



ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΚΑ ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΥΠΕΡΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΑΥΞΗΜΕΝΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΙΡΡΩΣΗ

Καλαμπόκης Γεώργιος¹, Χρηστάκη Μαρία¹, Τσιάκας Ηλίας¹, Αγγέλης Νικόλαος¹, Δεσπότης Γρηγόριος¹, Τσαούση Χριστίνα², Παπαπέτρου Ευαγγελία², Μαρκόπουλος Γεώργιος³, Κολιός Γεώργιος⁴, Κολιός Δαμιανός⁴, Μπαλταγιάννης Γεράσιμος⁵, Χριστοδούλου Δημήτριος⁵, Μηλιώνης Χαράλαμπος¹
¹Α' Παθολογική Κλινική, ²Αιματολογικό Εργαστήριο, ³Μονάδα Μοριακής Βιολογίας και Μεταφραστικής Κυτταρομετρίας Ροής, ⁴Βιοχημικό Εργαστήριο, ⁵Γαστρεντερολογική Κλινική Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην κίρρωση συνυπάρχει αιμορραγικός και θρομβωτικός κίνδυνος και αυξημένη φλεγμονώδη δραστηριότητα. Ωστόσο, ο ρόλος των διαταραχών της ηπατικής ινώσεως και της φλεγμονής στην βαρύτητα της ηπατικής ινώσεως σε ασθενείς με κίρρωση δεν έχει μελετηθεί κλινικά.

ΣΚΟΠΟΣ

Να διερευνηθεί αν ο βαθμός της ελαστογραφικά εκτιμώμενης ηπατικής ινώσεως σε ασθενείς με κίρρωση σχετίζεται με δείκτες υπερπηκτικότητας και αυξημένης φλεγμονώδους δραστηριότητας.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Μελετήθηκαν προοπτικά ασθενείς που παρακολουθούνται στο Εξωτερικό Ηπατολογικό Ιατρείο της Α' Παθολογικής Κλινικής. Αποκλείστηκαν ασθενείς με νεοπλασία, θρόμβωση πυλαίας φλέβας και ιστορικό λοίμωξης, αιμορραγίας πεπτικού, κατανάλωσης αλκοόλ ή λήψης αντιβιοτικών 4 εβδομάδες πριν την είσοδο στη μελέτη. Εκτιμήθηκε η ηπατική σκληρία με shear wave ελαστογραφία (μονάδες kPa) ως έμμεσος δείκτης της ηπατικής ινώσεως, το φύλο, η ηλικία, η βαρύτητα (MELD score/Child-Pugh στάδιο) και το αίτιο της κίρρωσης, η ρήξη αντιρρόπησης (≥1:ασκίτης, κίρσορραγία, εγκεφαλοπάθεια) και η παρουσία διαβήτη. Εκτιμήθηκαν παράγοντες των οποίων η μείωση σχετίζεται με αιμορραγικό κίνδυνο και παράγοντες των οποίων η μείωση ή η αύξηση σχετίζονται με θρομβωτικό κίνδυνο (Πίνακας 1 και 2). Μετρήθηκαν η δεσμευτική πρωτεΐνη του λιποπολυσακχαριδίου (lipopolysaccharide-binding protein [LBP]) ορού (ELISA) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (tumor-necrosis factor-α [TNF-α]) και η ιντερλευκίνη-6 (interleukin-6 [IL-6]) ορού (σφαριδομετρία) (Πίνακας 2). Με βάση το όριο ηπατικής σκληρίας των 25kPa (κριτικό όριο για την παρουσία κλινικά σημαντικής πυλαίας υπέρτασης) διαμορφώθηκαν 2 ομάδες ασθενών (Ομάδα 1: <25kPa και Ομάδα 2: ≥25kPa) (Εικόνα 1).

Στατιστική ανάλυση
Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 26.0. Η σύγκριση των παραγόντων μεταξύ των ομάδων ασθενών 1 και 2 έγινε με το Student's t-test (means±SEM) και το Pearson's Chi-square test. Πραγματοποιήθηκαν μονοπαραγοντικές αναλύσεις και ακολούθησε η ανεξάρτητη συσχέτιση παραγόντων με ηπατική σκληρία ≥25kPa εκτιμήθηκε με multivariate logistic regression ανάλυση (ανάλυση 1: χωρίς το λόγο VIII/C και ανάλυση 2: χωρίς VIII και πρωτεΐνη C). Επίσης εκτιμήθηκε η συσχέτιση των παραγόντων αιμόστασης και φλεγμονής με την ηπατική σκληρία (Spearman rank correlation coefficient) και η προγνωστική τους αξία για την παρουσία ηπατικής σκληρίας ≥25kPa (καμπύλη ROC). Το επίπεδο σημαντικότητας για όλες τις αναλύσεις ορίστηκε το p<0.05.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

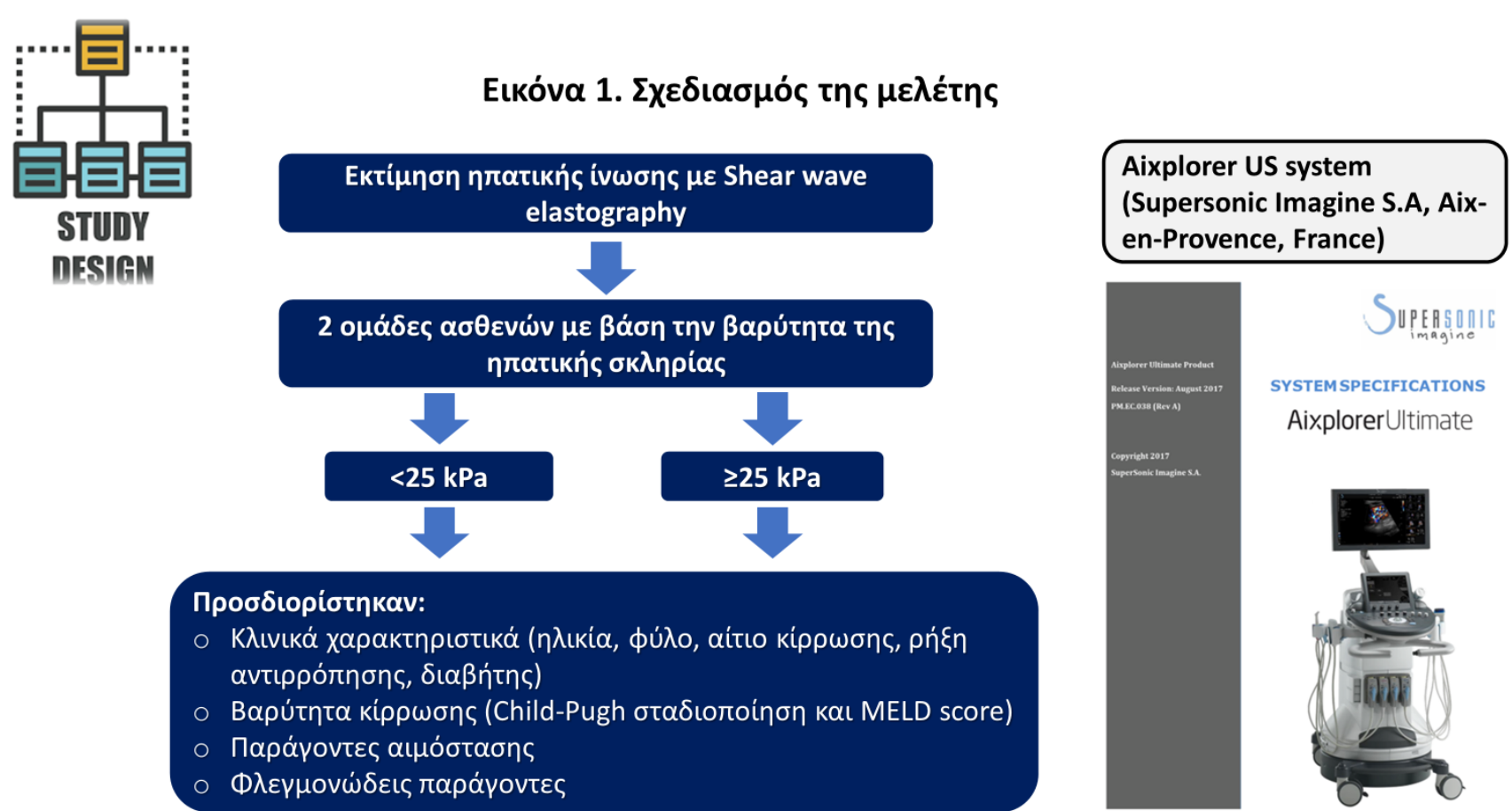
Εκτιμήθηκαν 195 ασθενείς (Ομάδα 1/2:n=97/98). Η Ομάδα 2 είχε μεγαλύτερη βαρύτητα κίρρωσης συγκριτικά με την Ομάδα 1 (MELD:12.4±0.4 έναντι 10.5±0.3;p=0.01, Child-Pugh A/B/C:40/34/23 έναντι 55/32/11;p=0.03, ρήξη αντιρρόπησης:64.9% έναντι 44.8%;p=0.004) (Πίνακας 3).
Μονοπαραγοντική ανάλυση
Συγκριτικά με την Ομάδα 1, η Ομάδα 2 είχε: σημαντικά λιγότερα αιμοπετάλια (p=0.01), σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα παραγόντων II (p<0.001), V (p=0.002), VII (p<0.001), IX (p<0.001), X (p=0.001), XI (p=0.004), XII (p=0.005), XIII (p=0.03), σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης C (p<0.001), πρωτεΐνης S (p=0.001) και αντιθρομβίνης (p<0.001), σημαντικά υψηλότερα επίπεδα VWF (p<0.001) και παράγοντα VIII (p<0.001), σημαντικά αυξημένο λόγο VIII/C (p<0.001) και σημαντικά υψηλότερα επίπεδα LBP (p<0.001), TNF-α (p<0.001) και IL-6 (p<0.001) (Πίνακας 4).
Παράγοντες με ανεξάρτητη συσχέτιση και υψηλή προγνωστική αξία για ηπατική σκληρία ≥25kPa
Στην πολυπαραγοντική ανάλυση με συμμετοχή μόνο των ηπατικών παραμέτρων, η ινώση ≥25kPa σχετίστηκε ανεξάρτητα με τον παράγοντα VIII (p<0.001), την πρωτεΐνη C (p=0.002) τον λόγο VIII/C (p<0.001) και τον VWF (ανάλυση 1/2:p<0.001/p=0.001). Με την προσθήκη των φλεγμονωδών δεικτών στην ανάλυση, η ινώση ≥25kPa σχετίστηκε ανεξάρτητα με τον παράγοντα VIII (p=0.01), την πρωτεΐνη C (p=0.02), τον λόγο VIII/C (p=0.003), την LBP (ανάλυση 1/2:p=0.003/p=0.002), τον TNF-α (ανάλυση 1/2:p=0.003/p=0.001) και την IL-6 (ανάλυση 1/2:p=0.002/p=0.003). Η προσθήκη του MELD score και της Child-Pugh σταδιοποίησης στις πολυπαραγοντικές αναλύσεις δεν μετέβαλε την ανεξάρτητη προγνωστική αξία των ανωτέρω παραγόντων (Πίνακας 5).
Στην ανάλυση με καμπύλη ROC οι παράγοντες αυτοί είχαν επίσης υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την παρουσία ινώσεως ≥25kPa (Εικόνα 2).
Συσχέτιση ηπατικής σκληρίας με παράγοντες αιμόστασης και φλεγμονώδους δραστηριότητας
Η βαρύτητα της ηπατικής ινώσεως σχετίστηκε σημαντικά με τις μετρήσεις του παράγοντα VIII (r=0.608;p<0.001), της πρωτεΐνης C (-0.497;p<0.001), του VWF (r=0.621;p<0.001), του λόγου VIII/C (r=0.640;p<0.001) (Διαγράμματα A-D), της LBP (r=606;p<0.001), του TNF-α (r=0.600;p<0.001) και της IL-6 (r=0.557;p<0.001) (Διαγράμματα E-G) στο σύνολο των ασθενών. Οι συσχετίσεις ήταν σημαντικές μόνο στους ασθενείς με ινώση ≥25kPa (Πίνακας 6).

Πίνακας 2. Παράγοντες αιμόστασης και φλεγμονώδους δραστηριότητας (μέθοδοι – αντιδραστήρια)

Parameter	Method	Assay
Hemostasis		
Factors (F) II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII	Clotting assay using coagulation factor deficient plasma	Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
FXIII	Chromogenic activity assay	Berichrom, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Fibrinogen	Clauss method	STA-Liquid Fib, Diagnostica Stago, France
a2-antiplasmin	Chromogenic activity assay	Berichrom, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Protein C (PC)	Chromogenic activity assay	Berichrom, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Antithrombin	Chromogenic activity assay	Berichrom, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Protein S (PS)	Nephelometry	Innovance, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Plasminogen	Chromogenic activity assay	Berichrom, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
von Willebrand factor antigen (vWFAg)	Turbidity assay	Innovance, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)	Chromogenic activity assay	Berichrom, Siemens Healthcare Diagnostics, Germany
Inflammation		
Lipopolysaccharide-binding protein (LBP)	ELISA	LBP, soluble ELISA kit, ENZO Lifesciences
Tumor-necrosis factor-α (TNF-α)	Cytometric Bead Array	LEGENDplex™ Human TNF-α Capture Bead, Biolegend
Interleukin-6 (IL-6)	Cytometric Bead Array	LEGENDplex™ Human IL-6 Capture Bead, Biolegend

Πίνακας 4. Παράγοντες αιμόστασης και φλεγμονώδους δραστηριότητας σε ασθενείς με ηπατική σκληρία <25 και ≥25 kPa

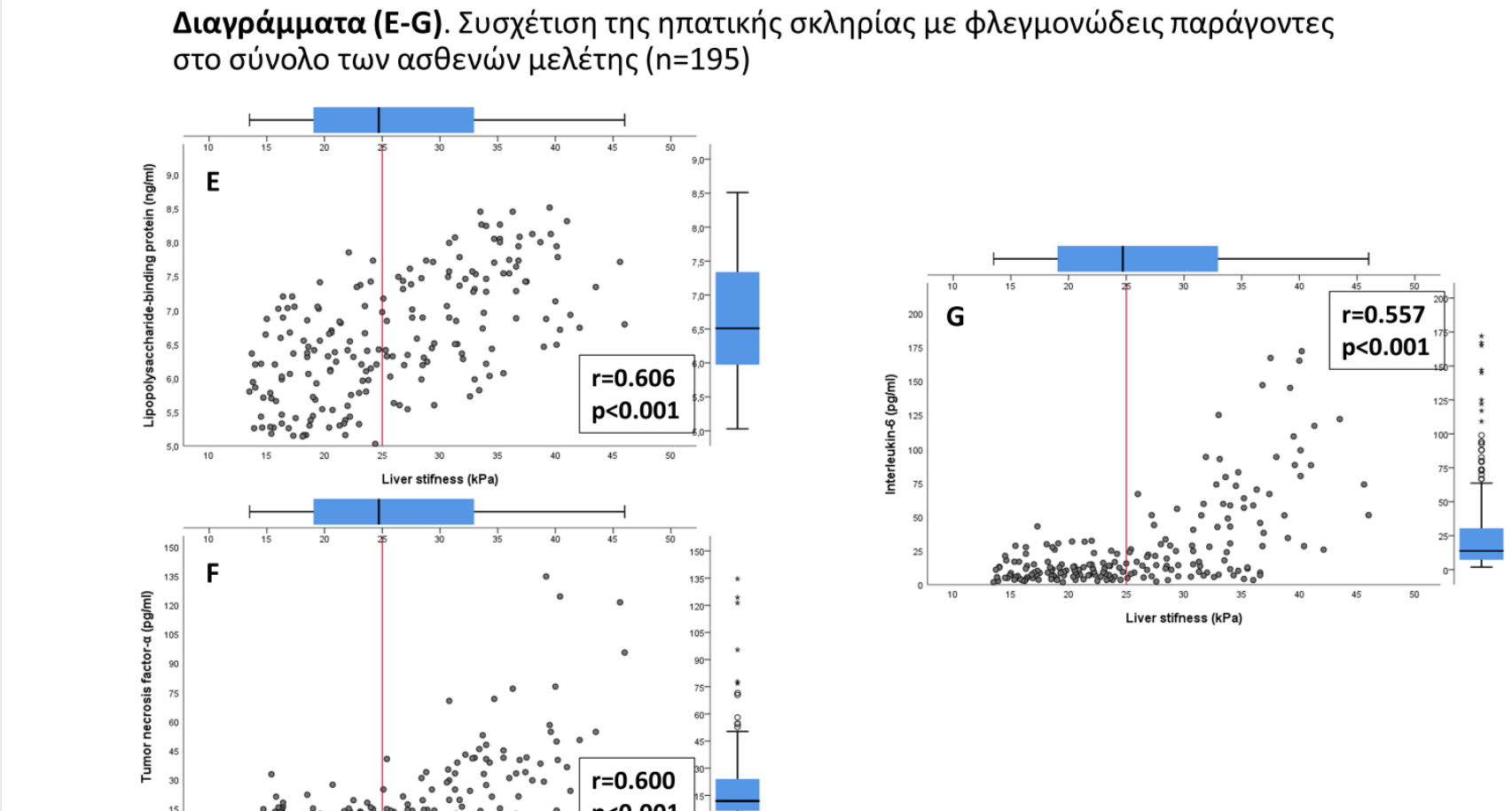
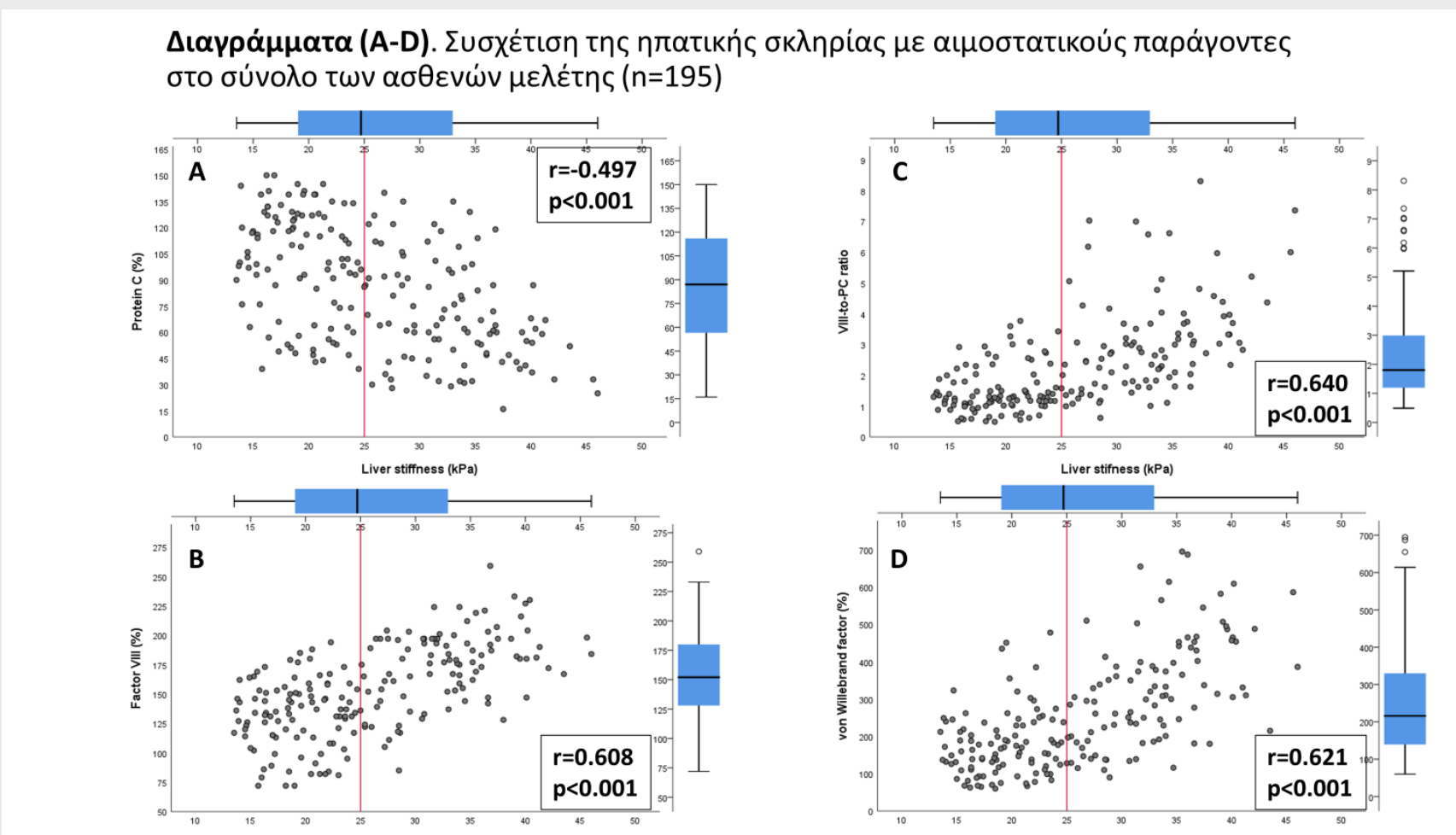
Αιμορραγική προδιάθεση	<25 kPa (n=97)	≥25 kPa (n=98)	p	Θρομβωτική προδιάθεση	<25 kPa (n=97)	≥25 kPa (n=98)	p
Platelet count (x10 ⁹ /mcl)	165±16	109±12	<0.001	Protein C (%)	100.5±3.1	70.5±3	<0.001
FII (%)	92.8±3.8	68.5±3.9	<0.001	Antithrombin (%)	89.5±2.3	75.8±2.5	<0.001
FV (%)	96±3.6	79.6±3.7	0.002	Protein S (%)	88.5±2.6	75.8±2.6	0.001
FVII (%)	91.4±3.7	70.2±3.7	<0.001	Plasminogen (%)	91.3±2.5	87.1±2.6	0.2
FIX (%)	103.5±2.9	86.8±3.2	<0.001	vWFAg (%)	176.6±8.7	326.5±14.6	<0.001
FX (%)	95.3±3.3	79.9±2.9	0.001	FVIII (%)	131.5±2.9	174.5±3.2	<0.001
FXI (%)	89.2±2.6	77.3±3	0.004	FVIII-to-PC ratio	1.49±0.07	3.04±0.16	<0.001
FXII (%)	97.9±2.4	87±2.8	0.005	PAI-1 (IU/ml)	1.52±0.23	1.75±0.25	0.5
FXIII (%)	116.9±3.6	105.9±3.5	0.03	Φλεγμονώδη δραστηριότητα	<25 kPa (n=97)	≥25 kPa (n=98)	p
Fibrinogen (mg/dl)	375.6±10.1	353.4±12.1	0.1	LBP (ng/ml)	6.12±0.06	7.1±0.07	<0.001
a2-antiplasmin (%)	89.2±2.2	88.4±2.2	0.7	TNF-α (pg/ml)	9.87±0.85	27.8±2.6	<0.001
				IL-6 (pg/ml)	11.6±0.8	43.9±4.1	<0.001



