

# Knodell és Kendall a hepatológiában

Egyed-Zsigmond Ilona<sup>1</sup>, Egyed-Zsigmond Imre<sup>2</sup>, Mezei Tibor<sup>2</sup>, Koncsag Előd<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Szászrégeni Városi Kórház, Fertőző betegségek osztálya, <sup>1</sup>Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Patológia Tanszék<sup>2</sup>, Gyerekgyógyászat Tanszék<sup>3</sup>

## Knodell și Kendall în hepatologie

Astăzi știm, că atât fibroza, cât și ciroza reprezintă de fapt stadii ale unui proces dinamic bidirecțional, care pot evolua sau regresa. Prin această descoperire, se deschide o nouă perspectivă a aplicării scorului pentru fibroză, în cazul biopsiilor hepatice, cea a determinării efectului antifibrotic al diferitelor medicamente. Stadializarea fibrozei hepatice în biopsii este o cerință din ce în ce mai frecventă, atât pentru evaluarea stării bolnavului, cât și a eficacității tratamentului. Modificările fine ale dinamicii procesului de fibroză pot fi puse în evidență și obiectivizate prin prelucrarea digitală a imaginii, recunoscând mai multe metode, care au fost evaluate în mai multe studii, dovedind eficacitatea lor. Printr-un studiu retrospectiv al biopsiilor hepatice percutanate, am determinat mai întâi scorul Knodell, după care rezultatele determinărilor subiective au fost coroborate cu datele obiective ale prelucrării digitale a imaginilor obținute din fiecare biopsie.

Cuvinte cheie: scorul Knodell, statistica Kendall  $\tau$ - $\beta$ , fibroza hepatică

## Knodell and Kendall in hepatology

It is now recognized that liver fibrosis and cirrhosis are dynamic processes, that can both progress and regress over time. Armed with the knowledge that fibrosis regression can indeed be achieved with treatment, monitoring the fine variation of the dynamics of this lesion is now essential, and could be assessed with quantitative digital image analysis, a method that has been evaluated in previous studies. Staging liver fibrosis with biopsy is considered necessary in the management of the patients, and in the evaluation of the efficacy of the treatment. Our retrospective study consisted of a review of percutaneous liver biopsy to determine the discriminative reliability of the subjective semiquantitative assessment of fibrosis against objective digital image measurement by image analysis.

Key words: Knodell scor, Kendall's  $\tau$ - $\beta$  statistic, liver fibrosis

Orvostudományi Értesítő, 2008, 81 (1): 42-44

www.orvtudert.ro

Az elköltőszövetesedés vizsgálata a máj tűbiopsziás szövetmintáiban fontos mozzanat az alkoholos-, vírusos- és autoimmun májgyulladások súlyosságának megítélésben. Több és egyre objektívebb módszert alkalmazunk a diagnosztikában, amelyek a gyulladás és az elhalás súlyosságának felmérése mellett, a kötőszövetesedés mértékét is leírják, megbízható támpontot adva a kezelés hatásosságának felmérésében [4,6,7]. Az elköltőszövetesedés folyamatának részleteit megismerve, egyre nyilvánvalóbbnak tűnik annak kétirányú jellege, megfordíthatósága és ezzel kezelhetőségének lehetősége is [1,2]. Az antifibrótikus kezelés hatásosságának mérése újabb impulzust jelent a tűbiopsziás vizsgálatok számának növekedésében. Párhuzamosan nő az igény a kötőszövetesedés fokának pontos megítélésére. Ezen követelmények gyorsabb és objektívebb vizsgálati módszereket igényelnek, amelyek között legnagyobb esélye a digitális képfeldolgozáson alapuló automatizálási kísérleteknek van. Számptalan szakdolgozat közölte már az első próbálkozások eredményeit [5,8,9,10]. Ezek mellett, miután kialakítottuk a képrögzítés nagyteljesítményű mikroszkóphoz csatolt videokamera biztosította lehetőségét és megtaláltuk jó minőségű digitális képek rögzítésének és számítógépes feldolgozásának módszerét, mi is bemutatjuk a módosított Knodell pontozás szubjektív megítélését digitális képfeldolgozással nyert objektív számadatokkal összehasonlító vizsgálataink eredményeit. Az összehasonlítást Kendall-féle  $\tau$ - $\beta$  statisztikai módszerrel végeztük.

