

Digital pathology: accurate technique for quantitative assessment of histological features in metabolic-associated fatty liver disease

David Marti-Aguado, Alejandro Rodríguez-Ortega, Claudia Mestre-Alagarda, Mónica Bauza, Elena Valero-Pérez, Clara Alfaro-Cervello, Salvador Benlloch, Judith Pérez-Rojas, Antonio Ferrández, Pilar Alemany-Monraval, Desamparados Escudero-García, Cristina Monton, Victoria Aguilera, Ángel Alberich-Bayarri, Miguel Ángel Serra, Luis Marti-Bonmati

Περίληψη άρθρου

Εισαγωγή και σκοπός

Η ιστολογική αξιολόγηση των βιοψιών στη σχετιζόμενη με μεταβολικές διαταραχές λιπώδη νόσο του ήπατος (MAFLD) είναι υποκειμενική, περιγραφική και παρουσιάζει μεταβλητότητα μεταξύ διαφορετικών παθολογοανατόμων. Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ διαφορετικών ιστολογικών χαρακτηριστικών (ίνωση, στεάτωση, φλεγμονή και εναπόθεση σιδήρου) όταν αξιολογούνται με ψηφιακή αυτοματοποιημένη ποσοτική παθολογοανατομική εκτίμηση πλήρους πλακιδίου και τα αντίστοιχα ημιποσοτικά συστήματα βαθμολόγησης και η κατανομή της αξιολόγησης της ψηφιακής παθολογοανατομίας στον αλγόριθμο Fatty Liver Inhibition of Progression (FLIP) και το Σύστημα βαθμολόγησης Steatosis, Activity and Fibrosis (SAF).

Μέθοδοι

Συμπεριλάβαμε προοπτικά 136 διαδοχικούς ασθενείς που υποβλήθηκαν σε βιοψία ήπατος για MAFLD σε τρία κέντρα της Ισπανίας (Ιανουάριος 2017- Ιανουάριος 2020). Οι βιοψίες αξιολογήθηκαν τυφλά από δύο παθολογοανατόμους σύμφωνα με το σύστημα Δικτύου Κλινικής Έρευνας της Μη-αλκοολικής Στεατοηπατίτιδας (NASH) για τη σταδιοποίηση της ίνωσης, την ταξινόμηση FLIP/ SAF για τον υπολογισμό της στεάτωσης και της φλεγμονής και το σκορ Deugnier για τον υπολογισμό του σιδήρου. Η αναλογική περιοχή κολλαγόνου, η στεάτωση, τα φλεγμονώδη κύτταρα και οι εναποθέσεις σιδήρου αξιολογήθηκαν με ανάλυση ψηφιακής εικόνας με την υποβοήθηση υπολογιστή. Πραγματοποιήθηκε ένα πείραμα δοκιμής-επαναδοκιμής για την αξιολόγηση της ακρίβειας της επαναληψιμότητας.

Αποτελέσματα

Η ψηφιακή παθολογοανατομική εκτίμηση κατέδειξε ισχυρή συσχέτιση με την ίνωση ($r = 0,79, P < 0,001$), την στεάτωση ($r = 0,85, P < 0,001$) και το σίδηρο ($r = 0,70, P < 0,001$). Η απόδοση ήταν χαμηλότερη στην αξιολόγηση του βαθμού φλεγμονής ($r = 0,35, P < 0,001$). Οι περιπτώσεις με NASH είχαν μεγαλύτερο ποσοστό κολλαγόνου και στεάτωσης σε σύγκριση με τις περιπτώσεις χωρίς NASH ($P < 0,005$), ενώ η φλεγμονή και ο ποσοτικός προσδιορισμός σιδήρου δεν είχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Η αξιολόγηση της επαναληψιμότητας έδειξε ότι όλοι οι συντελεστές διακύμανσης ήταν $\leq 1,1\%$ και όλες οι τιμές των συντελεστών ενδοταξικής συσχέτισης ήταν $\geq 0,99$, εκτός από εκείνους του κολλαγόνου.

Συμπέρασμα

Η ψηφιακή παθολογοανατομία επιτρέπει μια αυτοματοποιημένη, ακριβή, αντικειμενική και ποσοτική αξιολόγηση των ιστολογικών χαρακτηριστικών της MAFLD. Η αξιολόγηση με ψηφιακή ανάλυση συμβαδίζει με την αξιολόγηση των παθολογοανατόμων.