Πίνακας 5. Πολυπαραγοντικές αναλύσεις για την ανάδειξη παραγόντων που σχετίζονται ανεξάρτητα με ηπατική σκληρία ≥25 kPa

Μόνο αιμοστατικοί παράγοντες				Αιμοστατικοί και φλεγμονώδεις παράγοντες			
Συμμετοχή FVIII και PC (FVIII/PC εκτός)				Συμμετοχή FVIII και PC (FVIII/PC εκτός)			
Variable	OR	CI95%	p	Variable	OR	CI95%	p
PC	0.972	0.954-0.990	0.002	PC	0.974	0.952-0.997	0.02
FVIII	1.031	1.015-1.047	<0.001	FVIII	1.026	1.004-1.050	0.01
vWFAg	1.009	1.004-1.014	0.001	LBP	2.850	1.338-6.073	0.007
				TNF-α	1.145	1.063-1.232	<0.001
				IL-6	1.069	1.024-1.116	0.002
Συμμετοχή FVIII/PC (FVIII και PC εκτός)				Συμμετοχή FVIII/PC (FVIII και PC εκτός)			
Variable	OR	CI95%	p	Variable	OR	CI95%	p
FVIII/PC	3.149	1.881-5.271	<0.001	FVIII/PC	2.957	1.461-5.985	0.003
vWFAg	1.011	1.006-1.015	<0.001	LBP	3.409	1.591-7.302	0.002
				TNF-α	1.137	1.051-1.230	0.001
				IL-6	1.064	1.021-1.108	0.003

