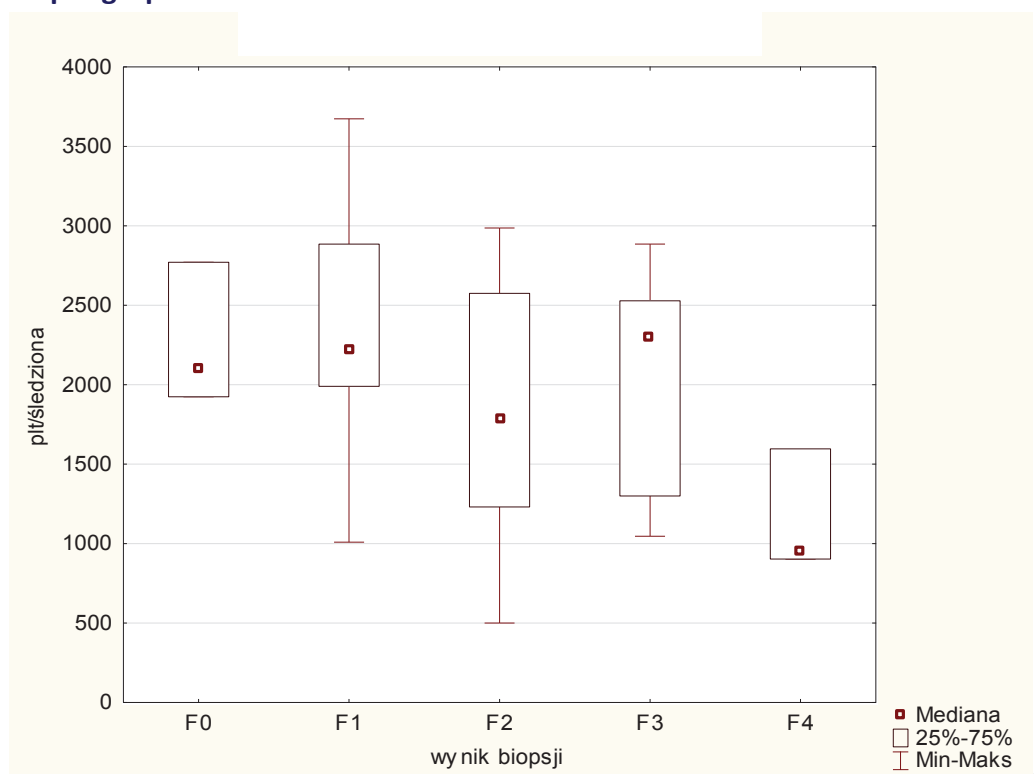
Wykres 4.17. Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC o przydatności wskaźnika płytki/śledziona w różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia.



4.2.8 Analiza wartości wskaźnika płytki/śledziona w grupie badanej pomiędzy poszczególnymi podgrupami F

Porównano wartości wskaźnika płytki/śledziona pomiędzy poszczególnymi podgrupami F. Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy podgrupą F1 vs F4. Wykazano spadek wartości badanego wskaźnika w stosunku do wzrostu wartości F; jedynie w podgrupie F3 vs F2) nie stwierdzono tej zależności, co przedstawiono na wykresie 4.18.

Wykres 4.18. Porównanie wartości wskaźnika płytki/śledziona pomiędzy poszczególnymi podgrupami F



4.2.9 Analiza różnic i korelacji w grupie badanej

Przeprowadzono analizę wartości ADC w zależności od stopnia włóknienia określonego w biopsji (F) przy różnych wartościach parametru b.

- Wykazano istotne statystycznie różnice w wartości ADC pomiędzy dwiema grupami: F1 + F2 vs F3 + F4 dla wszystkich wartości b.
- Wykazano istotne statystycznie różnice w wartości ADC pomiędzy grupą F1 a F2 dla wartości b = 0-300 ($p = 0,031$) i b = 0-500 ($p = 0,020$) oraz na granicy istotności dla b = 0-30 ($p = 0,052$).
- Wykazano istotne statystycznie różnice w wartości ADC pomiędzy grupą F1 a F3 dla wszystkich wartości b.

- D. Wykazano istotne statystycznie różnice w wartości ADC pomiędzy grupą F2 a F3 oraz F3 a F4 dla wszystkich wartości b. Wykonana analiza potwierdziła możliwość różnicowania poszczególnych stopni włóknienia za pomocą pomiaru wartości ADC przy $b = 15, 30, 100, 300, 500$; jedynie różnicowanie F1 od F2 możliwe jest tylko przy wysokich wartościach współczynnika $b = 300$ i 500 .

Porównanie skuteczności percepcji wnioskowania o różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia w obrazowaniu MR zależnym od dyfuzji i elastografii USG metodą ARFI

Obie zastosowane metody diagnostyczne pozwalają na różnicowanie osób zdrowych (bez włóknienia) i chorych (z włóknieniem).

W badaniu MR wykazano wysoką skuteczność wnioskowania o różnicowaniu pacjentów zdrowych od chorych, a ROC dla wszystkich wartości b wyniosło powyżej 91%. Wartości metody były najwyższe dla $b = 300$ i $b = 500$, odpowiednio: 99% i 97%, czułość 98 i 97% oraz jej swoistość 96 i 88%. Wartość odcięcia ADC dla $b = 300$ wyniosła: $2,21 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$, a dla $b = 500$ $1,74 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$.

W USG wykazano skuteczność wnioskowania w odróżnianiu pacjentów zdrowych od chorych na poziomie 77% z wartością odcięcia SWV $1,41 \text{ m/s}$, czułością 87% i dość niską swoistością: 60%. Obie metody umożliwiły skuteczne różnicowanie pacjentów z cechami niewielkiego i umiarkowanego włóknienia (F1+F2) od chorych z zaawansowanym włóknieniem i marskością (F3 + F4): w USG AUC wynosiła 73%, w MR 93-98,5%.

W porównaniu obu metod MR okazała się być skuteczniejsza z istotnymi statystycznie różnicami dla wszystkich zastosowanych wartości b: dla $b=15$ skuteczność wyniosła 93%, ($p= 0,0320$), dla $b=30$ 97% ($p=0,0001$), dla $b= 100$ 94% ($p=0,0180$), dla $b=300$ 98% ($p=0,0001$), dla $b=500$ 96% ($p=0,0040$).

Obie metody umożliwiają odróżnianie zaawansowanej fazy (F3) od niewielkiego włóknienia (F1), ze skutecznością w MRI 85-100%, w USG 79%, z dość wysokimi wartościami czułości oraz wyższą w MRI swoistością (89-100%) vs USG (75%). W tym różnicowaniu MR okazało się być w 100% skuteczne, z różnicą istotną statystycznie dla wszystkich wartości parametru b. Jedynie przy $b=100$ nie wykazano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy MR a USG. Także w różnicowaniu umiarkowanego (F2) od zaawansowanego włóknienia (F3) MR okazało się być skuteczniejsze niż USG prawie dla wszystkich wartości parametru b: dla $b= 15$ 88% ($p=0,0200$), dla $b=30$ 93% ($p=0,0050$), dla $b= 300$ 93% ($p=0,0050$), dla $b=500$ 98% ($p=0,0006$) vs 61% w USG. Jedynie dla $b=100$ nie wykazano różnicy istotnej statystycznie ze skutecznością DWI na poziomie 80% vs USG 61%.

W różnicowaniu niewielkiego i umiarkowanego włóknienia (F1 vs F2) nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w badanych metodach, poza wartością parametru $b=100$ dla którego USG wykazało większą niż MR skuteczność: 70% vs 47% ($p=0,0400$). Czułość i swoistość w obu metodach w tym różnicowaniu były dość niskie: w MR przy $b = 100$, odpowiednio 22 i 47%, w USG odpowiednio 93 i 50%.

Porównanie obu metod przedstawiono w tabeli (tab. 4.9).

Tabela 4.9. Porównanie skuteczności percepcji wnioskowania o różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia w obrazowaniu MR zależnym od dyfuzji i elastografii USG metodą ARFI

Analiza podgrup włóknienia (F)	Skuteczność			P
	USG	MR		USG vs MR
F1 + F2 vs F3 + F4	0,730	b = 15	0,931	p = 0,0320
		b = 30	0,975	p = 0,0001
		b = 100	0,941	p = 0,0180
		b = 300	0,985	p = 0,0001
		b = 500	0,962	p = 0,0040
F2 vs F1	0,705	b = 15	0,696	p = 0,4700
		b = 30	0,767	p = 0,3100
		b = 100	0,470	p = 0,0400
		b = 300	0,795	p = 0,2300
		b = 500	0,793	p = 0,2300
F3 vs F1	0,786	b = 15	1,000	p = 0,0200
		b = 30	1,000	p = 0,0200
		b = 100	0,852	p = 0,3000
		b = 300	0,992	p = 0,0200
		b = 500	1,000	p = 0,0200
F3 vs F2	0,612	b = 15	0,881	p = 0,0200
		b = 30	0,930	p = 0,0050
		b = 100	0,804	p = 0,0800
		b = 300	0,930	p = 0,0050
		b = 500	0,989	p = 0,0006
F4 vs F3	Zbyt mała liczebność grup	b = 15	0,800	
		b = 30	0,820	
		b = 100	0,960	
		b = 300	0,740	
		b = 500	0,520	
F1 + F2 + F3 + F4 vs F0	0,941			

5 Dyskusja

W ostatnich latach nastąpił bardzo dynamiczny rozwój diagnostycznych technik obrazowych, który umożliwił postęp w rozpoznawaniu i monitorowaniu włóknienia wątroby. Coraz lepsze poznanie etiopatogenezy włóknienia wątroby nie przekłada się jednak bezpośrednio na skuteczność terapii. Nie ustalono dotąd optymalnego leczenia farmakologicznego, które w istotny sposób wpływałoby na przebieg choroby. Aktualne postępowanie koncentruje się na eliminacji czynników uszkadzających wątrobę jak np. eliminacji wirusa w wirusowym zapaleniu wątroby. Określenie znacznego ($\geq F2$) włóknienia, zwłaszcza w przebiegu przewlekłego zapalenia wątroby, jest wskaźnikiem do włączenia leczenia przeciwwirusowego, a więc ma podstawowe znaczenie określające sposób postępowania z chorym. Poszukiwanie jak najbardziej czułych i swoistych metod oceny włóknienia ma wobec powyższych faktów kluczowe znaczenie.

Nowe metody obrazowania, w przyszłości pozwoliłyby zastąpić inwazyjną, bolesną i obciążoną istotnym odsetkiem ciężkich powikłań biopsję. Skutecznie można by monitorować postęp choroby i oceniać efekty terapii. Idealna metoda powinna być łatwo dostępna, stosunkowo tania i powtarzalna. Dotyczy to nie tylko badań obrazowych, ale także testów klinicznych wykorzystywanych do tworzenia paneli diagnostycznych. Począwszy od 1997 roku powstało ponad 30 propozycji nowych paneli wykorzystujących głównie rutynowe testy laboratoryjne, także w połączeniu z bezpośrednimi markerami włóknienia. Większość z nich nie weszła do powszechnego użycia ze względu na wysoki koszt i słabą dostępność, a ich mnogość świadczy o braku skuteczności badań laboratoryjnych. W tym aspekcie alternatywę mogą stanowić metody obrazowe.

W powyższej pracy porównano przydatność diagnostyczną dwóch różnych metod obrazowych: ARFI, stanowiącego modyfikację ultrasonografii oraz DWI, wykorzystującego obrazowanie rezonansu magnetycznego w ocenie włóknienia wątroby. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono żadnej pracy zestawiającej obie te metody.

Na podstawie prędkości fali odkształcenia w ARFI i wartości współczynnika dyfuzji w DWI próbowano zróżnicować poszczególne stopnie włóknienia, określić wartości SWV i ADC dla osób zdrowych oraz odróżnić osoby bez cech włóknienia od tych z włóknieniem. Weryfikację stanowiły wyniki biopsji skrawkowej, w której u każdego chorego w grupie badanej określono histopatologicznie stopień włóknienia. Wykonano także analizę przydatności współczynnika płytki/śledziona w ocenie i różnicowaniu podgrup włóknienia.

5.1 Charakterystyka grupy badanej i metodyki pracy

W latach 2009-2013 w Zakładzie Radiologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego zbadano 131 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C i/lub B. Do pracy zakwalifikowano 100 pacjentów, którzy spełnili warunki włączenia do badania omówione w rozdziale 3.1. Byli to kolejni chorzy zgłaszający się do Zakładu Radiologii w celu wykonania MR wątroby z obrazowaniem zależnym od dyfuzji lub USG wątroby metodą ARFI, u których w okresie 0-18 miesięcy przed badaniem wykonano biopsję skrawkową wątroby oraz oceniono stopień włóknienia wg skali Scheuera. Chorzy byli kierowani na badania głównie z Poradni Hepatologicznej Pomorskiego Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy w Gdańsku. Warunkiem włączenia pacjenta do pracy było uzyskanie miarodajnych wartości określanych parametrów (SWV lub ADC).

Chorych podzielono na dwie grupy: grupę, w której wykorzystano obrazowanie dyfuzyjne MR (60 osób) oraz grupę ocenianą za pomocą elastografii ultrasonograficznej ARFI (40 osób). Metodykę badań na podstawie protokołów, które zostały opisane powyżej, opracowano z wykorzystaniem danych dostępnych w piśmiennictwie [101, 102]. W każdej z grup wyodrębniono grupę kontrolną. W grupie MR współczynnik ADC określano dla różnych wartości parametru b: 0-15, 0-30, 0-100, 0-300 i 0-500 s/mm².

Grupa badana i kontrolna oceniane za pomocą USG były porównywalne pod względem rozkładu płci ($p = 0,29$) i wieku ($p = 0,92$).

Grupa badana i kontrolna, w których stosowano MR, były porównywalne pod względem wieku ($p = 0,87$), ale różniły się w rozkładzie płci ($p = 0,03$). W grupie kontrolnej dominowały kobiety, które stanowiły 66,1%. Nie wykazano jednak różnicy znamiennej statystycznie w średniej wartości ADC pomiędzy kobietami a mężczyznami w obu grupach.

Do grupy kontrolnej USG zakwalifikowano osoby nie zgłaszające w wywiadzie chorób wątroby, mające prawidłowe wyniki parametrów wątrobowych i krwi obwodowej. Było to 9 zdrowych ochotników oraz pacjenci Kliniki i Przychodni Gastroenterologicznej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku, kontrolowani z powodu następujących schorzeń: nieokreślone bóle brzucha – 3 chorych, kamica przewodowa bez żółtaczki – 4 chorych, podejrzenie ostrego zapalenia trzustki – 3, przewlekłe zapalenie trzustki w okresie bezobjawowym – 3, refluks żołądkowo-przełykowy – 4 chorych, choroba Crohna – 4, wrzodziejące zapalenie jelita grubego – 2, torbiele proste wątroby – 3, uchyłki esicy – 3, szczelina odbytu - 1, polip w żołądku - 1.

U chorych w tej grupie nie została wykonana biopsja wątroby.