Σχόλιο άρθρου

Η σχετιζόμενη με μεταβολικές διαταραχές λιπώδης νόσο του ήπατος (MAFLD) τίθεται στη διαφορική διάγνωση της χρόνιας ηπατοπάθειας όλο και συχνότερα. Υπάρχει ανάγκη για πληροφορίες πραγματικής ζωής σε ασθενείς με μεταβολική δυσρύθμιση και ταυτόχρονα αξιολόγηση του φάσματος της έκφρασης της νόσου για την προσέγγιση της πρόγνωσης των ασθενών και τη βέλτιστη διαχείρισή τους.

Οι Marti-Aguado και συνεργάτες στο Alimentary Pharmacology & Therapeutics δημοσιεύουν τα αποτελέσματα διατομεακής, πολυκεντρικής, προοδευτικής μελέτης. 136 διαδοχικοί ασθενείς με MAFLD εντάχθηκαν στη μελέτη με κριτήριο την διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας και την παρουσία στεάτωσης σε υπερηχογράφημα, επιπρόσθετα της ύπαρξης παχυσαρκίας, ΣΔΙΙ ή μεταβολικής δυσρύθμισης. Το 98% των ασθενών είχε καλή συνθετική λειτουργία, 57% ήταν γυναίκες, η διάμεση ηλικία ήταν 55 έτη, διάμεσο BMI 30,4, ενώ ενδεικτικά οι διάμεσες τιμές της ηπατικής βιοχημείας ήταν AST 59 U/L, ALT 49 U/L, gGT 62 U/L. Το 30% των βιοψιών χαρακτηρίστηκε ως NAFL και 45% ως NASH, ενώ το 25% είχε <5% σταγονίδια λίπους (χαρακτηρίστηκε ως non-NAFLD και χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα

ελέγχου, 34/136 ασθενείς). Το 12% των non-NAFLD βιοψιών είχε προχωρημένη ίνωση (MAFLD σχετιζόμενη κίρρωση) και το 45% άλλη αιτιολογία πυλαίας ή λοβιακής φλεγμονής.

Μετά τη μονιμοποίηση των πλακιδίων, έγινε χρώση με αιματοξυλίνη και εοσίνη (H&E), ερυθρό PicroSirius για τον προσδιορισμό της ίνωσης και χρώση Perl για την αξιολόγηση του σιδήρου. Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση έγινε με αυτοποιημένο σύστημα. Χρησιμοποιήθηκαν αντισώματα έναντι της αδιποφυλίνης για την αξιολόγηση των σταγονιδίων λίπους και CD45 για την αξιολόγηση της φλεγμονής. Επιπλέον, έγινε σύγκριση των ευρημάτων με τη χρήση της αδιποφυλίνης και τη της H&E. Η σύγκριση της ποσοτικοποίησης των περιοχών με λίπος με αδιποφυλίνη επιλέχθηκε επειδή α) η κλασική χρώση με H&E παρουσιάζει μεθοδολογικά σφάλματα καθώς αναγνωρίζει και διαστήματα χωρίς λίπος, β) τα αντισώματα έναντι της αδιποφυλίνης έχουν θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκεκριμένης σχετιζόμενης με τα σταγονίδια λίπους πρωτεΐνης και την ηπατοκυτταρική συσσώρευση λίπους στην στεάτωση του ήπατος και γ) είναι πιο ειδική για την ψηφιακή ανάλυση των πλακιδίων σε σχέση με την H&E. Η αξιολόγηση έγινε με το SAF σκορ, το NASH σκορ, στο σύστημα Deugnier και τον αλγόριθμο FLIP βάσει της παρουσίας στεάτωσης, διόγκωσης ηπατοκυττάρων και λοβιακής φλεγμονής {i. NASH, ii. non-NASH NAFLD (NAFL), iii. non-NAFLD}. Όλα τα ιστοτεμάχια είχαν μήκος >16 mm και >6 πυλαία διαστήματα και αξιολογήθηκαν κεντρικά από δύο έμπειρους παθολογοανατόμους. Η ψηφιακή ανάλυση των βιοψιών έγινε με ειδικό πρωτόκολλο δύο φορές σε διαφορετικά χρονικά στιγμιότυπα για την αξιολόγηση της ακρίβειας της μεθόδου.