Οι παράγοντες αυτοί ήταν οι μόνοι που έδειξαν ανεξάρτητη συσχέτιση με την ηπατική σκληρία ≥25 kPa μετά την προσθήκη του Child-Pugh σταδίου και του MELD score εναλλάξ στις πολυπαραγοντικές αναλύσεις

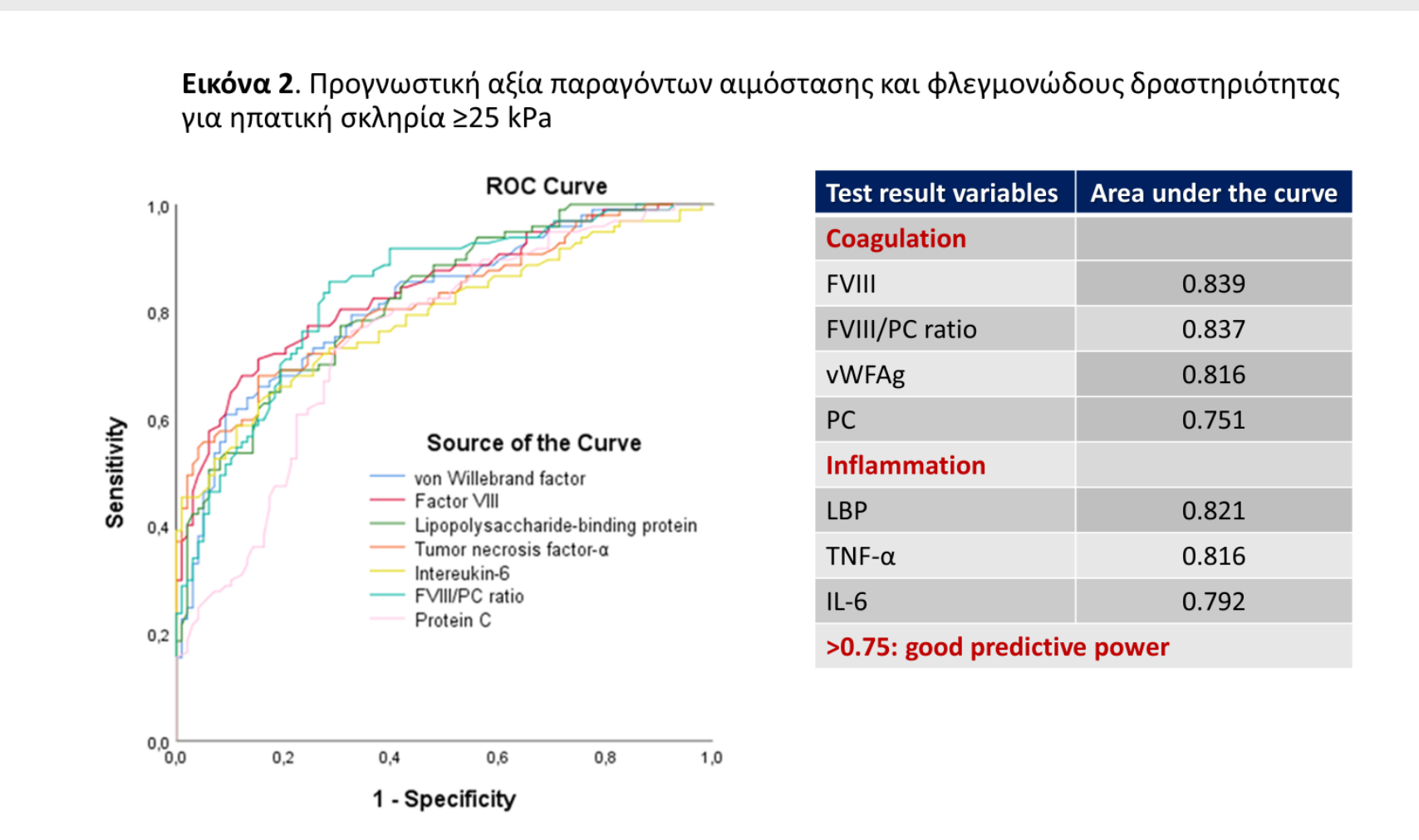


Πίνακας 1. Παράμετροι αιμόστασης

Παράγοντες αιμόστασης		
Αιμορραγική προδιάθεση	Θρομβωτική προδιάθεση	
Μείωση παραγόντων	Μείωση παραγόντων	Αύξηση παραγόντων
• Αριθμός αιμοπεταλίων	• Πρωτεΐνη C	• Παράγοντας von Willebrand
• Παράγοντες II, V, VII, IX, X, XI, XII, XIII	• Πρωτεΐνη S	• Παράγοντας VIII
• Ινωδογόνο	• Αντιθρομβίνη	• Λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C
• a2-αντιπλάσμινη	• Πλασμινόγιο	• Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινόγιο τύπου-1

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά των ασθενών κατά την είσοδο στη μελέτη

	<25 kPa (n=97)	≥25 kPa (n=98)	p
Ηλικία	60.4±1.2	59±1.4	0.4
Φύλο (άρρεν)	81 (83.6%)	79 (80.6%)	0.5
Αίτιο κίρρωσης: αλκοόλ/ιγενής ηπατίτιδα/άλλο	75/15/7	72/16/10	0.7
Ρήξη αντιρρόπησης	43 (44.3%)	63 (64.3%)	0.004
Ασκίτης	37 (38.1%)	55 (56.1%)	0.01
Κίρσορραγία	6 (6.1%)	14 (14.2%)	0.06
Ηπατική εγκεφαλοπάθεια	6 (6.1%)	7 (7.1%)	0.9
INR	1.09±0.07	1.26±0.06	0.02
Cre (mg/dl)	1.05±0.02	1.17±0.04	NS
TBL (mg/dl)	1.2±0.07	1.7±0.05	0.03
ALB (g/dl)	3.4±0.1	3.1±0.1	0.03
Διαβήτης	20 (20.6%)	29 (29.5%)	0.1
Liver stiffness (kPa)	19.1±0.3	32.9±0.5	<0.001
Child-Pugh A/B/C	55/32/11	40/34/23	0.03
MELD score	10.5±0.3	12.4±0.4	0.01



Πίνακας 6. Συσχετίσεις της ηπατικής σκληρίας με τους παράγοντες αιμόστασης και φλεγμονώδους δραστηριότητας σε ασθενείς με σκληρία ≥25 kPa και <25 kPa

	≥25 kPa (n=97)		<25 kPa (n=98)	
	r	p	r	p
Protein C	-0.343	0.001	-193	0.06
Factor VIII	0.393	<0.001	0.043	0.6
Factor VIII/protein C ratio	0.475	<0.001	0.172	0.09
Von Willebrand factor	0.554	<0.001	0.138	0.1
Lipopolysaccharide-binding protein	0.406	<0.001	0.185	0.07
Tumor necrosis factor-α	0.511	<0.001	0.157	0.1
Interleukin-6	0.522	<0.001	0.080	0.4

Οι συσχετίσεις της ηπατικής σκληρίας με τους παράγοντες αιμόστασης και φλεγμονώδους δραστηριότητας ήταν σημαντικές μόνο στην ομάδα των ασθενών με ηπατική σκληρία ≥25 kPa

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Οι ασθενείς με ηπατική σκληρία ≥25 kPa είχαν σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό ρήξης αντιρρόπησης
- Η παρούσα μελέτη υποστηρίζει μια ισχυρή και αιτιολογική συσχέτιση των παραγόντων θρομβωτικού κινδύνου και της φλεγμονώδους δραστηριότητας με την παρουσία ηπατικής σκληρίας ≥25 kPa