Najwyższe wyniki pomiaru SWV uzyskano u 2 chorych z tej grupy. U pierwszej chorej kobiety lat 56 z podejrzeniem kamicy przewodowej uzyskano średnią pomiarów 2,3 m/s. Stwierdzono u niej prawidłowy poziom bilirubiny i enzymów wątrobowych z ALT: 42 U/l. Poziom płytek także był w normie: $321 \times 10^9/l$. Najdłuższy wymiar śledziony wynosił 97 mm. W badaniu USG wątroba nie była powiększona, bez zmian ogniskowych ani cech poszerzenia dróg żółciowych. Nie wykazano podwyższenia echogeniczności mięszu, mogą-

cego świadczyć o stłuszczeniu wątroby. Powodem obserwacji chorej były okresowo występujące bóle brzucha. Chora leczyła się także z powodu zaburzeń akcji serca i kamicy nerkowej. Na podstawie historii choroby i badań laboratoryjnych nie udało się ustalić przyczyny podwyższonej wartości pomiaru SWV w elastografii ultrasonograficznej. Można jednak próbować wytłumaczyć wysoki wynik SWV występowaniem arytmii, która może wpływać na zaburzony pomiar SWV wątroby poprzez udzielony wpływ ruchów serca.

U drugiej pacjentki lat 62 płci żeńskiej średni pomiar SWV wyniósł 2,6 m/s i był to najwyższy z wyników uzyskanych w grupie kontrolnej. Pacjentka była obserwowana z powodu przebytego 2 lata wcześniej ostrego zapalenia trzustki, w czasie badania bez dolegliwości, z prawidłowymi wartościami enzymów trzustkowych i wątrobowych. ALT wynosił 23 U/l, poziom płytek krwi: $235 \times 10^9/l$, najdłuższy wymiar śledziony: 92 mm. W badaniu USG wątroba miała podwyższoną jak w stłuszczeniu echogeniczność, ale nie była powiększona. Nie stwierdzono zmian ogniskowych ani cech cholestazy. Pacjentka chorowała na cukrzycę od 5 lat i była otyła. W tym przypadku wysoką wartość SWV można wiązać z wpływem otyłości pod postacią zwiększenia ilości tłuszczu, wpływającą na osłabienie penetracji wiązki ultradźwiękowej przez tkanki [117, 118].

Do grupy kontrolnej MR zakwalifikowano osoby zdrowe i z łagodnymi zmianami ogniskowymi w wątrobie, z prawidłowymi wynikami krwi obwodowej i parametrami wątrobowymi. Byli to pacjenci z: naczyniakami wątroby - 17 osób, FNH - 4, torbielami - 2, kamica przewodu żółciowego wspólnego- 1 i osoby bez zmian patologicznych w wątrobie: 35.

5.2 Analiza wyników elastografii USG przeprowadzonej metodą ARFI w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia

Elastograficzna ocena twardości tkanki za pomocą ultradźwięków jako nowa metoda diagnostyczna znalazła praktyczne zastosowanie po 2000 roku, ciesząc się rosnącym zainteresowaniem wśród badaczy. Znalazło to odzwierciedlenie w licznych, zwłaszcza w ciągu ostatnich 5 lat, publikacjach dotyczących także problematyki włóknienia wątroby.

Duże zainteresowanie metodą AFRI wynika z jej prostoty i coraz szerszej dostępności. Może być wykonywana łącznie z konwencjonalnym USG wątroby jako integralną część badania, co pozwala zaoszczędzić czas i koszty. Niepotrzebny jest żaden dodatkowy sprzęt, poza odpowiednią głowicą (będącą jednocześnie generatorem i odbiornikiem), wytwarzającą i odbierającą fale mechaniczne poprzez stworzony do tego celu algorytm. Mierzona w trakcie badania fala mechaniczna stanowi wewnętrzną, odtwarzalną właściwość badanej tkanki. Im wyższa twardość tkanki, tym wyższa wartość zmierzonego w ROI SWV. Ta obserwacja stanowi podstawę wykorzystania metody do oceny procesu włóknienia w wątrobie. Początkowo AFRI stosowano do oceny elastyczności blaszek miażdżycowych w naczyniach tętniczych oraz zmian ogniskowych w narządach jamy brzusznej. Obecnie trwają prace nad jej wykorzystaniem w różnych dziedzinach medycyny, między innymi w diagnostyce guzów piersi, wątroby, nerek oraz jelita grubego [103, 104].

Takahashi i współpracownicy w 2009 roku jako jedni z pierwszych zastosowali ARFI do oceny włóknienia wątroby [105]. W kolejnych latach ukazywały się prace różnych autorów odnoszące wartość SWV pomiaru ARFI do stopnia włóknienia określanego w biopsji. Takahashi i współpracownicy w swojej pracy analizowali 55 osób z przewlekłymi chorobami wątroby (wśród których większość stanowili pacjenci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C) i odnieśli wyniki SWV do stopnia włóknienia, określonego w biopsji w użyciu skali Metavir. Średnia SWV w grupie badanej wyniosła 1,55 m/s. Punkt odcięcia w różnicowaniu istotnego włóknienia (F0 + F1 vs F2 + F3 + F4) wyniósł 1,34 m/s, ciężkiego włóknienia (F0 + F1 + F2 vs F3 + F4) 1,44 m/s, marskości (F0 + F1 + F2 + F3 vs F4) 1,8 m/s ze skutecznością 94 - 96% dla wszystkich pomiarów, z wysoką czułością i swoistością. Skuteczność 100% wykazano w różnicowaniu F0 vs F4 i F1 vs F4. Niższe wyniki uzyskano w różnicowaniu F0 vs F1 (55,3%), F2 vs F3 (59,3%) i F1 vs F2 (78,2%).

Autorka niniejszej pracy zaobserwowała podobne zależności: wyższą skuteczność odróżniania niewielkiego i zaawansowanego włóknienia (78,6 % dla F1 vs F3 oraz 73% dla F1 + F2 vs F3 + F4), a niższą w identyfikowaniu poszczególnych, sąsiadujących ze sobą podgrup włóknienia, jak F2 vs F3 60%. Autorka wykazała jednak wyższe wartości liczbowe SWV punktów odcięcia dla poszczególnych stopni włóknienia: 1,55 m/s dla różnicowania F1 + F2 + F3 + F4 vs F0, 1,67 m/s dla F2 vs F1, 2,32 m/s dla F3 vs F1, 2,4 m/s dla F3 vs F2 i 2,32 m/s dla F1 + F2 vs F3 + F4.

Podobne obserwacje zostały opublikowane przez Yoneda i współpracowników, którzy badali korelację ARFI z histopatologicznie określonym stopniem włóknienia oraz porównali ARFI z TE [106].

W ciągu ostatnich lat powstało kilka prac porównujących te dwie techniki ultrasonograficzne w ocenie włóknienia wątroby. W każdej z nich punkt odniesienia stanowiła biopsja skrawkowa. Podobnie Friedrich-Rust i współpracownicy zastosowali obie metody w grupie 86 chorych [107]. Każdy z pacjentów posiadał także wynik biopsji wątroby wykonanej w czasie 0-15 miesięcy przed włączeniem do badania i ocenionej na podstawie skali Metavir. U 64 chorych potwierdzono zakażenie wirusem HCV, u pozostałych – HBV. Grupę kontrolną dla ARFI stanowiło 20 zdrowych ochotników. W pracy wykazano porównywalną skuteczność obu metod w ocenie włóknienia wątroby. Średnia wartość SWV dla ARFI w grupie kontrolnej wynosiła 1,10 m/s. W grupie badanej uzyskano wartości pomiaru SWV w zakresie 0,84 - 3,83 m/s. Wartości SWV u chorych ze stopniem F0 wynosiły 0,95 - 1,4 m/s, z F1 0,84 - 1,7 m/s, z F2 0,86 - 2,50 m/s, z F3 1,15 - 2,63 m/s, a z F4 1,15 - 3,83 m/s. Średnia wartość SWV odcięcia dla \geq F2 (F2, F3, F4) wyniosła 1,37 m/s, dla \geq F3 (F3, F4) wyniosła 1,45 m/s, a dla F4 1,75 m/s.

Liczbowe wartości punktów odcięcia zbliżone do uzyskanych w pracy Friedrich-Rust opisał także Piscaglia i współpracownicy [108] oraz Sporea i współpracownicy [109].

Wyższe liczbowo wartości punktów odcięcia w różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia, zbliżone do otrzymanych przez autorkę rozprawy, zaobserwowali w swej pracy dotyczącej porównania ARFI i TE Lupsor i współpracownicy [110]. Wykazali oni

przydatność ARFI w rozpoznawaniu zaawansowanego włóknienia i marskości porównywalną z TE w populacji 112 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C. Według Lupsor TE wykazało wyższą skuteczność w różnicowaniu początkowych stopni włóknienia. Podobne wyniki uzyskali w swych pracach Colombo i współpracownicy oraz Boursier i współpracownicy, którzy także porównywali obie metody [111, 112].

Zaletą ARFI względem TE, oprócz wyżej wymienionych względów technicznych, jest możliwość wykonania badania także u osób z wąskimi przestrzeniami międzyżebrowymi oraz otyłych, gdyż właśnie z tego powodu nie udaje się przeprowadzić 7% badań TE. Należy jednak pamiętać, że u osób otyłych nawet w ARFI istnieje niższa korelacja pomiędzy wynikiem SWV a histopatologicznie określonym stopniem włóknienia, związana ze zwiększeniem ilości tkanek miękkich i tłuszczu, co wpływa na osłabienie przechodzenia wiązki ultradźwiękowej [113, 114].

Lupsor porównała uzyskane wartości SWV z innymi pracami z 2009 roku, gdzie wiadać rozrzut pomiędzy wartościami liczbowymi SWV. Na przykład dla różnicowania stopnia F1 włóknienia uzyskano następujące wartości: $1,079 \pm 0,15$ m/s w pracy Lupsor, a $1,19 \pm 0,25$ m/s i $0,96 \pm 0,15$ m/s w niżej przytoczonych pracach. Dla F4 otrzymano odpowiednio wartości: $2,55 \pm 0,78$ m/s, 2,4 m/s, $2,62 \pm 0,66$ m/s i $3,06 \pm 0,96$ m/s [115, 116, 117]. Wszystkie badania zostały wykonane – podobnie jak doktorantki - na tym samym typie aparatu ACUSON S 2000 firmy Siemens z użyciem tego samego oprogramowania.

Na podstawie powyższych obserwacji powstaje pytanie, jakie czynniki wpływają na rezultat pomiaru ARFI i skąd wynikają różnice w wartościach SWV obserwowane w pracach różnych autorów. Zgodnie z danymi z piśmiennictwa istotne znaczenie ma przede wszystkim wysoki wskaźnik BMI, obserwowany u otyłych chorych, który powoduje znaczne pochłanianie ultradźwięków przez tkankę tłuszczową oraz zaburzony pomiar SWV wątroby przez udzielony wpływ ruchów innych narządów, na przykład serca. Podobnym czynnikiem jest wodobrzusze, jednak doktorantka nie odnotowała jego cech wśród pacjentów badanych metodą ARFI, a większość autorów wykluczała chorych z wodobrzuszem ze swoich prac. Fierbinteanu-Braticevici i współpracownicy w pracy, która ukazała się w *World Journal of Gastroenterology* w 2009 roku, zwrócili uwagę na fakt, że czynnik ten, jako ograniczenie zastosowania metody, w praktyce klinicznej ma niewielkie znaczenie. Jest cechą zdekompensowanej marskości wątroby, a ocena ultrasonograficzna narządu za pomocą ARFI pod kątem włóknienia w takich przypadkach jest wykonywana rzadko. Chorzy ci są zwykle diagnozowani we wcześniejszych stadiach włóknienia [118].

Kolejnymi czynnikami, które mogą mieć wpływ na uzyskiwane wartości prędkości SWV, są techniczne aspekty badania – przede wszystkim głębokość i rejon tkanki wątrobowej, w której dokonuje się pomiaru, a także liczba przeprowadzonych pomiarów. Nie ma jasnych rekomendacji dotyczących techniki przeprowadzania badania ARFI, choć większość autorów dokonywała pomiaru w prawym płacie wątroby, około 6 cm w głąb tkanek poniżej powierzchni skóry i 2 cm poniżej torebki wątroby, z dala od dużych naczyń, dróg żółciowych i zmian ogniskowych. Przeważająca część autorów wykonywała 10 pomiarów i obliczała średnie SWV. Te kryteria zastosowała także autorka rozprawy. Jednak w niektó-

rych pracach naukowych dostępnych w piśmiennictwie, na przykład u Kim i współpracowników, przeprowadzono tylko 5 pomiarów [119].

Na podstawie badań histopatologicznych wiadomo, że włóknienie jest niejednorodnie rozmieszczone w tkance wątrobowej, co może wpływać na przeszacowanie lub niedoszacowanie wyników. Według metaanalizy 8 badań obejmujących 518 chorych, którą opublikowali w 2011 roku Friedrich-Rust i współpracownicy, heterogenność wyników może być także rezultatem różnej etiologii procesów zapalnych. Zaobserwowano niższą dokładność diagnostyczną w przypadku przewlekłego zapalenia wątroby typu B w porównaniu z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, co autorzy tłumaczą nieregularnym rozmieszczeniem włóknienia w wątrobie zakażonej HBV z tendencją do rozwoju marskości wielkoguzkowej [120].

W kolejnych niedawnych pracach z 2012 i 2013 próbowano znaleźć czynniki wpływające na dokładność oceny włóknienia za pomocą ARFI. W pracy Jaffer i współpracowników oceniano powtarzalność pomiarów w wybranych segmentach (3, 5/6 i 7/8), wpływ wieku, BMI oraz odległości pomiędzy bramką ROI a torebką wątroby [121]. W badaniu wykazano związek wartości SWV z odległością pomiędzy bramką a torebką wątroby oraz nieadekwatność pomiarów dokonywanych w segmencie 3 wątroby, co wiązano z wpływem ruchomości mięśnia sercowego. Ograniczeniem badania była mała liczba uczestników (tylko 10, u których wykonano 1800 pomiarów) oraz fakt, że były to osoby zdrowe.

W cytowanej powyżej pracy z 2013 roku D'Onofrio i współpracownicy zwrócili uwagę nie tylko na różne wartości SWV uznawanej przez poszczególnych autorów za normę dla osób zdrowych (bez włóknienia), ale także na zróżnicowane wyniki pomiarów ARFI w prawym i lewym płacie [113]. Trudno te wątpliwości odnieść do rozprawy doktorskiej, która badała wątrobę tylko w zakresie prawego płata. Prace te świadczą o trudnościach w interpretacji wyników uzyskiwanych za pomocą ARFI.

W artykule Regev i współpracowników wykazano na podstawie biopsji laparoskopowej różnicę włóknienia o 1 stopień na poziomie 33% pomiędzy prawym a lewym płatem, co także wskazuje na ciągle niedostateczną wiedzę dotyczącą oceny włóknienia, konieczność dalszych badań oraz opracowania jednakowych wytycznych dla wszystkich ośrodków [122].