Η μελέτη παρουσιάζει μια λεπτομερή, αυτοματοποιημένη μεθοδολογία για την ποιοτική αξιολόγηση των διαφορετικών χαρακτηριστικών ιστολογικών γνωρισμάτων της NAFLD. Οι ασθενείς με NASH είχαν υψηλότερη αναλογία κολλαγόνου και λίπους σε σύγκριση με τους ασθενείς με απλή στεάτωση. Οι ασθενείς με NASH είχαν μεγαλύτερη αναλογία φλεγμονωδών κυττάρων και λιγότερες εναποθέσεις σιδήρου, αλλά δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με τους ασθενείς με NAFL. Σε όλα τα πλακίδια οι υψηλότερες μετρήσεις αναλογικής περιοχής κολλαγόνου συσχετίσθηκαν με υψηλότερα ποσοστά φλεγμονής και λίπους. Παρατηρήθηκε μια γραμμική συσχέτιση μεταξύ της αναλογικής περιοχής κολλαγόνου και του βαθμού της φλεγμονής (πυλαίας και λοβιακής). Αντίθετα, διαπιστώθηκε μη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της αναλογικής περιοχής λίπους και των σταδίων της ίνωσης. Επίσης, το ποσοστό του λίπους συσχετίσθηκε με την διόγκωση των ηπατοκυττάρων και το βαθμό της φλεγμονής.

Συνολικά, οι ερευνητές διαπίστωσαν καλή συσχέτιση μεταξύ των ψηφιακά εξαγόμενων αναλογιών κολλαγόνου, στεάτωσης, φλεγμονής και εναπόθεσης σιδήρου και του αντιστοίχως ιστολογικά υπολογιζόμενου σκορ. Επιπρόσθετα, η ποσοτική κατανομή αυτών των ιστολογικών γνωρισμάτων κατά μήκος της ταξινόμησης με τον αλγόριθμο FLIP κατέδειξε αυξημένη ποσότητα κολλαγόνου και λίπους στην NASH σε σχέση με την NAFL, αλλά όχι περισσότερα φλεγμονώδη κύτταρα ή εναποθέσεις σιδήρου.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το 25% των ασθενών που πληρούσε τα κριτήρια ένταξης δεν είχε στεάτωση στη βιοψία, παρόμοιο ποσοστό με άλλες μελέτες. Σχολιάζεται ότι είτε ενδέχεται να απουσιάζει η ιστολογική στεάτωση στους ασθενείς με MAFLD είτε μια αναλογική περιοχή κολλαγόνου της τάξης του 2,7% αντιστοιχεί με τον ορισμό του μηδενικού βαθμού στεάτωσης (S0) είτε η προχωρημένη ίνωση καταδεικνύει burn-out στεάτωση (παρά την διατηρημένη συνθετική λειτουργία του ήπατος και τα αιμοπετάλια>200.000).

Στα μειονεκτήματα της μελέτης θα πρέπει να σημειωθεί ότι πρόκειται για μέθοδο που αναπτύσσεται ακόμη συνεπώς ο τρόπος, η μεθοδολογία και η επιλογή των αντιδραστηρίων δεν είναι σαφές ότι είναι η βέλτιστη. Επίσης, η ποσοτική μέτρηση των αναλογικών περιοχών και τα ιστολογικά στάδια ίνωσης και φλεγμονής διαφέρει, συνεπώς η μεταξύ τους σύγκριση ενδεχομένως οδηγεί σε σφάλματα ερμηνείας. Τέλος, η ψηφιακή αξιολόγηση της αναλογικής περιοχής φλεγμονής δεν διακρίνει την πυλαία από την λοβιακή φλεγμονή.

Συμπερασματικά, η ψηφιακή παθολογανατομική αξιολόγηση των πλακιδίων της βιοψίας ήπατος με υπολογιστική ανάλυση φαίνεται πως είναι αντικειμενική, χρειάζεται όμως περαιτέρω μελέτη για να εκτιμά αυτοματοποιημένα και ποσοτικά τα χαρακτηριστικά της MAFLD στους ασθενείς που συναντώνται καθημερινά στην κλινική πράξη, είναι όμως ελπιδοφόρα.

Link άρθρου: <https://doi.org/10.1111/apt.1610/>

Βιβλιογραφία

1. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. J Hepatol. 2020;73:202-209

2. Paradis V, Quaglia A. Digital Pathology, what is the future? J Hepatology. 2019 May;70(5):1016-1018

Μπέλλου Αριστέα

Παθολόγος- Ηπατολόγος

Επιστημονική Συνεργάτιδα

Παθολογικής Κλινικής & Ομώνυμου Ερευνητικού Εργαστηρίου

Κέντρο Εμπειρογνωμοσύνης για τα Αυτοάνοσα Νοσήματα Ήπατος

Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας