

# Procjena tumora jetre kvantitativnom ultrazvučnom elastografijom

---

**Bokun, Tomislav**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:353604>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-01**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Tomislav Bokun**

**Procjena tumora jetre kvantitativnom  
ultrazvučnom elastografijom**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2017.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Tomislav Bokun**

**Procjena tumora jetre kvantitativnom  
ultrazvučnom elastografijom**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2017.**

Istraživanje je izrađeno u Jedinici za ultrazvuk Zavoda za gastroenterologiju, hepatologiju i kliničku prehranu Klinike za unutarnje bolesti u Kliničkoj bolnici Dubrava u Zagrebu, pod mentorstvom doc.dr.sc. Ivica Grgurevića

Iskreno zahvaljujem svom mentoru doc.dr.sc. Ivici Grgureviću čija su nesebična podrška i iskustvo bili neprocjenjivi u izradi ovog rada.

Zahvaljujem kolegama sa Zavoda za gastroenterologiju, hepatologiju i kliničku prehranu Kliničke bolnice Dubrava, Kliničkog zavoda za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju Kliničke bolnice Dubrava, Kliničkog Zavoda za patologiju Kliničke bolnice Dubrava te Centra za kliničku citologiju i protočnu citometriju Kliničke bolnice Dubrava koji su sudjelovali u obradi pacijenata koji su uključeni u istraživanje.

Na kraju, posebno zahvaljujem svojoj obitelji – supruzi Hani, sinu Filipu te kćerkama Sari i Marti, na strpljenju, razumijevanju i podršci svih ovih godina.

# SADRŽAJ

1	UVOD i SVRHA RADA .....	6
1.1	Pregled tumora u jetri i dijagnostičkih metoda .....	6
1.1.1	Pregled i epidemiologija tumora u jetri .....	6
1.1.2	Pregled slikovnih dijagnostičkih metoda kod tumora u jetri .....	7
1.1.3	Ultrazvučne metode.....	11
1.2	Ultrazvučna elastografija .....	17
1.2.1	Fizikalni principi ultrazvučne elastografije .....	17
1.2.2	Podjela ultrazvučnih elastografskih metoda.....	20
1.2.3	Ultrazvučna elastografija u hepatologiji .....	21
1.2.4	Potencijalni problemi vezani uz elastografsku evaluaciju žarišnih lezija u jetri.....	28
1.3	Dijagnostički predikacijski modeli kod žarišnih lezija u jetri .....	30
1.4	Svrha rada .....	33
2	HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA.....	34
3	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	35
4	ISPITANICI I METODE.....	36
4.1	Ispitanici .....	36
4.2	Uključni i isključni kriteriji .....	36
4.3	Plan istraživanja .....	37
4.3.1	Izvođenje elastografskih mjerenja .....	37
4.3.2	Prikupljanje podataka o pacijentima .....	40
4.3.3	Definiranje prirode žarišne lezije u jetri.....	40
4.4	Statističke metode .....	41
5	REZULTATI .....	43
5.1	Značajke pacijenata.....	43
5.2	Značajke i usporedba žarišnih lezija po grupama tumora .....	51
5.3	Usporedba malignih i benignih tumora .....	65
5.4	Usporedba tumora u cirotičnoj i necirotičnoj jetri .....	69
5.5	Predikcija maligniteta .....	73
5.5.1	Predikcija maligniteta logističkom regresijom .....	73
5.5.2	Predikcija maligniteta umjetnom neuronskom mrežom .....	76
5.5.3	Usporedba korištenih modela predikcije maligniteta.....	78

6	RASPRAVA .....	80
6.1	Predikcija maligniteta .....	83
6.2	Razlozi razlika u elastografskim parametrima žarišnih lezija .....	85
6.3	Ograničenja istraživanja .....	87
7	ZAKLJUČCI .....	89
8	SAŽETAK .....	91
9	SUMMARY .....	92
10	LITERATURA .....	93
11	POPIS KRATICA .....	102
12	ŽIVOTOPIS .....	104

# 1 UVOD i SVRHA RADA

## 1.1 Pregled tumora u jetri i dijagnostičkih metoda

### 1.1.1 Pregled i epidemiologija tumora u jetri

Tumori u jetri među najčešćim su neoplastičnim bolestima u ljudi. S obzirom na veliku dostupnost i učestalo korištenje sve naprednijih slikovnih dijagnostičkih metoda (UZV, CT, MRI) u obradi raznih stanja ili bolesti, žarišne lezije u jetri sve češće bivaju dijagnosticirane kod ljudi sa ili bez simptoma ili znakova koji bi upućivali na bolest jetre (1). Kod bolesnika kod kojih postoji sumnja na bolest jetre ili kod bolesnika koji boluju od neke maligne bolesti, žarišne lezije se dijagnosticiraju u sklopu standardne obrade i kod praćenja bolesnika.

Iako primarni tumori jetre mogu nastati praktički iz bilo koje vrste stanica prisutnih u jetri: hepatocita, stanica bilijarnog trakta, endotelnih stanica ili drugih mezenhimalnih stanica, nekoliko vrsta benignih i malignih tumora jetre pojavljuje se učestalo, dok su mnoge vrste rijetke.

Od primarnih benignih tumora najčešći su hemangiomi, fokalna nodularna hiperplazija i hepatocelularni adenom, koji se mogu naći u do 16% populacije (2,3), dok su ostale vrste rijetke (nodularna regenerativna hiperplazija, adenomatoza jetre, angiomiolipomi, lipomi, mezenhimalni hamartomi, hepatobilijarni cistadenomi, mucinozne cistične neoplazme).

Hemangiomi su najčešći primarni benigni tumori u jetri sa prevalencijom od oko 5%, a većinom su mali, do 4 cm (4). Češći su u žena (čak do 6:1 prema nekim serijama), a dijagnosticiraju se najčešće između 30 i 50 godine života (4), vjerojatno zato što u tom periodu života većina ljudi bude podvrgnuta nekoj od slikovnih dijagnostičkih metoda kada se dijagnosticiraju kao tzv. incidentalomi. Predstavljaju kongenitalnu hamartomatoznu proliferaciju endotelnih stanica, u velikoj većini su asimptomatski, a veliki tumori mogu rupturirati ili pak uzrokovati Kasabach-Merritt sindrom ili Blumgart-Bornman-Terblanche sindrom) (5).

Fokalna nodularna hiperplazija (FNH) benigna je novotvorina koja predstavlja poliklonalnu proliferaciju hepatocita nastalu zbog abnormalnosti vaskulature sa posljedičnom patološki povećanom krvnom opskrbom lokalno (6), a predmnijevana prevalencija klinički značajnih FNH je 0.03% (1,4). Zbog izgleda i svojih karakteristika često izaziva dijagnostičke dileme, no praktički nema malignog potencijala te u većini slučajeva ako je dijagnoza jasna, ne zahtjeva liječenje pa čak niti kliničko praćenje (1,5).

Hepatocelularni adenomi (HA) predstavljaju benignu klonalnu proliferaciju hepatocita, a vrlo su rijetki te im je prevalencija do 0.004% (4). Najčešće se dijagnosticiraju u srednjoj životnoj dobi i desetak puta su češći u žena nego u muškaraca (6). Značajni su jer mogu maligno alterirati, što u najvećoj mjeri ovisi o podgrupi HA (6), a veći tumori (> 5 cm) učestalije rupturiraju.

Primarni maligni tumori u jetri dijagnosticiraju se kod gotovo 800 000 ljudi godišnje u svijetu te su drugi uzročnik smrti od karcinoma u muškaraca u slabije razvijenom svijetu i šesti u razvijenom svijetu, uz loše 5-godišnje preživljenje (< 10 %) te stalni trend porasta pobola i smrtnosti (7). Veliku većinu primarnih malignih tumora jetre čine hepatocelularni karcinomi (HCC) koji se najčešće javljaju na terenu kronične bolesti jetre bilo koje etiologije, no mogu se javiti i u jetri bez ili sa minimalnom fibrozom parenhima. Dijagnosticiraju se najčešće u kasnoj fazi bolesti pri čemu se bolesnici prezentiraju sa simptomima zatajivanja jetre ili uznapredovale maligne bolesti, no s obzirom da ovoj fazi prethodi relativno dugi subklinički period, ako se ovi tumori kroz program probira dijagnosticiraju u ranoj fazi, imaju puno bolju prognozu (8,9). Osim HCC-a, od primarnih malignih tumora jetre još je značajan intrahepatički kolangiocelularni karcinom (CCC) sa incidencijom od 2.1 na 100 000 pacijent-godina (10).

Sekundarizmi u jetri mnogo su češći od primarnih malignih tumora jetre (40:1) te je jetra najčešće mjesto diseminacije malignih tumora, posebice onih podrijetla gastrointestinalnog trakta, što se može djelomično objasniti dvojnou krvnom opskrbom, pri čemu krv iz cijelog probavnog sustava koja dolazi u jetru portalnim krvotokom donosi tumorske stanice (11).

### **1.1.2 Pregled slikovnih dijagnostičkih metoda kod tumora u jetri**

Definiranje prirode detektirane žarišne lezije u jetri otkrivene nekom od slikovnih metoda značajno je u kliničkoj praksi zbog planiranja terapijskog pristupa i praćenja te ima prognostičke implikacije. S druge strane, s obzirom na vrlo veliku pojavnost žarišnih lezija u jetri te da često postoji velika sličnost između raznih vrsta žarišnih lezija gledano određenom slikovnom metodom, one često predstavljaju dijagnostički problem koji zahtjeva ekstenzivnu, često i skupu obradu, sa svrhom potvrde prirode lezije. U mnogim slučajevima kliničari moraju posegnuti za invazivnim pretragama i uzimanjem tkivnih uzoraka (citološka punkcija ili biopsija), čime se u većini slučajeva postavi konačna dijagnoza, no invazivni postupci su neugodni za bolesnika i nose mogućnost komplikacija kao što su krvarenje, infekcija, perforacija šupljeg organa, hemobilija, rasap tumorskih stanica te u rijetkim slučajevima čak i smrtni ishod (12,13). Kod bolesnika kod kojih je biopsija jetre indicirana su sklopu dijagnostičke obrade bolesti jetre ili abnormalno povišenih jetrenih enzima, mortalitet vezan uz



samu biopsiju jetre unutar sedam dana od biopsije je 1:10 000, dok raste osam puta kod bolesnika kod kojih je biopsija indicirana zbog sumnje na malignu bolest u jetri (13). Iz tog razloga nužno je dobro poznavanje žarišnih lezija u jetri i dijagnostičko-terapijskih smjernica, kako bi se smanjilo opterećenje zdravstvenih resursa, a pacijente poštedito nepotrebnih i potencijalno (srećom rijetko) štetnih dijagnostičkih postupaka. Zbog toga znanstvenici i kliničari trajno tragaju za dijagnostičkim modalitetima kojima bi do točne dijagnoze došli bez invazivnih postupaka i uzimanja tkivnih uzoraka.

Kod palpacije liječnik osjeća razliku u elastičnosti i tvrdoći podležućih struktura. Hipokrat spominje palpaciju kao metodu u svojim zabilješkama te je ova fizikalna metoda kroz povijest do dolaska slikovnih metoda i razvoja kirurgije bila jedina metoda za dijagnosticiranje intraabdominalne patologije, a i danas je vrijedna prva metoda kod fizikalnog pregleda bolesnika te se koristi i intraoperacijski kod lociranja patologije u jetri i abdomenu (14). Razlika u elastičnosti i tvrdoći predstavlja kontrast potreban za diferenciranje 'zdravog od nezdravog'. Kod slikovnih metoda općenito, različita svojstva pojedinih struktura osnova su za potrebiti kontrast koji je osnova za bilo kakav prikaz.

Kod klasične radiografije i dijaskopije rentgenske zrake se prolazeći kroz tkiva u različitom omjeru a) apsorbiraju, b) rasprše (tzv. Comptovnov rasap) i c) nepromijenjene prođu kroz promatrana tkiva, čime se dobije kontrast u smislu razlike u gustoći zacrnjenja na rendgenskoj slici. Pri tome apsorpcija i raspršivanje osim o valnoj duljini rentgenskih zraka, ovise o određenim svojstvima tkiva kroz koje prolaze zrake, a to su gustoća i oblik tkiva, debljina/promjer tkiva te kemijski sastav tj. vrste atoma koji grade promatrano tkivo. Navedeno je osnova za tzv. prirodni kontrast, koji se dodatno može povećati primjenom pozitivnih (npr. intravenska ili peroralna kontrastna sredstva koja u sastavu imaju spojeve koji sadržavaju atome visokog atomskog broja) ili negativnih (npr. insuflacija zraka) kontrastnih sredstava (15). Ove metode nemaju ulogu u dijagnostici i praćenju žarišnih lezija u jetri, no daljnjim razvojem primjene rentgenskih zraka u medicini nastala je kompjutorizirana tomografija koja je danas jedna od najvažnijih i često nezaobilaznih metoda za žarišne lezije u jetri.

Kod kompjutorizirane tomografije (CT) koriste se rentgenske zrake koje su generirane iz rotirajućeg izvora u obliku kružnice, a čija se apsorpcija u određenom promatranom dijelu tijela mjeri sa mnogo detektora u isto vrijeme također poredanih u obliku kružnice. Dobiveni podaci se potom kompjutorski obrađuju i pretvaraju u volumne elemente – tzv. voksele, od kojih svaki ima svoje apsorpcijske značajke koje se obradom pretvaraju u sliku te se mogu kvantitativno izraziti kao apsorpcijski koeficijenti u Hounsfieldovim jedinicama. Osim aksijalnih slika uz pomoć *software-a* moguće je generirati multiplanarne rekonstrukcije, kao i trodimenzionalni prikaz struktura promatranog dijela tijela i tzv. virtualne endoskopije (15). Dakle, kod kompjutorizirane tomografije

osnova za kontrast ista je kao i kod radiografije – različita svojstva tkiva različito apsorbiraju regentske zrake, pri čemu snimanje po slojevima iz mnogo kutova daje mnogo podataka čija kompjutorska obrada omogućava vrlo detaljan prikaz struktura. Zbog toga te je CT nezaobilazna visokovrijedna metoda i često 'zlatni standard' u dijagnostici i praćenju mnogih vrsta patoloških stanja u ljudi.

Kompjutorizirana tomografija u kombinaciji sa pozitronskom emisijskom tomografijom (PET-CT) hibridna je slikovna metoda koja dodatno na morfološki prikaz CT-om daje informacije o funkciji promatranog tkiva/organa na način da evaluira određene metaboličke procese u organizmu kao npr. metabolizam glukoze u stanicama. S obzirom da su metaboličke potrebe malignih tumora koji rastu veće u odnosu na zdrava tkiva, razlika u metabolizmu glukoze daje kontrast za prikaz vijabilnog tumorskog tkiva. Ova metoda također je nezaobilazna u današnje vrijeme kod dijagnostike i praćenja onkoloških bolesnika općenito.

Nuklearna magnetna rezonancija je fizikalna pojava kod koje jezgre određenih atoma u jakom magnetskom polju apsorbiraju i reemitiraju radiofrekventno zračenje. Od atoma koji sastavljaju ljudsko tijelo najvažniji kod prikaza magnetnom rezonancijom su vodikovi atomi. Smješteni u jako magnetsko polje, pozitivni naboji protona jezgre vodika rotirat će se u smjeru sjevernog pola magneta te se ta pojava zove magnetizacija. Ako se na magnetizirano tkivo kratkotrajno pošalju radiovalovi određene frekvencije, one će početi rezonirati i emitirati radiovalove u okolicu koji se mogu detektirati. Mjerena jačina signala magnetnog rezoniranja u jedinici volumena tkiva proporcionalna je gustoći rezonirajućih jezgri i tzv. vremenima relaksacije što je različito za različita zdrava i bolesna tkiva te predstavlja osnovu za kontrast i prikaz (15). Podaci o signalima se procesuiraju i kompjutorski obrađuju na sličnim principima kao kod kompjutorizirane tomografije te su također moguće multiplanarne rekonstrukcije i trodimenzionalni prikaz promatranih struktura.

Svaka od spomenutih slikovnih radioloških metoda ima svoje prednosti i mane u usporedbi sa drugim metodama. Magnetska rezonancija se smatra zlatnim standardom za dijagnostiku žarišnih lezija u jetri (4). Prednosti su joj neškodljivost (nema ionizirajućeg zračenja) i visoka točnost u diferencijaciji patologije mekih tkiva i parenhimskih organa te se kod korištenja hepatospecifičnog kontrasta dodatno povisuje specifičnost MRI za diferencijaciju lezija u jetri. Mane su joj relativno dugo trajanje pretrage što može dovesti do anksioznosti kod klaustrofobičnih osoba, artefakti kod nemira pacijenta ili respiratornih pokreta, manja dostupnost aparata i ekspertize te nemogućnost izvođenja pretrage u slučaju postojanja feromagnetičnih materijala u tijelu. Prednosti kompjutorizirane tomografije u odnosu na MRI su kratko trajanje pretrage te relativno široka dostupnost aparata i ekspertize, što omogućava brzu dijagnostiku kod sumnje na malignu bolest, a

posebice kod sumnje na simptomatske žarišne lezije (npr. ruptura tumora). S druge strane nedostaci CT su ionizirajuće zračenje i slabija dijagnostička točnost kod određenih grupa žarišnih lezija u jetri.

Definiranje prirode i vrste žarišne lezije u jetri CT-om i MRI-om zahtjeva multifazni kontrastni protokol koji uključuje arterijsku fazu, portalno-vensku fazu i kasnu fazu (1). Ovdje treba napomenuti da je kod CT-a ovo različito od standardnog CT-a abdomena koji uključuje portalno-vensku i kasnu fazu.

Kod kontrastnih CT i MRI pretraga, za HCC-ove veće od jedan cm karakteristična je brza opacifikacija kontrastom u arterijskoj fazi te rano 'ispiranje' (engl. *washout*) kontrasta u venskoj i kasnoj fazi (8). Ovakav obrazac visoko je specifičan (blizu 100%) za HCC, što se objašnjava dominantnom arterijskom vaskularizacijom ovih tumora zbog čega su u arterijskoj fazi 'svijetliji' od parenhima jetre, a u portalno-venskoj i odgođenoj fazi se kontrast 'ispere' iz arterija te pošto nemaju vena, 'tamniji' su u odnosu na parenhim koji je ispunjen venskom krvlju sa kontrastom (8). No mali HCC-ovi (<10 mm) mogu biti drugačiji na kontrastnom prikazu jer se arterijska vaskularizacija nije u potpunosti razvila. Ovim pretragama moguće je sa točnošću većom od 90% dijagnosticirati HCC-ove veće od dva cm, čime je značajno smanjena potreba za citološkom i/ili histološkom verifikacijom koja je potrebna kada nalaz slikovnih metoda nije tipičan (1,8). Rezultati meta-analize ukazuju da je MRI bolja dijagnostička metoda za definiranje HCC-a u odnosu na CT, sa većom senzitivnošću (81%, 95% CI 73-88; vs 79%, 95% CI 67-87) i specifičnošću (92%, 95% CI 78-97; vs 90%, 95% CI 37-99) (16). Senzitivnost slikovnih metoda raste sa povećanjem lezije, a raste također i kod slabije diferenciranih tumora (kod umjereno i slabo diferenciranih vs. dobro diferenciranih). Tako je kod HCC-ova većih od 20 mm točnost slikovnih metoda općenito veća, pri čemu je MRI točnija u odnosu na CT: senzitivnost 97% (95% CI 95-98) vs. 95% (95% CI 92-97) i specifičnost 98% (95% CI 92-98.8) vs. 90% (95% CI 73-97) (16). Kod razmatranja koju slikovnu metodu uporabiti za postavljanje dijagnoze HCC-a svakako bi trebalo uzeti u obzir i lokalnu ekspertizu.

Metastaze kod evaluacije CT-om i MRI-om mogu imati različit izgled i obrazac punjenja kontrasta. Najspecifičnija karakteristika metastaza je 'ispiranje' u kasnoj fazi, dok se u arterijskoj i portalno-venskoj fazi mogu razlikovati načelno u ovisnosti o primarnom sijelu tj. vrsti neoplazme od koje potječu. Metastaze karcinoma pankreasa i GI cijevi najčešće su hipovaskularne kroz sve faze, dok metastaze karcinoma bubrega, dojke, melanoma ili NET-a mogu biti hipervaskularne u arterijskoj fazi, a neke metastaze mogu u arterijskoj fazi pokazivati prstenasto punjenje koje se ispire u portalno-venskoj fazi (2,11). Neovisno o izgledu i vaskularnom obrascu punjenja, ukoliko postoji sumnja da se radi o metastazama, potrebno je naći primarno sijelo maligne bolesti koje je

kompatibilno sa izgledom metastaza, a ukoliko primarno sjelo malignoma nije verificirano, potrebno je učiniti citopunkciju ili biopsiju žarišne lezije radi citološke ili histološke verifikacije.

Prema današnjim smjernicama, kada su tipični i nađu se u zdravoj jetri kod bolesnika kod kojeg se ne sumnja na malignu bolest, hemangiomi se mogu dijagnosticirati ultrazvukom u sivoj skali, a ako nisu tipični potrebno je učiniti jednu od kontrastnih slikovnih metoda: MRI, CT ili kontrastni ultrazvuk (CEUS) (4). Tipični kontrastni obrazac je nepravilnije nodularno punjenje na periferiji u arterijskoj fazi sa prvostupnim punjenjem prema centru lezije u portalno-venskoj i kasnoj fazi (1,2). S obzirom na svoje prednosti, MRI je najbolja metoda za evaluaciju hemangioma i zlatni je standard u dijagnostici. U svojim različitim sekvencama uz kontrastni prikaz najtočnija je metoda u dijagnostici koja dodatno može točno diferencirati dvije najčešće vrste atipičnih hemangioma: tzv. hemangiome sa brzim punjenjem (engl. *rapidly filling haemangioma*) i gigantne hemangiome, dok je kod drugih rijetkih vrsta hemangioma diferencijacija uz pomoć MRI manje pouzdana (4).

Od dijagnostičkih metoda za žarišne lezije u jetri još je za spomenuti scintigrafiju vlastitim obilježenim eritrocitima. Nakon što su obilježeni radioaktivnim materijalom (Tc-99m), vlastiti eritrociti se vraćaju pacijentu u krv te se potom skenira područje gornjeg abdomena: odmah, kada se u području hemangioma ne pokazuje signala, te odgođeno (najčešće nakon 30 do 60 minuta) kada postoji pojačan signal iz hemangioma. Ova metoda ima vrlo visoku specifičnost za hemangiome (gotovo 100%), dok joj je senzitivnost oko 75%, pri čemu se mali hemangiomi (<2 cm) rijetko detektiraju, a sa porastom veličine senzitivnost raste te je kod tumora većih od 4 cm 100 % (17,18). Ova metoda se danas rijetko koristi, a nekada je bila zlatni standard u dijagnostici hemangioma u jetri.

### **1.1.3 Ultrazvučne metode**

Zvuk je longitudinalni mehanički val frekvencije između 20 Hz i 20 kHz kojeg čovjek može čuti. Longitudinalni mehanički valovi frekvencija iznad 20 kHz nazivaju se ultrazvuk koji čovjek ne može čuti, dok su neke životinje kao npr. šišmiš razvile složen aparat kojim mogu proizvoditi ultrazvučne valove te potom detekcijom reflektiranih ultrazvučnih valova procjenjivati udaljenosti i oblike predmeta ispred sebe (19). Na sličnom principu radi i ultrazvučni aparat.

Ultrazvuk je široko rasprostranjena slikovna dijagnostička metoda koja se u kliničkoj praksi pojavila krajem 60-ih godina prošlog stoljeća, a njime se rutinski u kliničkom radu služe liječnici mnogih specijalnosti (20). Dijagnostička primjena ultrazvuka u medicini je vrlo široka te se koristi u dijagnostici i praćenju bolesti mnogih organa i organskih sustava, a često je prva metoda kojom se

detektiraju i evaluiraju žarišne lezije u jetri. Nema poznatih negativnih posljedica na organizam kod korištenja ultrazvuka u dijagnostičke svrhe (21,22), a dodatne prednosti su mu jednostavnost primjene, mobilnost te relativno povoljna cijena i dugotrajnost aparata.

U dijagnostičke svrhe koriste se ultrazvučni valovi frekvencija između 2 i 25 MHz, koji se u mekim tkivima ponašaju kao longitudinalni valovi karakterizirani frekvencijom i valnom duljinom te intenzitetom i brzinom širenja kroz tkiva (15). U sondama modernih dijagnostičkih ultrazvučnih aparata kratkotrajni pulsevi ultrazvučnih valova generiraju se uslijed deformacije posebnih kristala u procesu koji se zove inverzni piezoelektrični efekt. Proizvedeni valovi usmjeravaju se prema promatranim dijelovima ljudskog tijela, a dio valova se reflektira i vraća prema sondi te dolazi u interakciju sa kristalima koji se deformiraju u procesu koji se zove direktni piezoelektrični efekt, pri čemu nastaje naboj i niskovoltažne struje koje se složenim algoritmima pretvaraju u sliku (23). Obim refleksije ultrazvučnih valova ovisi o akustičnoj impedanciji tkiva od kojih se reflektiraju, a udaljenost točke od koje se ultrazvučni val reflektira računa se iz vremena proteklog od slanja pulsa ultrazvučnog snopa do registracije reflektiranog vala, uz poznatu brzinu prolaska ultrazvučnih valova kroz meka tkiva (15,23). Na ekranu aparata slika predstavlja topografski presjek sastavljen od točaka različite svjetline u ovisnosti o amplitudi reflektiranih ultrazvučnih valova te se ovakav prikaz zove B-mod (od engl. *brightness modulation*) i predstavlja osnovu ultrazvučnog pregleda (23).

#### **1.1.3.1 B-mod prikaz (prikaz u sivoj skali)**

Tipični hemangiomi u B-mod prikazu su male (< 3 cm), homogeno hiperehogene žarišne lezije, jasno ograničene od okolnog parenhima, često sa posteriornim pojačanjem tj. zazorom, a kod praćenja ne mijenjaju veličinu i prvotno zabilježene UZV karakteristike (24,25). Pri tome treba uzeti u obzir i zamašćenost jetrenog parenhima kod masne jetre bilo koje etiologije jer u takvoj jetri 'tipični' hemangiomi mogu čak biti nešto hipoehogeniji u odnosu na parenhim. Veći hemangiomi mogu biti atipičnog prikaza u B-modu, a smatra se da se promjene događaju uslijed tromboze i hemoragije unutar samih lezija kod rasta, miksomatoznih promjena i fibroze te rijetko kalcificiranja (26). Kod atipičnog izgleda mogu se prikazati hipoehogeniji dijelovi unutar samih lezija, u cijelosti hipoehogenije lezije koje mogu imati hiperehogeniji rub različite širine, kao velike heterogene lezije, mogu imati u sebi ožiljke ili kalcifikate, a ekstremno rijetko mogu imati i cistične dijelove (24). Metastaze mogu vrlo različito izgledati u B-mod prikazu. Mogu biti hipo-, hiper- ili izoehogene, imati hipo- ili hiperehogeni rub, mogu biti homogene ili heterogene, oštro ili neoštro ograničene prema okolini, konfluirajuće, mogu infiltrirati krvožilje ili susjedne organe i strukture uz jetru ili imati

nekrotične kolikvirane i cistične dijelove. Ukoliko su brojne, različite veličine i relativno jednoliko izgledaju, lako je pretpostaviti da se radi o metastazama, no ukoliko se nađe jedna ili dvije lezije koje izgledaju slično nekim benignim tumorima, svakako je potrebno učiniti jednu od slikovnih metoda potpomognutih kontrastom. Hepatocelularni karcinomi u B-mod prikazu mogu biti također različitog izgleda. Mali HCC-ovi obično su hipoehogeniji, dok kako rastu postaju izo- ili hiperehogeniji, a također sa porastom postaju heterogenije strukture. Nezadovoljavajuća detekcija HCC-a ultrazvukom u B-mod prikazu kod bolesnika koji nisu u programu probira za HCC oglada se u senzitivnosti od 59% (95% CI 42-74%) i specifičnosti od 83% (53-95%) (16). Podaci iz meta-analize Singal-a i suradnika govore da je detekcija HCC-a u bilo kojem stadiju bolesti kod bolesnika koji su u programu probira značajno viša (senzitivnost 94% i specifičnost 94%) (27). No kod ranih HCC-a (definiranih prema Milanskim kriterijima kao jedna lezija manja od 5 cm ili 3 lezije svaka manja od 3 cm u promjeru, bez infiltracije velikih žila), detekcija je ipak lošija pri čemu je senzitivnost svega 63% te je značajno bolja kod probira ultrazvukom svakih šest mjeseci naspram svakih godinu dana ( $P=0.001$ ) (27). Sato i suradnici su u velikoj kohorti pokazali da kada probir vrše vrlo iskusni ultrasoničari uz intervale kraće od šest mjeseci kod bolesnika koji imaju viši stadij kronične jetrene bolesti, probir je bio vrlo efikasan te su gotovo svi HCC-ovi detektirani kao manji od 3 cm u promjeru, a prosječni promjer kod detekcije (kod 221 pacijenta) bio je  $16.5 \pm 6.4$  mm (28).

Osim B-moda, ultrazvučna dijagnostika se razvila implementirajući druge ultrazvučne metode od kojih su najvažnije dopler, kontrastni ultrazvuk te elastografija.

### **1.1.3.2 Dopler**

Kod doplerskog prikaza koristi se fizikalni princip nazvan doplerov učinak koji nastaje uslijed refleksije ultrazvučnih valova od eritrocita koji se kreću u krvnoj struji i pri tome služe kao reflektori. Promjena frekvencije reflektiranog vala uslijed kretanja reflektora – eritrocita jednaka je doplerskom pomaku iz kojeg se može izračunati brzina kretanja eritrocita i time brzina kretanja krvi (29). Dopler omogućava prikaz makrovaskulature te može dati određene informacije kod dijagnostike žarišnih lezija u jetri. Hemangiomi najčešće ne daju ili pokazuju minimalni signal na obojenom dopleru, prvenstveno jer se u gustim sinusoidima krv kreće vrlo sporo te brzina strujanja eritrocita nije dovoljna da proizvede detektabilan signal (30). Na *power* dopleru prikazuje se gusti heterogeni signal koji predstavlja artefakte zbog gustih reflektivnih površina od sinusoida u hemangiomima te zapravo kombinacija izostanka signala na obojenom dopleru i mnoštvo artefakta na *power* dopleru predstavlja relativno specifičan obrazac kod hemangioma (26,30). Ukoliko se u određenoj žarišnoj

leziji izmjeri maksimalna brzina protoka manja od 30 m/s može se sa senzitivnošću od 87% i specifičnošću od 47% govoriti o hemangiomu, uz vrlo visoku NPV od 97% (31). Također vrijednost indeksa pulsatilnosti (PI) < 1.0 sa senzitivnošću od 87%, specifičnošću od 78% i točnošću 79% govori u prilog hemangiomu, ponovno uz vrlo visoku NPV od 98% (31). Problem sa ovakvom evaluacijom jest što je u praksi nerijetko teško odrediti točan smjer pravca, a bez korekcije kuta (engl. *angle correction*) ova mjerenja mogu biti vrlo nepouzdana. Wang je sa suradnicima na velikoj kohorti pronašao da postoji statistički značajna razlika u vrijednostima indeksa rezistencije (RI) u intratumoralnim ili peritumoralnim žilama sa arterijskim spektrom protoka kod malignih i benignih žarišnih lezija u jetri, pri čemu vrijednosti manje od 0.6 sugeriraju benignost, a veće malignost (ne donose podatke o senzitivnosti i specifičnosti ili dijagnostičkoj točnosti) (32). Metastaze su većinom slabo vaskularizirane te se kod većine ne uspije detektirati signal na obojenom dopleru (33). Ako se pak uspije detektirati signal, spektralnom analizom se najčešće dobije arterijski tip spektra te su maksimalne brzine najčešće više od 30 cm/s, indeks pulsatilnosti veći od 1 i indeks rezistencije veći od 0.6 (31,32). Hepatocelularni karcinomi najčešće su dobro vaskularizirani tumori na obojenom i *power* dopleru, pri čemu je relativno tipičan obrazac poput košare (engl. *basket pattern*), no doplerski obrasci nisu dovoljno pouzdani parametri za diferencijaciju HCC-a, hipervaskulariziranih metastaza ili FNH (30). Istraživanje Kudo-a i suradnika izdvojilo je skupinu bolesnika sa HCC-ovima u kojima je maksimalna brzina protoka krvi bila veća od 60 cm/s ili indeks pulsatilnosti veći od 2. Oba ova kriterija bila su specifična za HCC: 92% za maksimalnu brzinu veću od 60 cm/s i 94% za PI veći od 2 (31). S druge strane FNH koja u B-prikazu može sličiti HCC-u ili metastazi, ima specifičan obrazac na obojenom dopleru poput žbica felgi (engl. *spoke wheel pattern*) koje predstavljaju arterije koje iz centra lezije radijalno idu prema periferiji, a u njima se mogu mjeriti relativno visoke vršne brzine protoka, uz nizak RI (34,35). Zaključno, zbog svega navedenog, nemogućnosti doplerske evaluacije lezija smještenih u dubljim dijelovima ili u blizini srca te nedostatka dovoljne količine kvalitetnih dokaza, iako se relativno široko koristi, doplerska analiza nije dovoljno pouzdana u karakterizaciji tumora u jetri.

### **1.1.3.3 Kontrastni ultrazvuk**

Kontrastni ultrazvuk (CEUS) se u kliničkoj praksi počeo primjenjivati u 80-im godinama prošlog stoljeća kada su prva kontrastna sredstva postala komercijalno dostupna za korištenje u ehokardiografiji (36), dok se kasnije, posebice dolaskom sulfur heksaflorida sa fosfolipidnom ovojnicom (SonoVue®) na tržište razvio i za korištenje u dijagnostici žarišnih lezija u jetri. CEUS podrazumijeva intravensku aplikaciju ultrazvučnog kontrastnog sredstva koje se sastoji od sitnih

mjehurića ispunjenih plinom koji pojačano reflektiraju ultrazvučne valove. Time se pojačava ehogenost promatranih dijelova koja sadržavaju kontrast u odnosu na dijelove bez kontrasta što je osnova za prikaz u ovoj metodi. S obzirom da se ultrazvučna kontrastna sredstva zadržavaju samo u vaskularnom bazenu, bez ekstravazacije u tkiva, CEUS-om se prikazuje mikrovaskulatura u promatranim tkivima, pri čemu se obrasci imbibicije kontrastom i ispiranja mogu pratiti kroz sve vaskularne faze: arterijsku, portalno-vensku, kasnu i postvaskularnu (37). Naravno, prikazuje se i makrovaskulatura, no ona se rutinski evaluira doplerom. Za razliku od CT i MR pregleda uz primjenu intravenskih kontrastnih sredstava, CEUS-om se kontrastni obrasci mogu pratiti u stvarnom vremenu kroz cijelo vrijeme trajanja vaskularnih faza (25,37).

Kontrastnim ultrazvukom se u velikoj multicentričnoj studiji moglo točno dijagnosticirati 82.2% hemangioma pri čemu se tipično zapažalo periferno nodularno punjenje u arterijskoj fazi sa postupnim punjenjem prema centru lezije u portalno-venskoj do homogenog ispunjenja koje je perzistiralo i u kasnoj fazi (37,38). U istoj studiji točno je postavljena dijagnoza HCC-a u 84.9% slučajeva pri čemu je tipični obrazac bio opacifikacija u arterijskoj fazi sa postupnim ispiranjem do u kasnu fazu, a točna dijagnoza metastaza postavljena je u 91.4% slučajeva pri čemu je obrazac u arterijskoj fazi bio raznolik (nespecifičan) sa hipo-opacifikacijom u portalno-venskoj fazi koja perzistirala u kasnu fazu (38). Kod direktne usporedbe uz dostupnu histološku dijagnozu, CEUS se pokazao nešto točnijim od CT u postavljanju dijagnoze malignih tumora: ukupna točnost CEUS-a bila 91.6 % a CT-a 87.7 %, no nije bilo statistički značajne razlike (39). Kod benignih lezija za koje je MRI zlatni standard u postavljanju dijagnoze (hemangiomi i FNH), CEUS i MRI su pokazali visoku razinu suglasja (93.2%) uz samo 2.2 % slučajeva u kojima CEUS nije govorio u prilog dijagnoze postavljene MRI-om te 4.5% lezija gdje dijagnoza CEUS-om nije bila jasna (40). Kod direktne usporedbe CEUS-a i MRI-a uz dostupnu histološku dijagnozu, CEUS je bio čak nešto točniji u diferencijaciji tumora te je ukupna točnost za postavljanje dijagnoze određene vrste tumora CEUS-om bila 82.9 %, MRI-om 75.6 %, a ni ova razlika nije bila statistički značajna (40). I Chou je sa suradnicima u meta-analizi pokazao da je CEUS komparabilna metoda CT-u i MRI-u u postavljanju dijagnoze HCC-a kod evaluacije detektirane žarišne lezije u jetri, bez statistički značajne razlike među metodama (senzitivnost i specifičnost za CEUS, CT i MRI bile su redom: 87% i 91% vs. 79% i 90% vs. 81% i 92%), pri čemu su ovi pokazatelji bolji ako se gledaju lezije veće od dva cm u promjeru (senzitivnost i specifičnost za CEUS, CT i MRI su redom: 91% i 100% vs. 95% i 90% vs. 97% i 98% (16). Meta analiza koja je uključivala 45 studija i ukupno 8147 žarišnih lezija u jetri (3398 benignih: hemangiomi, FNH, zone slabije zamašćenosti parenhima, adenomi i druge rjeđe lezije te 4749 malignih: HCC, metastaze, CCC i druge rjeđe lezije) pokazala je da CEUS može sa senzitivnošću od 93% i specifičnošću od 90% razlikovati maligne od benignih žarišnih lezija uz PPV 93% i NPV 90% (41).



Dakle, ultrazvučni pregled u B-modu uz doplersku analizu i CEUS daje mnogo informacija za definiranje prirode detektirane žarišne lezije u jetri te se konačna dijagnoza nekih vrsta tumora može postaviti u kombinaciji sa CUES-om, bez potrebe za CT-om ili MR-om (4,42). Kako je već navedeno, prema važećim smjernicama tipični hemangiomi mogu se kod određenih pacijenata dijagnosticirati samo sa UZV-om u B-modu, dok se definitivna dijagnoza hemangioma prema recentnim europskim smjernicama može također postaviti kod hemangioma sa tipičnim kontrastnim obrascem na CEUS-u (4). S druge strane, usprkos tome što su razna istraživanja uključujući i meta-analize pokazali visoku točnost CEUS-a kod HCC-a uz u usporedbi sa CT-om i MRI-om sličnu senzitivnost i specifičnost za postavljanje dijagnoze HCC-a kod bolesnika u obradi žarišne lezije u jetri (senzitivnost 87%, 95% CI 80-92; specifičnost 91%, 95% CI 85-95) (16), osim u Japanu (43), CEUS nije u europskim i američkim smjernicama kao metoda koja može postaviti definitivnu dijagnozu HCC-a (1,44,45) prvenstveno zato što CEUS-om u određenim situacijama nije moguće razlikovati HCC od CCC-a (46). Mjesto CEUS-a u algoritmu obrade bolesnika sa žarišnim lezijama u jetri potvrdile su i smjernice Europskog društva za ultrazvuk u medicini i biologiji (EFSUMB) koje preporučaju CEUS za karakterizaciju žarišnih lezija u jetri kao prvu kontrastom potpomognutu slikovnu metodu u sljedećim kliničkim situacijama: na rutinskom ili probirnom ultrazvuku detektirana žarišna lezija, detektirana ili suspektna žarišna lezija kod bolesnika sa anamnezom maligne bolesti, kod bolesnika sa kontraindikacijom za primitak CT ili MRI kontrastnih sredstava te kod inkonkluzivnih nalaza CT-a i/ili MRI-a, posebice ako lezija nije dostupna punkciji ili biopsiji (37).

Prednosti ultrazvučnih metoda nad CT-om i/ili MR-om su široka dostupnost, jednostavnost primjene, neinvazivnost i neškodljivost, izvođenje u stvarnom vremenu uz potpunu kontrolu ultrasoničara, multiplanarnost i multidimenzionalnost. S druge strane nakon klasičnog pregleda u B-modu za pregled svakim sljedećim ultrazvučnim dijagnostičkim modalitetom potrebna je veća ekspertiza te treba utrošiti više vremena, a kod CUES-a troškovi dodatno rastu zbog cijene kontrasta.

## 1.2 Ultrazvučna elastografija

Ultrazvuk kao metoda razvila se u smjeru prikaza anatomije i kretanja anatomskih struktura te protoka krvi, a u zadnja dva desetljeća okreće se i prikazu elasticiteta kao osnovi za kontrast i prikaz, pokušavajući dati informaciju o mehaničkim svojstvima prikazanih struktura kao što su tvrdoća i krutost (47). Ultrazvučna elastografija posljednja je od ultrazvučnih metoda primjena koje se istražuje kod dijagnostike bolesti različitih organa i organskih sustava. Prvi radovi publicirani su početkom 1990-ih od kada broj radova u indeksiranim časopisima eksponencijalno raste. Od godine 2003. kada su prvi ultrazvučni aparati sa elastografijom došli na tržište (48,49), do danas su svi veći proizvođači ultrazvučnih aparata implementirali neke od elastografskih metoda u svoje aparate, što govori u prilog važnosti i velike potrebe elastografskih metoda u kliničkoj praksi (50–52).

### 1.2.1 Fizikalni principi ultrazvučne elastografije

Djelovanjem vanjske sile na jedinicu volumena, ona se deformira, tj. mijenja svoje dimenzije, volumen i oblik, a osobina da se opire deformaciji zove se tvrdoća (engl. *stiffness*). Da bi se izmjerila tvrdoća nekog tijela potrebno ga je izložiti djelovanju mehaničke sile (engl. *stress*). Ono se može deformirati u smjeru djelovanja sile te okomito na djelovanje sile, a obje te komponente deformacije je moguće mjeriti uz pomoć ultrazvuka što je osnova za bilo koju od elastografskih metoda (51).

Kod deformacije nekog tijela mijenjaju se razmaci između molekula čemu se tijelo opire i pokušava se vratiti u prvobitan položaj. Pri tome nastaje unutarnje naprezanje ( $\sigma$ ) koje definiramo kao omjer sile ( $F$ ) i površine ( $S$ ) na koju ta sila djeluje, opisano formulom (19,49,51,53)

$$\sigma = F / S \quad (\text{formula 1})$$

Unutarnje sile koje se opiru naprezanju ovise o elastičnim svojstvima tijela koja karakteriziraju moduli elastičnosti. Dakle, moduli elastičnosti opisuju sposobnost tijela da se odupre deformaciji nakon što je na nj primijenjena sila (19,51,53). Young-ov modul elastičnosti  $E$  opisuje sposobnost nekog tkiva da se opire deformaciji kada na njega djeluje kompresivna sila (ili sila istezanja), a različit je za različite materijale, tj. u biološkim sustavima za različita tkiva. Modul smicanja  $G$  (engl. *shear modulus*) opisuje mogućnost nekog tkiva da se opire deformaciji kada je na njega primijenjena sila smicanja te je također karakterističan za određene materijale tj. tkiva (51).

Kod naprezanja nekog tijela nastaje deformacija koja se može izraziti formulom:

$$\varepsilon = \Delta l / l \quad (\text{formula 2})$$

pri čemu je  $\varepsilon$  deformacija, a  $l$  dimenzija tijela, u ovom slučaju prije i nakon djelovanja sile.

Iz Hooke-ovog zakona koji opisuje linearne deformacije elastičnih tijela mogu se izračunati moduli elastičnosti  $E$  i  $G$ . Young-ov modul elastičnosti  $E$  računa se stavljanjem u omjer naprezanja  $\sigma$  i posljedične deformacije  $\varepsilon$ , prema formuli:

$$E = \sigma / \varepsilon \quad (\text{formula 3})$$

Kod primjene neke sile na tkivo, prilikom deformiranja tkiva generiraju se posebni transverzalni valovi koji se zovu posmični valovi (eng. *shear waves*), koji se šire u smjeru okomitom na djelovanje sile. Poznavajući brzinu posmičnih valova  $c_s$  moguće je izračunati modul smicanja  $G$  prema formuli:

$$G = \rho \cdot c_s^2 \quad (\text{formula 4})$$

gdje je  $\rho$  gustoća tkiva, a  $c_s$  izmjerena brzina posmičnih valova.

Iz vrijednosti modula smicanja i vrijednosti Poisson-ova omjera  $\nu$  može se izračunati Young-ov modul elastičnosti  $E$  prema formuli:

$$E = 2(\nu + 1) \cdot G \quad (\text{formula 5})$$

Poisson-ov omjer  $\nu$  (engl. *Poisson's ratio*) omjer je veličine transverzalne/radijalne (širenje;  $\varepsilon_r = \Delta r / r$ ) i longitudinalne (skraćivanje;  $\varepsilon_l = \Delta l / l$ ) deformacije nekog elastičnog tijela prema formuli:

$$\nu = \varepsilon_r / \varepsilon_l \quad (\text{formula 6})$$

On opisuje sposobnost nekog tijela da se opire promjeni oblika, a vrijednost za nekompresibilna tijela mu je 0.5. Kako meka tkiva imaju visoki sadržaj vode u sebi, vrijednost Poisson-ova omjera je blizu 0.5 te ako se to uvrsti u formulu 5 dobije se sljedeće:

$$E = 2(\nu + 1) \cdot G \approx 3 G \quad (\text{formula 7})$$

što znači da je Young-ov modul elastičnosti  $E$  za meka tkiva otprilike tri puta veći od modula smicanja  $G$  (51).

Kod ultrazvučnog pregleda mekih tkiva, slanjem ultrazvučnih valova nastaje deformacija tkiva i posljedična promjena gustoće insoniranog tkiva, pri čemu longitudinalni valovi putuju brzinom ( $c_l$ ) od oko 1540 m/s što je određeno gustoćom tkiva  $\rho$  i volumnim modulom elastičnosti  $K$  (engl. *bulk*

*modulus*) koji opisuje volumnu deformaciju (a time i relativnu promjenu u gustoći). Ultrazvučna slika prikazuje jačinu reflektiranih longitudinalnih valova od tkiva različite gustoće i različitih volumnih modula elastičnosti  $K$  (53). Primjenom neke sile na tkivo (mehaničke ili ultrazvučne) dolazi do deformacije kojom se generiraju posmični valovi određene brzine koja se mjeri kod nekih elastografskih metoda. Oni putuju okomito na smjer djelovanja sile brzinom ( $c_s$ ) koja je oko tisuću puta manja u odnosu na brzinu longitudinalnih valova, tipično između 1 i 10 m/s i bivaju brzo atenuirani u tkivu. Dok putuju, posmični valovi u tkivu generiraju vrlo male deformacije - male pomake tkiva, koji se mogu pratiti sa ultrazvučnim sondama visoke frekvencije (a time i visoke rezolucije). Praćenjem opisanih malih pomaka u tkivu zapravo se prati brzina širenja posmičnih valova koja je direktno proporcionalna tvrdoći volumena tkiva na koje je djelovala sila (51,53). Iz izmjerene brzine širenja posmičnih valova mogu se dobiti vrijednosti modula elastičnosti, pri čemu su u ultrazvučnoj elastografiji najznačajniji moduli elastičnosti već spomenuti modul smicanja  $G$  (engl. *shear modulus*  $G$ ) i Young-ov modul  $E$ . Modul smicanja  $G$  karakteristična je osobina tkiva koja opisuje deformaciju tkiva, a prema formuli 4 može se izračunati iz poznate brzine širenja posmičnih valova te gustoće tkiva, a potom se modul smicanja  $G$  može izraziti kao Young-ov modul  $E$  prema formuli 5. S druge strane, Young-ov modul elastičnosti  $E$  karakteristična je osobina tkiva koja opisuje deformaciju izazvanu kompresijom te je to zapravo podatak kojeg koji se u kvantitativnoj ultrazvučnoj elastografiji pretvara u klinički uporabljivu informaciju (51).

Kod ultrazvučnih elastografskih metoda općenito, određenom silom prolazno se izazove deformacija tkiva te se povratno registrira odgovor na deformaciju koji je proporcionalan tvrdoći promatranog tkiva (51,53,54). Ultrazvučna elastografija dakle podrazumijeva ekscitaciju tkiva, a) mehanički izvana, b) pomoću unutartjelesnih fizioloških pokreta (npr. pulsacije krvožilja), ili c) ultrazvučno, čime nastaje pomicanje tkiva (engl. *tissue displacement*) tj. deformacija, koja se posredno (promatranjem veličine deformacije) ili neposredno (mjerenjem brzine posmičnih valova) registrira pa kvalitativno ili kvantitativno izražava te pomoću složenih algoritama pretvara u sliku tj. elastogram, koji može biti fuzioniran sa klasičnim ultrazvučnim prikazom (tzv. B-prikaz) (47,53). Metode koje promatraju veličinu deformacije zajednički se zovu 'elastografija deformacije' (engl. *strain elastography*), dok se metode koje promatraju brzinu širenja posmičnih valova jednim imenom zovu 'elastografija posmičnih valova' (engl. *shear wave elastography*).

## 1.2.2 Podjela ultrazvučnih elastografskih metoda

Ultrazvučne elastografske metode implementirane u komercijalno dostupne ultrazvučne aparate mogu se podijeliti na (51,55,56):

- 1) metode mjerenja brzine posmičnih valova - 'elastografija posmičnih valova' (engl. **shear wave speed techniques**, kratica *SWE*) u koje se ubrajaju:
  - a. tranzijentna elastografija (engl. **transient elastography**, kratica *TE*): *FibroScan™*
  - b. tehnika mjerenja brzina posmičnih valova u točki (engl. **point shear wave speed measurement**, kratica *pSWE*): *Virtual Touch Quantification (VTQ™)*, *Elasticity Point quantification (ElastPQ™)* and *Shear Wave Measurement (SWM™)*
  - c. tehnika prikaza brzina posmičnih valova (engl. **shear wave speed imaging ili two dimensional Shear Wave elastography- RT-2D-SWE**): *ShearWave Elastography (SWE™)*, *Virtual Touch Image Quantification (VTIQ™)*, *LOGIQ E9 Shear Wave Elastography* and *Aplio 500 Shear Wave Elastography*.
- 2) metode prikaza deformacija – 'elastografija deformacije' (engl. **strain elastography**, kratica *SE*): u određenim aparatima proizvođača Hitachi Aloka, GE, Philips, Toshiba, BK Ultrasound, Zonare, Ultrasonix, Esaote, Samsung i Siemens (većina proizvođača nisu dali zaštićeno ime ove tehnologije implementirane u njihove aparate).

Tranzijentna elastografija (*TE*) prva je od kvantitativnih elastografskih metoda koja je doživjela kliničku primjenu. Prilikom mjerenja sonda aparata ekscitira podležuća tkiva tako da zadaje kontrolirani 'vanjski udarac' pri čemu tkivo generira posmične valove čiju pak prosječnu brzinu aparat mjeri i pretvara preko jednadžbe u Youngov modul. Pri tome nema klasične B-mod slike te je metoda dizajnirana samo za mjerenje tvrdoće jetre (48). Implementirana je pod zaštićenim imenom *FibroScan™* u aparate proizvođača Ehosens.

Elastografske metode kojima je u osnovi mjerenje brzina posmičnih valova u točki (*pSWE*), za ekscitaciju tkiva koriste tzv. impuls akustične sile (engl. *acoustic radiation force impulse*) – pojačani ultrazvučni impuls koji se odašilje iz ultrazvučne sonde i uzrokuje mehaničku deformaciju tkiva čime se generiraju posmični valovi koji se registriraju istom ultrazvučnom sondom te računa njihova prosječna brzina u zadanom području (engl. *region of interest*, *ROI*) ograničene površine ( $\approx 6 \times 10$  mm). Korištenjem jednadžbe  $E = \rho c_s^2$  prosječna brzina može se pretvoriti u kPa. Komercijalno su dostupne tri varijante *pSWE*: *Virtual Touch Quantification (VTQ™)* u aparatima proizvođača Siemens, *Elasticity Point quantification (ElastPQ™)* u aparatima proizvođača Philips te *Shear Wave Measurement (SWM™)* u aparatima proizvođača Hitachi Aloka.

I elastografske metode kojima je u osnovi prikaz brzina kretanja posmičnih valova (RT-2D-SWE) također koriste impuls akustične sile za ekscitaciju tkiva, s time da se kod ovih metoda pojačani akustični impulsi sukcesivno odašilju na različite dubine u promatrano tkivo čime se posmični valovi pojačavaju, pa zbog toga imaju značajno veći doseg gibanja kroz tkivo. Kod ovih metoda se za praćenje posmičnih valova koristi ultrazvučna sonda vrlo visoke frekvencije kojom se može analizirati do 5000 slika u sekundi što je nekoliko stotina puta više u odnosu na konvencionalne ultrazvučne sonde (engl. *ultrafast ultrasonic imaging*). Na taj način moguće je promatrati veću površinu tkiva (veći ROI) i kvantificirati brzine širenja posmičnih valova u cijelom području od interesa, čime se dobiva kvantitativni elastogram analizirane strukture u cijelosti i u stvarnom vremenu (47,54,57). Ove metode komercijalno su dostupne u varijantama: *ShearWave Elastography (SWE™)* u aparatima proizvođača SuperSonic Imagine, *Virtual Touch Image Quantification (VTIQ™)* u aparatima proizvođača Siemens, *LOGIQ E9 Shear Wave Elastography* u aparatima proizvođača General Electric te *Aplio 500 Shear Wave Elastography* u aparatima proizvođača Toshiba.

Elastografske metode kojima je u osnovi prikaz deformacija (SE) prve su ultrazvučne elastografske metode i zastupljene su kod najvećeg broja proizvođača i u najvećem broju aparata. Kod ovih metoda se ultrazvučno, registrirajući reflektirane longitudinalne valove, prati promjena aksijalnog promjera određene strukture prije i nakon kompresije (mehanička kompresija izvana ili posljedično unutartjelesnim fiziološkim pokretima) koja je izazvala deformaciju. S obzirom da je tvrdoća proporcionalna mogućnosti deformiranja određene strukture, omjer veličina prije i nakon kompresije (engl. *deformation ratio*) kao mjera relativne deformacije strukture prikazuje relativnu tvrdoću te strukture. Dakle, ove metode su semikvantitativne te ne prikazuju elasticitet (Young-ove module), već se o tvrdoći strukture zaključuje prema veličini deformacije (51,53). Na slici se elastogram prikazuje u vidu graduiranog obojenog prikaza ili pak prikaza u sivoj skali fuzioniranog sa slikom B-moda. Ove metode inkorporirane su u određene aparate proizvođača Hitachi Aloka, GE, Philips, Toshiba, BK Ultrasound, Zonare, Ultrasonix, Esaote, Samsung i Siemens.

### **1.2.3 Ultrazvučna elastografija u hepatologiji**

Većina publicirane literature iz područja ultrazvučne elastografije u hepatologiji usmjerena je prema evaluaciji ciroze i portalne hipertenzije u bolesnika sa kroničnim bolestima jetre različite etiologije (najčešće virusni hepatitis te alkoholna i nealkoholna masna bolest jetre), dok je obim literature na temu žarišnih lezija u jetri značajno manji, no kontinuirano raste.

### **1.2.3.1 Ultrazvučna elastografija kod difuznih bolesti jetre**

Difuzne bolesti jetre jedan su od vodećih javnozdravstvenih problema u svijetu. Najčešći uzročnici i bolesti koji uzrokuju kroničnu bolest jetre su ekscesivna konzumacija alkohola, kronični virusni hepatitis i nealkoholna masna bolest jetre, dok su hemokromatoza i Wilsonova bolest te autoimune bolesti jetre i deficit afla-1-antitripsina rjeđe. Patohistološki kronične bolesti jetre obuhvaćaju stanja u rasponu od upale (hepatitisa), preko fibroze do ciroze, pri čemu su razvoj i brzina progresije fibroze najvažniji prediktor napredovanja kronične bolesti jetre te uz to vezanog morbiditeta i mortaliteta (58). U kontekstu žarišnih lezija u jetri, važno je napomenuti da se velika većina hepatocelularnih karcinoma javlja na terenu fibroze/ciroze jetre, a isto u manjoj mjeri predisponira i za razvoj intrahepatalnog kolangiocelularnog karcinoma. Stoga informacija o postojanju/stadiju kronične bolesti jetre može pružiti dodatni podatak za diferencijaciju malignih od benignih žarišnih tvorbi u jetri.

U kontinuumu progresije kronične jetrene bolesti, prijelomna točka je razvoj ciroze koju karakterizira ekstenzivna fibroza, promjene tkivne arhitektonike i hemodinamike u jetri, insuficijencija različitih jetrenih funkcija, uz mogućnost razvoja komplikacija kao što su pojava ascitesa, razvoja varikoziteta jednjaka i/ili želuca, progresivnog zatajivanja jetrenih funkcija (metaboličke, sintetske, detoksikacijske itd.) te razvoj hepatocelularnog karcinoma i smrt (59,60). Kako u svijetu raste prevalencija kroničnih bolesti jetre općenito, sukladno kontinuirano raste prevalencija ciroze te morbiditet i mortalitet vezan uz nju, pri čemu su kronične jetrene bolesti sa svojim komplikacijama među prvih deset uzroka smrtnosti u razvijenom svijetu, a u dobnoj skupini od 45 do 54 godine nalaze se čak na četvrtom mjestu (61).

Ultrazvuk sa svim svojim metodama prikaza (B-mod, dopler, elastografija i CEUS) najvažniji je dijagnostički modalitet kod postavljanja dijagnoze, ocjene težine bolesti (*staging*) te praćenja bolesnika sa kroničnim bolestima jetre. Ultrazvučna elastografija posebice se ističe s obzirom da može kvantitativno izraziti fibrozu u jetri, koja je najvažniji parametar težine i prediktor napredovanja kronične bolesti jetre. Uz to je neinvazivna, pouzdana, relativno široko dostupna, jednostavna za izvođenje te se rezultati mjerenja mogu lako interpretirati (62). Procjena stadija fibroze jetre ima svoje dijagnostičke i prognostičke implikacije jer se u ovisnosti o stadiju fibroze može planirati daljnja dijagnostička obrada kao npr. endoskopija gornjeg dijela probavne cijevi sa ciljem detekcije varikoziteta jednjaka i/ili želuca, invazivno mjerenje gradijenta portalnog tlaka (HVPG, od engl. *hepatic venous pressure gradient*), ili pak odrediti potreba i dinamika praćenja pacijenta (npr. UZV probir za HCC, endoskopski probir za varikozitete).

Iako se biopsija jetre godina smatra zlatnim standardom za procjenu fibroze u jetri, klinička primjena ultrazvučnih elastografskih metoda za neinvazivnu procjenu fibroze jetre široko je raširena, posebice određenih elastografskih metoda, pri čemu su neke metode za određene bolesti ušle u suvremene smjernice eminentnih stručnih društva za obradu i praćenje bolesnika (63). S obzirom na biologiju razvoja tumora u fibrotičnoj/cirotičnoj jetri, tvrdoća parenhima se istražuje kao dodani parametar kod diferencijacije malignih i benignih lezija (64–66) te je stoga važno poznavati domete elastografskih metoda kod kroničnih bolesti jetre.

Tranzijentna elastografija (Fibroscan™) najdostupnija je i najviše istraživana metoda kod kroničnih bolesti jetre, a najviše kliničkih studija provedeno je na bolesnicima sa virusnim hepatitisima. Prema važećim smjericama kod bolesnika sa kroničnim B i C hepatitisom umjesto biopsije jetre u procijeni stadija fibroze/ciroze može se koristiti TE (63,67), a korist ultrazvučne elastografije naspram biopsije jetre je višestruka i što se tiče zdravstvenih resursa i praktičnosti te rizika za pacijente. Nekoliko meta-analiza (68–74) učinjeno je kod bolesnika sa kroničnim bolestima jetre različite, većinom miješane etiologije, pri čemu su dobivene prijelomne vrijednosti (engl. *cut-off*) za razlikovanje pojedinih stadija fibroze/ciroze, koje su se ponešto razlikovale za određeni stadij, posebice kada su se uspoređivale različite etiologije jetrene bolesti (56). Tako je primjerice meta-analiza Pavlov-a i suradnika pronašla da kod prijelomne vrijednosti od 9.5 kPa uz senzitivnost 0.92 (95% CI 0.89-0.96) i specifičnost 0.70 (95% CI 0.61–0.79) možemo govoriti o teškoj fibrozi ili cirozi (F3 ili više po Metavir ljestvici), dok kod prijelome vrijednosti od 12.5 kPa uz senzitivnost 95% (95% CI 0.87–0.98) i specifičnost 71% (95% CI 0.56–0.82) možemo govoriti o cirozi jetre kod bolesnika sa alkoholnom bolesti jetre (F4 po Metavir ljestvici) (74). Tsochatzis i suradnici su u svojoj meta-analizi koja je uključila 40 studija i ukupno blizu osam tisuća pacijenata sa kroničnim C hepatitisom izračunali sumarnu senzitivnost od 79% i specifičnost 78% za F2 ili više stadije fibroze te sumarnu senzitivnost 83% i specifičnost 89% za cirozu (F4), dok su se prijelomne vrijednosti za određeni stadij razlikovale te nisu izražene u ovoj meta-analizi (68). S druge strane kod kroničnog virusnog B hepatitisa prijelomna vrijednost za tešku fibrozu ( $F \geq 3$ ) bila je 8.8 kPa uz senzitivnost 74% i specifičnost 64%, dok je za cirozu (F4) bila 11.7 kPa uz senzitivnost 85% i specifičnost 82% (71). Sve citirane meta-analize pokazale su da je elastografija najbolja za isključivanje ciroze (visoka NPV) te za dokazivanje značajne ( $F \geq 2$ ) fibroze. S druge strane PPV za cirozu je slabija, tj. vjerojatnost točne klasifikacije za prijelomne vrijednosti navedene u studijama iznosi oko 70% (68). Dakle, pozitivno mjerenje, iznad proklamiranih prijelomnih vrijednosti nije jako pouzdano pogotovo kod vrijednosti neposredno iznad prijelomne vrijednost, a što su vrijednosti više, pouzdanost raste.



Jiang i suradnici su u meta-analizi istražili točnost RT-2D-SWE u diferenciranju pojedinih stadija fibroze kod bolesnika sa bolešću jetre različite etiologije te su pokazali da su ROC krivulje povoljne: sumarna AUC 0.85 za  $\geq F1$ , 0.87 za  $\geq F2$ , 0.93 za  $\geq F3$  i 0.94 za F4 (75), a slični se rezultati mogu naći i u druge dvije meta-analize sa RT-2D-SWE (76,77). Rezultati komparativnih studija TE, pSWE i RT-2D-SWE pokazuju visoku podudarnost u dobivenim tvrdoćama kod kroničnih bolesti jetre (78,79). Sumarno, prijelome vrijednosti za razlikovanje pojedinih stadija fibroze/ciroze razlikuju se u ovisnosti o etiologiji jetrene bolesti, a podatke o tvrdoći bi trebalo interpretirati i u kontekstu vjerojatnosti postojanja ciroze u promatranoj populaciji (engl. *pre-test probability*), jer je prevalencija ciroze značajno različita u općoj populaciji naspram npr. populacije bolesnika koji dolaze u tercijarne zdravstvene i/ili specijalizirane hepatološke ustanove (tzv. engl. *spectrum bias*) (63). Prijelomne vrijednosti se mogu nešto i razlikovati zbog različitih matematičkih algoritama za izračunavanje tvrdoće koje pojedini proizvođači koriste u svojim aparatima, što potencijalno dodatno otežava komparaciju između različitih metoda i/ili aparata različitih proizvođača, posebice uzimajući u obzir da je raspon tvrdoće u F1 do F3 po Metavir-u relativno uzak (50).

Osim u procjeni stadija fibroze, ultrazvučna elastografija koristi se u procjeni portalne hipertenzije. Prema zadnjim preporukama Baveno VI konsenzus konferencije o portalnoj hipertenziji, kod bolesnika sa kroničnim virusnim hepatitisima i tvrdoćom jetre većom od 20–25 kPa mjereno TE može se smatrati da imaju klinički značajnu portalnu hipertenziju (engl. *clinically significant portal hypertension – CSPH*), a dok kod onih sa tvrdoćom jetre manjom od 20 kPa i urednim vrijednostima trombocita ( $> 150\ 000$ ) vjerojatnost postojanja klinički značajnih varikoziteta jednjaka (tj. onih koji bi zahtijevali liječenje) je vrlo mala te prema navedenim smjernicama kod takvih bolesnika ne treba raditi gornju endoskopiju u smislu probira za varikozitete (80). Publicirane validacijske studije pokazuju visoku točnost ovakvih preporuka (NPV za postojanje varikoziteta koji bi trebali liječenje je 98%) (81), korist čega je evidentna u pogledu zdravstvenih resursa te praktičnosti i rizika za pacijente jer može značajno smanjiti broj probirnih gornjih endoskopija. Također je istraživana vrijednost tvrdoće slezene kao parametra u evaluaciji bolesnika sa portalnom hipertenzijom (82,83) te prognostička vrijednost tvrdoće jetre i slezene (84,85).

### **1.2.3.2 Ultrazvučna elastografija u dijagnostici tumora jetre**

Tranzijentna elastografija, kao prva komercijalno dostupna metoda kvantitativne ultrazvučne elastografije, nije pogodna za evaluaciju žarišnih lezija u jetri jer je monodimenzionalna, pri čemu odsustvo klasičnog B-mod prikaza onemogućava ciljano postavljanje mjernog područja na žarišnu leziju te je dodatno tvornički definirana dubina (25-65 mm kod M-sonde ili 35-75 mm kod XL sonde) i

širina cilindra parenhima jetre u kojem se vrši mjerenje tvrdoće. Tek dolaskom elastografskih metoda koje su inkorporirane u konvencionalne ultrazvučne aparate u kojima je elastografija fuzionirana sa klasičnim dvodimenzionalnim B-mod prikazom, stvoreni su preduvjeti za elastografsku analizu žarišnih lezija u jetri.

Metode pSWE pokazale su se vrlo pouzdane i reproducibilne kod mjerenja tvrdoće kod kroničnih bolesti jetre (86), no kod ovih metoda moguće je kvantificirati tvrdoću u samo jednom manjem dijelu (npr. ROI 1 x 0.5 cm kod VTQ™) analiziranog tkiva i to bez prikaza elastograma (87). Zbog toga su metode RT-2D-SWE prikladnije za analizu žarišnih lezija u jetri jer je moguće u stvarnom vremenu dobiti elastogram iz mnogo većeg područja te kvantificirati tvrdoću u većem zadanom području (npr. ROI kod SWE™ je krug promjera do 30 mm). Time je moguće zahvatiti i analizirati tvrdoću cijele ili većih dijelova promatrane žarišne lezije. Potonje može biti važno s obzirom da u nekim žarišnim lezijama postoje moguće sitni cistični, degenerativni ili nekrotični dijelovi koji imaju znatno manju tvrdoću od solidnog dijela, što može u bitnoj mjeri utjecati na vrijednost izmjerene tvrdoće ukoliko se mjeri na malom području te je u takvim situacijama korisnije mjeriti tvrdoću sa što većeg područja. Dodatno, i solidni dijelovi žarišnih lezija na B-mod prikazu mogu biti inhomogeni po pitanju tvrdoće, zbog čega je opet važno zahvatiti što veći dio žarišne lezije. Osim toga, promatranjem elastograma u stvarnom vremenu može se analizirati njegova kvaliteta tj. stabilnost elastograma. To je bitno jer omogućuje odabir reprezentativnog elastograma koji daje pouzdanu sliku o promatranoj strukturi od interesa. Karakteristika SWE metoda jest da mjere apsolutnu tvrdoća u jedinici volumena te da tvrdoća okolnog tkiva nema utjecaja na rezultat, što je važno kod mjerenja tvrdoće žarišnih lezija u fibrotičnoj/cirotičnoj jetri (54).

Prema našim saznanjima do trenutka pisanja ove disertacije u međunarodnim indeksiranim časopisima publicirano je samo šest radova koji opisuju primjenu RT-2D-SWE kod žarišnih lezija u jetri.

Guibal i suradnici (64) analizirali su ukupno 161 žarišnu leziju u jetri: 53 (38%) metastaze, 26 (19%) HCC, 22 (16%) hemangioma, 16 (11.5%) FNH, 10 (7%) HA, sedam (5%) CCC, tri (2%) zone slabije zamašćenosti jetrenog parenhima (FFS) te dva (1.5%) ožiljka. Prosječna srednja vrijednost tvrdoće žarišnih lezija u kPa bila je redom: metastaze  $28.8 \pm 16$ , HCC  $14.86 \pm 10$ , hemangiomi  $13.8 \pm 5.5$ , FNH  $33 \pm 14.7$ , HA  $9.4 \pm 4.3$ , CCC  $56.9 \pm 25.6$ , FFS  $6.6 \pm 0.3$  te ožiljka  $53.7 \pm 4.7$ . Srednja vrijednost tvrdoće benignih žarišnih lezija bila je  $18.53 \pm 13.5$  kPa, malignih  $26.9 \pm 18.8$  kPa, a razlika je bila statistički značajna ( $P=0.01$ ). Za izdvojiti je mogućnost diferencijacije različitih vrsta tumora: FNH i HA, CCC i HCC te CCC i metastaza.

Renot i suradnici (65) evaluirali su sonoelastografske karakteristike ukupno 105 slučajno otkrivenih žarišnih lezija u jetri, kod bolesnika koji nisu imali anamnezu kronične bolesti jetre ili karcinoma bilo kojeg sijela. U njihovom uzorku bilo je 60 (58.8%) FNH, 20 (19.6%) hemangioma, 17 (16.7%) HA, pet (4.9 %) FFS, dva (1,9%) CCC i jedan (0,9%) HCC, dakle ukupno 2,8 % malignih žarišnih lezija. Prosječna srednja vrijednost tvrdoće žarišnih lezija u kPa bila je redom: FNH  $33.3 \pm 12.7$ , hemangiomi  $17.1 \pm 7$ , HA  $19.7 \pm 9.8$ , FFS  $11.3 \pm 4.3$ , CCC  $34.1 \pm 7.3$  i HCC 19.6. Zaključili su da nema razlike u srednjoj vrijednosti tvrdoće malignih i benignih lezija ( $29.3 \pm 9.7$  kPa vs.  $26.7 \pm 14$  kPa;  $p=0.64$ ) te da je RT-2D-SWE mogla dobro razlikovati FNH od drugih žarišnih lezija u njihovom uzorku (AUROC  $0.86 \pm 0.04$ ) te FNH i HA (AUROC  $0.81 \pm 0.05$ ), a moglo se i razlikovati dva najčešća podtipa HA.

Tian i suradnici (88) evaluirali su elastografske karakteristike tumora i okolnog parenhima kod 221 pacijenta sa ukupno 229 žarišnih lezija, 164 maligne (HCC, metastaze te CCC) i 64 benignih (hemangiomi i FNH). Pronašli su da su se maksimalna, minimalna i srednja vrijednost te standardna devijacija vrijednosti tvrdoće značajno razlikovali kod malignih i benignih ( $p < 0.001$ ), s time da se najtočniji parametar za diferencijaciju pokazala maksimalna vrijednost tvrdoće lezije (AUROC 0.920 vs. 0.710 za minimalnu, 0.879 za srednju tvrdoću te 0.915 za standardnu devijaciju vrijednosti tvrdoće). Također su pronašli da su maksimalne vrijednosti tvrdoće okolnog parenhima značajno više kod HCC-a i CCC-a u odnosu na druge vrste tumora ( $p < 0,005$ ).

Özmen i suradnici (89) istraživali su elastografske karakteristike žarišnih lezija u jetri (sedam hemangioma, sedam hepatoblastoma, tri HCC-a, dvije metastaze i jedan embrionalni sarkom) isključivo u pedijatrijskoj populaciji (srednja dob 56.88 mjeseci, raspon 1 do 192 mjeseca). Benigne žarišne lezije i u ovom istraživanju bile su statistički značajno mekše od malignih, a kod prijelomne vrijednosti od 23.62 kPa bilo je moguće razlikovati maligne i benigne lezije uz senzitivnost 72.7% i specifičnost 66.7%, AUROC 0.77.

Park i suradnici (90) primarno su istraživali reproducibilnost mjerenja istog ultrasoničara (engl. *intraobserver reproducibility*) na 85 malignih i 51 benignoj žarišnoj leziji u jetri (ukupno 136). Oni su također pronašli da su različite maligne žarišne lezije tvrđe od benignih (60.41 vs 22.05 kPa;  $p < 0.0001$ ), te da je kod prijelomne vrijednosti od 30.8 kPa moguće razlikovati maligne i benigne lezije uz senzitivnost 70.6% i specifičnost 82.4%; AUROC 0.793.

Brunel i suradnici (91) istražili su vrijednost RT-2D-SWE u diferencijaciji FNH (N=57) i HCA (N=19), što je važno kliničko pitanje s obzirom na terapijske implikacije i različito praćenje ovih dviju vrsta benignih tumora u jetri. Srednja vrijednost tvrdoće FNH je bila  $46.99 \pm 31.15$  kPa, a HA  $12.08 \pm 10.68$  kPa te je razlika bila statistički značajna ( $p < 0.0001$ ), a računali su i omjer tvrdoće žarišne lezije i

okolnog parenhima koji je u FNH grupi bio  $7.94 \pm 6.43$ , a u HA grupi  $1.91 \pm 1.70$  te je razlika bila statistički značajna ( $p < 0.0001$ ). Pokazali su da je RT-2D-SWE bila vrlo točna u diferencijaciji FNH i HA kod prijelome vrijednosti od 18.8 kPa za tvrdoću lezije (točnost 95%, senzitivnost 98.2%; specifičnost 89.4%) te prijelome vrijednosti od 1.98 za omjer tvrdoće žarišne lezije i okolnog parenhima (točnost 96%, senzitivnost 96.5%; specifičnost 89.4%).

Do sada je publicirano više kliničkih istraživanja i dvije meta-analize o elastografskoj analizi žarišnih lezija u jetri metodom pSWE (66,92–100). Ove studije karakterizirane su malim brojevima elastografiranih lezija različite vrste, pri čemu je ukupni broj po određenoj vrsti lezija bio vrlo malen. Meta-analiza Ying-a i suradnika iz 2012. godine koja je uključila osam studija sa ukupno 590 žarišnih lezija (61.4% malignih) pronašla je da se pSWE može koristiti za diferencijaciju malignih i benignih žarišnih lezija u jetri kod određene prijelome vrijednosti, pri čemu je hijerarhijska sumarna površina ispod ROC krivulje (HSROC) bila 0.94 (95 % CI 0.91–0.96), uz sumarnu senzitivnost 0.86 (95 % CI 0.74–0.93), specifičnost 0.89 (95 % CI 0.81–0.94) te PPV od 0.85 (95 % CI 0.80–0.90) i NPV od 0.87 (95 % CI 0.83–0.92) (92). Meta-analiza Ma-a i suradnika iz 2014. godine uključila je šest studija sa ukupno 448 žarišnih lezija u jetri raznovrsne etiologije, pri čemu je u četiri studije korištena pSWE, dok je u dvije korištena RTE. Sumarna površina ispod ROC krivulje (SROC) za razlikovanje malignih i benignih žarišnih lezija bila je 0.9328, a sumarna senzitivnost 85% (95% CI 80-89 %) i sumarna specifičnost 84% (95% CI 80-88 %) (93). Istraživanje Go-a i suradnika iz 2015. godine uključilo je 134 žarišne lezije u jetri (41% malignih) koje su evaluirane metodom pSWE. Prosječna brzina posmičnih valova (SWV, od engl. *shear-wave velocity*) kao ekvivalent tvrdoće, za maligne žarišne lezije bila je  $2.95 \pm 1.00$  m/s, a za benigne  $1.69 \pm 0.89$  m/s te je razlika bila statistički značajna ( $p < 0.001$ ), a jednako tako statistički je bila značajna razlika u omjeru brzina posmičnih valova iz tumora i okolnog parenhima ( $1.83 \pm 1.32$  kod malignih vs.  $1.26 \pm 0.78$  kod benignih;  $p < 0.001$ ). Površina ispod ROC krivulje za razlikovanje malignih i benignih bila je 0.824 za SWV, uz prijelomnu vrijednost od 2.13 m/s te senzitivnost 83.3% i specifičnost 77.9% (98).

Ultrazvučna elastografija klinički se primjenjuje i kod žarišnih lezija na drugim organima i organskim sustavima kao npr. dojka i štitna žlijezda, pri čemu se pokazuje sličan obrazac tvrdoće malignih naspram benignih žarišnih lezija kao i u jetri, opis čega prelazi okvire ovog teksta (62,101–103).

#### 1.2.4 Potencijalni problemi vezani uz elastografsku evaluaciju žarišnih lezija u jetri

Neminovno je kliničar pristran kod elastografske analize žarišnih lezija (104) jer mu je poznat klinički kontekst (dob, spol, anamneza ranijih bolesti i liječenja te ultrazvučne i doplerske karakteristike lezija i parenhima) prema kojem detektirana žarišna lezija u jetri ima određenu vjerojatnost da je maligna ili benigna, engl. *pre-test probability*. Pristranost se dakle uvodi klasičnim ultrazvučnim pregledom u kombinaciji sa doplerom koji redovito prethodi elastografskoj analizi žarišne lezije jer ako ultrasoničar zapazi ultrazvučne karakteristike ciroze, ovaj će klinički kontekst upućivati na visoku vjerojatnost da je verificirana žarišna lezija HCC te će moguće u elastografskoj analizi birati elastograme koji su uklapaju u njegovo poimanje elastografske slike HCC-a. Slično se može dogoditi kada je kod nekog bolesnika pozitivna anamneza maligne bolesti te će ultrasoničar kod postojanja žarišne lezije u jetri moguće nastojati 'dobiti' elastogram kompatibilan sa elastografskom slikom metastaze.

S obzirom da dostupnost različitih elastografskih metoda te različite matematičke algoritme koje različiti proizvođači koriste za izračun tvrdoće čak i kod istih elastografskih metoda, postavlja se pitanje interpretacije i uspoređivanja elastografske analize žarišnih lezija različitim aparatima. Ovo pitanje je aktualno kod uspoređivanja elastografskih vrijednosti kod obrade difuznih bolesti jetre, jer raspon tvrdoće parenhima kod difuznih bolesti jetre može biti relativno velik, čime bi se potencijalno mjerenja tvrdoće dobivene aparatima različitih proizvođača mogle i značajno razlikovati (50). Ovakve hipoteze bi kod evaluacije žarišnih lezija mogle biti još značajnije s obzirom da se one mogu razlikovati u tvrdoći 30 i više puta.

Mali broj istraživača se bavio parametrima kvalitete (engl. *quality criteria*) RT-2D-SWE kod žarišnih lezija. Park i suradnici (90) analizirali su reproducibilnost mjerenja istog ultrasoničara (engl. *intra-observer reproducibility*) te su pronašli da je ona odlična: međuklasni korelacijski koeficijent (engl. *intra-class correlation coefficient, ICC*) bio je 0.763 (95% CI 0.667-0.835). No sa porastom dubine lezije ICC je padao čime su mjerenja zapravo postala manje pouzdana tj. nepouzdana (engl. *unreliable measurements*). Tako je kod lezija smještenih na više od 6 cm od kože ICC bio statistički značajno niži u odnosu na lezije smještene na manje od 6 cm od površine kože, što osim već navedenih ograničenja metode (mjerenje interkostalnim pristupom, mjerenje u desnom režnju, mjerenje dalje od kapsule jetre) potencijalno predstavlja dodatno ograničenje elastografije kod evaluaciju žarišnih lezija u jetri. Tian je sa suradnicima (88) išao korak dalje te je na malom uzorku (N=20) u svom istraživanju uz reproducibilnost mjerenja istog ultrasoničara istražio i suglasje u mjerenjima dva ultrasoničara (engl. *inter-observer variability*).

Pokazao je da je ICC visok za mjerenje srednje, minimalne i maksimalne tvrdoće lezije, kao i za okolni parenhim (kod svih parametara  $ICC > 0.75$ ). Özmen i suradnici (89) u svojem istraživanju također su demonstrirali visoku razinu suglasja dva ultrasoničara u elastografskim mjerenjima ( $ICC 0.81$ ).

S obzirom da mnogi parametri kvalitete nisu istraživani, istraživači se drže preporuka proizvođača aparata, a nema kliničkih studija koje istražuju mogućnost, uspješnost i točnost elastografskih mjerenja žarišnih lezija u različitim dijelovima jetre te i/ili udaljenostima od kapsule. Također, utjecaj različitih kliničkih čimbenika na mjerenje tvrdoće žarišnih lezija (engl. *confounders*) nije zasebno evaluirana, a poznati su iz istraživanja kod kroničnih bolesti jetre: kolestaza, kongestija jetre, upala u jetri, konzumiranje alkohola, debljina, mjerenje nakon obroka i neiskustvo kod izvođenja mjerenja (63,105). Stoga osim dodatnih istraživanja radi pozicioniranja ultrazvučne elastografije u dijagnostičkom algoritmu obrade žarišnih lezija u jetri, potrebno je istražiti mnogo kliničkih okolnosti izvođenja elastografije žarišnih lezija te definirati parametre kvalitete.

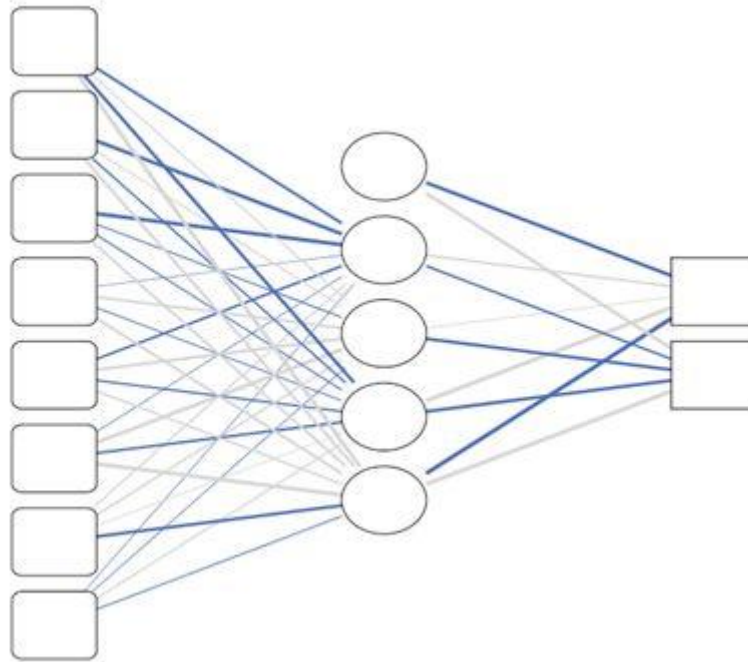
### 1.3 Dijagnostički predikacijski modeli kod žarišnih lezija u jetri

U svom radu kliničar na osnovi više parametara različite vrste postavlja dijagnozu određene bolesti ili stanja: npr. simptomi i znakovi bolesti, ranije bolesti, laboratorijski nalazi te nalazi druge dijagnostičke obrade (npr. slikovne ili patohistološke). On ih 'slaže kao puzzle' sa ciljem da dobije jasnu sliku tj. da precizno postavi dijagnozu nakon čega može planirati terapijski postupak ukoliko je potrebno ili pak praćenje bolesnika.

Kliničari kod interpretacije laboratorijskog nalaza ili raznih drugih pretraga sa kvantitativnim rezultatom mogu koristiti jedinične prijelomne vrijednosti, pri čemu je diferencijacija između bolesti/stanja binarna (da/ne) te često ostavlja barem dio lažno pozitivnih i lažno negativnih nalaza. No ljudsko tijelo, organi i organski sustavi su kompliciraniji. Tako u odlučivanju i kod interpretacije pretraga kliničar svjesno ili nesvjesno (*software* u UZV aparatu) mora koristiti različite algoritme, bodovne sustave i predikcijske modele.

U postavljanju točne dijagnoze kliničaru pomažu različiti algoritmi koji su izvedeni pomoću različitih matematičkih modela za predikciju baziranih na regresiji, no takvi modeli mogu biti neprecizni. Razlog tomu je što su bolesnici zapravo biološki sustavi kod kojih su veze između pojedinih parametara značajnih za predikciju kompleksne, multidimenzionalne i nelinearne, tako da je često teško napraviti jasnu distinkciju između grupa upotrebom konvencionalnih statističkih metoda – regresije ili linearne diskriminacijske analize. Kada su dvije zasebne grupe odvojene nelinearnom granicom, umjetne neuronske mreže (ANN, od engl. *artificial neural network*) imaju bolje performanse nego spomenute konvencionalne metode (106).

ANN koriste kompjutorsku tehnologiju za modeliranje sustava koji strukturalno i funkcionalno imitiraju biološke mreže neurona. Sastoje se od određenog broja visoko međusobno povezanih jedinica za obradu ('neurona') koji su povezani vezama različitog logičkog značaja i težine. Jedna ANN sadrži ulazni sloj 'neurona', izlazni sloj te jedan ili više skrivenih slojeva (Slika 1). Ulazni sloj se konstruira u ovisnosti o ulaznim podacima (npr. laboratorijski testovi), dok je izlazni konstruiran zavisno od željenog ishoda koji prognoziramo. Skriveni sloj ima ulogu u procesiranju i obradi podataka (107).



Slika 1. Shematski prikaz umjetne neuronske mreže

Jedna od glavnih karakteristika ANN je da ona može učiti kroz primjere i tako pridavati različit značaj bilo kojem tipu ulazne informacije. Proces učenja se događa kroz unos stvarnih kombinacija ulaznih i izlaznih podataka (trening), pri čemu ANN uči povezivati svaki ulazni parametar sa odgovarajućim izlaznim podatkom, cijelo vrijeme modificirajući težinu i značaj poveznica među 'neuronima' koji čine mrežu. Onog trenutka kada se ubaci ulazni podatak kao stimulus u prvi sloj 'neurona', signal se propagira kroz svaki slijedeći sloj dok se ne proizvede izlazni podatak. Ovaj izlazni podatak se zatim uspoređuje sa već unesenim ishodom i generira se signal grješke, koji se zatim ponovno vraća unazad kroz mrežu, mijenjajući pri tome logičku težinu i značaj poveznica kroz čitavu mrežu, kako bi se umanjio ukupni postotak pogreške mreže. Na temelju znanja kojeg mreža stječe kroz proces učenja, ANN svakom slijedećem ulaznom setu podataka koji nije korišten u treningu može procijeniti izlaznu vrijednost. Dakle, ANN nakon procesa učenja može identificirati obrasce ili procijeniti vjerojatnost određenog izlaza na temelju posve novih setova podataka (108).



Kod evaluacije žarišnih lezija u jetri kliničar također uzima u obzir mnoge i raznovrsne parametre, a slikovne metode imaju najveću predikcijsku vrijednost. No raznovrsnost metoda, dostupnost (aparata i ekspertize) te cijena donekle kompliciraju proces rasvjetljenja etiologije žarišne lezije u jetri. Uzimajući u obzir prednosti, ANN sa ulaznim ultrazvučnim i elastografskim parametrima nameće se kao potencijalni predikcijski model koji može pojednostavniti, ubrzati i pojeftiniti dijagnostiku žarišnih tumora u jetri.

ANN su već istraživane u hepatologiji. U predikciji mortaliteta kod ciroze jetre pokazale su se točnije u odnosu na MELD score (AUC = 0.95 v 0.85;  $p = 0.032$ ) (106), ili za usklađivanje donora i primatelja (engl. *donor-recipient matching*) kod transplantacije jetre, gdje se ANN kao predikcijski alat pokazao superioran u odnosu na standardne validirane bodovne sustave preživljenja grafta (109). Također su se ANN pokazale kao bolji prediktivni alat spontane serokonverzije kroničnog B hepatitisa u odnosu na modele logističke regresije (110). Kalyan i suradnici konstruirali su ANN koja je kao ulazne podatke uzimala nekoliko ultrazvučnih karakteristika (koje inače promatramo kada gledamo jetru, npr. tesktura, ehogenost, (i)regularnost kontura) iz kompjutorski obrađenih ultrazvučnih B-mod slika, te se pokazala visoko točnom u predikciji postojanja difuzne bolesti jetre (111). Procopet je sa suradnicima istražio dijagnostički potencijal serumskih testova sa ili bez mjerenja tvrdoće parenhima jetre uz konstrukciju ANN u procjeni stadija kronične jetrene bolesti i portalne hipertenzije. Pokazali su da je najbolja neinvazivna dijagnostička metoda za dijagnosticiranje ciroze i portalne hipertenzija mjerenje tvrdoće parenhima jetre (LSM, od engl. *liver stiffness measurement*), dok ANN koja kao ulazne podatke uzima LSM i serumske testove, nije bila točnija u odnosu na LSM (112). Opisana istraživanja demonstriraju potencijal ANN u hepatologiji i ultrazvučnoj dijagnostici.

## 1.4 Svrha rada

Slijedom svega navedenog nastala je ideja za istraživanje u kojem bi se analiziralo postoji li razlika u elastografskim karakteristikama različitih tumora u jetri metodom RT-2D-SWE komercijalno dostupnoj pod nazivom ShearWave™ Elastography (SWE™) te da li se ta razlika može koristiti u njihovoj diferencijaciji, prije svega razlikovanju benignih od malignih tumora.

U trenutku koncipiranja ovog istraživanja i prijave teme ove disertacije krajem 2011. godine, SWE™ bila je prva i jedina RT-2D-SWE metoda te do tada nije publicirano niti jedno kliničko istraživanje u indeksiranim časopisima na temu žarišnih lezija u jetri, dok je bilo publicirano svega nekoliko istraživanja sa metodom pSWE. Do trenutka pisanja ovog rada krajem 2016. i početkom 2017. godine publicirano je više istraživanja o elastografskoj analizi žarišnih lezija u jetri korištenjem različitih ultrazvučnih metoda (od čega šest istraživanja metodom RT-2D-SWE) što odražava potencijal ove metode prepoznat od proizvođača medicinske opreme koji kontinuirano razvijaju ove metode te težnje kliničara i znanstvenika da što ranije, jeftinije i što točnije razjasne prirodu nađene žarišne lezije u jetri.

## **2 HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA**

Različite vrste tumora jetre razlikuju se po svojim elastografskim značajkama temeljem analize metodom kvantitativne ultrazvučne elastografije u stvarnom vremenu (RT-2D-SWE).

Maligni tumori jetre imaju veću tvrdoću u odnosu na benigne tumore.

### 3 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

#### OPĆI CILJ:

- primjenom ultrazvučne elastografije metodom RT-2D-SWE analizirati elastografske značajke tumora jetre i utvrditi može li se temeljem elastografskih značajki razlikovati maligne od benignih tumora jetre.

#### SPECIFIČNI CILJEVI:

- utvrditi prosječnu tvrdoću najčešćih tumora jetre (hemangioma, metastaza i HCC-a)
- usporediti postoji li razlika u tvrdoći između malignih i benignih tumora
- odrediti granične vrijednosti tvrdoće uz pomoć kojih bi se žarišnu leziju u jetri moglo definirati kao benignu ili malignu.
- utvrditi varijabilnost tvrdoće unutar svake skupine, tj. je li tvrdoća tumora pojedine histološke skupine homogena ili su to heterogene tvorbe
- utvrditi omjere tvrdoće tumora i jetre u kojoj ovi tumori nastaju
- utvrditi postoji li razlika u varijabilnost tvrdoće tumora, te razlika omjera tvrdoće tumora i parenhima jetre između malignih i benignih tumora
- analizirati uspješnost elastografskih mjerenja te parametre koji utječu na uspješnost mjerenja

## 4 ISPITANICI I METODE

### 4.1 Ispitanici

U ovo prospektivno opservacijsko presječno istraživanje (engl. *prospective, observational, cross-sectional* study) koje je trajalo od lipnja 2012. do ožujka 2015. godine uključivani su bolnički i ambulantni pacijenti stariji od 18 godina, koji su dolazili na ultrazvučni pregled u Jedinicu za ultrazvuk Zavoda za gastroenterologiju, hepatologiju i kliničku prehranu KB Dubrava, a kojima je ultrazvučnim pregledom u sivoj skali utvrđena žarišna lezija u jetri.

### 4.2 Uključni i isključni kriteriji

Kriteriji uključnja u istraživanje

1. ultrazvukom postavljena sumnja na žarišnu leziju u jetri
2. dobra suradljivost (mogućnost zadržavanja daha 3-4 s)
3. pacijenti stariji od 18 godina
4. dobrovoljno potpisivanje Suglasnosti za sudjelovanje u istraživanju

Kriteriji isključenja iz istraživanja (63,113,114,105,115)

1. pacijenti sa žarišnom lezijom koja se nalazi tik uz kapsulu jetre (na manje od 1,5 cm od kapsule)
2. pacijenti sa žarišnom lezijom čiji se proksimalni rub nalazi dublje od 7 cm od površine kože
3. pacijenti sa žarišnom lezijom koja je smještena u lijevom jetrenom režnju
4. pacijenti sa žarišnim lezijama koji su ranije podvrgnuti kemo- i/ili radioterapijskom liječenju ili nekoj od lokalnih metoda (kemoembolizacija, radiofrekventna ablacija ili sl.)
5. adipozni ispitanici kod kojih nije moguće dobiti zadovoljavajuću sliku u B-modu ili pacijenti kod kojih iz bilo kojeg razloga nije moguće dobiti zadovoljavajuću sliku u B-modu
6. nesuradnja (nemogućnost zadržavanja daha, loše opće stanje bolesnika)
7. trudnoća
8. bolesnici s jakom upalnom aktivnosti u jetri definiranim povišenjem vrijednosti ALT-a više od pet puta iznad normalne vrijednosti

9. bolesnici s opstruktivnim ikterusom definiranim dilatacijom intrahepatalnih žučnih vodova pri UZV pregledu i kolestatskim biokemijskim profilom jetrene lezije (povišene vrijednosti bilirubina i alkalne fosfataze)
10. bolesnici s kongestivnom bolesti jetre (anamneza kongestivnog srčanog zatajenja i UZV nalaz dilatiranih jetrenih vena (>10 mm) sa tipičnim doplerskim spektrom (naglašeni 'a' i 'v' val)

Pacijenti s lezijama u lijevom jetrenom režnju nisu uključivani u istraživanje sukladno relevantnim smjericama jer se lijevom režnju pristupa subkostalno te vrši izravna kompresija sondom što može rezultirati lažno višim vrijednostima tvrdoće uslijed kompresije tkiva (62).

### **4.3 Plan istraživanja**

Pacijentima kandidatima za uključivanje u istraživanje učinjen je rutinski ultrazvučni pregled u sklopu standardne obrade. Ukoliko su nakon primjene uključnih i isključnih kriterija bili pogodni za istraživanje, do u detalje im je objašnjena svrha istraživanja i sama procedura te dosadašnj saznanja o elastografiji. Pacijenti koji su pristali na istraživanje, nakon što su pročitali Obavijest za ispitanika i potpisali su suglasnost, uključeni su u studiju i odmah im je izvršen elastografski pregled.

#### **4.3.1 Izvođenje elastografskih mjerenja**

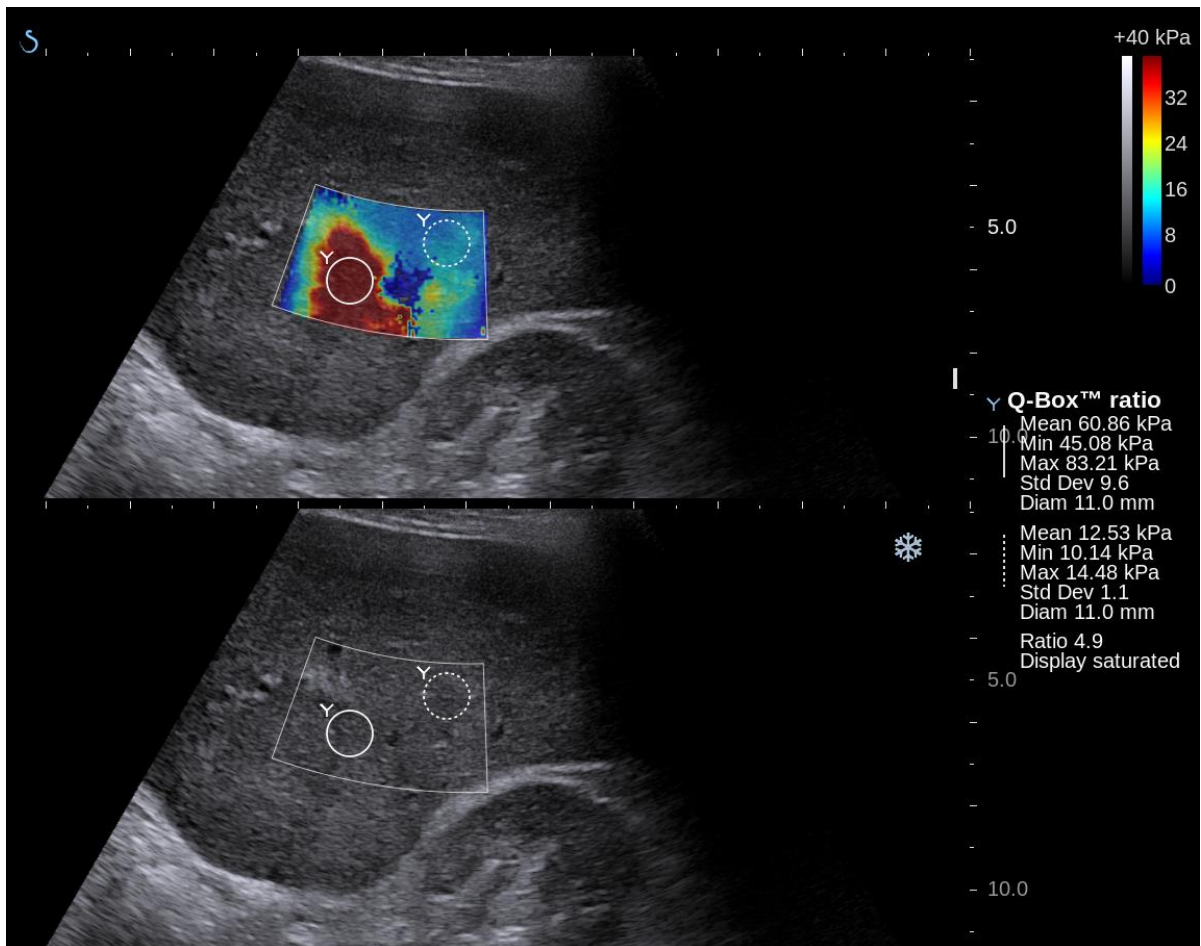
Elastografska analiza žarišnih lezija i parenhima jetre metodom SWE™ vršena je abdominalnom konveksnom ultrazvučnom sondom XC6-1 raspona frekvencija 1-6 MHz proizvođača Supersonic Imagine iz Aix-en-Provence-a u Francuskoj, sa instaliranom programskom podrškom verzije 4.3.2.19566, prema uputstvima proizvođača (53) na slijedeći način:

1. pregledi su vršeni na tašte, nakon noćnog posta, interkostalnim pristupom, u supinacijskom položaju sa desnom rukom u maksimalnoj abdukciji, u ekspiriju; žarišne lezije su vizualizirane na način da se dobije što bolja slika u B-modu (preduvjet za valjano elastografsko mjerenje)
2. nakon što je prikazana žarišna lezija, od bolesnika je zatraženo da kratko (3-4 s) zadrži dah
3. uključen je SWE™ mod i njegov okvir pozicioniran na strukturu od interesa, pričekalo se do stabilizacije kvalitetnog elastografskog prikaza (nekoliko sličnih sukcesivnih elastografskih

prikaza), a zatim je zamrznut dobiveni prikaz; homogeni elastogrami sa blagim i postupnim promjenama u bojama smatrani su tehnički ispravni i adekvatnim, dok su elastogrami sa naglim promjenama boja uz ispade boje i 'pikselizaciju' smatrani tehnički neispravni i neadekvatni te nisu korišteni za mjerenje tvrdoće

4. na zamrznutom prikazu izvršeno je mjerenje tvrdoće strukture od interesa (tumor ili parenhim) postavljanjem 'Q-box' mjernog okvira (engl. *region of interest, ROI*)
5. mjerenje je vršeno pet puta za svaku žarišnu leziju promjera do tri cm (odgovara maksimalnom promjeru mjerenog okvira); kod žarišnih lezija većih od tri cm mjerenja su provedena na način da su Q-box-ovi stavljani na različita mjesta s ciljem da se obuhvati cjelokupna solidna površina tumora, a na svakom mjestu je provedeno je pet mjerenja te je izračunat prosjek svih mjerenja
6. mjerena je tvrdoća parenhima jetre, po pet puta, na udaljenosti minimalno jedan cm od analizirane žarišne lezije u jetri te 1.5 cm od kapsule jetre a ne dublje od sedam cm od površine kože; rezultat je izražen kao prosječna vrijednost (u kPa) svih pet mjerenja
7. izmjeren je promjer žarišne lezije
8. mjerena je udaljenost od sonde tj. površine kože do površine jetre (debljina kože, masnog i ostalih tkiva od površine kože do površine jetre, engl. *skin to capsule distance, SCD*)

Ultrazvučni aparat automatski mjeri tri vrijednosti: srednju (E mean), minimalnu (E min) i maksimalnu (E max) tvrdoću te sve ove vrijednosti bilježene na način da je za svaku izračunata srednja vrijednost mjerenja (pet ili više, u ovisnosti o veličine žarišne lezije), dok je za parenhim jetre izračunata samo srednja vrijednost tvrdoće parenhima. Slika 2 prikazuje tipičan prikaz elastograma na monitoru ultrazvučnog aparata.



Slika 2. Elastografski prikaz metastaze kolorektalnog karcinoma u jetri metodom SWE™; slika je zamrznuta, 'Q-box' mjerni okvir postavljen je rubno na veliku metastazu, dok je drugi 'Q-box' mjerni okvir postavljen na parenhim blizu metastaze



### **4.3.2 Prikupljanje podataka o pacijentima**

Osim podataka uzetih za vrijeme ultrazvučnog pregleda i elastografskog mjerenja (prosječna srednja, minimalna i maksimalna tvrdoća žarišne lezije, prosječna tvrdoća parenhima jetre, promjer žarišne lezije), bilježeni su sljedeći podaci: konačna dijagnoza, postojanje tkivne dijagnoze, dob, spol, BMI te laboratorijski nalazi: ukupni bilirubin, AST, ALT,  $\gamma$ GT i AF.

### **4.3.3 Definiranje prirode žarišne lezije u jetri**

Priroda žarišne lezije definirana je u daljnjem tijeku temeljem standardnog dijagnostičkog algoritma koji se primjenjuje u kliničkoj praksi sukladno važećim smjernicama eminentnih stručnih društava, a temelji se na nalazima slikovnih metoda pojačanih kontrastom (CT i/ili MRI) (1,4,9,45,116–125) te na nalazima analize tkivnog uzroka dobivenog citološkom punkcijom ili biopsijom lezija kod kojih na temelju slikovnih metoda nije bilo moguće postaviti konačnu dijagnozu. Sve lezije kojima je konačna dijagnoza postavljena kontrastnim CT-om ili MR-om pregledala su dva iskusna radiologa, a u analizu su uključeni samo oni pacijenti sa tipičnim radiološkim nalazima oko kojih su oba radiologa bila suglasna u pogledu etiologije analizirane lezije. Ukoliko radiološki nalaz jedne metode nije bio tipičan ili se radiolozi nisu usuglasili oko dijagnoze, učinjena je druga od dvije navedene dinamičke slikovne radiološke pretrage te ukoliko niti tada radiolozi nisu bili suglasni oko dijagnoze ili nalaz nije bio tipičan, učinjena je citopunkcija i/ili biopsija žarišne lezije, a nalaz citološke analize ili patohistološki nalaz smatran je konačnim. Za dio bolesnika koji su operirani ili transplantirani histološka dijagnozu dobivena je patohistološkom analizom reseciranog dijela ili cijele jetre.

Dijagnoza HCC-a temeljila se na tipičnom radiološkom nalazu (CT ili MRI s kontrastom, opisano u uvodu) sukladno ranije citiranim smjernicama, dok je kod sumnje na ovu dijagnozu bez postojanja jasnih radioloških dijagnostičkih kriterija učinjena citopunkcija i/ili biopsija sa ciljem potvrde dijagnoze. Kod bolesnika koji su nakon analize u daljnjem tijeku bili na kirurškoj resekciji HCC-a ili su podvrgnuti transplantaciji jetre, napravljen je uvid u nalaz postoperacijske patohistološke analize.

Dijagnoza metastaza u jetri temeljila se na tipičnim radiološkim karakteristikama na kontrastnom CT-u ili MRI-u (opisano u uvodu) ukoliko je dokazano primarno sijelo tumora, a ukoliko radiološki nalaz jednom od navedenih dinamičkih slikovnih metoda nije bio tipičan ili se nije uspio dokazati primarni tumor, pristupilo se citološkoj punkciji i/ili biopsiji s ciljem dobivanja tkivne dijagnoze.

Dijagnoza hemangioma temeljila se na tipičnim radiološkim karakteristikama na kontrastnom CT-u ili MRI-u (opisano u uvodu), a dodatno je najmanje tri mjeseca nakon postavljanja dijagnoze napravljen kontrolni UZV abdomena te ukoliko nije bilo promjene u veličini ili morfološkim karakteristikama promatrane žarišne lezije, ista je smatrana hemangiomom i ušla je u daljnju analizu.

S obzirom da su određeni pacijenti imali po dvije ili više žarišnih lezija u jetri, u studiju je uključeno onoliko pacijenata koliko je bilo potrebno da se obradi unaprijed zadani broj žarišnih lezija po skupinama.

Na temelju rezultata kliničke obrade žarišne lezije u jetri svrstane su u tri skupine prema planu:

- 1) hepatocelularni karcinomi
- 2) metastaze – sekundarne žarišne lezije u jetri
- 3) hemangiomi

Ostale vrste benignih (npr. adenomi, FNH, itd) i primarnih malignih (npr. intrahepatalni kolangiocelularni karcinomi, itd.) žarišnih lezija u jetri imaju višestruko manju pojavnost u odnosu na hemangiome i HCC, zbog čega nije bio plan uključivati ih u ovo istraživanje.

U finalnu analizu su uključeni samo pacijenti sa jednom od tri navedene vrste žarišnih lezija kod kojih je uspješno izvršeno elastografsko mjerenje promatranih žarišnih lezija te kod kojih je standardnim dijagnostičkim postupkom prema važećim smjernicama jasno potvrđena priroda lezije.

## 4.4 Statističke metode

Kod određivanja potrebitog uzorka, analiza snage testa za analizu varijance (one way ANOVA) izvedena je prema sljedećim parametrima: tri ispitivane skupine lezija, alfa razina značajnosti od 0.05, učinak veličine  $f = 0.25$  i snaga testa od 80%. Po izračunu trebalo je uključiti najmanje 53 žarišne lezije u svakoj od tri ispitivane skupine, ukupno 159.

Statistička obrada učinjena je u programskom paketu SPSS 23.0 (Chicago, IL, USA). Učinjeni su osnovni testovi deskriptivne statistike, a kvantitativne varijable su bile uspoređene t-testom sa korekcijom za nejednake varijance tamo gdje su iste bile raspoređene po normalnoj raspodjeli. Za multiple komparacije korišten je ANOVA test sa post-hoc testiranjem sukladno varijanci. Veze između parametara su testirane korelacijom. Također su prediktivni potencijali pojedinih varijabli za

detekciju maligniteta testirani univarijantnom i multivarijantnom logističkom regresijom. Kategorijske varijable bile su analizirane  $\chi^2$  testom, odnosno Fisher-ovim egzaktnim testom za vrijednosti ispod 5.

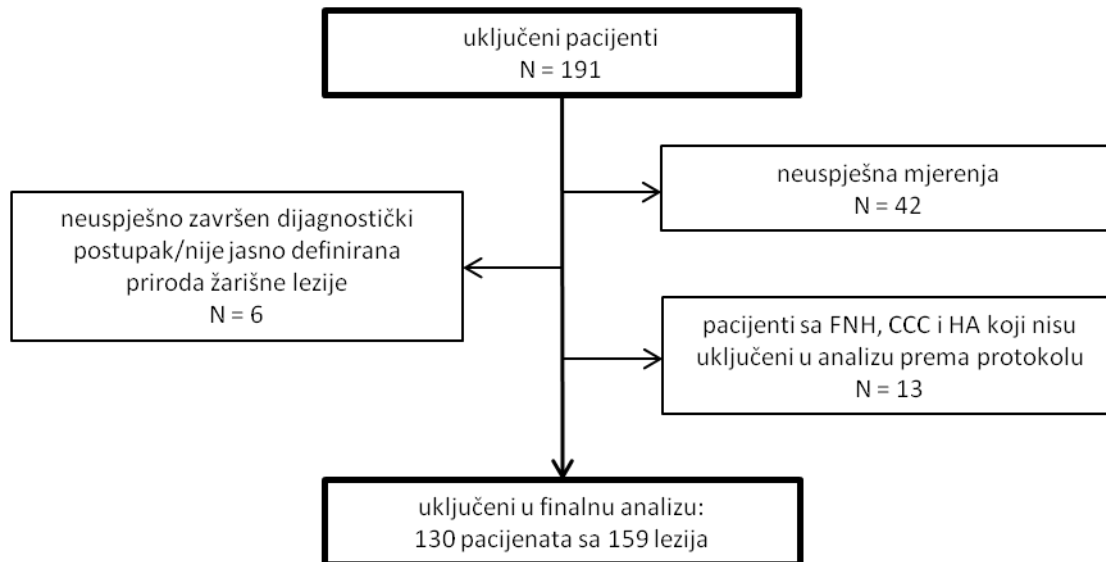
Za predikciju maligniteta žarišne lezije u jetri konstruirana je umjetna neuronska mreža uz pomoć programskog paketa SPSS 23.0 (Chicago, IL, USA), koji uključuje dva najčešće korištena algoritma za razvoj ANN-a, a u ovom istraživanju je korišten MLP (*Multilayer Perceptron*) algoritam. Lezije su nasumice podijeljene u tri skupine: trening grupu (50% ukupnog broja lezija), validacijsku grupu (25% ukupnog broja lezija) i testnu grupu (25% od ukupnog broja lezija). Trening grupa korištena je za treniranje mreže, dok je validacijska grupa korištena za fino podešavanje i odabir mreže sa najboljim performansama, a prema uobičajenim algoritmima. Testna grupa je iskorištena kako bi se testirale performanse mreže na novom setu podataka i nije bila korištena niti u jednom dijelu procesa treniranja mreže. Sama arhitektura mreže sastojala se iz najmanje tri sloja – ulaznog, skrivenog i izlaznog. U ulaznom sloju našao se broj 'neurona' jednak broju ulaznih parametara, dok je izlazni sloj imao jedan 'neuron' (prisustvo ili odsustvo maligniteta). Za ulazne parametre smo koristili sve direktne ili indirektno mjere dobivene elastografijom. Proces učenja mreže vršen je po algoritmu reverzne propagacije greške, do postizanja minimalne moguće greške mreže. Unutarnji algoritmi programskog paketa, omogućavaju automatsku selekciju mreže s najpovoljnijom arhitekturom i najmanjom greškom te su isti i upotrijebljeni. Po finaliziranju konstrukcije i treniranja mreže, ista je bila testirana na testnoj grupi pacijenata.

Performanse korištenih prediktivnih parametara i ANN analizirane su *receiver operating characteristic* (ROC) analizom. ROC analiza također je bila korištena i u komparaciji pojedinačnih performansi ANN i svih prediktivnih skorova. Konačno, sve performanse su koristeći ROC krivlju (AUC) bile analizirane i izražene kroz opću dijagnostičku točnost preko parametara senzitivnosti, specifičnosti, pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti. Vrijednost  $p < 0,05$  smatrana je signifikantnom u svim analizama.

## 5 REZULTATI

### 5.1 Značajke pacijenata

U istraživanje je uključen ukupno 191 pacijent stariji od 18 godina. Mjerenja su bila uspješna kod 149 pacijenata, dok se kod 42 pacijenta nije uspjela učiniti adekvatna elastografska analiza (neuspjeh mjerenja 22%). Od 149 pacijenta kod kojih su uspješno izvršena mjerenja, u finalnu analizu ušlo je 130 pacijenata sa ukupno 159 lezija, dok nije uključeno sedam pacijenata sa FNH, šest pacijenata sa CCC, jedan pacijent sa HA i šest pacijenata kod kojih se dijagnostičkom obradom nije pouzdano razriješila priroda žarišne lezije u jetri: tri pacijenta nisu pristala na biopsiju jetre s ciljem postavljanja konačne dijagnoze, a tri pacijenta se nisu javila na potrebnu daljnju dijagnostičku obradu prema algoritmu (slika 3).



Slika 3. Shematski prikaz pacijenata u istraživanju

Od ukupno 130 pacijenata, kod 48 pacijenata analizirano je ukupno 53 HCC-a, kod 37 pacijenata 53 metastaze te kod 45 pacijenata 53 hemangioma.

Srednja dob bolesnika uključenih u finalnu analizu bila je 58,81 godinu (SD 14,66; raspon 20 do 87). Muškaraca je ukupno bilo 69 (53,1%), a žena 61 (46,9%), dok je unutar grupa postojala statistički značajna razlika u spolu,  $\chi^2=21,73$ ;  $df=2$ ;  $p<0,001$  (tablica 1). Ostale značajke pacijenata nalaze su u tablici 2.

Tablica 1. Razlike u spolu po grupama tumora i ukupno

			Spol		Ukupno
			Muški	Ženski	
Dijagnoza	HCC	N	37	11	48
		%	77.1%	22.9%	100.0%
	Metastaze	N	19	18	37
		%	51.4%	48.6%	100.0%
	Hemangiomi	N	13	32	45
		%	28.9%	71.1%	100.0%
Ukupno	N	69	61	130	
	%	53.1%	46.9%	100.0%	

$\chi^2=21,73$ ;  $df=2$ ;  $p<0,001$

Tablica 2. Značajke pacijenata

		<b>N</b>	<b>minimum</b>	<b>maksimum</b>	<b>prosjeak</b>	<b>SD</b>
<b>Dob</b>	<b>Sve grupe</b>	130	20	87	58.81	14.664
	<b>HCC</b>	48	48	83	66.06	8.154
	<b>Metastaze</b>	37	20	87	62.43	14.747
	<b>Hemangiomi</b>	45	21	74	48.09	13.983
<b>BMI</b>	<b>Sve grupe</b>	130	18.4	34.1	26.075	2.8688
	<b>HCC</b>	48	18.4	34.1	25.840	2.8695
	<b>Metastaze</b>	37	21.0	31.4	26.208	2.7752
	<b>Hemangiomi</b>	45	18.4	33.7	26.216	2.9893
<b>SCD</b>	<b>Sve grupe</b>	130	1.00	3.40	1.8549	0.36531
	<b>HCC</b>	48	1.24	3.40	1.8592	0.37575
	<b>Metastaze</b>	37	1.00	2.60	1.8841	0.34900
	<b>Hemangiomi</b>	45	1.00	2.75	1.8264	0.37313
<b>Ukupni bilirubin</b>	<b>Sve grupe</b>	130	4.0	177.0	19.859	19.8955
	<b>HCC</b>	48	6.0	50.0	24.431	13.0183
	<b>Metastaze</b>	37	4.0	177.0	23.811	32.3349
	<b>Hemangiomi</b>	45	7.0	33.0	11.733	4.5347
<b>AST</b>	<b>Sve grupe</b>	130	12	461	47.68	53.913
	<b>HCC</b>	48	12	201	57.40	37.242
	<b>Metastaze</b>	37	12	461	66.78	84.935
	<b>Hemangiomi</b>	45	15	45	21.60	5.683
<b>ALT</b>	<b>Sve grupe</b>	130	7	146	38.58	30.970
	<b>HCC</b>	48	8	142	44.90	26.550
	<b>Metastaze</b>	37	7	146	48.35	44.535
	<b>Hemangiomi</b>	45	9	68	23.80	9.438
<b>yGT</b>	<b>Sve grupe</b>	130	11	1740	124.56	198.709
	<b>HCC</b>	48	17	888	154.50	169.107
	<b>Metastaze</b>	37	12	1740	201.73	292.072
	<b>Hemangiomi</b>	45	11	76	29.18	11.438
<b>AF</b>	<b>Sve grupe</b>	130	28	755	127.24	108.179
	<b>HCC</b>	48	37	289	126.81	57.451
	<b>Metastaze</b>	37	42	755	198.81	166.639
	<b>Hemangiomi</b>	ALP	45	28	112	68.84

SCD – udaljenost od sonde do površine jetre, od engl. *skin-to-capsule-distance*

Među bolesnicima sa multiplim metastazama kod nekoliko su zabilježene visoke vrijednosti yGT i ALT-a uz povišene vrijednosti bilirubina, no bez proširenja intrahepatičkih žučnih vodova. Navedeno se može objasniti opsežnom propagacijom maligne bolesti i pritiskom na male žučne vodove sa posljedičnom kolestazom na razini malih žučnih vodova bez slikovnim metodama detektibilne dilatacije bilijarnog stabla.

Prosječni indeks tjelesne mase (BMI, od engl. *body mass index*) bolesnika uključenih u analizu je bio 26.08 (SD 2.89), što je bilo značajno niže u odnosu na pacijente uključene u istraživanje kod kojih elastografska mjerenja nisu uspjela (28.90, SD 5.06;  $p < 0,001$ ); tablica 3 i slika 4.

Pacijenti kod kojih mjerenja nisu uspjela bili su u prosjeku stariji i ta je razlika bila statistički značajna (65.29 godina vs. 58.81 godina;  $p = 0,015$ ) te su imali statistički značajno veći SCD (2.30 cm vs. 1.85 cm;  $p < 0,001$ ), dok uspjeh mjerenja nije ovisio o spolu uključenih bolesnika,  $\chi^2$  test;  $p = 0,37$  (tablice 3 i 4; slike 5 i 6).

Prosječna srednja vrijednost tvrdoće hemangioma nije bila u statistički značajnoj korelaciji sa dobi bolesnika ( $r = 0,143$ ;  $p = 0,31$ ), a signifikantna korelacija nije nađena niti za srednju vrijednost tvrdoće metastaze i dob ( $r = -0,21$ ;  $p = 0,14$ ), dok je u grupi ispitanika sa HCC-om, istovjetna korelacija pokazala statistički signifikantnu negativnu korelaciju srednje jačine ( $r = -0,35$ ;  $p = 0,01$ ).

Tablica 3. Uspjeh elastografskih mjerenja u ovisnosti o dobi, BMI i SCD

	Uspjeh mjerenja	Prosjek	SD	p-vrijednost
<b>Dob</b>	neuspješno mjerenje	65.29	15.34	0,015
	uspješno mjerenje	58.81	14.66	
<b>BMI</b>	neuspješno mjerenje	28.90	5.06	<0,001
	uspješno mjerenje	26.07	2.87	
<b>SCD</b>	neuspješno mjerenje	2.30	0.46	<0,001
	uspješno mjerenje	1.85	0.37	

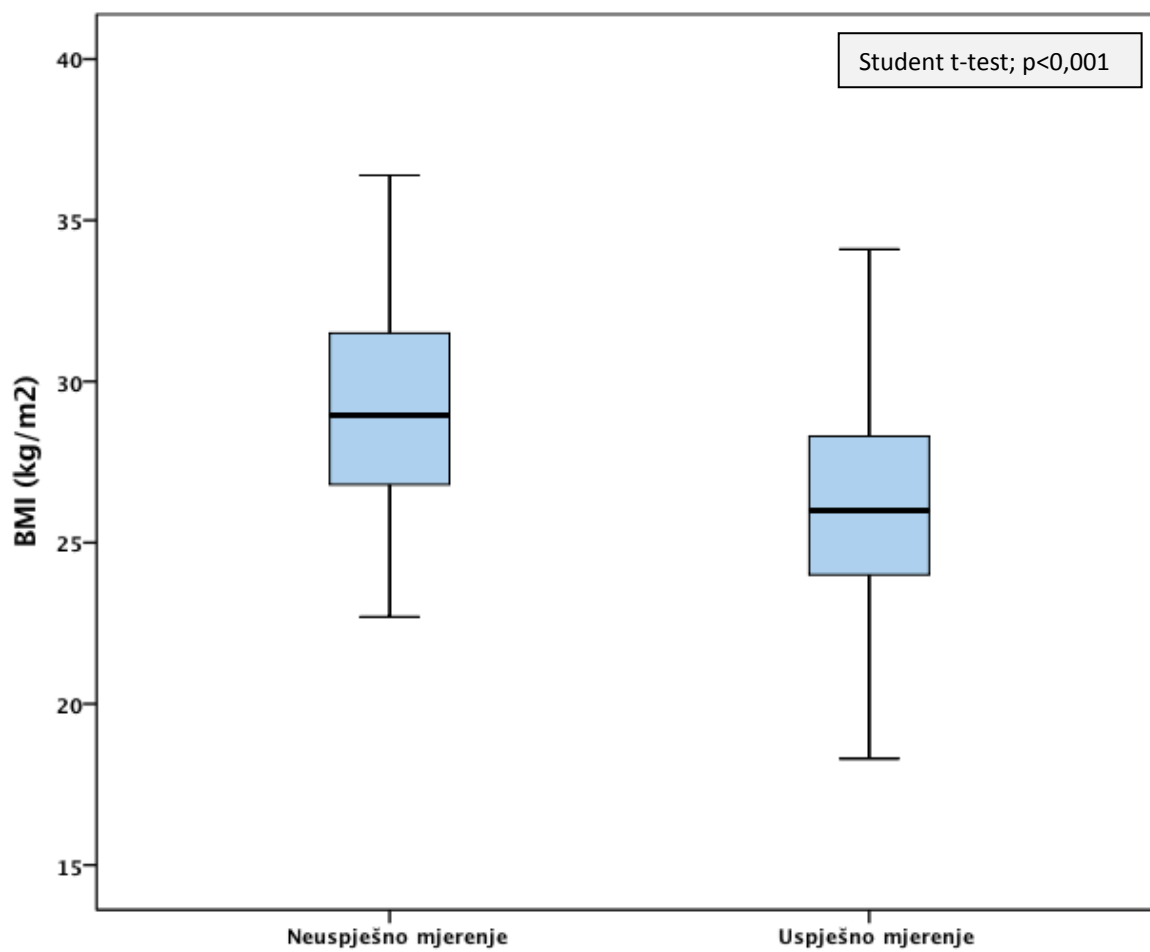
SCD – udaljenost od sonde do površine jetre, od engl. *skin-to-capsule-distance*

Tablica 4. Uspjeh elastografskih mjerenja u ovisnosti o spolu pacijenta

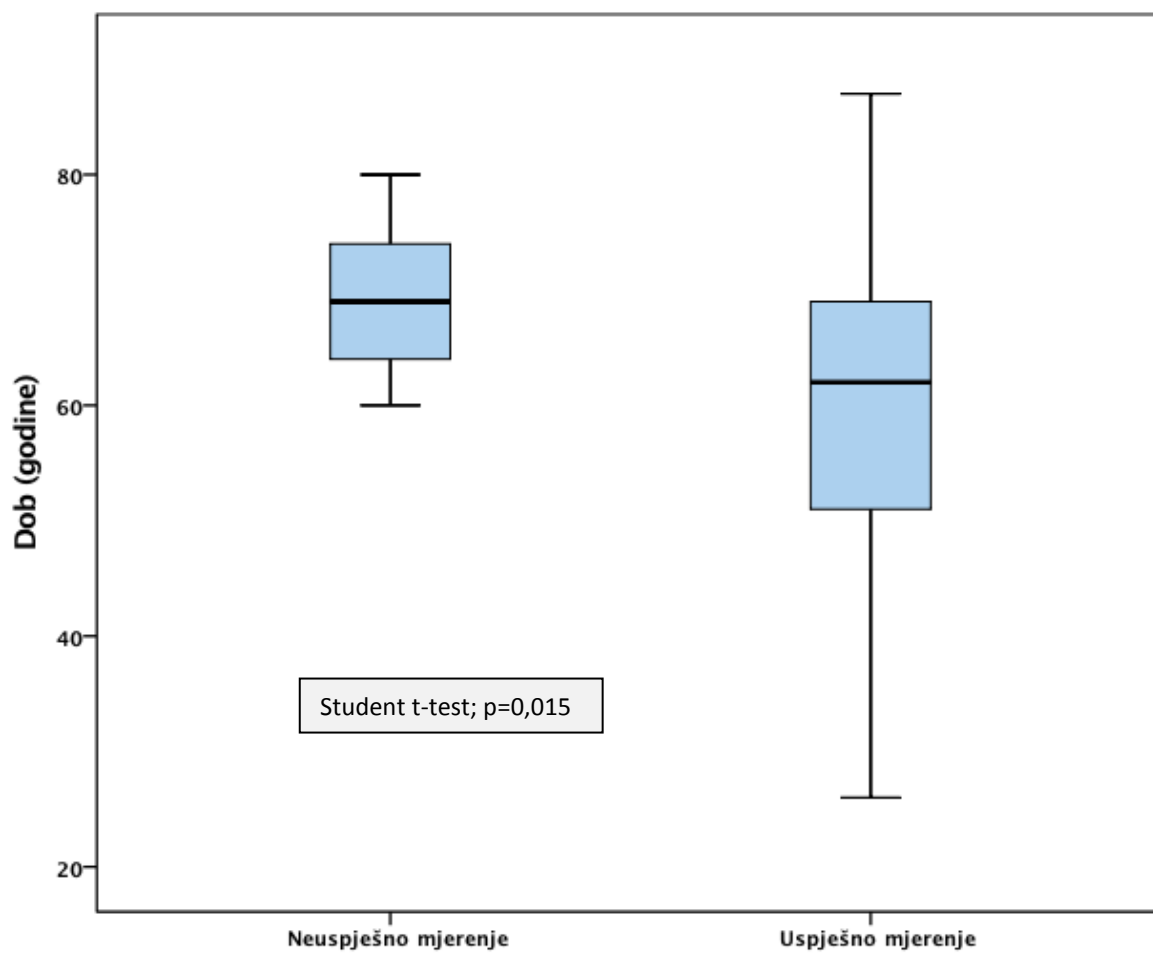
			Spol		Ukupno
			Muški	Ženski	
<b>Uspjeh mjerenja</b>	Neuspješno mjerenje	N	19	23	42
		%	45.2%	54.8%	100.0%
	Uspješno mjerenje	N	69	61	130
		%	53.1%	46.9%	100.0%
<b>Ukupno</b>	N	88	84	172	
	%	51.2%	48.8%	100.0%	

$\chi^2$  test; p=0,37

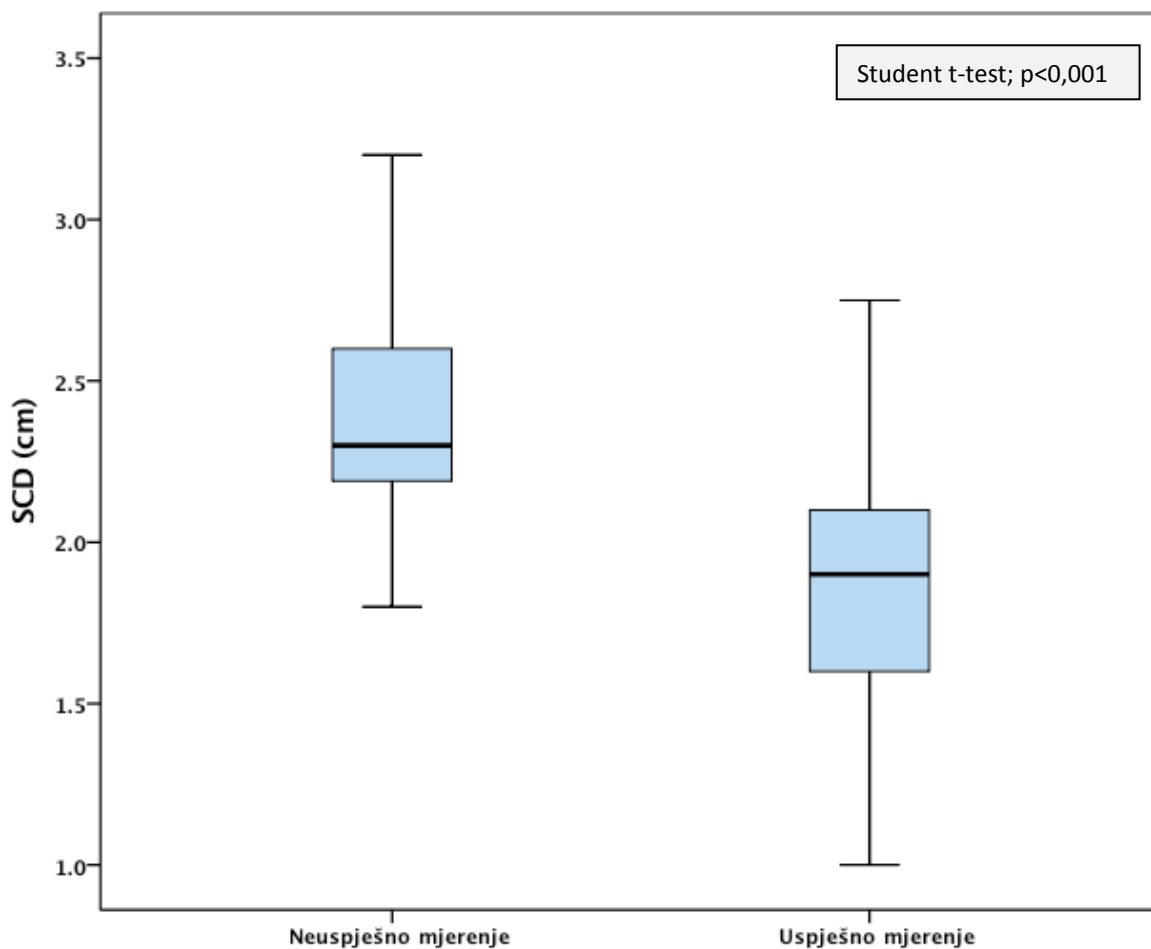




Slika 4. Grafički prikaz (*box-plot*) ovisnosti uspjeha mjerenja o BMI



Slika 5. Grafički prikaz (*box-plot*) ovisnosti uspjeha mjerenja o dobi bolesnika



Slika 6. Grafički prikaz (*box-plot*) ovisnosti uspjeha mjerenja o SCD

Tkivna dijagnoza bila je dostupna za 48 od 130 pacijenata (36,9 %): kod 39 od 48 pacijenata sa HCC-om (81,3%), 9 od 37 pacijenata sa metastazama (24,3%) i 1 od 45 pacijenata sa hemangiomom (2,2%). Razlog relativno velikom broju postojanja tkivne dijagnoze HCC-a jest što je osim citološke punkcije i/ili biopsije u nejasnim slučajevima jedan dio bolesnika operiran ili transplantiran te je napravljen uvid u nalaz postoperacijske odnosno posttransplantacijske patohistološke analize, a kod dijela bolesnika je unatoč jasnoj dijagnozi tkivna verifikacija učinjena na zahtjev onkologa radi planiranja onkološkog liječenja. Jedan bolesnik sa hemangiomom bio je podvrgnut kirurškoj resekciji te je napravljen uvid u postresekcijski nalaz patohistološke analize.

## 5.2 Značajke i usporedba žarišnih lezija po grupama tumora

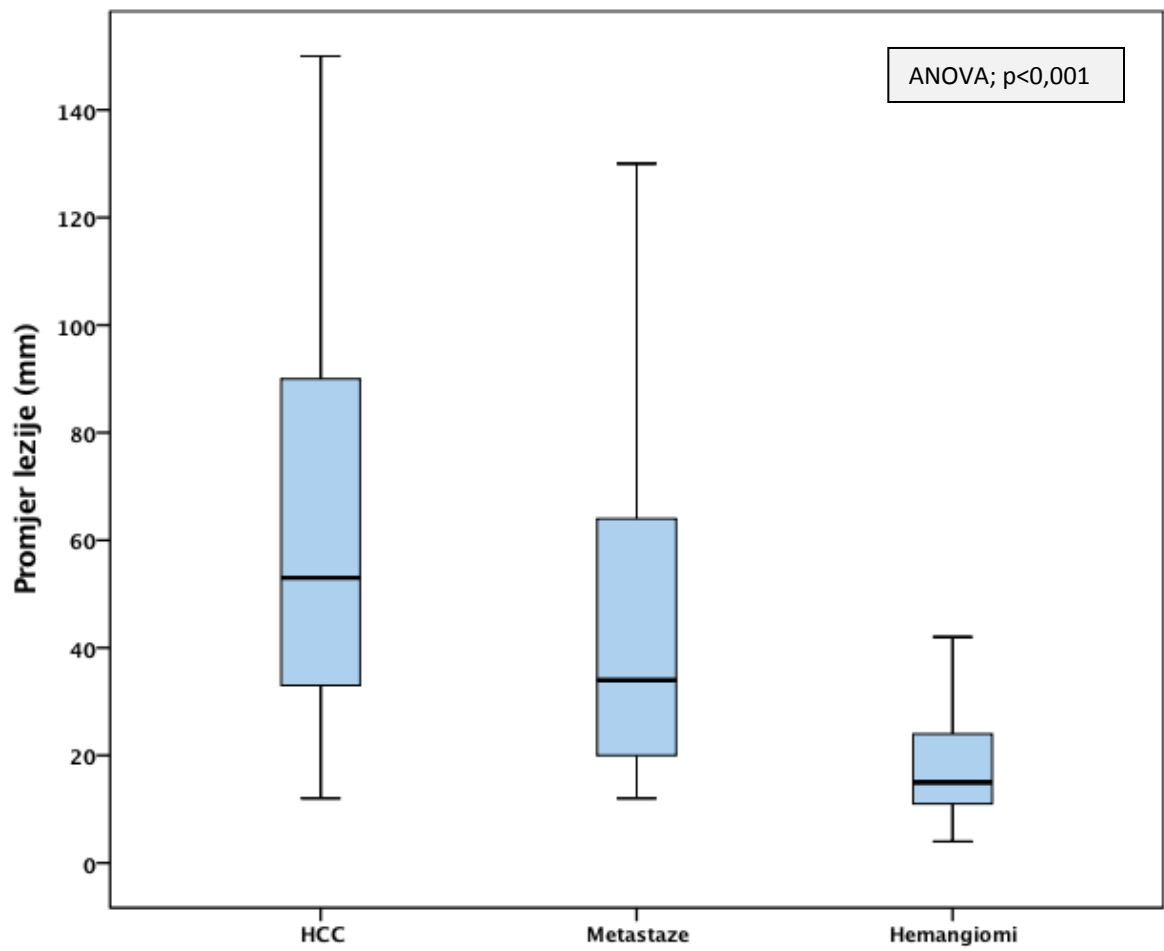
U finalnu analizu je uključeno ukupno 159 lezija kod 130 bolesnika, 53 lezije u svakoj grupi: 53 hemangioma kod 45 pacijenata, 53 HCC-a kod 48 pacijenata i 53 metastaze kod 37 pacijenata. Sve lezije nalazile su se u desnom jetrenom režnju, prosječni promjer im je bio 41.8 mm (SD 33.42mm), a grupe tumora su se međusobno razlikovale u promjeru lezija (ANOVA;  $p < 0,001$ ); tablica 5 i slika 7. Prosječna srednja vrijednost tvrdoće svih lezija bila je 26.10 kPa (SD 13.04 kPa) i bila je statistički značajno viša od parenhima jetre (11,63 kPa, SD 8,59 kPa).

Osim aparatom izmjerenih elastografskih parametara (srednja vrijednost tvrdoće, minimalna vrijednost tvrdoće i maksimalna vrijednost tvrdoće), kao parametar koji opisuje intratumoralnu varijabilnost tvrdoće izračunali smo omjer minimalne i maksimalne tvrdoće žarišne lezije – koeficijent varijabilnosti tvrdoće tumora, TSCV (od engl. *tumour stiffness variability coefficient*). Njegova vrijednost je obrnuto proporcionalna varijabilnosti tvrdoće – što je veća, to je varijabilnost tvrdoće tumora manja. Također je mjerena i tvrdoća parenhima prema protokolu, a bilježena je srednja vrijednost tvrdoće, dok je izračunom dobiven omjer tvrdoće žarišne lezije i parenhima, kao dodatni elastografski parametar kojim je moguće dodatno okarakterizirati žarišne lezije u ovisnosti da li se nalaze u parenhimu jetre normalne tvrdoće ili pak u fibrotičnoj/cirotičnoj jetri.

Tablica 6 prikazuje detaljne elastografske karakteristike žarišnih lezija .

Tablica 5. Veličina/promjer žarišnih lezija

	<b>N</b>	<b>minimum</b>	<b>maksimum</b>	<b>prosjeak</b>	<b>SD</b>
<b>Promjer lezije</b>					
<b>Sve grupe</b>	159	4.0	150.0	41.805	33.4222
<b>HCC</b>	53	12.0	150.0	62.642	36.2492
<b>Metastaze</b>	53	12.0	130.0	43.981	30.2404
<b>Hemangiomi</b>	53	4.0	85.0	18.792	13.3609



Slika 7. Grafički prikaz (*box-plot*) promjera lezija po grupama

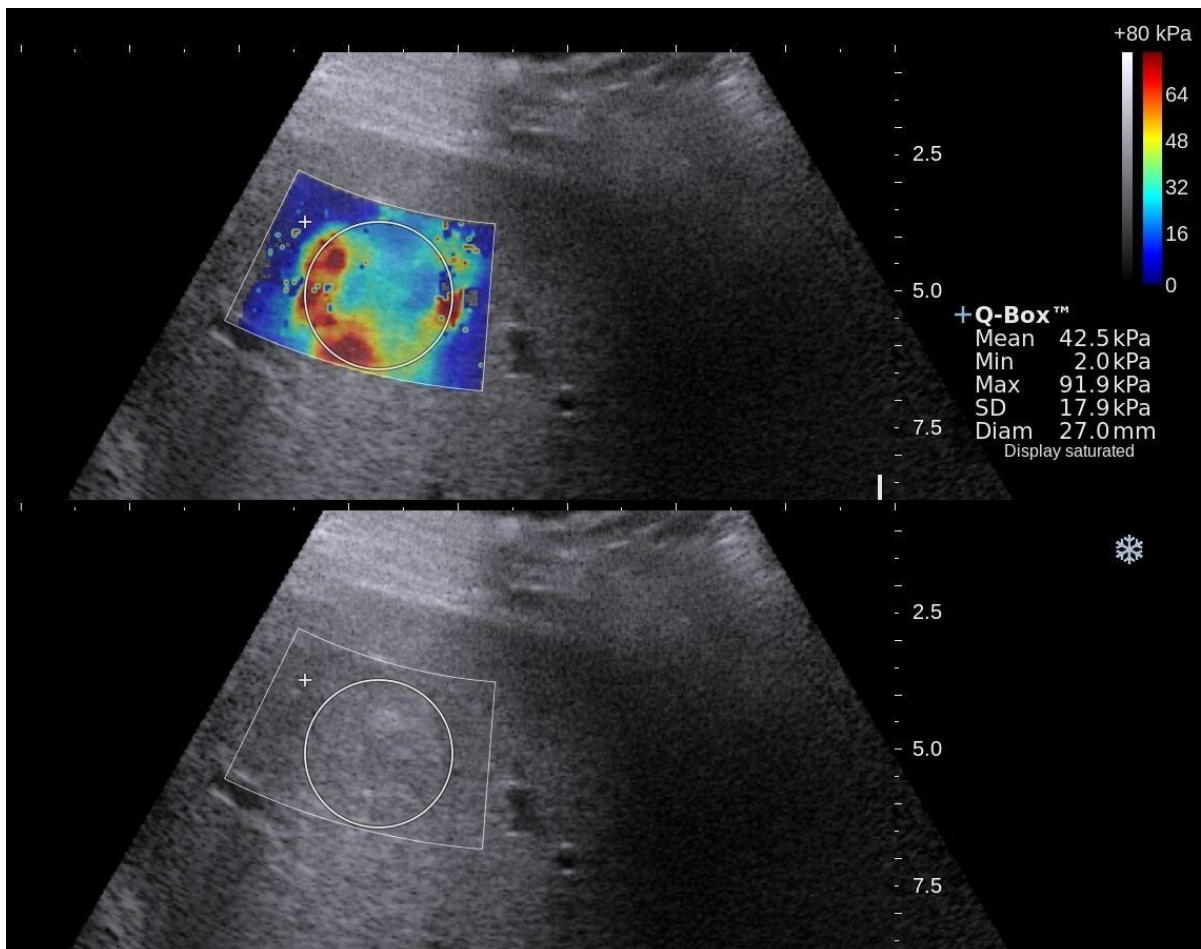
Tablica 6. Elastografske karakteristike tumora i parenhima jetre

		N	prosjek	SD	SE	95% CI		Min.	Maks.
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>Sve lezije</b>	159	26.10	13.04	1.03	24.06	28.15	4.63	54.26
	<b>HCC</b>	53	28.46	11.05	1.52	25.41	31.50	11.30	50.00
	<b>Metastaze</b>	53	36.17	9.42	1.29	33.58	38.77	15.18	54.26
	<b>Hemangiomi</b>	53	13.68	6.29	0.86	11.95	15.41	4.63	35.74
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>Sve lezije</b>	159	12.96	7.44	0.59	11.79	14.12	1.17	37.92
	<b>HCC</b>	53	14.16	7.44	1.02	12.11	16.21	2.00	32.85
	<b>Metastaze</b>	53	17.12	7.27	1.00	15.12	19.13	2.09	37.92
	<b>Hemangiomi</b>	53	7.59	3.41	0.47	6.65	8.53	1.17	15.71
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>Sve lezije</b>	159	42.47	24.07	1.91	38.70	46.24	5.08	117.67
	<b>HCC</b>	53	47.97	19.66	2.70	42.55	53.39	16.50	96.50
	<b>Metastaze</b>	53	58.16	20.52	2.82	52.50	63.81	19.63	117.67
	<b>Hemangiomi</b>	53	21.29	14.63	2.01	17.26	25.32	5.08	78.52
<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	<b>Kod svih lezija</b>	159	11.63	8.59	0.68	10.28	12.97	4.10	50.00
	<b>HCC</b>	53	20.17	9.98	1.37	17.42	22.92	4.56	50.00
	<b>Metastaze</b>	53	8.98	2.50	0.34	8.29	9.67	5.00	16.30
	<b>Hemangiomi</b>	53	5.74	1.17	0.16	5.42	6.06	4.10	9.30
<b>Omjer tvrdoće lezije i parenhima</b>	<b>Sve lezije</b>	159	2.82	1.67	0.13	2.56	3.08	0.59	8.16
	<b>HCC</b>	53	1.69	0.98	0.13	1.42	1.96	0.59	5.32
	<b>Metastaze</b>	53	4.29	1.49	0.21	3.88	4.70	1.11	8.16
	<b>Hemangiomi</b>	53	2.47	1.27	0.17	2.12	2.82	0.99	6.50
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	<b>Sve lezije</b>	159	0.36	0.19	0.01	0.33	0.39	0.02	0.85
	<b>HCC</b>	53	0.32	0.14	0.02	0.28	0.36	0.02	0.81
	<b>Metastaze</b>	53	0.32	0.15	0.02	0.28	0.36	0.05	0.71
	<b>Hemangiomi</b>	53	0.45	0.22	0.03	0.39	0.51	0.05	0.85

Prosječna srednja, minimalna i maksimalna vrijednost tvrdoće žarišnih lezija bile su redom po skupinama: 1) HCC: 28.46, 14.16 i 47.97 kPa; 2) metastaze: 36.17, 17.12 i 58.16 kPa; 3) hemangiomi: 13.68, 7.59 i 21.29 kPa. Sve su se grupe tumora među sobom statistički značajno razlikovale po parametrima prosječna srednja, minimalna i maksimalna vrijednost tvrdoće lezije, tvrdoća parenhima te omjer tvrdoće lezije i parenhima, uz iznimku grupe HCC-ova i metastaza koje se nisu razlikovale jedino po parametru prosječne minimalne tvrdoće lezije ( $p=0.12$ ). Detaljni podaci o razlikama elastografskih parametara između grupa prikazani su u tablici 7, primjeri elastografskih prikaza sa mjerenjem tvrdoće za HCC, metastaze i hemangiome prikazani su na slikama 8, 9 i 10, a razlike u srednjoj vrijednosti tvrdoće po grupama grafički su prikazane na slici 11.

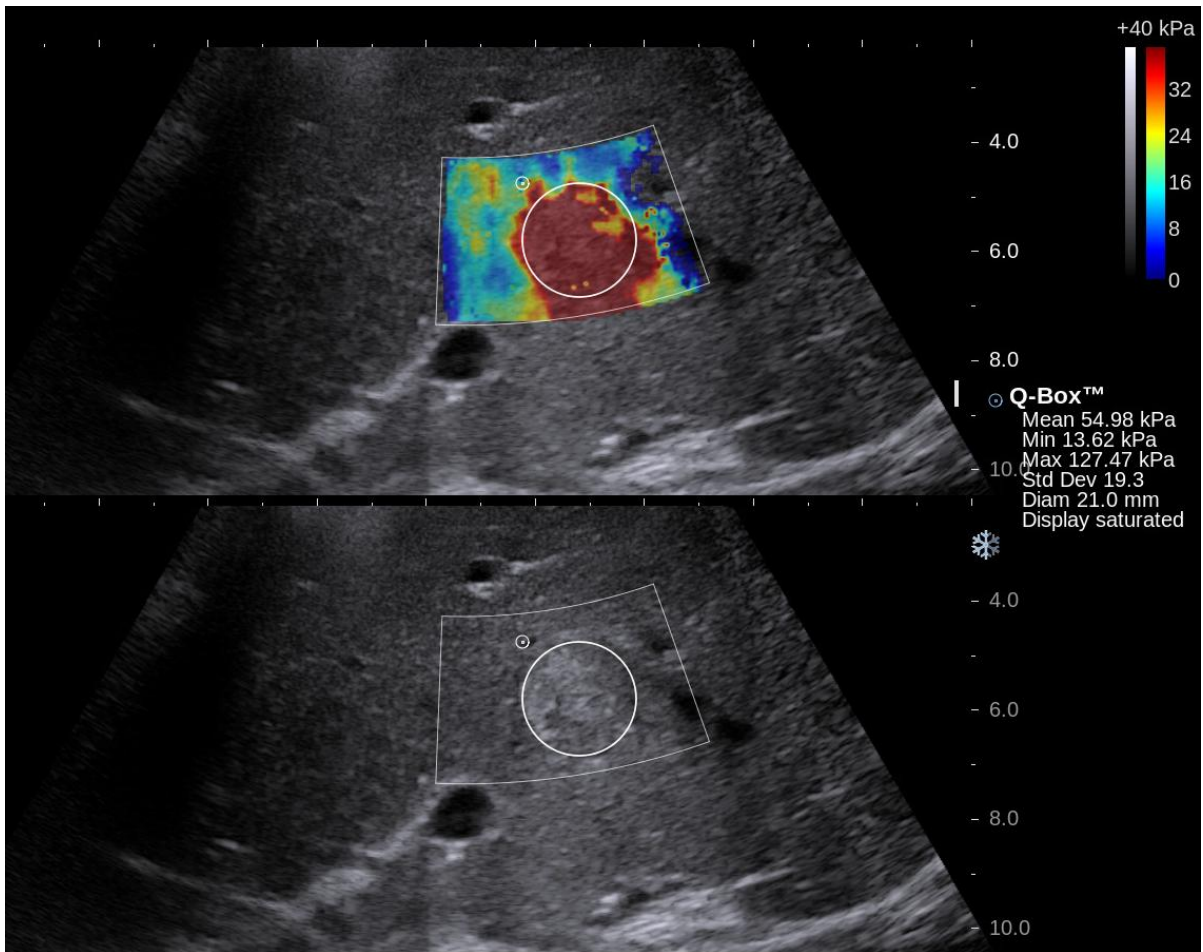
Tablica 7. Usporedba svih grupa tumora po elastografskim parametrima

varijabla	(I) dijagnoza	(J) dijagnoza	srednja razlika (I-J)	p	95% CI	
					donja granica	gornja granica
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	HCC	Metastaze	-7.71*	<0.01	-12.56	-2.87
		Hemangiomi	14.78*	<0.01	10.52	19.03
	Metastaze	HCC	7.71*	<0.01	2.87	12.56
		Hemangiomi	22.49*	<0.01	18.71	26.27
	Hemangiomi	HCC	-14.78*	<0.01	-19.03	-10.52
		Metastaze	-22.49*	<0.01	-26.27	-18.71
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	HCC	Metastaze	-2.97	0.12	-6.43	0.50
		Hemangiomi	6.57*	<0.01	3.82	9.31
	Metastaze	HCC	2.97	0.12	-0.50	6.43
		Hemangiomi	9.53*	<0.01	6.84	12.23
	Hemangiomi	HCC	-6.57*	<0.01	-9.31	-3.82
		Metastaze	-9.53*	<0.01	-12.23	-6.84
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	HCC	Metastaze	-10.19*	0.03	-19.66	-0.71
		Hemangiomi	26.68*	<0.01	18.50	34.86
	Metastaze	HCC	10.19*	0.03	0.71	19.66
		Hemangiomi	36.87*	<0.01	28.45	45.28
	Hemangiomi	HCC	-26.68*	<0.01	-34.86	-18.50
		Metastaze	-36.87*	<0.01	-45.28	-28.45
<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	HCC	Metastaze	11.19*	<0.01	7.71	14.66
		Hemangiomi	14.43*	<0.01	11.03	17.83
	Metastaze	HCC	-11.19*	<0.01	-14.66	-7.71
		Hemangiomi	3.24*	<0.01	2.32	4.17
	Hemangiomi	HCC	-14.43*	<0.01	-17.83	-11.03
		Metastaze	-3.24*	<0.01	-4.17	-2.32
<b>Omjer tvrdoće lezije i parenhima</b>	HCC	Metastaze	-2.60*	<0.01	-3.19	-2.00
		Hemangiomi	-0.77*	<0.01	-1.31	-0.24
	Metastaze	HCC	2.60*	<0.01	2.00	3.19
		Hemangiomi	1.82*	<0.01	1.17	2.48
	Hemangiomi	HCC	0.77*	<0.01	0.24	1.31
		Metastaze	-1.82*	<0.01	-2.48	-1.17
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	HCC	Metastaze	0.00	1.00	-0.07	0.07
		Hemangiomi	-0.13*	<0.01	-0.22	-0.05
	Metastaze	HCC	0.00	1.00	-0.07	0.07
		Hemangiomi	-0.13*	<0.01	-0.22	-0.04
	Hemangiomi	HCC	0.13*	<0.01	0.05	0.22
		Metastaze	0.13*	<0.01	0.04	0.22

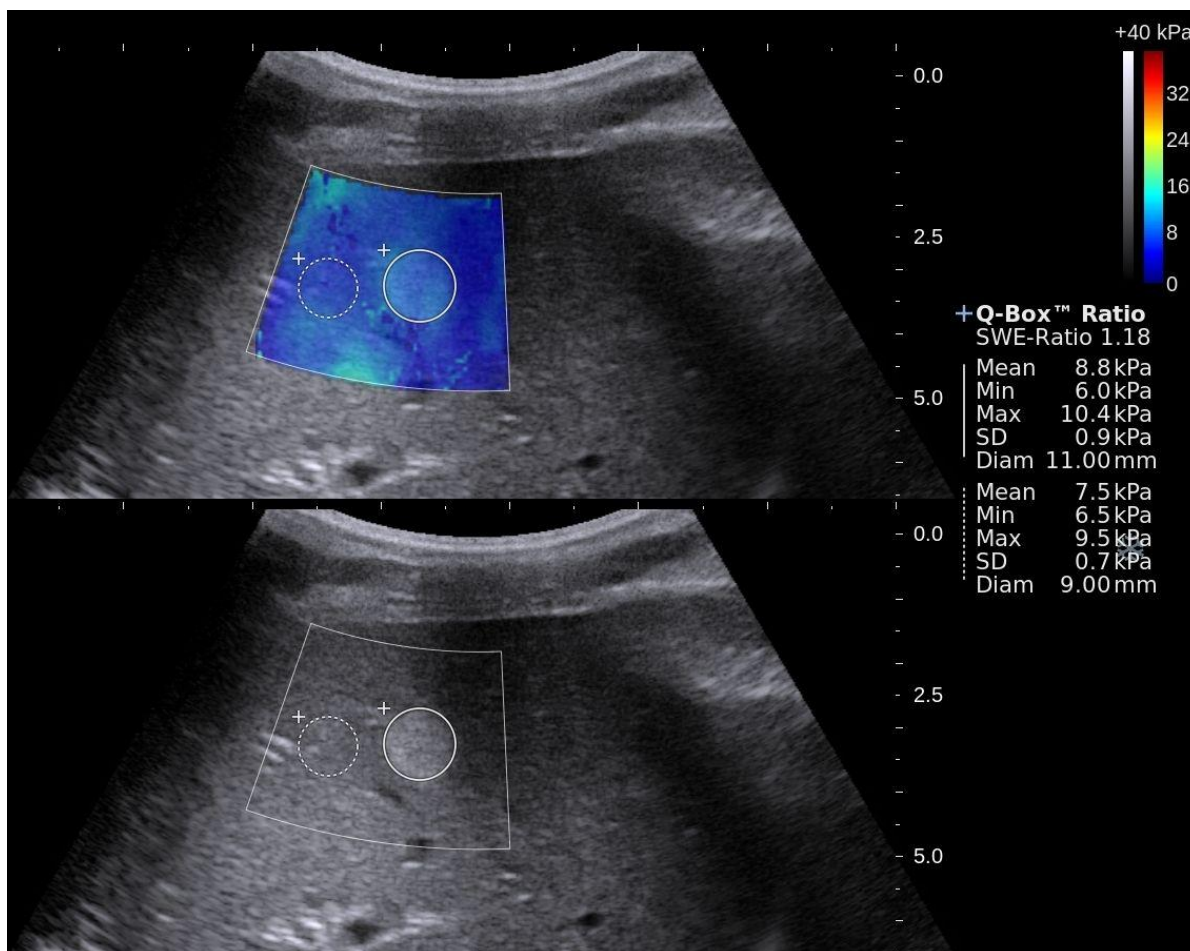


Slika 8. Elastografski prikaz HCC-a u jetri metodom SWE™; slika je zamrznuta, 'Q-box' mjerni okvir postavljen je preko gotovo cijelog HCC-a (vidljivo na donjoj polovici slike)