A szövetmintákat 16 gauge-os (1,3 mm átmérőjű) tűvel, megfelelően előkészített és kivitelezett beavatkozással vették, 10%-os pufferezett formalinban rögzítették, paraffin beágyazás után belőlük 4-5 mikron vastag metszeteket készítettünk, amelyeket HE és Masson-féle trichrom módszerrel festettünk. A rendelkezésre álló anyagminták közül kiválogattuk a 14±3 mm nagyságúakat, amelyek legalább 5 portális teret tartalmaztak [11].

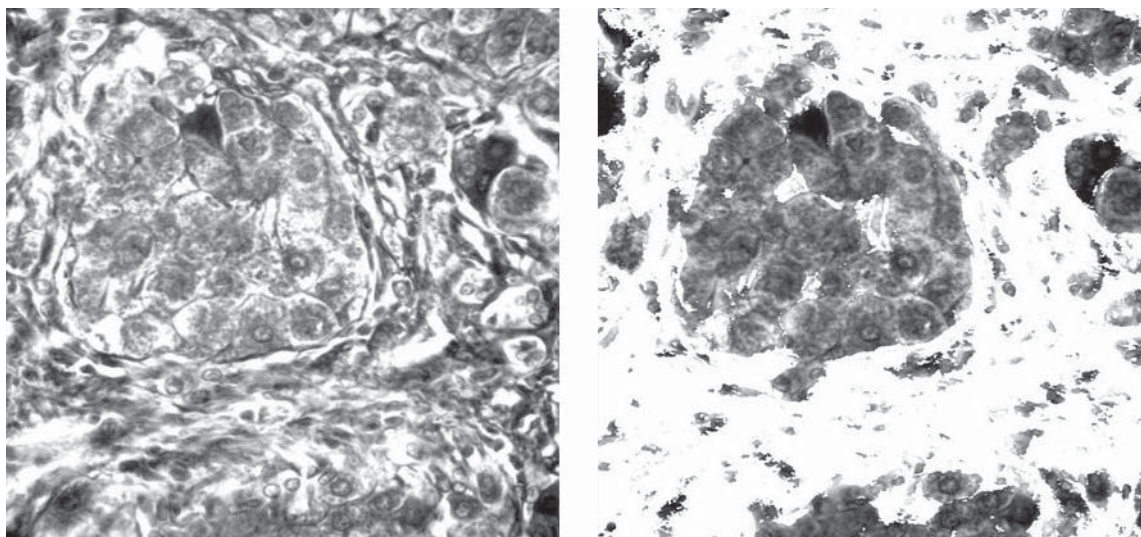
A képfeldolgozást egy Nikon Eclipse E800 mikroszkóphoz csatolt Nikon DN100 CCD videokamera segítségével kezdtük, 10x-es objektívvel minden szövetmintából 3-10 RGB24 bit minőségű képet készítettünk, amelyet Camera Control Unit segítségével adathordozóra (compact flash) rögzítettünk, majd számítógéppel a National Institute of Health (AEÁ) munkatársa, Wayne Rasban, által kidolgozott Image J program segítségével digitalizáltunk [12]. A bináris képátalakítás biztosította színes pixel-számlálás tette lehetővé a kötőszövetes terület pontos felületének számszerű (PF) meghatározását. A szövetminta területén megmért PF értékekből közepes kötőszöveti arányt (PMF) számoltunk, amelyet képzett patológus által, ugyanazon mintából megítélt Knodell pontértékhez (1. táblázat) hasonlítottunk. A nagyszámú eset Knodell-értékei és digitálisan mért PMF-értékei közötti viszonyt Knodell  $\tau$ - $\beta$  statisztikai program segítségével elemeztük.

2007-ben a Maros Megyei Klinikai Sürgősségi Kórház Patológia Osztályán 108 májbiopsziás esetet dolgoztak fel, amelyek felülvizsgálatával 102 esetben alkalmaztuk a Knodell-féle pontozási rendszert az elköltőszövetesedés súlyosságának megítélésére. Hat esetben ez nem volt lehet-

**1. táblázat.** Az elköltőszövetesedés súlyosságának pontértékelése Knodell szerint

Elváltóság	Pontszám
Nincs kötőszövet	0
Portális terek elköltőszövetesedése	1
Portális terek elköltőszövetesedése ritka, rövid sövetekkel	2
Kifejezett kötőszövetesedés, porto-portális és porto-centrális hídképződéssel	3
Cirrhosis	4





1. ábra. Kontrasztosan kiemelt, fehér színű, kötőszövetes területek a máj szerkezetében

séges a szövetminták elégtelen nagysága miatt. A Masson-féle trichrom festéssel kékre festődő kötőszövetes területeket először a kontraszt növeléséért fehér színűvé alakítottuk (1. ábra), majd az ImageJ program segítségével megmértük az elkötszövetesedett területek nagyságát és azokat felületszázaléknak megfelelő számértékekkel fejeztük ki. Többszörös hasonló mérés eredményeiből számítottuk ki az elkötszövetesedés középértékét (PMF), amely a Knodell-rendszer pontértékei mellett jellemezi a vizsgált szövetmintát. Ezen két számérték általunk vizsgált 102 esetre vonatkozó viszonyát Kendall  $\tau$ - $\beta$  statisztikai módszerrel vizsgálva szoros összefüggést találtunk a digitális képfeldolgozáson alapuló PMF-értékek és a szubjektív megítélést jelentő Knodell-értékek között ( $\tau=0,78$ ,  $p<0,01$ ) (2. táblázat).

A kötőszövetesedés mértékét kifejező számértékek százalékos szóródását a Knodell-rendszer négy szintjének megfelelően a 2. ábra tükrözi egy bloxplot görbe segítségével, amely a pontozás szubjektív megítélésének megfelelően a kvartilek távolságának változásával és a medián szintekkel a vizsgáló patológus tudását, illetve bizonytalanságát tükrözi.

A szakirodalomban közölt nagyszámú, digitális képfeldolgozáson alapuló vizsgálati módszerrel egyúttal sok észrevételt, fenntartást és következtetést is megfogalmaz ezen módszerek gyakorlati alkalmazásával kapcsolatban [1,8,9,10]. Legfontosabb, hogy egységesíteni kell az elkötszövetesedés mérésének rendszerét.

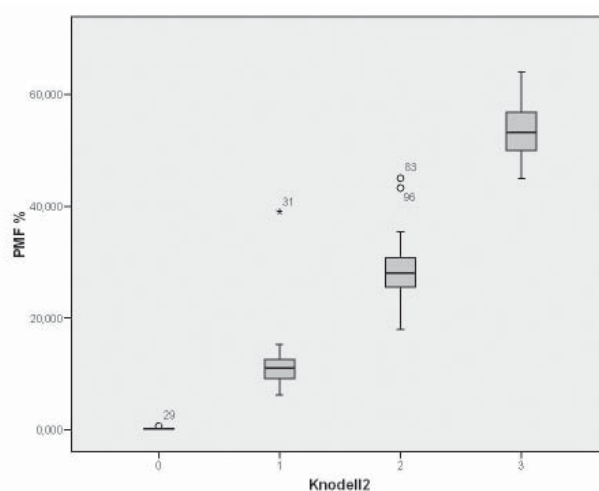
Annak bemutatása mellett, hogy rendelkezünk minőségi képfeldolgozás lehetőségével, fel szeretnénk hívni a figyelmet a pontos és lelkiismeretes technikai kivitelezés szükségességére, valamint a részletes patológiai vizsgálat fontosságára. Kénytelenek voltunk Knodell módszerét alkalmazni, mert az interferon és vírusellenes kezelést végző hepatológiai szakrendelések csak erre építették tevékenységüket, annak ellenére, hogy például az Ishak-féle rendszer, a 6 fokozatos elkötszövetesedési lehetőségével pontosabb statisztikai megközelítést tett volna lehetővé [8], mint a Knodell-rendszer 4 fokozata. A képfeldolgozás során, Masson-féle trichrom festés alkalmazása esetén, parazita területek rátevődését is

tapasztaltuk, amelyek kiküszöbölésére szíriusvörös festés alkalmazását javasolják. Mégis, a képfeldolgozás biztosította közepes elkötszövetesedés értékei és a szubjektív megítélés megállapított Knodell pontszámok közötti Kendall tau-béta teszttel kimutatott szoros kapcsolat arra enged következtetni, hogy automatizálható a kötőszövetesedés megítélése májbiopsziák szövetmintáiban.

2. táblázat. Kendall  $\tau$ - $\beta$  módszerrel végzett összehasonlító vizsgálat eredménye

Correlations				
Kendall's tau_b	Supr %	Correlation Coefficient	PMF %	Knodell2
		Sig. (2-tailed)	1,000	,785**
		N	102	102
	Fib2	Correlation Coefficient	,785**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	
		N	102	102

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



2. ábra. A kötőszövetesedés Knodell szerinti fokozatainak megfelelő PMF megoszlás a vizsgált anyagban

## Irodalom

1. Arif A., Levine R.A., Sanderson S.O. et al. - *Regression of fibrosis in virological nonresponders with chronic hepatitis C after therapy with interferon and ribavirin.*, Dig Dis Sci, 2003, 48: 1425–1430.
2. Arthur M. J. P. - *Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis C*, Gastroenterology, 2002, 122(5):1525–1528.
3. Bedossa E., Bioulac-Sage E., Callard E. et al. - *Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C*, Hepatology, 1994, 20:15–20.
4. Brunt E. M. - *Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis. The Knodell histology activity index and beyond*, Hepatology, 2000, 31:241–246.
5. Chevallier M., Guerret S., Chossegros E. et al. - *A histological semi-quantitative scoring system for evaluation of hepatic fibrosis in needle liver biopsy specimens: comparison with morphometric studies*, Hepatology, 1994, 20:349–355.
6. Ishak K., Baptista A., Bianchi L. et al. - *Histological grading and staging of chronic hepatitis*, J. Hepatol, 1995, 22:696–699.
7. Knodell R. G., Ishak K. G., Black W. C. et al. - *Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis*, Hepatology, 1981, 1:431–435.
8. Lazzarini A. L., Levine R. A., Ploutz-Snyder R. J. et al. - *Advances in digital quantification technique enhance discrimination between mild and advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C*, Liver International, 2005, 25:1142–1149.
9. Masseroli M., Caballero T., O'Valle F. et al. - *Automatic quantification of liver fibrosis design and validation of a new image analysis method: comparison with semiquantitative indexes of fibrosis*, J. Hepatol, 2000, 32:453–464.
10. O'Brien M. J. - *An assessment of digital image analysis to measure fibrosis in liver biopsy specimens of patients with chronic hepatitis C*, Am J Clin Pathol, 2000, 114:712–718.
11. Scheuer P. J. - *Liver biopsy size matters in chronic hepatitis C, bigger is better*, Gastroenterology, 2003, 38:1356–1357.
12. \*\*\*<http://rsb.info.nih.gov/ij>