W analizie korelacji wartości SWV z badanymi parametrami (ilość płytek, najdłuższy wymiar śledziony, wskaźnik płytki/śledziona, wartość aminotransferazy alaninowej, wiek i płeć) doktorantka wykazała korelację wartości SWV z wiekiem (współczynnik korelacji: 0,66) i stężeniem ALT (współczynnik korelacji: 0,33). Dodatnią korelację dotyczącą stężenia aminotransferaz i wartości SWV wykazali także w swej pracy z 2013 roku Bota i współpracownicy [123]. Zbadali oni 1242 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby pod kątem wpływu podwyższonego stężenia aminotransferazy alaninowej na twardość tkanki wątrobowej w ARFI. U połowy pacjentów włączonych do badania wykonano także TE. W badaniu potwierdzono wpływ znacznie podwyższonego stężenia ALT na wzrost wartości SWV w ARFI, z wartościami punktu odcięcia 1.29 m/s dla prawidłowego stężenia ALT i 1.44 m/s dla podwyższonego więcej niż pięciokrotnie. Podobnie wyglądały wartości punk-

tów odcięcia dla marskości wątroby: powyżej 1,59 m/s dla prawidłowego stężenia ALT i powyżej 1,75 m/s dla podwyższonego więcej niż pięciokrotnie. W pracy wykazano, że nawet umiarkowany wzrost ALT w populacji chorych badanych za pomocą TE powodował podwyższenie wartości liczbowych punktów odcięcia.

Ta sama autorka szukała także innych czynników wpływających na wartości pomiarów ARFI [124]. W tym celu zbadała grupę 106 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, u których w jednej sesji wykonano ARFI oraz biopsję wątroby i stwierdzono różnice pomiędzy wartością SWV a oceną histopatologiczną o co najmniej 2 kolejne stadia włóknienia. Autorka znalazła 31,7% pacjentów z taką różnicą i wykazała, że w jednoczynnikowej analizie wpływ na uzyskany wynik miały płeć żeńska, IQR (*interquartile range interval*) $\geq 30\%$ oraz stężenia ALT i AST, a w wieloczynnikowej analizie: płeć żeńska i IQR $\geq 30\%$.

Autorka rozprawy wykazała istotne statystycznie różnice w wartości SWV w zależności od płci w grupie kontrolnej, gdzie właśnie u kobiet występował wyższy poziom SWV ($p = 0,007$).

Podsumowując, ARFI to nowa obiecująca technika w diagnostyce włóknienia, umożliwiającą przede wszystkim wykonywanie nieinwazyjnych badań kontrolnych wątroby w celu oceny tempa progresji czy regresji procesu oraz odpowiedzi na leczenie. Może to być także ważna alternatywa dla chorych z bezwzględnymi przeciwwskazaniami do wykonania biopsji wątroby. Podstawowymi zaletami metody są prostota wykonania i możliwość kompleksowej oceny narządu z badaniem ARFI dołączonym do standardowego badania ultrasonograficznego wątroby.

W części pracy dotyczącej ultrasonografii wykonywanej metodą ARFI doktorantka zdołała za pomocą tej techniki zróżnicować osoby bez oraz z obecnym włóknieniem, uzyskała także wartości SWV punktów odcięcia dla kolejnych podgrup włóknienia. Nie udało się natomiast odróżnić chorych z F3 vs F4, co spowodowane było zbyt małą liczebnością grupy F4. Doktorantka nie selekcjonowała chorych do grupy badanej. Były to osoby, które losowo trafiły z poradni chorób wątroby. Wśród pacjentów z F4 znaczna część jest w ciężkim stanie, z licznymi dolegliwościami, co z pewnością wpłynęło na gorszą zgłaszalność na badanie w obrębie tej podgrupy.

Uzyskane wyniki pokazują, że interpretacja badania metodą ARFI powinna się odbywać kompleksowo dla każdego chorego, łącznie z danymi klinicznymi i badaniami laboratoryjnymi, co pozwoli na otrzymanie pełnego obrazu choroby. Przy obecnym stanie wiedzy niezbędne jest wprowadzenie wytycznych dla ARFI wpływających na technikę wykonywania badania w celu ujednoczenia norm SWV oraz uniknięcia błędów technicznych. Doktorantka nie znalazła w dostępnym piśmiennictwie szczegółowych danych dotyczących wpływu ewentualnych różnic technicznych w używanym sprzęcie mogących mieć wpływ na wartości pomiarów u różnych badaczy. Zwraca jednak uwagę dużą heterogenność wartości pomiaru SWV w kolejnych publikacjach. Konieczne jest zastosowanie tej techniki w jak największej populacji chorych, co umożliwi opracowanie jednorodnych

norm i określenie wpływu na pomiar wszystkich istotnych nie do końca jeszcze poznanych czynników.

5.3 Analiza wyników dyfuzji MR w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia

Obrazowanie zależne od dyfuzji jest stosowane w rezonansie magnetycznym od ponad 20 lat. Zaletami tej metody są prostota wykonania i możliwość włączenia sekwencji DWI do standardowego protokołu jako integralna część badania MR.

W ciągu ostatnich lat zastosowanie wysokiej jakości sekwencji gradientowych i obrazowania równoległego poprawiło jakość badań DWI wątroby na tyle, że stała się ona ważnym narzędziem do wykrywania i oceny charakteru zmian ogniskowych w tym narządzie. Jest aktualnie metodą rutynowo wykorzystywaną w diagnostyce oraz kontroli chorych w ośrodkach onkologicznych.

Punktem wyjścia do zastosowania DWI w ocenie włóknienia wątroby stały się badania, w których za pomocą obrazowania echoplanarnego wykazano obniżony ADC w marskości wątroby [125, 126, 127]. Przyjęto więc hipotezę, że odkładanie się takich substancji, jak: kolagen, proteoglikany i glikozaminoglikany w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, a więc w miejscu pomiaru sekwencji DWI, jest odpowiedzialne za restrykcję dyfuzji mikrocząsteczek wody w przebiegu marskości. Rozpoczęły się próby oceny stopnia włóknienia poprzez pomiar wartości ADC, w celu uzyskania korelacji z wynikami histopatologicznymi z biopsji. Zastosowano co najmniej dwie różne wartości parametru b : bez gradientu dyfuzji i z gradientem. Aktualnie wiele ośrodków stosuje kilka wartości parametru b , inne tylko dwie wartości: $b = 0$ i $b > 0$. Autorka w swojej rozprawie zastosowała pięć par wartości parametru b . Stałą wartością było $b = 0$, zmienną $b > 0$, w zakresie 15 – 500 s/mm^2 , zgodnie z rekomendacją Tauoli i Koha z 2010, którzy zalecają zastosowanie b mniejszej lub równej 100 s/mm^2 oraz większej lub równej 500 s/mm^2 [66].

W obrazowaniu dyfuzyjnym wykorzystuje się dwa rodzaje sekwencji: „na wstrzymanym oddechu” oraz dłużej trwającą z bramkowaniem oddechowym. Autorka zastosowała w niniejszej pracy pierwszy rodzaj ze względu na krótszy czas badania. Mimo, iż wstępne doniesienia świadczą o lepszej jakości uzyskiwanych obrazów DWI z bramkowaniem oddechu, jednak dostępne są prace, w których pomiary wartości ADC w obu metodach wykazują wysoką zgodność [128]. To stanowiło podstawę do zastosowania sekwencji „na wstrzymanym oddechu” w wykonanym badaniu.

Ze względu na wpływ perfuzji na wypadkową wartość dyfuzji, autorka zastosowała następujące wartości b [s/mm^2]: 0 - jako standard, 15 i 30 – chcąc uzyskać przewagę wpływu perfuzji na wartość ADC, 100 – jako wartość graniczną, do której obserwowany jest wpływ perfuzji, 300 i 500 – wartości, przy których perfuzja nie wpływa już istotnie na ADC. Autorka nie zastosowała wyższych wartości b , stosowanych w diagnostyce wątroby, jak 800 czy 1000, chcąc uzyskać wyraźną różnicę pomiędzy zaawansowanym włóknieniem a marskością. Ze względu na obniżenie sygnału wątroby wraz ze wzrostem wartości b oraz przy współwystępowaniu włóknienia, gdzie dodatkowo obniża się stosunek sygnału do

szumu (*signal to noise ratio* - SNR), różnicowanie F3 vs F4 mogłoby być obarczone błędem ze względu na niski SNR.

Girometti i współpracownicy wykazali niższą wartość ADC dla marskiej wątroby w porównaniu ze zdrową, w badaniu jednak uczestniczyli tylko pacjenci z marskością wątroby oraz zdrowi ochotnicy i objęło ono niewielką grupę chorych (28 chorych i 29 zdrowych ochotników) [129]. Skuteczność różnicowania wyniosła 95% z wysokimi wartościami czułości i swoistości, odpowiednio: 92,9% i 100%. Średnia wartość ADC w marskiej wątrobie wyniosła: $1,11 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, w zdrowej $1,54 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$.

Lewin i współpracownicy w pracy z 2007 roku zbadali przydatność obrazowania zależnego od dyfuzji w grupie 54 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C z zastosowaniem 4 wartości współczynnika b: 0, 200, 400 i 800 s/mm² [67]. Grupę kontrolną stanowiło 20 zdrowych ochotników. Autorzy wykazali wysoką skuteczność ADC (92%) w różnicowaniu zaawansowanego włóknienia i porównali je z wynikami elastografii TE oraz paneli diagnostycznych (FibroTest, APRI, Forns index, stężenie kwasu hialuronowego). Badacze uzyskali porównywalne wyniki skuteczności w TE (także 92%) i nieco niższe przy zastosowaniu markerów serologicznych: 79% dla FibroTestu, 87% dla APRI, 86% dla Forns Index. W pracy wykazano spadek wartości ADC pojawiający się wraz ze wzrostem stopnia włóknienia, z najwyższą średnią wartością ADC w zdrowej wątrobie: $1,44 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ i $1,1 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ w stopniach F2-F4, z istotną statystycznie różnicą pomiędzy F0 i F1 vs F2, F3 i F4. Ich wnioski okazały się porównywalne z wynikami badań innych autorów, jak Taouli i współpracownicy [66].

Ponadto Lewin i współpracownicy zaobserwowali istotny wpływ aktywności zapalnej na współczynnik dyfuzji oraz prawdopodobny związek pomiędzy ADC a stłuszczeniem wątroby.

Taouli i współpracownicy w pracy z 2008 roku określili ADC markerem włóknienia, różnicując F1 z czułością i swoistością odpowiednio 85 i 89% dla $\text{ADC} \leq 1,40 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ oraz F2 i wyższe stopnie z czułością 78% i swoistością 74%, z $\text{ADC} \leq 1,30 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ dla b = 700 s/mm² [66].

Korelację pomiędzy spadkiem wartości współczynnika ADC a stopniem włóknienia wątroby wykazali także Koinuma i współpracownicy w populacji 163 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby zbadanych za pomocą DWI przy b = 128 s/mm² [130]. Autorzy skorelowali wyniki ADC z wynikami biopsji i oceną histopatologiczną w skali Knodella pod kątem włóknienia i aktywności zapalnej oraz ze skalą Child-Pugh. Nie zaobserwowali oni jednoznacznej zależności pomiędzy wartością ADC a stopniem aktywności zapalnej, ale tylko 31 chorych spośród badanych miało wykonaną biopsję.

Kolejni autorzy stosowali kilka skal histopatologicznych jednocześnie, jak na przykład Catanzaro i współpracownicy, którzy zbadali 84 chorych z przewlekłymi chorobami wątroby za pomocą DWI i na podstawie trzech klasyfikacji histopatologicznych: Metavir (F0 - F4), Ishaka (0 - 6) i Brunta (0 - 6). Podzielili oni chorych na 3 grupy w zależności od stopnia włóknienia: pierwszą (F0 - F1), drugą (F2) i trzecią (F3 - F4) [131]. Celem pracy była ocena dokładności różnicowania włóknienia za pomocą pomiaru ADC. Badanie wyka-

zało różnicę istotną statystycznie pomiędzy grupą 1 vs 3 oraz 2 vs 3. Nie wykazano różnicy znamiennej statystycznie pomiędzy grupą 1 vs 2, co świadczy o lepszej skuteczności metody w rozróżnianiu późnych stadiów włóknienia od wczesnych i umiarkowanych.

Zhu i współpracownicy odnieśli ADC do skali Ishaka. W swej pracy uznali pomiar ADC przy $b = 500$ za najskuteczniejszy diagnostycznie [132]. Doktorantka również uznała parametr $b = 500$ za przydatny diagnostycznie z wysokimi wartościami skuteczności w przedziale 96-100% dla różnicowania wszystkich badanych podgrup włóknienia z wyjątkiem F3 vs F4, gdzie uzyskała tylko 52% skuteczności. Na tej podstawie trudno uznać $b = 500$ za jedyny najlepszy parametr b stosowany dla oceny włóknienia.

Analizując otrzymane wyniki, trudno jednoznacznie wybrać tylko jedną wartość b , która byłaby najskuteczniejsza dla różnicowania poszczególnych stopni włóknienia. W metaanalizie, która objęła 10 prac dotyczących DWI w ocenie włóknienia wątroby, które ukazały się w piśmiennictwie w okresie 2007-2011, badacze stosowali różne wartości b , zwykle w przedziale: 400- 1000 [151]. W pracy doktorantki zarówno $b = 300$, jak i $b = 500$ wykazały wysoką skuteczność i obie wartości mogą być zastosowane do różnicowania. Przy obu tych parametrach skuteczność odróżniania zaawansowanego włóknienia od marskości okazała się jednak niższa, odpowiednio 74% dla $b = 300$, co można uznać za wartość akceptowalną i 52% dla $b = 500$, co jest wartością zbyt niską.

Doktorantka w swej pracy wykazała wyraźną korelację pomiędzy spadkiem wartości ADC a wzrostem stopnia włóknienia, przy czym najwyższą skuteczność zanotowała w różnicowaniu niewielkiego i umiarkowanego włóknienia w stosunku do zaawansowanego: 93-98% dla wszystkich zastosowanych wartości b oraz niewielkiego od zaawansowanego włóknienia: 85-100%. Niższą skuteczność autorka stwierdziła w różnicowaniu podgrup F1 vs F2, jednak w obu tych podgrupach skuteczność wynosiła 79% przy $b = 300$ i 500. Do podobnych wniosków dotyczących różnicowania wczesnych faz włóknienia doszli też inni badacze. W pracy z 2012 roku Bakan i współpracownicy zwrócili uwagę na trudność w odróżnianiu wczesnych faz włóknienia: F0 od F1 oraz F1 od F2 [133]. W różnicowaniu tych podgrup autorom nie udało się uzyskać istotnej statystycznie różnicy średniej wartości ADC. Uznali oni, że DWI jest dobrą metodą w różnicowaniu bardziej zaawansowanych stadiów włóknienia od umiarkowanych i początkowych. Autorzy wykazali jednak, że DWI może być skuteczną metodą w odróżnianiu chorych z zaawansowanym włóknieniem od osób zdrowych i zauważyli ujemną korelację pomiędzy wartością ADC a stopniem włóknienia.

W piśmiennictwie wciąż jest niedostateczna liczba prac dedykowanych poznaniu zależności pomiędzy wartością ADC a stopniem włóknienia. W trzech cytowanych powyżej publikacjach wykazano ujemną korelację pomiędzy wartością ADC a stopniem włóknienia [70, 130, 109]. Taką zależność pokazuje także praca doktorantki. Kolejne badanie- autorstwa Sandrasegaran i współpracowników, przeprowadzone w grupie 78 chorych, wykazało istotną statystycznie różnicę pomiędzy F0 a F4 oraz umiarkowaną negatywną zależność pomiędzy wartościami ADC a stopniem włóknienia określonym na podstawie skali Metavir [134]. Autorzy w końcowych wnioskach zwrócili uwagę na fakt, że ADC przy aktualnej ge-

neracji oprogramowaniu nie może w sposób pewny zastąpić oceny poszczególnych stopni włóknienia za pomocą biopsji.

Wyniki przedstawione przez doktorantkę częściowo przeczą tym wnioskom, gdyż w swojej pracy uzyskała ona zadowalającą skuteczność DWI w odróżnianiu poszczególnych stopni włóknienia dla wszystkich wartości parametru b : $F1 + F2$ vs $F3 + F4$ na poziomie 93-98%, $F1$ vs $F3$ na poziomie 85-100%, $F2$ vs $F3$ na poziomie 88-98%, $F3$ vs $F4$ na poziomie 74-96% (z pominięciem wartości $b = 500$, dla której skuteczność wyniosła tylko 52%). Najsłabsze wyniki autorka uzyskała w odróżnianiu niewielkiego od umiarkowanego włóknienia ($F1$ vs $F2$): 47-79%, przy czym dla $b = 300$ i 500 skuteczność diagnostyczna wyniosła 79%, która to wartość pozwala na zróżnicowanie tych dwóch podgrup.

Przykładem pracy, w której nie wykazano zależności pomiędzy wartością ADC a stopniem włóknienia oraz aktywnością zapalną jest publikacja Boulanger i współpracowników z 2003 roku [135]. W badaniu uczestniczyło 18 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C i 10 zdrowych ochotników. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę tylko pomiędzy grupą bez włóknienia i grupą z marskością. Ze względu na małą liczebność należy wyniki tej pracy traktować z ostrożnością, choć nasuwa to pytania o czynniki wpływające na wartość ADC [136].

Mechanizm restrykcji dyfuzji jest wieloczynnikowy i nie do końca poznany, choć wiemy, że jego istotą jest wzrost ilości tkanki łącznej w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Czynniki wpływającymi na ADC są: różnice wynikające z zastosowanego sprzętu, różne parametry sekwencji oraz czynniki zależne do pacjenta, takie jak: stopień aktywności zapalnej wątroby, stłuszczenia, zawartości żelaza w tkance wątrobowej czy wydolności naczyniowej.

Ważnym czynnikiem powodującym obniżenie wartości ADC we włóknieniu wątroby jest perfuzja. Uważa się, że pogorszenie perfuzji wpływa na obniżenie dyfuzji w marskości wątroby, co wykazały doświadczalne badania na żywych i martwych szczurach.

W pracy Annet i współpracowników wykonano DWI u 10 zdrowych szczurów i u 15 osobników z włóknieniem wątroby [137]. Zmierzono wartości ADC u szczurów żywych, a następnie martwych. Spadek wartości ADC związany z włóknieniem stwierdzono jedynie u żywych szczurów. Udział perfuzji może więc wyjaśnić spadek mierzonych wartości ADC u szczurów z włóknieniem *in vivo* poprzez obniżenie wypadkowego współczynnika dyfuzji.

Do podobnych wniosków doszła grupa Kubo w badaniu dotyczącym zmian hemodynamicznych w marskiej wątrobie oraz poszukiwania zależności pomiędzy tymi zmianami a włóknieniem, również na podstawie doświadczeń na szczurach [138]. Uważa się, że przy niskich wartościach czynnika b wpływ perfuzji na szybkość wypadkowej dyfuzji jest największy, na przykład przy $b = 15$ i 30 . Za graniczną wartość istotnego wpływu perfuzji na wypadkową wartość dyfuzji przyjmuje się $b = 100$. Przy średnich wartościach parametru b , na przykład $b = 500$, wpływ perfuzji ulega ograniczeniu [139]. Ten fakt może tłumaczyć uzyskany przez autorkę nieco inny niż u pozostałych przebieg krzywej ROC dla wartości $b = 100$ w różnicowaniu $F1 + F2$ vs $F3 + F4$ (wykres 4.16) jako granicznej wartości wpływu perfuzji na całkowite ADC.

Ciągle brakuje ujednoczonej terminologii i metodologii badań DWI, co utrudnia interpretację i porównanie wyników. Wiadomo, że wartości ADC zależą zarówno od metody, za pomocą której są obliczane, jak i wyboru wartości b . Dobór optymalnych wartości b wciąż pozostaje niewyjaśniony, co tłumaczy różniące się między sobą wyniki prac badawczych. Niejednorodność wartości ADC można wyjaśnić użyciem eksponencjalnego modelu z dwiema wartościami b obliczanego według wzoru:

$$ADC = \text{Log}_e (S_0/S_1)/(b_1-b_0)$$

Stosuje się go w większości oprogramowania MR, podczas gdy osłabienie sygnału w DWI jest zależnością dwuwykładniczą. IVIM (*intravoxel incoherent motion*) DWI pozwala ilościowo ocenić mikroskopijne ruchy, które pojawiają się w każdym voxelu w trakcie obrazowania. Można w ten sposób rozdzielić wpływ na parenchymę czystej molekularnej dyfuzji i dyfuzji związanej z perfuzją. Ponieważ wątroba posiada izotropową strukturę, DWI zwykle wykorzystuje trójpłaszczyznowe gradienty (wzdłuż trzech osi: X, Y i Z) do wyliczenia średniego współczynnika dyfuzji. Zgodnie z teorią IVIM spadek intensywności sygnału jest funkcją parametru b , co wyraża następujące równanie:

$$SI = SI^*[(1 - f) \cdot \exp(-b \times D_{\text{slow}}) + f \cdot \exp(-b \times D_{\text{fast}})],$$

gdzie SI to intensywność sygnału przy wartości b , f to frakcja perfuzji, D_{slow} (zwany także D) reprezentuje czystą, molekularną dyfuzję, a D_{fast} (zwany D^*) – dyfuzję zależną od perfuzji.

Guiu i Cercueil w swej pracy omawiającej to zagadnienie, demonstrując model eksponencjalny, wykazali znaczne różnice w ADC ($1,65-2,83 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) oraz przeszacowanie jego wartości przy $b = 0 \text{ s/mm}^2$. Dzieje się tak ze względu na silny wpływ perfuzji na otrzymywany całościowy wynik. Autorzy sugerują uzyskiwanie bardziej wiarygodnych wyników przy zastosowaniu b większego od 50 s/mm^2 , z pominięciem $b = 0$ w modelu eksponencjalnym. W modelu bieksponecjnym niskie wartości b (pomiędzy 0 a 20 s/mm^2) są konieczne do otrzymania prawidłowej krzywej i wartości D_{fast} ze względu na wpływ perfuzji. Przy wyższych wartościach b badacze zwrócili uwagę na oddziaływanie szumu na sygnał, które przy wartościach b powyżej 50 s/mm^2 także może mieć wpływ na ADC [140].

Kolejnym utrudnieniem są rozbieżności w terminologii. Współczynnik D , zwany też D_{slow} , w niektórych pracach określany jest prawdziwym współczynnikiem dyfuzji (*true diffusion coefficient*), podczas gdy D^* , zwany też D_{fast} , określany jest fałszywym współczynnikiem dyfuzji (*false diffusion coefficient*). Nazwa „fałszywy” może być myląca i nieadekwatna.

Przykładem jest praca Yoon i współpracowników, wykorzystująca IVIM-DWI i badająca następujące parametry w grupie 55 chorych z przewlekłymi chorobami wątroby: całkowity współczynnik dyfuzji ADC, *true diffusion coefficient* – D_t , *pseudo diffusion coefficient* – D_p i frakcję perfuzji – f przy 8 wartościach b w aparacie 3T. Wstępne wnioski sugerują wyższą przydatność D_p , a więc współczynnika dyfuzji zależnego od perfuzji, zwanego w tej pracy pseudowspółczynnikiem, niż całkowitego współczynnika dyfuzji – ADC w odróżnianiu podgrup włóknienia. Konieczne są dalsze badania obejmujące większą populację

chorych, standaryzacja procedur oraz stworzenie przejrzystej, zrozumiałej dla wszystkich terminologii [141].

Wpływ dyfuzji i perfuzji na ADC wątroby zdrowej i marskiej zbadała z zastosowaniem IVIM-DWI także grupa Lucianiego, która potwierdziła oddziaływanie na parenchymę czystej molekularnej dyfuzji i dyfuzji związanej z perfuzją. Restrykcję całkowitej dyfuzji z obniżeniem ADC w marskiej wątrobie udało się w ten sposób wytłumaczyć jako obniżenie wartości parametrów dyfuzji zależnej od perfuzji [142].

Interesujący jest także wpływ innych czynników jak np. zawartości tłuszczu czy żelaza na wartość ADC. W teorii tkanka tłuszczowa prowadzi do powiększenia objętości hepatocytu. Większy rozmiar komórek powoduje redukcję przestrzeni zewnątrzkomórkowej tkanki. Z tego względu dochodzi do restrykcji ruchu mikrocząsteczek wody, a wartości ADC mogą być niższe niż w wątrobie bez cech stłuszczenia. Stłuszczonej wątrobę cechuje niecałkowita supresja tłuszczu. Supresję tłuszczu w DWI uzyskuje się za pomocą technik skupiających się na częstotliwości rezonansowej wody. Usuwają one sygnał głównego pików tłuszczu i pików leżących w sąsiedztwie. Piki tłuszczu, na przykład glicerolu, są zlokalizowane obok pików wody, co może skutkować zaburzeniem sygnału i zmianą wartości ADC. Podobny mechanizm prowadzący do zwiększenia objętości hepatocytu przeładowanego żelazem obserwowany jest w wątrobach chorych ze spichrzaniem żelaza. Złogi żelaza oprócz hepatocytów, gromadzą się także w cholangiocytach oraz komórkach śródbłonki. Nadmiar żelaza może gromadzić się także oprócz wątroby, w mięśniu sercowym, chrząstce stawowej, komórkach pęcherzykowych i wyspowych trzustki oraz innych narządach wewnątrzwydzielniczych. Ocena chorych poprzez pomiar zawartości ferrytyny w surowicy ma niską swoistość. MR jest czułą metodą oceny jego obecności w wątrobie, gdyż żelazo powoduje osłabienie sygnału parenchymy spowodowane efektem skrócenia czasu relaksacji T2/T2*.

Bülow i współpracownicy zbadali wiarygodność oceny włóknienia za pomocą DWI, wpływ stłuszczenia wątroby oraz spichrzania żelaza na wartość ADC. Przyjęli oni wstępną hipotezę, że tłuszcz modyfikuje dyfuzję cząsteczek wody, a żelazo osłabia sygnał i powoduje powstawanie szumów. Na całkowitą wartość ADC wpływa więc wiele czynników, takich jak: przepuszczalność i struktura tkankowa, a także omawiane wcześniej dyfuzja i perfuzja. Badacze wykazali zarówno wpływ tłuszczu, jak i żelaza na wyniki DWI. Im wyższa była zawartość tłuszczu czy żelaza w próbce, tym niższa wartość ADC, przy czym stwierdzono liniową zależność pomiędzy spadkiem wartości ADC a wzrostem zawartości tłuszczu w próbce czyli przy większej zawartości tłuszczu stwierdzano niższą wartość ADC. Wykazano także, że średnie ADC u pacjentów z silnym wysyceniem żelazem istotnie statystycznie różniło się i było niższe od grupy chorych bez cech spichrzania. Grupy z niską i średnią zawartością żelaza nie różniły się istotnie między sobą w wartości ADC. W pracy nie wykazano przydatności modelu eksponencjalnego z wartością b powyżej 50 s/mm² w rozróżnianiu osób zdrowych od tych z włóknieniem czy marskością [143].

Metoda DWI jest techniką narażoną na artefakty. Naganawa i współpracownicy wykazali spadek sygnału parenchymy po podaniu SPIO, będących superparamagnetykami

zawierającymi tlenek żelaza. Zanotowali oni lepszą wykrywalność włóknienia przy kombinacji SPIO i DWI [144].

Możliwe jest również zastosowanie metody podwójnego kontrastu, która łączy mechanizm SPIO i środków gadolinowych. Oba kontrasty działają wtedy synergistycznie: SPIO zmniejsza sygnał parenchymy, a środki gadolinowe, bezpośrednio zwiększając sygnał cząsteczek wody w tkance włóknistej, powodują jej opóźnione wzmocnienie, wobec czego zaawansowane włóknienie staje się lepiej widoczne. W pracy Aguirre i współpracowników wykazano, że za pomocą tej metody można odróżnić zaawansowane włóknienie od jego braku lub niewielkiego stopnia nasilenia z dokładnością do 93%. Niewątpliwie zaletą tej metody jest fakt, że nie wymaga dodatkowego sprzętu, a zmiany mogą być oceniane jakościowo i ilościowo, co ma znaczenie przy długoterminowym monitoringu chorych. Podstawowymi ograniczeniami są: wysoki koszt, niedogodność dla pacjenta wynikająca z infuzji dwóch środków kontrastujących oraz długi czas trwania sekwencji na wstrzymanym oddechu. U 10% chorych może wystąpić ból pleców jako działanie niepożądane po iniekcji SPIO [145].

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie elastografią rezonansu magnetycznego uważaną za najskuteczniejszą ze znanych metod obrazowych różnicowania włóknienia. W 2011 grupa Wanga stworzyła metaanalizę porównawczą tej metody oraz DWI. W pracy oceniano 5 badań z zastosowaniem MRE i 10 z DWI. Ze względu na różne skale histopatologiczne użyte do określenia stopnia włóknienia, autorzy pogrupowali wyniki według schematu: F0 vs F1-F4 jako G1, F0-F1 vs F2-F4 jako G2, F0-F2 vs F3-F4 jako G3 i F0-F3 vs F4 jako G4. W badaniu wykazano wysoką skuteczność diagnostyczną MRE: 95%, 98%, 98% i 99% odpowiednio dla poszczególnych grup G1-G4 oraz umiarkowaną skuteczność DWI: 86%, 83%, 86% dla G1-G3. Nie udało się policzyć G4 dla DWI ze względu na niewystarczającą liczbę prac potrzebnych do wykonania metaanalizy.

Metoda diagnostyczna jest określana jako doskonała, gdy ROC wynosi 100%, świetna powyżej 90% i dobra powyżej 80%. Na tej podstawie należy uznać MRE za świetne narzędzie mogące zastąpić biopsję wątroby, a wyniki otrzymane za pomocą DWI należy określić jako dobre [146]. Trudno odnieść wyniki DWI otrzymane w przedstawionym badaniu do pracy doktorantki ze względu na inne kryteria porównania pomiędzy poszczególnymi podgrupami włóknienia. Analizując jednak wartości procentowe skuteczności diagnostycznej dla większości badanych podgrup, wyniki skuteczności DWI wykazanej przez doktorantkę wydają się wyższe niż w przytoczonej pracy.

Jednak właśnie z elastografią rezonansu magnetycznego wiążą się aktualnie największe nadzieje diagnostyczne. W pracy pod kierownictwem Asbach wykazano wysoką skuteczność MRE w odróżnianiu wszystkich stopni włóknienia: F1 i wyższego na poziomie 91%, F2 – 92%, F3 – 97% i F4 – 99% [147].

Kolejną metodą, która budzi szerokie zainteresowanie badaczy jest perfuzja rezonansu magnetycznego. Technika ta wykorzystuje zwolniony przepływ krwi w parenchymie spowodowany obliteracją prawidłowych wewnątrzwątrobowych naczyń i sinusoidów w zaawansowanym włóknieniu. Gdy pojawia się nadciśnienie wrotne, przepływ żylny w wą-

trobie spada, natomiast rośnie przepływ tętniczy i dochodzi do powstania krążenia obocznego. Te zmiany można wykryć w badaniu MR przez modele kinetyczne po szybkim dożylnym podaniu paramagnetycznego środka kontrastującego o powinowactwie do przestrzeni zewnątrzkomórkowej i oceniane za pomocą parametrów określających perfuzję, jak na przykład objętość dystrybucji krwi czy średni czas przejścia. Stwierdzono istotne różnice w wartości tych parametrów u chorych bez i z zaawansowanym włóknieniem. Pomiar objętości dystrybucji wykazał czułość na poziomie 77%, a swoistość 79% w wykrywaniu zaawansowanego włóknienia. Metoda ta wymaga dalszych badań, zwłaszcza pod kątem analizy czynników mogących wpływać na korelację pomiędzy parametrami perfuzji a włóknieniem, takimi jak choroby serca czy choroby zapalne wątroby [148].

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS, *magnetic resonance spectroscopy*) mierzy zawartość różnych metabolitów w tkance, które są przedstawiane jako spektrum. Metoda ta ma ograniczoną wartość w diagnostyce włóknienia wątroby, ale trwają prace badawcze nad jej zastosowaniem, zwłaszcza z użyciem cewki fosforanowej w przebiegu zapaleń wątroby [149].

Tomografia emisyjna pojedynczych fotonów (SPECT, *single photon emission computed tomography*) jest metodą z dziedziny medycyny nuklearnej obrazującą funkcję wątroby po dożylnym podaniu radioaktywnego izotopu – koloidu siarczkowego lub albuminowego znakowanych technetem ^{99m}Tc o powinowactwie do komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego w wątrobie. Radiofarmaceutyk gromadzony jest w ilości proporcjonalnej do metabolizmu wątroby. Metoda ta może być wykorzystywana w diagnostyce zmian ogniskowych (zwłaszcza w potwierdzeniu obecności ogniskowego przerostu guzkowego: FNH) oraz rozlanych uszkodzeń narządu. Znajduje zastosowanie w chorobach zapalnych i metabolicznych oraz marskości wątroby. Ze względu na niską swoistość i rozdzielczość (wykrywa zmiany większe niż 1 cm) obecnie badaniami diagnostycznymi z wyboru są metody radiologiczne (USG, TK i MR). Tomografia emisyjna pojedynczych fotonów ma ograniczone zastosowanie w diagnostyce włóknienia, jednak istnieją korelacje pomiędzy zmianami wykrywanymi tą metodą i skalą Childa -Turcotte'a -Pugha, a także innymi klasyfikacjami określającymi stopień zaawansowania chorób wątroby [150]. Obrazy subtrakcyjne SPECT mogą być wykorzystywane do oceny charakteru zmian ogniskowych w marskiej wątrobie z guzkową regeneracją.

Pozytonowa tomografia emisyjna (PET, *positron emission tomography*) jest stosowana do czynnościowego obrazowania wątroby i znajduje zastosowanie głównie w diagnostyce onkologicznej. Istotą metody jest emisja promieniowania elektromagnetycznego uzyskanego w wyniku zderzeń pozytonów oraz elektronów i rejestracja tego promieniowania za pomocą specjalnych kamer. Pozytony pochodzą z radioaktywnego związku podawanego chorym przed badaniem. Najczęściej stosowanym znacznikiem jest F-18-fluorodeoksyglukoza (FDG). Połączenie PET z TK zwiększa skuteczność metody poprzez poprawę oceny anatomicznej i polega na analizie rozkładu znacznika względem struktur badanych w zależności od metabolizmu glukozy, który w większości procesów patologicznych np. nowotworach jest podwyższony. Metoda może być przydatna do różnicowania

zmian ogniskowych w wątrobie zwłaszcza wtórnych, może być także wykorzystywana do wykrywania nowych ognisk. Jej zastosowanie w różnicowaniu włóknienia i marskości wątroby jest ograniczone jednak może być wykorzystywana do wykrywania HCC, zwłaszcza słabo zróżnicowanych z wysokimi poziomami alfa-fetoproteiny [151].

Podsumowując, DWI to czuła metoda umożliwiająca obrazowanie mikrodyfuzji wody w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, a więc ocenę procesu chorobowego na poziomie komórkowym. Obserwuje się stały wzrost jej zastosowania, przede wszystkim w onkologii, gdzie może być ona wykorzystywana zarówno na etapie wykrywania zmian i określania ich charakteru, jak i do oceny stopnia zaawansowania, odpowiedzi na leczenie oraz kontroli i wykrywania cech ewentualnej wznowy. Trwają prace nad wykorzystaniem DWI jako biomarkera choroby nowotworowej. W trakcie spotkania Międzynarodowego Towarzystwa Rezonansu Magnetycznego w Toronto w 2008 roku uznano konieczność wprowadzenia tej sekwencji do istniejących protokołów i dalsze sprawdzanie przydatności metody w diagnostyce coraz większej populacji chorych. Doktorantka oceniała tą metodą włóknienie wątroby. Wyniki większości badań dostępnych w literaturze, a także praca doktorantki potwierdzają spadek wartości współczynnika ADC u chorych z włóknieniem wątroby. Ograniczenie dyfuzji w przestrzeni zewnątrzkomórkowej wiąże się z odkładaniem się elementów macierzy, takich jak: proteoglikany, kolagen i glikozamonoglikany w przestrzeniach Dissego, a uszczelnianie śródbłonka naczyń i wzrost oporu naczyniowego powodują spadek perfuzji. W części pracy dotyczącej DWI doktorantka zdołała za pomocą tej techniki oddzielić osoby bez i z obecnym włóknieniem, uzyskała także wartości ADC punktów odcięcia dla kolejnych podgrup włóknienia. Uzyskane wyniki pokazują przydatność diagnostyczną DWI w ocenie włóknienia jako dobrej metody różnicowania, która może być brana pod uwagę jako alternatywa dla biopsji. Konieczne są dalsze badania z użyciem tej techniki w celu pełnej oceny czynników wpływających na dyfuzję oraz określenie wzajemnych zależności dyfuzji i perfuzji. Ważne jest także usystematyzowanie i ujednolicenie stosowanego nazewnictwa.

5.4 Analiza porównania skuteczności diagnostycznej dyfuzji MR i elastografii USG przeprowadzonej metodą ARFI

W dostępnej literaturze brakuje prac porównujących skuteczność dyfuzji MR i elastografii USG przeprowadzonej metodą ARFI. Doktorantka nie znalazła także artykułów porównujących DWI z innymi ultrasonograficznymi metodami oceny włóknienia wątroby, poza cytowaną powyżej pracą Lewin i współpracowników [70]. Porównali oni DWI i TE w ocenie zaawansowanego włóknienia i opisali identyczną skuteczność diagnostyczną obu metod na poziomie 92%.

W literaturze autorka znalazła także porównanie DWI vs TE w artykule Kovač i współpracowników, ale dotyczy ono tylko pacjentów z włóknieniem w przebiegu pierwotnej marskości żółciowej wątroby (PBC, *primary biliary cirrhosis*) oraz pierwotnego stwardniającego zapalenia dróg żółciowych (PSC, *primary sclerosing cholangitis*). W badaniu wykazano przewagę skuteczności TE w różnicowaniu średniego i zaawansowanego stopnia włóknienia w stosunku do DWI. W odróżnianiu włóknienia w stopniu F2 i wyższych stwierdzono skuteczność DWI na poziomie 86,8% vs TE 90,9%, a w odróżnianiu stopnia F3 i wyższych odpowiednio 96,6% vs 96%. Nie są to jednak uderzające różnice [152].

Na podstawie porównania obu metod MR okazała się skuteczniejsza w odróżnianiu niewielkiego i umiarkowanego włóknienia od zaawansowanego stopnia i marskości (F1 + F2 vs F3 + F4) z istotnymi statystycznie różnicami dla wszystkich zastosowanych wartości b [s/mm^2]: dla $b = 15$ - 93% ($p = 0,0320$), dla $b = 30$ - 97% ($p = 0,0001$), dla $b = 100$ - 94% ($p = 0,0180$), dla $b = 300$ - 98% ($p = 0,0001$), dla $b = 500$ - 96% ($p = 0,0040$) vs 73% w ARFI. W różnicowaniu niewielkiego i umiarkowanego włóknienia (F1 vs F2) nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w badanych metodach, poza wartością parametru $b = 100$, dla którego ARFI wykazało większą skuteczność niż DWI: 70% vs 47% ($p = 0,0400$). W odróżnianiu zaawansowanego od niewielkiego włóknienia (F3 vs F1) zaobserwowano wyższą skuteczność DWI z istotną statystycznie różnicą dla wszystkich wartości parametru b [s/mm^2]: dla $b = 15$ i 30 100% ($p = 0,0200$), dla $b = 300$ 99% ($p = 0,0200$), dla $b = 500$ 100% ($p = 0,00200$). Jedynie przy $b = 100$ nie wykazano różnicy istotnej statystycznie ze skutecznością DWI na poziomie 85% vs USG 78%. Także w różnicowaniu umiarkowanego od zaawansowanego włóknienia DWI okazało się skuteczniejsze niż USG prawie dla wszystkich wartości parametru b [s/mm^2]: dla $b = 15$ - 88% ($p = 0,0200$), dla $b = 30$ - 93% ($p = 0,0050$), dla $b = 300$ ($p = 0,0050$), dla $b = 500$ - 98% ($p = 0,0006$) vs 61% w ARFI. Jedynie dla $b = 100$ nie wykazano istotnej statystycznie różnicy ze skutecznością DWI na poziomie 80% vs USG 61%.

Na podstawie tego porównania można więc zalecić rezygnację z zastosowania parametru $b = 100$ w codziennej praktyce jako najmniej przydatnego w obrazowaniu dyfuzji MR.

Podsumowując, obie metody obrazowe: dyfuzja MR i elastografia USG przeprowadzona metodą ARFI są nieinwazyjnymi, powtarzalnymi technikami umożliwiającymi badanie pacjentów z włóknieniem. Rezonans magnetyczny odznaczał się wyższą skutecznością

w odróżnianiu poszczególnych podgrup włóknienia w porównaniu z USG, z wyjątkiem różnicowania F1 vs F2, gdzie obie metody wypadły podobnie. Jedynie dla wartości parametru $b = 100$ USG wykazało większą skuteczność diagnostyczną.

5.5 Analiza przydatności współczynnika płytki/śledziona w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia wątroby.

Wartość współczynnika płytki/śledziona jest wykorzystywana w prognozowaniu wystąpienia żylaków przełyku u chorych z marskością wątroby [153]. Powstanie żylaków przełyku, wodobrzusza i innych powikłań jest rezultatem wzrostu ciśnienia w układzie wrotnym o wartości równej lub wyższej ciśnieniu 10 mm Hg. Aby zdefiniować ten stan używa się terminu: istotne klinicznie nadciśnienie wrotne. Dotyczy ono głównie pacjentów ze zdekompensowaną chorobą, choć może dotyczyć także 50-70% chorych, u których zachowana jest kompensacja nadciśnienia. Obecność żylaków przełyku jest niezależnym wskaźnikiem prognostycznym śmiertelności, tak więc chorzy z marskością wątroby wymagają kontroli gastroscopowej pod kątem wykrywania żylaków. Badania endoskopowe powinny być powtarzane co 2-3 lata u chorych z niewielkimi żylakami i co 1-2 lata z zaawansowanymi. Ryzyko krwawienia z żylaków przełyku dotyczy wszystkich pacjentów z marskością wątroby, a nie tylko tych z dużego stopnia żylakami, u których najłatwiej może dojść do pęknięcia ściany i krwawienia. Poszukiwane są także inne, nieinwazyjne metody prognozujące ryzyko wystąpienia żylaków, aby zaoszczędzić chorym wykonywania cyklicznych badań endoskopowych. U chorych z istotnym klinicznie nadciśnieniem wrotnym i żylakami przełyku poszukujemy cech hipersplenizmu, takich jak: niski poziom płytek krwi, zwiększony wymiar śledziona i niska wartość współczynnika płytki/śledziona. Obserwuje się także poszerzenie układu żyły wrotnej, obecność krążenia obocznego w ultrasonografii a także wzrost ilości punktów w skali Child-Pugh.

Spadek ilości płytek krwi u chorych z przewlekłymi chorobami wątroby może zależeć nie tylko od nadciśnienia wrotnego, ale także od skrócenia średniego czasu życia płytek krwi w wyniku niszczenia ich przez przeciwciała, niewydolności szpiku kostnego w odpowiedzi na spadek produkcji trombopoetyny, mielotoksycznego działania alkoholu i wirusów hepatotropowych.

Splenomegalia jest natomiast wynikiem zaburzeń ukrwienia w wyniku biernego przekrwienia żylnego, zwiększonego przepływu krwi przez śledzionę oraz hiperplazji retikuloendotelialnej, które to przyczyny mają bezpośredni związek z nadciśnieniem żylnym. Z tego powodu, zastosowanie współczynnika zawierającego oba parametry wydaje się bardziej celowe [154, 155].

W powyżej cytowanym artykule autorzy wykazali niższą wartość współczynnika płytki/śledziona w grupie pacjentów z żylakami ze średnią: 749 ± 587 w porównaniu do grupy bez żylaków: 1336 ± 680 i istotną statystycznie różnicę pomiędzy obiema grupami chorych z $p < 0.0001$. Uznali oni wartość współczynnika za przydatną diagnostycznie, jed-

nak w łącznej ocenie z innymi parametrami takimi jak: wymiar śledziony, ilość płytek krwi i ocena ultrasonograficzna wątroby pod kątem cech nadciśnienia wrotnego.

Większość autorów badających współczynnik płytki/śledziona w przewidywaniu wystąpienia żylaków przełyku u chorych z marskością wątroby, wykazała jego przydatność w praktyce klinicznej. Metaanaliza z 2012 roku przeprowadzona na podstawie 20 różnych badań w *Digestive Diseases and Sciences*, określiła współczynnik płytki/śledziona z punktem odcięcia o wartości: 909 jako wysoce przydatny diagnostycznie w prognozowaniu wystąpienia żylaków przełyku [156].

Wnioski Schwarzenberger i współpracowników z badania obejmującego 137 chorych były jednak przeciwne [157]. Określili oni współczynnik z punktem odcięcia: 909 jako niedostatecznie dokładny do przewidywania wystąpienia żylaków u chorych z marskością, z negatywną wartością predykcyjną na poziomie 73% a pozytywną 74%, podobnie jak praca Mangone i współpracowników [158].

Te rozbieżne obserwacje badaczy zachęciły autorkę niniejszej rozprawy do zbadania korelacji pomiędzy wartością współczynnika płytki/śledziona a stopniem włóknienia określonym w biopsji wątroby. Ze względu na obserwowany przez badaczy spadek wartości tego współczynnika w marskości wątroby, autorka spodziewała się uzyskać kolejno malejące wartości współczynnika wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania włóknienia i na tej podstawie móc oddzielić od siebie kolejne jego stadia.

W niniejszej rozprawie, autorce udało się w obu grupach badanych różnymi metodami, wykazać różnicę istotną statystycznie pomiędzy podgrupami F1 + F2 + F3 vs F4 co pozwala na odróżnianie włóknienia wątroby od marskości. Autorka wykazała także spadek wartości współczynnika wraz ze wzrostem stopnia włóknienia, określonym na podstawie biopsji wątroby, z wyjątkiem odróżniania podgrup F2 vs F3 dla obu metod, gdzie nie zaobserwowała tej zależności.

Analiza skuteczności percepcji wnioskowania na podstawie krzywych ROC w zależności od punktu odcięcia dla wartości wskaźnika płytki/śledziona w USG wykazała niską skuteczność diagnostyczną metody: 42-70%. Autorka uzyskała znacznie wyższą skuteczność wnioskowania w MR, gdzie różnicowanie F1 vs F3 wykazało skuteczność 95% a podgrup: F1 + F2 vs F3 + F4 - 86%.

Testa i współpracownicy zbadali korelację wskaźnika płytki/śledziona z dwoma podgrupami włóknienia: mniejszym lub równym F2 i większym od F2 [159]. Autorzy wykazali różnicę istotną statystycznie pomiędzy dwoma badanymi grupami ze średnimi wartościami: 2133 ± 786 w pierwszej i 1540 ± 681 w drugiej grupie. Wyniki trudno bezpośrednio porównać z pracą doktorantki, gdyż włóknienie oceniane było w sześciostopniowej skali Ishaka a nie w pięciostopniowej Scheuera. Zwraca jednak uwagę widoczna różnica pomiędzy niewielkim i umiarkowanym włóknieniem a zaawansowanym i marskością, co udało się także zaobserwować doktorantce za pomocą badanego wskaźnika.

Podsumowując, wskaźnik płytki/śledziona może znaleźć swoje zastosowanie w odróżnianiu niewielkiego od zaawansowanego włóknienia, jednak nie udowodniono jego przydatności w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia.

Doktorantka wykazała różnicę istotną statystycznie w ilości płytek krwi pomiędzy osobami z włóknieniem a marskością ($p = 0,028$), co upoważnia do wykorzystania ilości płytek krwi, będącego tanim i dostępnym parametrem, jako markera marskości.

5.6 Ograniczenia i zalety pracy

Niniejsza praca miała swoje ograniczenia. Były to:

- mała podgrupa chorych z czwartym stopniem włóknienia w grupie USG
- brak badania histopatologicznego u pacjentów z grupy kontrolnej celem wykluczenia cech włóknienia (USG i MR)
- grupę kontrolną nie stanowili zupełnie zdrowi pacjenci

Zaletami pracy była:

- nieinwazyjność zastosowanych technik obrazowych
- możliwość dołączenia zastosowanych metod do ogólnie używanych protokołów: włączenie sekwencji DWI do protokołu badania MR, AFRI do badania USG wątroby
- objęcie oceną całego narządu, co umożliwia uniknięcie błędu próbki
- możliwość wielokrotnego, powtarzalnego wykonywania badań, co pozwala na monitorowanie chorych z włóknieniem wątroby w trakcie leczenia

6 Wnioski

Wyniki niniejszej pracy pozwalają na sformułowanie następującego wniosku głównego:

- Obrazowanie dyfuzji metodą MR cechuje wyższa skuteczność diagnostyczna niż elastografię USG przeprowadzoną metodą ARFI w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia, z wyjątkiem różnicowania niewielkiego od umiarkowanego włóknienia, gdzie obie metody są porównywalne.

oraz następujących wniosków szczegółowych:

- Pomiar współczynnika ADC w obrazowaniu dyfuzji metodą MR jest przydatną metodą w ocenie włóknienia, pozwala na odróżnienie osób bez i z włóknieniem wątroby oraz określenie jego poszczególnych stopni.
- Pomiar wartości SWV w elastografii USG przeprowadzonej metodą ARFI pozwala na odróżnienie osób bez i z włóknieniem wątroby oraz różnicowanie wczesnego i zaawansowanego włóknienia.
- Współczynnik płytki/śledziona i liczba płytek krwi mają ograniczoną przydatność w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia ale mogą być stosowane jako markery marskości wątroby.

7 Streszczenie

Włóknienie to proces chorobowy będący odpowiedzią na przewlekłe uszkodzenie wątroby wywołane przez różne czynniki etiologiczne działające na tkankę wątrobową przez okres od kilku miesięcy do kilku lat. Najczęściej są to zakażenia wirusami HBV i HCV, alkohol, choroby metaboliczne i autoimmunologiczne.

Istotą włóknienia jest nadmierne gromadzenie się macierzy łącznotkankowej oraz niewydolność procesów odpowiedzialnych za jej degradację, czego skutkiem jest twardnienie i bliznowacenie tkanki wątrobowej. W przebiegu włóknienia w wątrobie rośnie ilość oraz gęstość macierzy pozakomórkowej, głównie kolagenu typu I, III i IV oraz VI a także glikoprotein i proteoglikanów.

Mechanizmy inicjujące włóknienie, warunkujące jego przebieg, jak i metody diagnostyki oraz leczenia są przedmiotem interdyscyplinarnych badań ostatnich lat. Rozpoznanie, ocena stopnia zaawansowania, a także monitorowanie wyników terapii nadal przysparzają wielu problemów. Poszukiwane są czułe, specyficzne i bezpieczne dla pacjenta metody diagnostyki. Mogłyby one zastąpić inwazyjną biopsję, będąca „złotym standardem” oceny włóknienia i umożliwić wdrożenie leczenia w fazie, w której proces chorobowy może być odwracalny. Ważne jest także monitorowanie postępu choroby, prognozowanie i wykrywanie ewentualnych powikłań, których końcowym etapem są przebudowa marska i niewydolność wątroby.

W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój technik obrazowych, nie tylko morfologicznie opisujących stan narządu, ale także dostarczających dodatkowych informacji służących poszerzeniu całościowej oceny klinicznej procesu chorobowego. Do tych technik należą między innymi: obrazowanie zależne od dyfuzji (DWI, *diffusion weighted imaging*), stosowane w tomografii rezonansu magnetycznego oraz technika elastograficznej oceny twardości tkanki wątrobowej za pomocą ultradźwięków (ARFI, *acoustic radiation force impulse*).

Głównym celem pracy było porównanie przydatności współczynnika dyfuzji (ADC) wyznaczonego na podstawie obrazowania dyfuzji badania MR oraz prędkości fali odkształcenia (SWV) zmierzonej w ultrasonograficznej elastografii wykonanej za pomocą ARFI w ocenie stopnia włóknienia wątroby.

Cele szczegółowe to:

- Ocena przydatności współczynnika dyfuzji (ADC) wyznaczonego na podstawie obrazowania MR w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia wątroby oraz osób zdrowych.
- Ocena przydatności prędkości fali odkształcenia (SWV) zmierzonej w elastografii USG metodą ARFI w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia wątroby oraz osób zdrowych.
- Analiza przydatności współczynnika płytki/śledziona i liczby płytek w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia wątroby.

Zbadano 131 kolejnych chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B i/lub C, z potwierdzonym histopatologicznie włóknieniem, którzy zgłosili się celem wykonania badania MR lub USG wątroby. Do pracy zakwalifikowano 100 chorych, którzy spełnili warunki włączenia do badania. Uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na realizację projektu badawczego. Chorzy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu i otrzymali o nim krótką informację.

Chorzy zostali podzieleni na dwie grupy: grupę badaną za pomocą DWI w rezonansie magnetycznym (60 osób) i za pomocą elastografii ultrasonograficznej metodą ARFI (40 osób). Metodę badań opracowano na podstawie dostępnych w piśmiennictwie danych. Każda z grup posiadała grupę kontrolną.

Uzyskane wyniki poddano testom statystycznym. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu STATISTICA 10.0 oraz standardowych testów. Przeprowadzono analizę skuteczności percepcji wnioskowania o różnicowaniu grupy z włóknieniem od grupy bez włóknienia w obu metodach z wyznaczeniem punktów odcięcia.

Wykazano spadek wartości ADC i wzrost wartości SWV wraz ze wzrostem stopnia włóknienia.

Na podstawie analiz ROC dla USG i MR uzyskano wartości skuteczności percepcji wnioskowania o różnicowaniu poszczególnych podgrup włóknienia.

Wykonano analizę skuteczności wnioskowania na podstawie krzywych ROC pomiaru wskaźnika płytki/śledziona dla różnicowania grupy z włóknieniem oraz bez włóknienia w obu metodach. Zbadano przydatność ilości płytek krwi w ocenie włóknienia.

Wyniki niniejszej pracy pozwoliły na sformułowanie następującego wniosku głównego:

- Obrazowanie dyfuzji metodą MR cechuje wyższa skuteczność diagnostyczna niż elastografię USG przeprowadzoną metodą ARFI w różnicowaniu poszczególnych stopni włóknienia, z wyjątkiem różnicowania niewielkiego od umiarkowanego włóknienia, gdzie obie metody są porównywalne.

oraz następujących wniosków szczegółowych:

- Pomiar współczynnika ADC w obrazowaniu dyfuzji metodą MR jest przydatną metodą w ocenie włóknienia, pozwala na odróżnienie osób bez i z włóknieniem wątroby oraz określenie jego poszczególnych stopni.
- Pomiar wartości SWV w elastografii USG przeprowadzonej metodą ARFI pozwala na odróżnienie osób bez i z włóknieniem wątroby oraz różnicowanie wczesnego i zaawansowanego włóknienia.
- Współczynnik płytki/śledziona i liczba płytek krwi mają ograniczoną przydatność w ocenie stopnia zaawansowania włóknienia ale mogą być stosowane jako markery marskości wątroby.

8 Summary

Liver fibrosis is a pathological response for chronic liver failure. It is caused by different etiological factors which influence the liver tissue for the period of several months or years. The most common are viral hepatitis B and C, alcohol, metabolic and autoimmune diseases.

Liver fibrosis results from progressive accumulation of fibrillar extracellular matrix and failure of degeneration function. The result is hardening and scarring of the hepatic tissue.

The increased amount and density of extracellular matrix compounds like collagen type I, III, IV and VI, glycoproteins and proteoglycans is observed.

To understand mechanisms of fibrosis, its progression, diagnostic and treatment methods, interdisciplinary research is being performed. Diagnosis, staging and monitoring patients with liver fibrosis is still a challenge. Sensitive, specific and safe for the patients methods are being searched to substitute invasive liver biopsy which is still a gold standard in liver fibrosis diagnostics. It is important to start treatment in the right phase when the process could be reversible. Monitoring, forecasting the disease activity and complications is the essential task as the progressive fibrosis can lead to cirrhosis and liver insufficiency.

In recent years a dynamic development of imaging modalities is observed with detailed information not only about morphology but also offering additional data to widen the clinical assessment of every patient. There are two technics of this kind: diffusion weighted imaging in magnetic resonance tomography and acoustic radiation force impulse imaging in ultrasound.

The main aim of this study was to compare a diagnostic efficiency of ADC value measured in MR and SWV value in ARFI sonoelastography in liver fibrosis evaluation.

The additional aims were to:

- assess usefulness of ADC values based on DWI for different stages of fibrosis and for healthy population
- assess usefulness of SWV in ultrasound elastography performed with ARFI for different stages of fibrosis and for healthy population
- analyze the usefulness of the platelet count/spleen diameter ratio and the platelet count for fibrosis staging.

131 consecutive patients infected with chronic viral B or/and C hepatitis were examined with MR (60 patients) and US (40 patients) and were divided into two groups depending on examination technic. All of them had a liver biopsy performed in the period: 0 – 18 months before. 100 patients who fulfilled the inclusion criteria were accepted to take part in the research.

Informed consent was obtained from all participating subjects, and the Ethics Committee of Medical University of Gdańsk approved the study.

The obtained data was analyzed with typical statistic tests with the use of STATISTICA 10.0.

The diagnostic performance of US and MR was assessed to predict the fibrosis stages with the cutoff values and to distinguish patients with and without fibrosis.

The same kind of analysis was performed to evaluate the diagnostic efficacy of the platelet count/spleen diameter ratio and platelet count for fibrosis staging.

Obtained results led to the main conclusion:

- DWI in MR demonstrated better efficiency than ultrasound elastography performed with ARFI in fibrosis staging and differentiating population with and without fibrosis.

and detailed conclusions:

- ADC measurement in diffusion weighted imaging is a useful method, allows to stage liver fibrosis and to distinguish patients with and without fibrosis.
- SWV measurement in ultrasound elastography performed with ARFI is a useful method, allows to stage liver fibrosis and to distinguish patients with and without fibrosis, to separate early and advanced fibrosis.
- The platelet count/spleen diameter ratio and platelet count has a limited value in liver fibrosis assessment but could be used as a cirrhosis marker.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Jou JH, Muir AJ. In the clinic. Hepatitis C. *Ann Intern Med.* 2012 Dec 4; 157(11): ITC6-1 - ITC6-16.
- 2 Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology.* 2009 Jan; 49(1): 306-17.
- 3 Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2008 Mar 8; 371(9615): 838-51.
- 4 Habor A. Choroby wątroby zagrożeniem Europy XXI wieku. *Postępy nauk medycznych. Borgis* 2/2009; 77-83.
- 5 Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology.* 2013 Apr; 57(4): 1357-65.
- 6 www.aasld.org/practiceguidelines/Pages/default.aspx
- 7 Ismail MG, Stieger B, Cattori V, et al. Hepatic uptake of cholecystokinin octapeptide by organic anion-transporting polypeptides OATP4 and OATP8 of rat and human liver. *Gastroenterology.* 2001; 121: 1185.
- 8 Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible? *N Engl J Med.* 2001; 344: 452.
- 9 Dąbrowski A. (red). *Gastroenterologia, cz. 1. Medical Tribune Polska, Warszawa 2011: 552-55.*
- 10 Kryczka W, Chrapek M, Paluch K, Zarebska-Michaluk D, Urbaniak A. Rate of liver fibrosis progression among patients with chronic hepatitis C in Poland. *Pol Arch Med Wewn.* 2003; 110(2): 869-75.
- 11 Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC. Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut.* 2004; 53(3): 451-5.
- 12 Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, Doo E, Khokar F, Promrat K, Herion D, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2003; 124(1): 97-104.
- 13 Wali M, Harrison RF, Gow PJ, Mutimer D. Advancing donor liver age and rapid fibrosis progression following transplantation for hepatitis C. *Gut.* 2002 Aug; 51(2): 248-52.
- 14 Zatoński WA, Sulkowska U, Mańczuk M, Rehm J, Boffetta P, Lowenfels AB, La Vecchia C. Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe. *Eur Addict Res.* 2010; 16(4): 193-201.
- 15 Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis.* 2001; 21: 351.
- 16 Gressner AM, Bachem MG. Cellular sources of noncollagenous matrix proteins: role of FAT-storing cells in fibrogenesis. *Semin Liver Dis.* 1990; 10: 30-46.
- 17 Gressner AM. The cell biology of liver fibrogenesis – an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell Tissue Res.* 1998; 292: 447.
- 18 Wells RG. The role of matrix stiffness in regulating cell behavior. *Hepatology.* 2008; 47: 1394.
- 19 Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, et al. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007; 5: 1207.

-
- 20 Yang C, Zeisberg M, Mosterman B, et al. Liver fibrosis: insights into migration of hepatic stellate cells in response to extracellular matrix and growth factors. *Gastroenterology*. 2003; 124: 147.
 - 21 Friedman SL. Stellate cells: a moving target in hepatic fibrogenesis. *Hepatology*. 2004; 40: 1041.
 - 22 Théret N, Musso O, L'Helgoualc'h A, Clément B. Activation of matrix metalloproteinase-2 from hepatic stellate cells requires interactions with hepatocytes. *Am J Pathol*. 1997; 150: 51.
 - 23 Théret N, Lehti K, Musso O, Clément B. MMP2 activation by collagen I and concanavalin A in cultured human hepatic stellate cells. *Hepatology*. 1999; 30: 462.
 - 24 Gonciarz Z, Mazur W. Choroby wątroby. W: Konturek S. (red.) *Gastroenterologia i hepatologia kliniczna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL; Warszawa 2006: 708.
 - 25 Diehl AM. Liver disease in alcohol abusers: clinical perspective. *Alcohol*. 2002 May; 27(1): 7-11.
 - 26 Spiegel BM, Younossi ZM, Hays RD, Revicki D, Robbins S, Kanwal F. Impact of hepatitis C on health related quality of life: a systematic review and quantitative assessment. *Hepatology*. 2005; 41(4): 790
 - 27 http://www.uptodate.com/contents/cirrhosis-in-adults-etiological-manifestations-and-diagnosis?source=search_result&search=symptoms+of+liver+fibrosis&selectedTitle=6%7E106. Dostęp: styczeń 2014.
 - 28 Modi AA, Feld JJ, Park Y, et al. Increased caffeine consumption is associated with reduced hepatic fibrosis. *Hepatology*. 2010; 51: 201.
 - 29 Chan ES, Montesinos MC, Fernandez P, et al. Adenosine A(2A) receptors play a role in the pathogenesis of hepatic cirrhosis. *Br J Pharmacol*. 2006; 148: 1144.
 - 30 Ala-Kokko L, Stenbäck F, Ryhänen L. Preventive effect of malotilate on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat. *J Lab Clin Med*. 1989; 113: 177.
 - 31 Boetticher NC, Peine CJ, Kwo P, et al. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of etanercept in the treatment of alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*. 2008; 135: 1953.
 - 32 Nelson DR, Lauwers GY, Lau JY, Davis GL. Interleukin 10 treatment reduces fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a pilot trial of interferon nonresponders. *Gastroenterology*. 2000; 118: 655.
 - 33 Matsuda Y, Matsumoto K, Ichida T, Nakamura T. Hepatocyte growth factor suppresses the onset of liver cirrhosis and abrogates lethal hepatic dysfunction in rats. *J Biochem*. 1995; 118: 643.
 - 34 Di Bisceglie AM, Shiffman ML, Everson GT, et al. Prolonged therapy of advanced chronic hepatitis C with low-dose peginterferon. *N Engl J Med*. 2008; 359: 2429.
 - 35 Pockros PJ, Jeffers L, Afdhal N, et al. Final results of a double-blind, placebo-controlled trial of the antifibrotic efficacy of interferon-gamma1b in chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis or cirrhosis. *Hepatology*. 2007; 45: 569.
 - 36 RN. Pugh, IM. Murray-Lyon, JL. Dawson, MC. Pietroni i inni. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973; 60 (8), 646-9.

-
- 37 Wiesner RH, McDiarmid SV, Kamath PS, Edwards EB, Malinchoc M, Kremers WK, Krom RA, Kim WR. MELD and PELD: application of survival models to liver allocation. *Liver Transpl.* 2001; 7 (7): 567-80.
 - 38 Mansour A, Watson W, Shayani V, Pickleman J. Abdominal operations in patients with cirrhosis: still a major surgical challenge. *Surgery.* 1997; 122: 730.
 - 39 Albers I, Hartmann H, Bircher J, Creutzfeldt W. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function tests for assessing prognosis of liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol.* 1989; 24: 269.
 - 40 Ferral H, Gamboa P, Postoak DW, et al. Survival after elective transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation: prediction with model for end-stage liver disease score. *Radiology.* 2004; 231: 231.
 - 41 Gleisner AL, Muñoz A, Brandao A, et al. Survival benefit of liver transplantation and the effect of underlying liver disease. *Surgery.* 2010; 147: 392.
 - 42 Sauerbruch T, Appenrodt B, Schmitz V, Spengler U. The conservative and interventional treatment of the complications of liver cirrhosis: Part 2 of a series on liver cirrhosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2013 Feb;110(8):126-32.
 - 43 Bonekamp S, Kamel I, Solga S, Clark J. Can imaging modalities diagnose and stage hepatic fibrosis and cirrhosis accurately? *J Hepatol.* 2009; 50: 17-35.
 - 44 Fornis X, Bataller R. Can we identify liver fibrosis in HCV-infected patients without a liver biopsy? *Current Hepatitis Reports.* 2003; 2: 145-51.
 - 45 Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999;94 (9):2467–2474
 - 46 Scheuer PJ, Davies SE, Dhillon AP. Histopathological aspects of viral hepatitis. *J Viral Hepat.* 1996; 6: 277-83.
 - 47 Goldin RD, Goldin JG, Burt AD, Dhillon PA, Hubscher S, Wyatt J, et al. Intra-observer and inter-observer variation in the histopathological assessment of chronic viral hepatitis. *J Hepatol.* 1996; 25: 649–54.
 - 48 Bedossa P, Dargere D, Paradis V: Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38: 1449–57.
 - 49 Healey JE Jr, Schroy PC. Anatomy of the biliary ducts within human liver: analysis of the prevailing pattern of branching and the major variations of the biliary ducts. *Arch Surg.* 1953; 66:599
 - 50 Couinaud C. Liver lobes and segments: notes on the anatomical architecture and surgery of the liver]. *Presse Med.* 1954 May 5;62(33):709-12.
 - 51 Simonovsky V. The diagnosis of cirrhosis by high resolution ultrasound of the liver surface. *Br J Radiol.* 1999; 72: 29–34.
 - 52 Weickert U, Buttman A, Jakobs R, Schilling D, Eickhoff A, Riemann JF. Diagnosis of liver cirrhosis: a comparison of modified ultrasound and laparoscopy in 100 consecutive patients. *J Clin Gastroenterol.* 2005; 39: 529–32.
 - 53 Lim AK, Taylor-Robinson SD, Patel N, et al. Hepatic vein transit times using a micro-bubble agent can predict disease severity non-invasively in patients with hepatitis C. *Gut.* 2005; 54: 128–33.
 - 54 Kremer H, Dobrinski W. *Diagnostyka ultrasonograficzna.* Urban&Partner, Wrocław 1994: 77-84.

-
- 55 Prokop M, Galanski M. Spiralna i wielonarzędowa tomografia komputerowa człowieka. Medipage, Warszawa 2007: 448-52.
 - 56 Valls C, Andia E, Roca Y, Cos M, Fiqueras J. CT in hepatic cirrhosis and chronic hepatitis. *Semin Ultrasound CT MR*. 2002 Feb; 23(1): 37-61.
 - 57 Li JP, Zhao DL, Jiang HJ, Huang YH, Li DQ, Wan Y, Liu XD, Wang JE. Assessment of tumor vascularization with functional computed tomography perfusion imaging in patients with cirrhotic liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2011 Feb; 10(1): 43-9.
 - 58 Pandharipande PV, Krinsky GA, Rusinek H, Lee VS. Perfusion imaging of the liver: current challenges and future goals. *Radiology*. 2005 Mar;234(3): 661-73.
 - 59 Mitchell DG, Navarro VJ, Herrine SK et al. Compensated hepatitis C: unenhanced MR imaging correlated with pathologic grading and staging. *Abdom Imaging*. 2008; 33: 58-64.
 - 60 Lucidarme O, Baleston F, Cadi M, et al. Non-invasive detection of liver fibrosis: is superparamagnetic iron oxide particle-enhanced MR imaging a contributive technique? *Eur Radiol*. 2003; 13(3): 467-74.
 - 61 Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*. 1986 Nov; 161(2): 401-7.
 - 62 Taouli B, Koh DM. Diffusion-weighted MR imaging of the liver. *Radiology*. 2010 Jan; 254(1): 47-66.
 - 63 Szafer A, Zhong J, Anderson AW, Gore JC. Diffusion-weighted imaging in tissues: theoretical models. *NMR Biomed*. 1995 Nov-Dec; 8(7-8): 289-96.
 - 64 Szurowska E. Ocena zmian współczynnika dyfuzji w nowotworach wątroby leczonych ablacją prądem o wysokiej częstotliwości na podstawie badań MR. *Ann Acad Med Gedan*. 2011; 41: 17-21.
 - 65 Taoli B, Chouli M, Martin AJ, et al. Chronic Hepatitis: Role of Diffusion-Weighted Imaging and Diffusion Tensor Imaging for the Diagnosis of Liver Fibrosis and Inflammation. *J Magn Reson Imaging*. 2008; 28: 89-95.
 - 66 Lewin M, Poujol-Robert A, Boelle PY, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007; 46: 658-65.
 - 67 Gomez-Dominguez E, Mendoza J, Rubio S, Moreno-Monteagudo JA, Gacias-Buey L, Moreno-Otero R. Transient elastography: a valid alternative to biopsy in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24: 513-8.
 - 68 Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008; 134: 960-74.
 - 69 Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, West CP, Montori VM. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 1214-1220.
 - 70 Huwart L, Sempoux C, Vicaux E, et al. Magnetic resonance elastography for the noninvasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2008; 135: 32-40.
 - 71 Huwart L, Sempoux C, Salameh N, et al. Liver fibrosis: noninvasive assessment with MR elastography versus aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. *Radiology*. 2007; 245: 458-66.

-
- 72 Ichikawa S, Motosugi U, Ichikawa T, Sano K, Morisaka H, Enomoto N, Matsuda M, Fujii H, Araki T. Magnetic resonance elastography for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Magn Reson Med Sci*. 2012; 11(4): 291-7.
- 73 Rustogi R, Horowitz J, Harmath C, Wang Y, Chalian H, Ganger DR, Chen ZE, Bolster BD Jr, Shah S, Miller FH. Accuracy of MR elastography and anatomic MR imaging features in the diagnosis of severe hepatic fibrosis and cirrhosis. *J Magn Reson Imaging*. 2012 Jun; 35(6): 1356-64.
- 74 Nightingale K, Soo MS, Nightingale R, Trahey G. Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility. *Ultrasound Med Biol*. 2002 Feb; 28(2): 227-35.
- 75 Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 22: 1074.
- 76 Takahashi H, Ono N, Eguchi Y, et al. Evaluation of acoustic radiation force impulse elastography for fibrosis staging of chronic liver disease: a pilot study. *Liver Int*. 2010; 30: 538.
- 77 Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, et al. Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: a pilot study. *Hepatology*. 2012; 56: 2125.
- 78 Szczeklik A. *Choroby wewnętrzne. Medycyna Praktyczna; Kraków 2011: 800-804.*
- 79 Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 518.
- 80 Poynard T, Aubert A, Bedossa P, et al. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology*. 1991; 100: 1397.
- 81 Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007 Feb;45(2):297-306.
- 82 Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, S Sulkowski M, Torriani FJ, Dieterich DT, Thomas DL, Messinger D, Nelson M; APRICOT Clinical Investigators. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006 Jun; 43(6): 1317-25.
- 83 Naveau S, Gaudé G, Asnacios A, et al. Diagnostic and prognostic values of noninvasive biomarkers of fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2009; 49: 97.
- 84 Macias J, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, et al. Prediction of liver fibrosis in human immunodeficiency virus / hepatitis C virus coinfecting patients by simple noninvasive indexes. *Gut*. 2006; 55: 409-14.
- 85 Martinez-Bauer E, Crespo J, Romero-Gomez M, et al. Development and validation of two models for early prediction of response to therapy in genotype1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; 43: 72-80.
- 86 Pinzani M, Rombouts K, Colagrande S. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management. *J Hepatol*. 2005; 42: 22-36
- 87 Loko M-A, Castera L, Dabis F, et al. Validation and comparison of simple noninvasive indexes for predicting liver fibrosis in HIV-HCV-coinfecting patients: ANRS CO3 Aquitaine cohort. *Am J Gastroenterol*. 2008; 103: 1973-80.

-
- 88 Cacoub P, Carrat F, Be´dossa P, et al. Comparison of non-invasive liver fibrosis biomarkers in HIV/HCV co-infected patients: the fibrovic study – ANRS HC02. *J Hepatol.* 2008; 48: 765–73.
 - 89 Baranova A, Lal P, Biredinc A and Younossi Z. Non-Invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol.* 2011; 11: 91.
 - 90 Gallorini A, Plebani M, Pontisso P, et al. Serum markers of hepatic fibrogenesis in chronic hepatitis type C treated with alfa-2A interferon. *Liver.* 1994; 14: 257.
 - 91 Montalto G, Soresi M, Aragona F, et al. [Procollagen III and laminin in chronic viral hepatopathies]. *Presse Med.* 1996; 25: 59.
 - 92 Trinchet JC, Hartmann DJ, Pateron D, et al. Serum type I collagen and N-terminal peptide of type III procollagen in chronic hepatitis. Relationship to liver histology and conventional liver tests. *J Hepatol.* 1991; 12: 139.
 - 93 George DK, Ramm GA, Walker NI, et al. Elevated serum type IV collagen: a sensitive indicator of the presence of cirrhosis in haemochromatosis. *J Hepatol.* 1999; 31: 47.
 - 94 Körner T, Kropf J, Gressner AM. Serum laminin and hyaluronan in liver cirrhosis: markers of progression with high prognostic value. *J Hepatol.* 1996; 25: 684.
 - 95 Johansen JS. Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibroses and cancer. *Dan Med Bull.* 2006 May;53(2):172-209.
 - 96 Walsh KM, Timms P, Campbell S, et al. Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases -1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as noninvasive markers of liver disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis. *Dig Dis Sci.* 1999; 44: 624.
 - 97 Nelson DR, Gonzalez-Peralta RP, Qian K, et al. Transforming growth factor-beta 1 in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 1997; 4: 29.
 - 98 Chung YH, Kim JA, Song BC, et al. Expression of transforming growth factor-alpha mRNA in livers of patients with chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 2000; 89: 977.
 - 99 Braden A, Lembcke B, Kukera W. 13C-breath tests: Current state of the art and future directions. *Digestive and Liver Disease.* 2007; 39: 795–805.
 - 100 Lalazar G, Adar T, Ilan Y. Piont – of-care continuous 13C-methacetin breath test improved decision making in acute liver disease: Results of a pi- lot clinical trial. *World J Gastroenterol.* 2009; 15(8): 966–72.
 - 101 Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, et. al. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology.* 2009 Aug; 252(2): 595-604.
 - 102 Koinuma M., Ohashi I., Hanafusa K., Shibuya H. Apparent diffusion coefficient measurements with diffusion-weighted magnetic resonance imaging for evaluation of hepatic fibrosis. *J Magn Reson Imaging.* 2005 Jul; 22(1): 80-5.
 - 103 Palmeri ML, Frinkley KD, Zhai L, et al. Acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging of the gastrointestinal tract Ultrason Imaging. 2005 Apr; 27(2): 75-88.
 - 104 Dahl JJ, Dumont DM, Allen JD, Miller EM, Trahey GE. Acoustic radiation force impulse imaging for noninvasive characterization of carotid artery atherosclerotic plaques: a feasibility study. *Ultrasound Med Biol.* 2009 May; 35(5): 707-16.

-
- 105 Takahashi H, Ono N, Eguchi Y, et al. Evaluation of acoustic radiation force impulse elastography for fibrosis staging of chronic liver disease: a pilot study. *Liver Int.* 2010 Apr; 30(4): 538-45.
 - 106 Yoneda M, Suzuki K, Kato S et al. Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography. *Radiology* 2010; 256: 640–647.
 - 107 Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, et al. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology.* 2009 Aug; 252(2): 595-604.
 - 108 Piscaglia F, Salvatore V, Di Donato R, et al. Accuracy of VirtualTouch Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) imaging for the diagnosis of cirrhosis during liver ultrasonography. *Ultraschall Med.* 2011; 32: 167–175.
 - 109 Sporea I, Sirlu RL, Deleanu A, Popescu A, Focsa M, Danila M, Tudora A. Acoustic radiation force impulse elastography as compared to transient elastography and liver biopsy in patients with chronic hepatopathies. *Ultraschall Med.* 2011; 32 Suppl 1: S46–S52
 - 110 Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, Sparchez Z, Branda H, Serban A, Maniu A. Performance of a new elastographic method (ARFI technology) compared to unidimensional transient elastography in the noninvasive assessment of chronic hepatitis C. Preliminary results. *J*
 - 111 Colombo S, Buonocore M, Del Poggio A, et al. Head-to-head comparison of transient elastography (TE), real-time tissue elastography (RTE), and acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging in the diagnosis of liver fibrosis. *J Gastroenterol.* 2012; 47: 461-9
 - 112 Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010; 22: 1074-84.
 - 113 D'Onofrio M, Crosara S, De Robertis R, Canestrini S, Demozzi E, Gallotti A, Pozzi Mucelli R. Acoustic radiation force impulse of the liver. *World J Gastroenterol.* 2013 Aug 14; 19(30): 4841-9.
 - 114 Cassinotto C, Lapuyade B, Aït-Ali A, et al. Liver fibrosis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse elastography--comparison with FibroScan M and XL probes and FibroTest in patients with chronic liver disease. *Radiology.* 2013 Oct; 269(1): 283-92.
 - 115 Gatti E, Cabassa P, Gandolfi S, Contessi G, Rossini A, R Maroldi. Quantification of hepatic fibrosis with a new US technique (virtual touch analysis): correlation with pathologic findings. *Eur Radiol.* 2009; 19: S308.
 - 116 Lees WR. Acoustic radiation force imaging: a new method for quantifying hepatic fibrosis. *Eur Radiol.* 2009; 19: S308.
 - 117 Rifai K, Bahr MJ, Mederacke I, et al. Acoustic radiation force imaging (ARFI) as a new method of ultrasonographic elastography allows accurate and flexible assessment of liver stiffness. *J Hepatol.* 2009; 50: S88.
 - 118 Fierbinteanu-Braticevici C, Andronescu D, Usvat R, Cretoiu D, Baicus C, Marinoschi G. Acoustic radiation force imaging sonoelastography for noninvasive staging of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5525–32.
 - 119 Kim JE, Lee JY, Kim YJ, Yoon JH, Kim SH, Lee JM, Han JK, Choi BI. Acoustic radiation force impulse elastography for chronic liver disease: comparison with ultrasound-

-
- based scores of experienced radiologists, Child-Pugh scores and liver function tests. *Ultrasound Med Biol.* 2010 Oct; 36(10): 1637-43.
- 120 Friedrich-Rust M, Nierhoff J, Lupsor M, et al. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. *J Viral Hepat.* 2012 Feb; 19(2): e212-9.
- 121 Jaffer OS, Lung PF, Bosanac D, Patel VM, Ryan SM, Heneghan MA, Quaglia A, Sidhu PS. Acoustic radiation force impulse quantification: repeatability of measurements in selected liver segments and influence of age, body mass index and liver capsule-to-box distance. *Br J Radiol.* 2012 Oct;85(1018):e858-63.
- 122 Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97: 2614–18.
- 123 Bota S, Sporea I, Peck-Radosavljevic M, Sirli R, Tanaka H, Iijima H, Saito H, Ebinuma H, Lupsor M, Badea R, Fierbinteanu-Braticevici C, Petrisor A, Friedrich-Rust M, Sarrazin C, Takahashi H, Ono N, Piscaglia F, Marinelli S, D'Onofrio M, Gallotti A, Salzl P, Popescu A, Danila M. The influence of aminotransferase levels on liver stiffness assessed by Acoustic Radiation Force Impulse Elastography: a retrospective multicentre study. *Dig Liver Dis.* 2013 Sep;45(9):762-8.
- 124 Bota S, Sporea I, Sirli R, Popescu A, Jurchis A. Factors which influence the accuracy of acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography for the diagnosis of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Ultrasound Med Biol.* 2013 Mar;39(3):407-12.
- 125 Taouli B, Martin AJ, Qayyum A, et al. Parallel imaging and diffusion tensor imaging for diffusion-weighted MRI of the liver: preliminary experience in healthy volunteers. *AJR Am J Roentgenol.* 2004; 183(3): 677–80.
- 126 Kim T, Murakami T, Takahashi S, Hori M, Tsuda K, Nakamura H. Diffusion-weighted single-shot echoplanar MR imaging for liver disease. *Am J Roentgenol.* 1999; 173: 393-8.
- 127 Yamada I, Aung W, Himento Y, Nakagawa T, Shibuya H. Diffusion coefficients in abdominal organs and hepatic lesions: evaluation with in-travoxel incoherent motion echo-planar MR imaging. *Radiology.* 1999; 210: 617-623.
- 128 Kandpal H, Sharma R, Madhusudhan KS, Kapoor KS. Respiratory - triggered versus breath-hold diffusion-weighted MRI of liver lesions: comparison of image quality and apparent diffusion coefficient values. *AJR Am J Roentgenol.* 2009 Apr; 192(4): 915-22.
- 129 Girometti R, Furlan A, Bazzocchi M, Soldano F, Isola M, Toniutto P, Bitetto D, Zuiani C. Diffusion-weighted MRI in evaluating liver fibrosis: a feasibility study in cirrhotic patients. *Radiol Med.* 2007 Apr; 112(3): 394-408.
- 130 Koinuma M, Ohashi I, Hanafusa K, Shibuya H. Apparent diffusion coefficient measurements with diffusion-weighted magnetic resonance imaging for evaluation of hepatic fibrosis. *J Magn Reson Imaging.* 2005; 22: 80-85.
- 131 Catanzaro R, Sapienza C, Milazzo M, Arona S, Italia A, Samperi L. Liver fibrosis: evaluation with diffusion-weighted magnetic resonance imaging in patients with chronic liver disease. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2013 Sep; 59(3): 313-20.
- 132 Zhu NY, Chen KM, Chai WM, Li WX, Du LJ. Feasibility of diagnosing and staging liver fibrosis with diffusion weighted imaging. *Chin Med Sci J.* 2008 Sep; 23(3): 183-6
- 133 Bakan AA, Inci E, Bakan S, Gokturk S, Cimilli T. Utility of diffusion-weighted imaging in the evaluation of liver fibrosis. *Eur Radiol.* 2012 Mar;22(3):682-7

-
- 134 Sandrasegaran K, Akisik FM, Lin C, Tahir B, Rajan J, Saxena R, Aisen AM. Value of diffusion-weighted MRI for assessing liver fibrosis and cirrhosis. *AJR Am J Roentgenol*. 2009 Dec; 193(6): 1556-60.
 - 135 Boulanger Y, Amara M, Lepanto L, Beaudoin G, Nguyen BN, Allaire G, Poliquin M, Nicolet V. Diffusion-weighted MR imaging of the liver of hepatitis C patients. *NMR Biomed*. 2003 May; 16(3): 132-6.
 - 136 Ichikawa T, Haradome H, Hachiya J, Nitatori T, Araki T. Diffusion-weighted MR imaging with a single-shot echoplanar sequence: detection and characterization of focal hepatic lesions. *AJR Am J Roentgenol*. 1998 Feb;170(2):397-402.
 - 137 Annet L, Peeters F, Abarca-Quinones J, Leclercq I, Moulin P, Van Beers BE. Assessment of diffusion-weighted MR imaging in liver fibrosis. *J Magn Reson Imaging*. 2007 Jan; 25(1): 122-8.
 - 138 Kubo H, Harada M, Ishikawa M, Nishitani H. Hemodynamic changes with liver fibrosis measured by dynamic contrast-enhanced MRI in the rat. *Magn Reson Med Sci*. 2006 Jul; 5(2): 65-71.
 - 139 Chandarana H, Taouli B. Diffusion and perfusion imaging of the liver. *Eur J Radiol*. 2010 Dec; 76(3): 348-58.
 - 140 Guiu B, Cercueil JP. Liver diffusion-weighted MR imaging: the tower of Babel? *Eur Radiol*. 2011 Mar; 21(3): 463-7.
 - 141 Yoon JH, Lee JM, Baek JH, Shin CI, Kiefer B, Han JK, Choi BI. Evaluation of hepatic fibrosis using intravoxel incoherent motion in diffusion-weighted liver MRI. *J Comput Assist Tomogr*. 2014 Jan-Feb;38(1):110-6.
 - 142 Luciani A, Vignaud A, Cavet M, et al. Liver cirrhosis: intravoxel incoherent motion MR imaging-pilot study. *Radiology*. 2008 Dec; 249(3): 891-9
 - 143 Bülow R, Mensel B, Meffert P, Hernando D, Evert M, Kühn JP. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for staging liver fibrosis is less reliable in the presence of fat and iron. *Eur Radiol*. 2013 May; 23(5): 1281-7.
 - 144 Naganawa S, Sato C, Nakamura T, Kumada H, Ishigaki T, Miura S, Maruyama K, Takizawa O. Diffusion-weighted images of the liver: comparison of tumor detection before and after contrast enhancement with superparamagnetic iron oxide. *J Magn Reson Imaging*. 2005 Jun; 21(6): 836-40
 - 145 Aguirre DA, Behling CA, Alpert E, Hassanein TI, Sirlin CB. Liver fibrosis: noninvasive diagnosis with double contrast material-enhanced MR imaging. *Radiology*. 2006 May; 239(2): 425-37.
 - 146 Wang QB, Zhu H, Liu HL, Zhang B. Performance of magnetic resonance elastography and diffusion-weighted imaging for the staging of hepatic fibrosis: A meta-analysis. *Hepatology*. 2012 Jul; 56(1): 239-47.
 - 147 Asbach P, Klatt D, Schlosser B, et al. Viscoelasticity-based staging of hepatic fibrosis with multifrequency MR elastography. *Radiology*. 2010 Oct; 257(1): 80-6.
 - 148 Hagiwara M, Rusinek H, Lee VS, et al. Advanced liver fibrosis: diagnosis with 3D whole-liver perfusion MR imaging—initial experience. *Radiology*. 2008; 246(3): 926–34.
 - 149 Lim AK, Patel N, Hamilton G, Hajnal JV, Goldin RD, Taylor-Robinson SD. The relationship of in vivo ³¹P MR spectroscopy to histology in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003; 37: 788–94.
 - 150 Shiramizu B, Theodore D, Bassett R, et al. Correlation of single photon emission computed tomography parameters as a noninvasive alternative to liver biopsies in as-

-
- sessing liver involvement in the setting of HIV and hepatitis C virus coinfection: a multicenter trial of the Adult AIDS Clinical Trials Group. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003; 33: 329–35.
- 151 Wudel LJ Jr, Delbeke D, Morris D, Rice M, Washington MK, Shyr Y, Pinson CW, Chapman WC. The role of [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging in the evaluation of hepatocellular carcinoma. *Am Surg*. 2003 Feb;69(2):117-24
- 152 Kovač JD, Daković M, Stanisavljević D, Alempijević T, Ješić R, Seferović P, Maksimović R. Diffusion-weighted MRI versus transient elastography in quantification of liver fibrosis in patients with chronic cholestatic liver diseases. *Eur J Radiol*. 2012 Oct; 81(10): 2500-6.
- 153 Giannini E, Botta F, Borro P, et al. Platelet count /spleen diameter ratio: proposal and validation of a non-invasive parameter to predict the presence of oesophageal varices in patients with liver cirrhosis. *Gut* 2003;52:1200–1205.
- 154 Berzigotti A, Gilabert R, Abraldes JG, et al. Noninvasive prediction of clinically significant portal hypertension and esophageal varices in patients with compensated liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1159–1167.
- 155 Berzigotti A, Seijo S, Arena U, Abraldes JG, Vizzutti F, García-Pagán JC, Pinzani M, Bosch J. Elastography, spleen size, and platelet count identify portal hypertension in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*. 2013 Jan;144(1):102-111.
- 156 Ying L, Lin X, Xie ZL, Hu YP, Shi KQ. Performance of platelet count/spleen diameter ratio for diagnosis of esophageal varices in cirrhosis: a meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 2012 Jun;57(6):1672-81.
- 157 Schwarzenberger E, Meyer T, Golla V, Sahdala NP, Min AD. Utilization of platelet count spleen diameter ratio in predicting the presence of esophageal varices in patients with cirrhosis. *J Clin Gastroenterol*. 2010 Feb;44(2):146-50
- 158 Mangone M, Moretti A, Alivernini F, Papi C, Orefice R, Dezi A, Amadei E, Aratari A, Bianchi M, Tornatore V, Koch M. Platelet count/spleen diameter ratio for non-invasive diagnosis of oesophageal varices: is it useful in compensated cirrhosis? *Dig Liver Dis*. 2012 Jun;44(6):504-7.
- 159 Testa R, Testa E, Giannini E, Borro P, Milazzo S, Isola L, Ceppa P, Lantieri PB, Risso D. Noninvasive ratio indexes to evaluate fibrosis staging in chronic hepatitis C: role of platelet count/spleendiameter ratio index. *J Intern Med*. 2006 Aug;260(2):142-50.