

Značaj perfuzionih i difuzionih parametara dobijenih magnetno-rezonantnim pregledom i kompjuterizovanom tomografijom u preoperativnoj proceni mikrovaskularne gustine i invazivnosti hepatocelularnog karcinoma

UVOD

Hepatocelularni karcinom (HCC) čini približno 75% primarnih karcinoma jetre, predstavlja šesti najčešći karcinom i četvrti vodeći uzrok smrti od karcinoma u svetu [1]. Prognoza je loša širom sveta, sa globalnom incidencijom i mortalitetom od 9,5 i 8,7 na 100.000 osoba [2], uz postojanje 2-4 puta veće prevalencije u muškom nego u ženskom polu [3].

Najčešćim uzrocima HCC-a smatraju se genetski i ekološki faktori rizika, prvenstveno ciroza jetre, virusi hepatitisa B i C (HBV i HCV), prekomerna konzumacija alkohola, kao i metabolički posredovana bolest jetre (engl. *metabolic associated liver disease, MALD*). Višestruki komorbiditeti značajno povećavaju rizik pojedinca za razvoj HCC-a [4, 5]. Očekivani životni vek pacijenata sa HCC-om varira u zavisnosti od stadijuma tumora u trenutku postavljanja dijagnoze. Kod uznapredovale bolesti, preživljavanje je ograničeno na nekoliko meseci, dok se uz rano otkrivanje i odgovarajuću terapiju postiže petogodišnja stopa preživljavanja od 60% do 80% [6]. Rana dijagnoza širi terapijske mogućnosti koje uključuju hiruršku resekciju, transplantaciju jetre, kao i transarterijsku hemoembolizaciju (TACE) i mikrotalasnu ablaciju, koje se često koriste za lečenje HCC-a srednjeg i ranog stadijuma [6].

Preko 80% pacijenata sa HCC-om inicijalno ima cirozu jetre. Prisustvo stromalne invazije definiše HCC, koji predstavlja jedan od najvaskularizovanijih tumora, sa visokim nivoom vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF), vaskularnim transformacijama i angiogenezom tokom rasta tumora [7]. Stoga su velika mikrovaskularna gustina (*microvessel density, MVD*) i razvoj heterogenih nezrelih krvnih sudova povišene permeabilnosti karakteristični za HCC, dok angiogeneza igra glavnu ulogu u progresiji i metastaziranju HCC-a [8]. Imunohistohemijski procenjena MVD predstavlja važnu meru angiogenog kapaciteta tumorskog tkiva i značajna je za razvoj dijagnostičkih i terapijskih protokola [9].

Imidžing dijagnostika magnetnom rezonancom (MRI) predstavlja zlatni standard u evaluaciji HCC-a zbog svoje dijagnostičke tačnosti i značajno bolje tkivne rezolucije u poređenju sa pregledom kompjuterizovanom tomografijom (CT). Brojne studije su pokazale da MRI sa gadoksetatom (dinatrijum gadoksetat, PRIMOVIST) kao kontrastnim sredstvom, kao i sa ekstracelularnim kontrastnim sredstvom, povećavaju osetljivosti metode u odnosu na CT [10].

Karakteristike postkontrastnog pojačanja na CT ili MRI pregledu omogućuju neinvazivnu dijagnozu HCC-a kod pacijenata sa rizikom u skladu sa aktuelnim smernicama [11]. Iako su

standardizovani, dijagnostički kriterijumi se i dalje oslanjaju na subjektivnu procenu višefaznog CT ili MRI pregleda. CT perfuzija jetre (CTLP) nudi jedinstven uvid u mikrocirkulaciju tkiva u poređenju sa konvencionalnim CT ili MRI pregledom i potencijalno objektivniji pristup za procenu bolesti jetre. Studija je potvrdila značaj CTLP u detekciji, karakterizaciji, evaluaciji HCC-a i predviđanju odgovora na lečenje [12]. Takođe, smatra se da su parametri dobijeni CT perfuzijom u korelaciji sa angiogenezom tumora, putem uticaja mikrovaskularne gustine (MVD) unutar tumora na volumen cirkulišuće krvi i protok krvi (engl. *blood volume* – *BV* i *blood flow* – *BF*). Iako je CTLP u poslednjoj deceniji postala široko dostupna metoda, njena integracija u rutinsku kliničku praksu ostaje ograničena [13]. Značaj CTLP u slučajevima koji, pored postojećih, uključuju i nove lezije još uvek nije jasno definisan. Stoga je potrebna dalja procena mogućnosti CTLP u evaluaciji pacijenata sa HCC-om.

Brojne studije su analizirale ulogu difuzionog imidžinga magnetnom rezonancom (engl. *diffusion-weighted imaging, DWI*) u predikciji histopatoloških karakteristika HCC-a. Dokazano je da, na vrednosti prividnog koeficijenta difuzije (engl. *apparent diffusion coefficient, ADC*), koji odražava difuziju molekula vode utiče mikrovaskularna perfuzija tumora. Naime, kod konvencionalnog DWI, ADC vrednosti se izračunavaju korišćenjem mono-eksponencijalnog matematičkog modela koji ne uzima u obzir perfuzioni efekat mikrocirkulacije u tkivu, funkcionalno nezavisnog entiteta koji obuhvata arteriole, venule i kapilare, prečnika u rasponu od 5 µm do 100 µm. Prema modelu nekoherentnog kretanja unutar vokselu (engl. *Intravoxel incoherent motion model, IVIM*), protok krvi u mikrovaskularnom slivu oponaša proces difuzije i stoga utiče na merenja difuzije. Tako je korišćenjem bi-eksponencijalnog modela, ukupno slabljenje MR signala posledica prave difuzije molekula vode i mikrovaskularne perfuzije krvi. Istraživanje je pokazalo da IVIM perfuzionu frakciju (*f*) korelira sa mikrovaskularnom gustinom tkiva kod različitih tumora [14], međutim postoji potreba za validacijom metode kod HCC-a.

HCC predstavlja kompleksnu neoplastičnu leziju koja se razvija višestepenom kancerogenezom cirotičnih nodusa, tokom koje se snabdevanje krvlju dramatično menja i što je veća heterogenost tumora, to je tumor agresivniji i prognoza je lošija. Analiza histograma je nova metoda koja pruža precizne informacije o heterogenosti i mikrookruženju tumora, omogućavajući ekstrakciju objektivnijih kvantitativnih podataka iz radioloških slika koji se ne mogu odrediti jednostavnom vizuelnom procenom MRI karakteristika. Parametri histograma, tzv. karakteristike prvog reda, koriste se za procenu distribucije intenziteta vokselu u tumorskim tkivima [15]. Međutim, potrebna je dalja procena prediktivne sposobnosti histogramске analize u evaluaciji HCC-a, kao i optimalnog vremenskog okvira za takvu analizu.

RADNA HIPOTEZA

Postoji povezanost između procenjenih morfoloških i funkcionalnih parametara HCC-a dobijenih preoperativnim neinvazivnim tehnikama (MR pregled sa IVIM tehnikom, histogramska analiza i CT perfuzija) i histopatološki utvrđene mikrovaskularne gustine, patohistološkog gradusa i mikrovaskularne invazije. Ispitivane preoperativne neinvazivne tehnike pokazuju zadovoljavajuću dijagnostičku tačnost za određivanje mikrovaskularne gustine, patohistološkog gradusa i mikrovaskularne invazije u poređenju sa histopatološkim nalazom.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Proceniti morfološke i funkcionalne parametre od značaja za preoperativnu predikciju mikrovaskularne gustine, patohistološkog gradusa i mikrovaskularne invazije HCC-a primenom MR pregleda sa IVIM tehnikom, histogramske analize i CT perfuzije.
2. Ispitati postojanje povezanosti između procenjenih morfoloških i funkcionalnih parametara HCC-a sa preoperativnom mikrovaskularnom gustom, patohistološkim gradusom i mikrovaskularnom invazijom utvrđenim histopatološkom analizom.
3. Evaluirati dijagnostičku tačnost morfoloških i funkcionalnih parametara dijagnostike u neinvazivnoj, preoperativnoj proceni mikrovaskularne gustine, patohistološkog gradusa i mikrovaskularne invazije HCC-a u poređenju sa histopatološkim nalazom kao zlatnim standardom.

MATERIJAL I METODE

Tip studije: studija preseka

Mesto i period istraživanja: Odsek digestivne radiologije Centra za radiologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, u periodu od decembra 2022. do decembra 2025. godine.

Selekcija ispitanika: Planirano je da u studiju bude uključeno 67 bolesnika sa patohistološki potvrđenim hepatocelularnim karcinomom jetre. Dovoljan broj ispitanika je procenjivan zasebno za senzitivnost i specifičnost, kao osnovne mere dijagnostičke tačnosti, što je primarni cilj ovog istraživanja, a kao konačan broj uzet je veći od ova dva. Procena je izvršena na osnovu podataka iz literature o prevalenciji mikrovaskularne invazije hepatocelularnog karcinoma [16] i dijagnostičke tačnosti MR pregleda sa IVIM tehnikom u preoperativnoj evaluaciji pacijenata [17], uz verovatnoću odbacivanja nulte hipoteze (alfa greška) od 0.05 i maksimalno prihvatljivo odstupanje (d) od 0,15. Dobijeno je odobrenje za sprovođenje ove

studije od strane etičkog odbora Univerzitetskog kliničkog centra Srbije sa brojem odluke 920/13. Pacijentima kod kojih je postojala sumnja na postojanje hepatocelularnog karcinoma na osnovu ultrazvučnog pregleda ili kliničke slike sa tumorskim markerima, su rađeni preoperativni MR pregled abdomena, kao i MDCT pregled sa perfuzionom serijom, najviše dve nedelje pre operacije. U studiju su bili uključeni samo pacijenti kojima je urađena resekcija jetre sa patohistološkom potvrdom hepatocelularnog karcinoma.

Kriterijumi za uključivanje su: 1) sprovedena hirurška resekcija jetre; 2) patohistološka potvrda hepatocelularnog karcinoma nakon operacije sa imunohistohemijskim određivanjem mikrovaskularne gustine (MVD); 3) učinjen preoperativni MR pregled sa gadoksetatom (dinatrijum gadoksetat, PRIMOVIST) i IVIM-DWI serijom; 4) učinjena CT perfuzija jetre. Kriterijumi za isključivanje su: 1) druga patohistološka dijagnoza; 2) pacijenti koji imaju kontraindikacije za pregled MR-om (metalni implantati); 3) izostanak operativnog lečenja; 4) tehnički neadekvatno učinjen neki od navedenih CT ili MR pregleda; 5) ekstrahepatična metastatska bolest u trenutku dijagnoze.

Instrumenti merenja: U preoperativnoj dijagnostici će se raditi MR pregled abdomena na aparatu jačine 1,5 T. MR pregled se radi po protokolu koji obuhvata standardne T1-weighted i T2-weighted sekvence, kao i difuzione sekvence sa 7 b vrednosti (0, 10, 25, 50, 200, 500 i 800 sec/mm²) i dinamske postkontrastne studije koristeći T1-weighted sekvencu sa supresijom masti, nakon primene hepatospecifičnog kontrastnog sredstva. Analiziraće se kvantitativni IVIM izvedeni parametri uključujući prividni koeficijent difuzije (apparent diffusion coefficient, ADC), D (pravi difuzioni koeficijent), D* (pseudodifuzioni koeficijent) i *f* (perfuziona frakcija) koji su izvedeni iz IVIM-DWI pregleda sa b vrednostima od 0, 10, 25, 50, 200, 500 i 800 sec/mm² koristeći softverski program (GE Medical Solutions, MADCO, USA). Korišćenjem softverskog programa MIPAV, u kome se ručnim crtanjem regiona od interesa (ROI) na svakom preseku tumora vrši histogramska analiza tumora kojom će se određivati percentili, medijana, minimum i maksimum vrednosti signala kao i karakteristike ROI-a, kao što su entropija, koeficijent asimetrije i koeficijenta spljoštenosti. Kvantitativnim i kvalitativnim evaluiranjem tumora će se određivati sledeći parametri: veličina tumora, ivice i oblik tumora, postojanje tumorske kapsule, intenzitet signala u T2W sekvenci, hiperintenzitet u arterijskoj fazi pregleda, prisustvo „wash out“-a u portovenskoj ili odloženoj fazi pregleda i prisustvo intratumorske hemoragije i masti.

Proučavanje CT perfuzione serije će biti rađeno primenom komercijalno dostupnog softvera za CT perfuziju kojim je omogućeno merenje perfuzionih parametara tumora: brzine

protoka (BF- “blood flow”), volumena cirkulišuće krvi (BV- “*blood volume*”) i srednjeg tranzitnog vremena (MTT- mean transit time).

Svim pacijentima će se raditi i patohistološka analiza tumora sa imunohistohemijom za određivanje sledećih parametara: histološki tip, mikrovaskularna gustina (MVD), gradus tumora (po Edmondson-Steiner klasifikaciji), mikrosatelitoza, mikrovaskularna invazija, tip vaskularne distribucije.

STATISTIČKA ANALIZA

Dovoljan broj jedinica posmatranja izračunat za procenu pretpostavljene veličine efekta koeficijenta korelacije od 0.35 (umerena jačina efekta), uz verovatnoću odbacivanja nulte hipoteze (alfa greška) od 0.05 i snagu testa od 0.80 iznosi 62 (16).

U radu će se od metoda deskriptivne statistike koristiti: mere centralne tendencije (aritmetička sredina i medijana), mere varijabiliteta (interval varijacije, standardna devijacija i interkvartilni rang) i relativni brojevi. Od metoda analitičke statistike korišće se: a) metode identifikacije empirijskih raspodela, b) metode za procenu značajnosti razlike i to: Student-ov t test (za nevezane i vezane uzorke), jednofaktorska ANOVA, ANOVA za ponovljena merenja, test sume rangova, test ekvivalentnih parova i Kruskal-Wallis-ova ANOVA za numeričke varijable u zavisnosti od normalnosti raspodele i broja ispitivanih grupa, kao i Hi-kvadrat i Fišer-ov test za kategorijalne varijable. Od mera dijagnostičke tačnosti biće izračunate senzitivnost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrednost, kao i ukupna dijagnostička tačnost. Rezultati će biti predstavljeni tabelarno i grafički. Statistička analiza će biti urađena korišćenjem softvera IBM SPSS Statistics 29 (*IBM SPSS Inc., Chicago, IL*).

POTENCIJALNI NAUČNI DOPRINOS

Savremeni trendovi u lečenju bolesnika sa hepatocelularnim karcinomom se sve više temelje na individualnom pristupu svakom pacijentu uzimajući u obzir stadijum bolesti, karakteristike tumora, funkciju jetre i opšte stanje pacijenta. Za ovakav pristup od velikog je značaja pravovremena i tačna dijagnostika, koja će pouzdano pružiti informacije o stadijumu bolesti, gradusu tumora, kao i mikrovaskularnoj gustini tumora i mikrovaskularne invazije kao pokazatelje invazivnosti tumora. MR pregled abdomena sa IVIM-DWI pregledom, kao i CT perfuzione serije su dijagnostičke metode čije se mogućnosti još uvek ispituju, te bi planirano ispitivanje trebalo da ukaže na prednosti analize morfoloških i funkcionalnih parametara u evaluaciji mikrovaskularne gustine, gradusa tumora i mikrovaskularne invazije HCC-a što bi omogućilo odabir najoptimalnije terapije za svakog pacijenta.

Na osnovu analize literature, rezultati prethodnih istraživanja još uvek nisu dali precizne opšte prihvaćene odgovore da li MR pregled sa difuzionom serijom i histogramskom analizom, kao i CT perfuzione serije imaju mogućnost evaluacije mikrovaskularne gustine, gradusa tumora i mikrovaskularne invazije HCC-a. U cilju pravilne procene dijagnostičkog značaja morfoloških i funkcionalnih parametara MR i CT dijagnostike u neinvazivnoj, preoperativnoj proceni mikrovaskularne gustine, patohistološkog gradusa i mikrovaskularne invazije HCC-a neophodna su dalja ispitivanja. Rezultati našeg ispitivanja bi trebalo da doprinesu boljem razumevanju i preciznijoj funkcionalno-molekularnoj karakterizaciji hepatocelularnog karcinoma, što bi omogućilo bolji individualni pristup lečenja svakog pacijenta.

REFERENCE

1. Rumgay H, Arnold M, Ferlay J et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040. *Journal of Hepatology*. 2022; 6: 1598-1606.
2. Vogel A, Meyer T, Sapisochin G et al. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2022; 400: 1345-1362.
3. McGlynn KA, Petrick JL, El-Serag HB. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*. 2021;73 (Supl 1):4-13.
4. Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A. et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2021; 7(1): 6.
5. Varghese N, Majeed A, Nyalakonda S, Boortalary T, Halegoua-DeMarzio D, Hann H-W. Review of Related Factors for Persistent Risk of Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Cancers*. 2024; 16(4):777.
6. Reig M, Forner A, Rimola J et al. BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: The 2022 update. *J Hepatol*. 2022;76(3):681-693.
7. Yvamoto EY, Ferreira RF, Nogueira V et al. Influence of vascular endothelial growth factor and alpha-fetoprotein on hepatocellular carcinoma. *Genet Mol Res*. 2015; 21;14(4):17453-62.
8. Berretta M, Cobellis G, Franco R et al. Features of microvessel density (MVD) and angiogenesis inhibitors in therapeutic approach of hepatocellular carcinoma (HCC). *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23(22):10139-10150.
9. Murakami K, Kasajima A, Kawagishi N, et al. Microvessel density in hepatocellular carcinoma: prognostic significance and review of the previous published work. *Hepatol Res*. 2015;45(12):1185–94.

10. Collettini F, Elkilany A, Seta MD, et al. MR imaging of hepatocellular carcinoma: prospective intraindividual head-to-head comparison of the contrast agents gadoxetic acid and gadoteric acid. *Sci Rep.* 2022;12(1):18583.
11. Fowler KJ, Bashir MR, Fetzter DT et al. Universal Liver Imaging Lexicon: Imaging Atlas for Research and Clinical Practice, *Radiographics* 2023, 43(2): e239001.
12. Ippolito D, Pecorelli A, Querques G et al. Dynamic Computed Tomography Perfusion Imaging: Complementary Diagnostic Tool in Hepatocellular Carcinoma Assessment From Diagnosis to Treatment Follow-up, *Acad. Radiol.* 2019; 26:1675–1685.
13. Kim SH, Kamaya A, Willmann JK. CT perfusion of the liver: principles and applications in oncology. *Radiology.* 2014;272(2):322-44.
14. Gluskin JS, Chegai F, Monti S, Squillaci E, Mannelli L. Hepatocellular Carcinoma and Diffusion-Weighted MRI: Detection and Evaluation of Treatment Response. *J Cancer.* 2016;7(11):1565-70.
15. Wang L, Cong R, Chen Z et al. Determination of prognostic predictors in patients with solitary hepatocellular carcinoma: histogram analysis of multiparametric MRI. *Abdom Radiol (NY).* 2023;48(11):3362-337.
16. Rodríguez-Perálvarez M, Luong TV, Andreana L, Meyer T, Dhillon AP, Burroughs AK. A systematic review of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: diagnostic and prognostic variability. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(1):325-39.
17. Zhao W, Liu W, Liu H, et al. Preoperative prediction of microvascular invasion of hepatocellular carcinoma with IVIM diffusion-weighted MR imaging and Gd-EOB-DTPA-enhanced MR imaging. *PLoS One.* 2018;13(5):e0197488. Published 2018 May 17. doi:10.1371/journal.pone.0197488