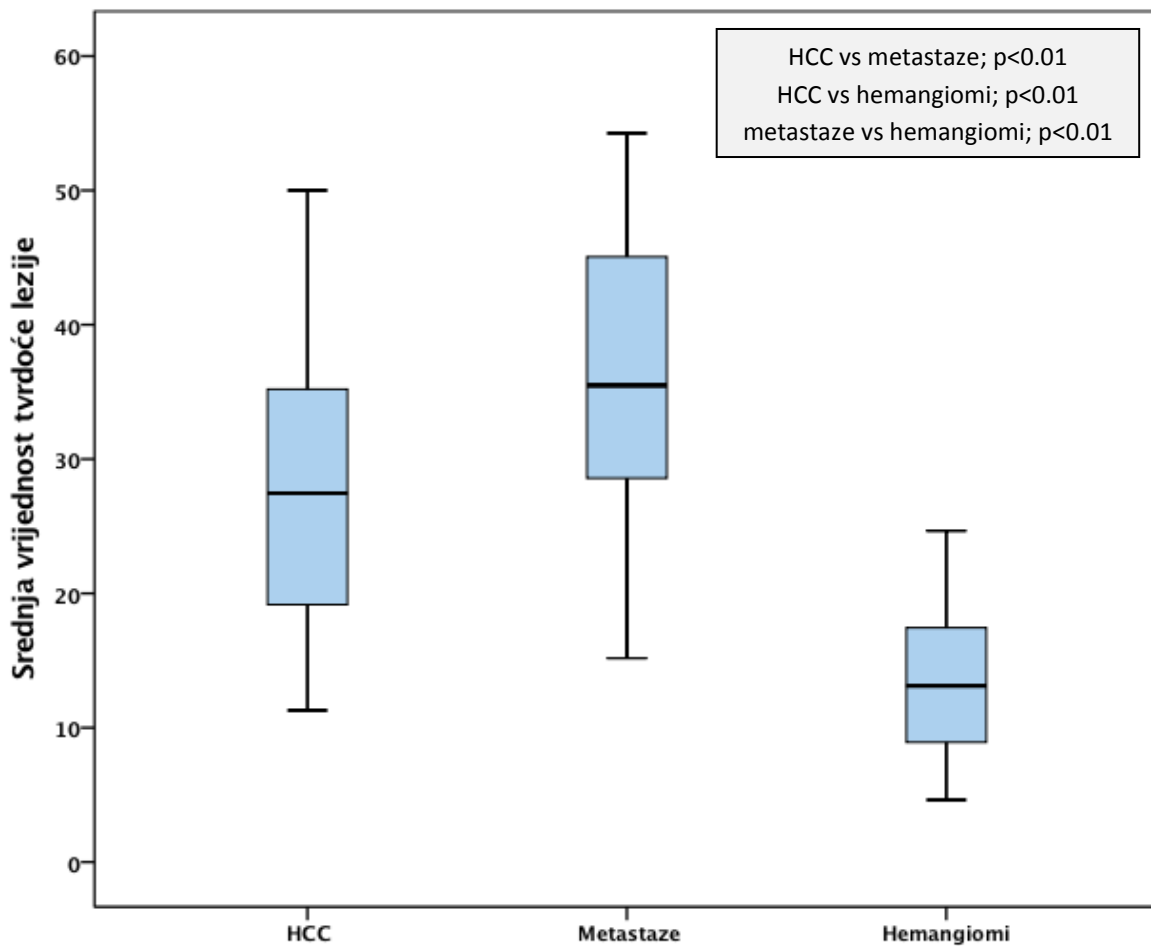




Slika 9. Elastografski prikaz metastaze u jetri metodom SWE™; slika je zamrznuta, 'Q-box' mjerni okvir postavljen je preko gotovo cijele metastaze (vidljivo na donjoj polovici slike)

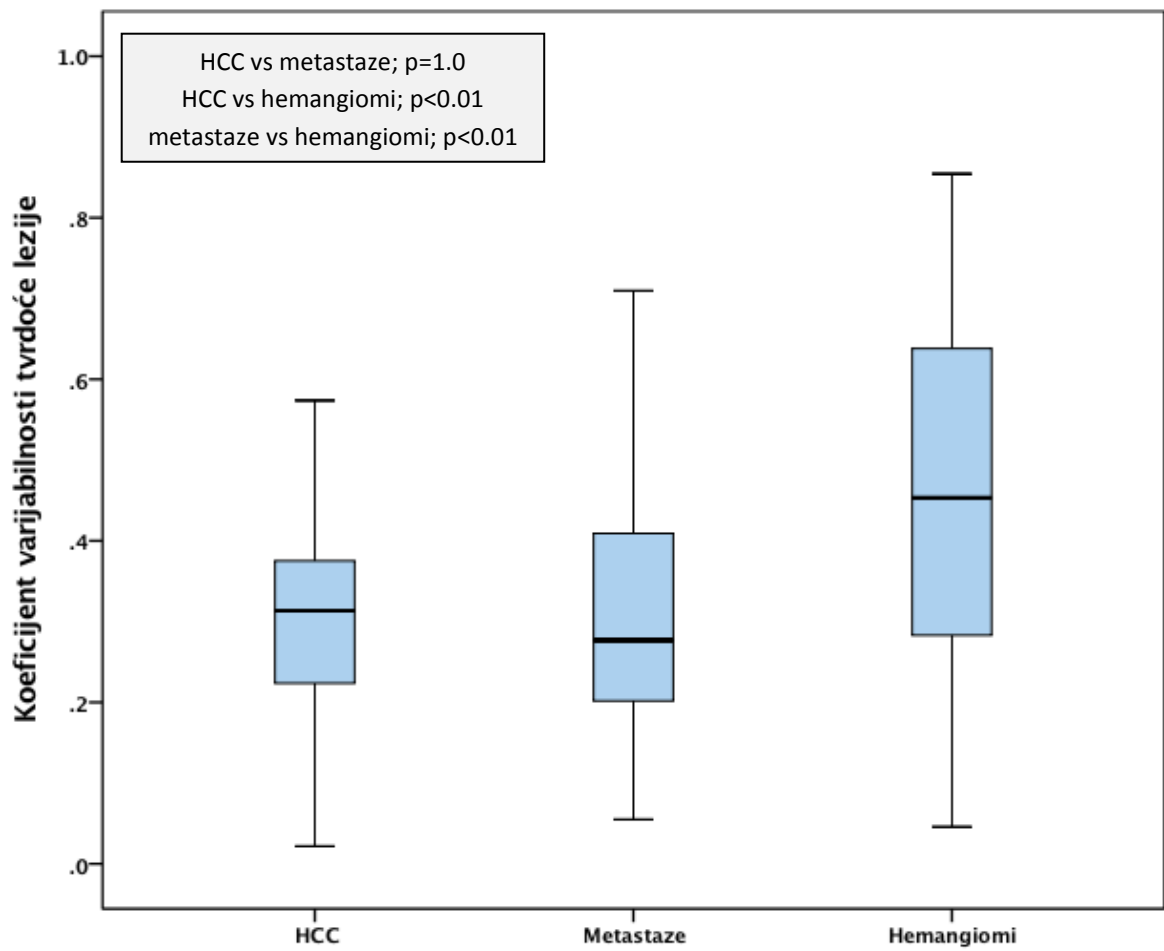


Slika 10. Elastografski prikaz hemangioma u jetri metodom SWE™; slika je zamrznuta, 'Q-box' mjerni okvir postavljen je preko cijelog hemangioma (vidljivo na donjoj polovici slike), dok je drugi 'Q-box' mjerni okvir postavljen na parenhim blizu hemangioma



Slika 11. Grafički prikaz (*box-plot*) srednje vrijednosti tvrdoće lezija po grupama

Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije izražava heterogenost tvrdoće tj. intratumoralnu varijabilnost tvrdoće, a njegove su vrijednosti bile statistički značajno niže kod HCC-ova i metastaza pojedinačno u odnosu na hemangiome, što znači da je intratumoralna varijabilnost bila veća, dok se grupa HCC-ova i metastaza nije razlikovala po ovom parametru,  $p=1.0$  (tablica 7, slika 12).



Slika 12. Grafički prikaz (*box-plot*) koeficijenta varijabilnosti tvrdoće lezija po grupama

Da bi ispitali mijenja li se vrijednost koeficijenta varijabilnosti tvrdoće tumora sa porastom promjera lezije, tumore smo podijelili u kategorije po promjeru:  $\leq 10$  mm, 11 - 20 mm, 21 - 30 mm te 31+ mm ili 31 – 50 mm i 51.0+ mm, kako je već bilo potrebno za koju grupu tumora.

Analizom se pokazalo da varijabilnost tvrdoće tumora statistički značajno raste sa porastom promjera svih tumora zajedno (ANOVA;  $p < 0,001$ ) te je isti obrazac pokazan kod hemangioma (ANOVA;  $p < 0,001$ ), dok kod HCC-ova i metastaza, iako je varijabilnost tvrdoće bila manja kod najmanjih lezija (11 do 20 mm), kod većih tumora nije se statistički značajno mijenjala (HCC,  $p = 0,112$ ; metastaze,  $p = 0,12$ ). Detaljni podaci su prikazani u tablicama 8, 9, 10 i 11.

Tablica 8. Odnos vrijednosti koeficijenta varijabilnosti tvrdoće tumora (TSVC) i porasta veličine žarišne lezije – sve žarišne lezije zajedno

promjer lezije u mm	N	TSCV prosjeak	SD	SE	95% CI za prosjek			
					donja granica	gornja granica	min.	maks.
$\leq 10$	13	0.69	0.12	0.03	0.62	0.77	0.51	0.85
11 - 20	41	0.41	0.19	0.03	0.35	0.47	0.07	0.81
21 - 30	28	0.28	0.13	0.02	0.23	0.33	0.05	0.57
31+	77	0.31	0.14	0.02	0.28	0.34	0.02	0.68
<b>Total</b>	159	0.36	0.19	0.01	0.33	0.39	0.02	0.85

ANOVA;  $p < 0,001$

Tablica 9. Odnos vrijednosti koeficijenta varijabilnosti tvrdoće tumora (TSVC) i porasta veličine žarišne lezije – HCC

promjer lezije u mm	N	TSCV prosjeak	SD	SE	95% CI za prosjek			
					donja granica	gornja granica	min.	maks.
11 - 20	2	0.54	0.38	0.27	-2.89	3.97	0.27	0.81
21 - 30	10	0.32	0.13	0.04	0.23	0.41	0.17	0.57
31 - 50	13	0.28	0.17	0.05	0.18	0.38	0.02	0.64
51+	28	0.32	0.11	0.02	0.27	0.36	0.07	0.50
<b>Ukupno</b>	53	0.32	0.14	0.02	0.28	0.36	0.02	0.81

ANOVA;  $p = 0,112$

Tablica 10. Odnos vrijednosti koeficijenta varijabilnosti tvrdoće tumora (TSVC) i porasta veličine žarišne lezije – metastaze

promjer lezije u mm	N	TSCV prosjeak	SD	SE	95% CI za prosjek		min.	maks.
					donja granica	gornja granica		
11 - 20	14	0.37	0.17	0.05	0.27	0.47	0.13	0.71
21 - 30	9	0.25	0.13	0.04	0.16	0.35	0.05	0.53
31 - 50	14	0.27	0.12	0.03	0.20	0.34	0.08	0.46
51+	16	0.36	0.16	0.04	0.28	0.45	0.19	0.68
<b>Total</b>	53	0.32	0.15	0.02	0.28	0.36	0.05	0.71

ANOVA; p=0,12

Tablica 11. Odnos vrijednosti koeficijenta varijabilnosti tvrdoće tumora (TSVC) i porasta veličine žarišne lezije – hemangiomi

promjer lezije u mm	N	TSCV prosjeak	SD	SE	95% CI za prosjek		min.	maks.
					donja granica	gornja granica		
<= 10	13	0.69	0.12	0.03	0.62	0.77	0.51	0.85
11 - 20	25	0.43	0.18	0.04	0.35	0.51	0.07	0.75
21 - 30	9	0.26	0.14	0.05	0.15	0.37	0.05	0.45
31+	6	0.29	0.15	0.06	0.13	0.44	0.05	0.48
<b>Total</b>	53	0.45	0.22	0.03	0.39	0.51	0.05	0.85

ANOVA; p<0,001

Mnogi elastografski parametri pokazali su korelaciju među sobom. Promatrajući sve žarišne lezije zajedno, analiza je utvrdila da su sve moguće kombinacije korelacija svih tumorskih elastografskih parametara (srednja, minimalna i maksimalna vrijednost tvrdoće te koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije) i promjera lezija statistički značajne, a različite jačine (tablica 12).

Srednja vrijednost tvrdoće tumora uvijek je bila u statistički značajnoj i jakoj korelaciji sa minimalnom i maksimalnom vrijednosti tvrdoće tumora kroz sve grupe tumora pojedinačno, dok korelacija između minimalne i maksimalne vrijednosti tvrdoće lezija nije bila statistički značajna kroz grupe tumora pojedinačno. Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezija bio je u statistički značajnoj korelaciji sa minimalnom i maksimalnom vrijednosti tvrdoće lezija kroz sve grupe lezija, što je logično jer su se ti parametri koristili za njegov izračun, dok je korelacija TSVC-a sa srednjom vrijednosti tvrdoće lezija bila statistički značajna za sve lezije zajedno i za grupu hemangioma, ali ne i za grupu HCC-a i metastaza.

Detaljan prikaz korelacijskih matrica tumorskih elastografskih parametara i promjera lezija nalazi se u tablicama 12, 13, 14 i 15.

Tablica 12. Korelacijska matrica tumorskih elastografskih parametara i promjera žarišnih lezija - sve žarišne lezije zajedno

		promjer	srednja vrijednost tvrdoće lezije	minimalna vrijednost tvrdoće lezije	maksimalna vrijednost tvrdoće lezije	koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije
<b>Promjer</b>	korelacija	1	0.318	0.270	0.268	-0.199*
	p-vrijednost		<0.001	0.001	0.001	0.012
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.318	1	0.752	0.888	-0.300
	p-vrijednost	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.270	0.752	1	0.483	0.262
	p-vrijednost	0.001	<0.001		<0.001	0.001
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.268	0.888	0.483	1	-0.546
	p-vrijednost	0.001	<0.001	<0.001		<0.001
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	korelacija	-0.199*	-0.300	0.262	-0.546	1
	p-vrijednost	0.012	<0.001	0.001	<0.001	

Tablica 13. Korelacijska matrica tumorskih elastografskih parametara i promjera žarišnih lezija - HCC

		promjer	srednja vrijednost tvrdoće lezije	minimalna vrijednost tvrdoće lezije	maksimalna vrijednost tvrdoće lezije	koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije
<b>Promjer</b>	korelacija	1	-0.077	-0.042	-0.132	0.051
	p-vrijednost		0.582	0.766	0.345	0.718
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	-0.077	1	0.674	0.845	0.077
	p-vrijednost	0.582		<0.001	<0.001	0.585
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	-0.042	0.674	1	0.276*	-0.042
	p-vrijednost	0.766	<0.001		0.045	0.766
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	-0.132	0.845	0.276*	1	-0.364
	p-vrijednost	0.345	<0.001	0.045		0.007
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.051	0.077	0.706	-0.364	1
	p-vrijednost	0.718	0.585	<0.001	0.007	



Tablica 14. Korelacijska matrica tumorskih elastografskih parametara i promjera žarišnih lezija - metastaze

		<b>srednja vrijednost promjer</b>	<b>minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	
<b>Promjer</b>	korelacija	1	0.175	0.221	0.037	0.113
	p-vrijednost		0.210	0.112	0.791	0.419
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.175	1	0.596	0.773	-0.018
	p-vrijednost	0.210		<0.001	<0.001	0.901
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.221	0.596	1	0.135	0.737
	p-vrijednost	0.112	<0.001		0.335	<0.001
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.037	0.773	0.135	1	-0.482
	p-vrijednost	0.791	<0.001	0.335		<0.001
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.113	-0.018	0.737	-0.482	1
	p-vrijednost	0.419	0.901	<0.001	<0.001	

Tablica 15. Korelacijska matrica elastografskih parametara i promjera žarišnih lezija – hemangiomi

		<b>srednja vrijednost promjer</b>	<b>minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<b>koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	
<b>Promjer</b>	korelacija	1	0.456	0.140	0.392	-0.474
	p-vrijednost		0.001	0.318	0.004	<0.001
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.456	1	0.562	0.782	-0.461
	p-vrijednost	0.001		<0.001	<0.001	0.001
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.140	0.562	1	0.262	0.325
	p-vrijednost	0.318	<0.001		0.058	0.018
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	korelacija	0.392	0.782	0.262	1	-0.628
	p-vrijednost	0.004	<0.001	0.058		<0.001
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	korelacija	-0.474	-0.461	0.325	-0.628	1
	p-vrijednost	<0.001	0.001	0.018	<0.001	

### 5.3 Usporedba malignih i benignih tumora

U ovom istraživanju maligne žarišne lezije (HCC i metastaze) bile su statistički značajno tvrđe od benignih (hemangiomi) te su razlike između malignih i benignih tumora bile statistički značajne za sve mjerene tumorske elastografske parametre (tablica 16). Ovo je bilo za očekivati s obzirom da su pojedinačnom usporedbom grupa obje vrste malignih tumora u našoj kohorti bile statistički značajno različite po svim elastografskim parametrima u odnosu na hemangiome (tablica 7).

Također je parenhim jetre u kojem su se nalazile maligne žarišne lezije bio tvrdi u odnosu na parenhim jetre sa hemangiomima te je ta razlika bila statistički značajna,  $p < 0,001$  (tablica 16).

Izračunati omjer srednje tvrdoće lezije i tvrdoće parenhima za maligne lezije bio je 2.99 (SD 1.81), a za benigne 2.47 (SD 1.27) te je razlika među njima bila statistički značajna,  $p = 0.036$  (tablica 16).

Tablica 16. Usporedba malignih i benignih žarišnih po elastografskim parametrima

	Malignitet	N	Prosjek	SD	p-vrijednost
Srednja vrijednost tvrdoće lezije	Ne	53	13.68	6.29	<0,001
	Da	106	32.31	10.93	
Minimalna vrijednost tvrdoće lezije	Ne	53	7.59	3.41	<0,001
	Da	106	15.64	7.47	
Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije	Ne	53	21.29	14.63	<0,001
	Da	106	53.06	20.64	
Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije	Ne	53	0.45	0.22	<0,001
	Da	106	0.32	0.15	
Tvrdoća parenhima jetre	Ne	53	5.74	1.17	<0,001
	Da	106	14.57	9.17	
Omjer tvrdoće lezije i parenhima	Ne	53	2.47	1.27	0,036
	Da	106	2.99	1.81	

S ciljem utvrđivanja dijagnostičke točnosti elastografije u diferencijaciji malignih i benignih žarišnih lezija učinjena je ROC analiza za srednju, minimalnu i maksimalnu vrijednost tvrdoće lezija, koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije, tvrdoću parenhima jetre i omjer tvrdoće lezije i parenhima. Na slici 13 prikazane su ROC krivulje za navedene parametre, a u tablici 17 prikazane su vrijednosti površina ispod ROC krivulja zajedno sa p-vrijednostima, koje ukazuju da su se maligne i benigne žarišne lezije statistički značajno razlikovale po svim parametrima, osim po omjeru tvrdoće lezije i parenhima jetre, gdje nije bilo statistički značajne razlike.

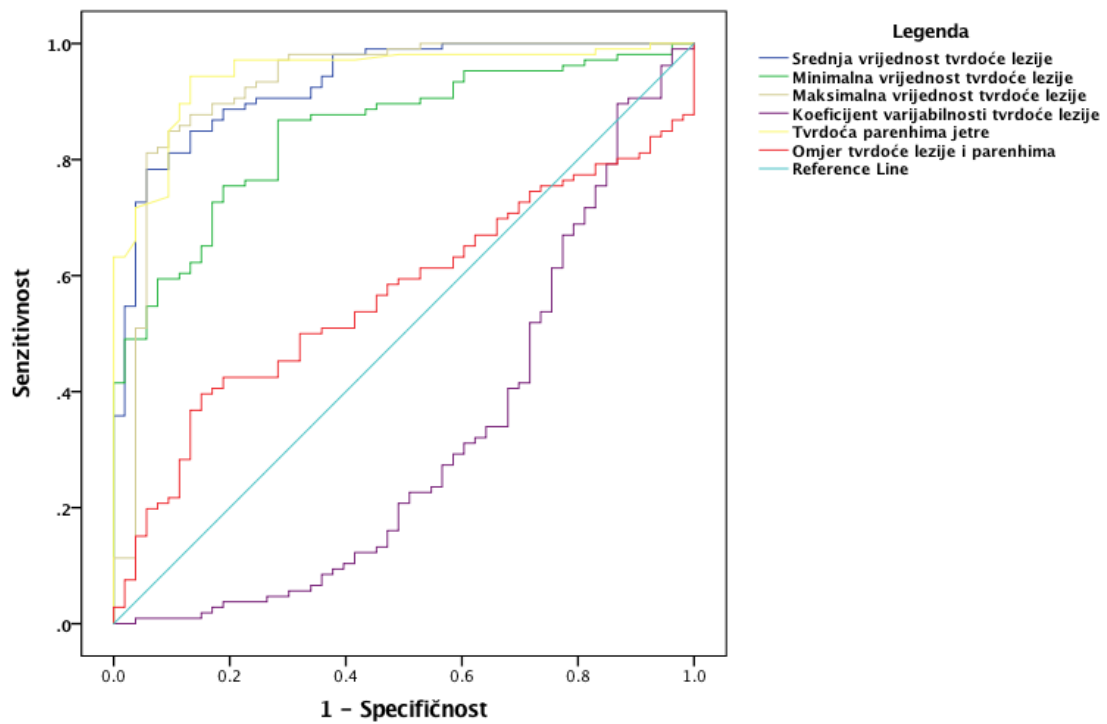
ROC krivulja bila je najpovoljnija za srednju vrijednost tvrdoće tumora pri čemu je površina ispod krivulje (AUC) bila 0.931 (95% CI 0.879-0.965) te se kod prijelome vrijednosti (engl. *cut-off*) srednje tvrdoće lezije od 22,04 kPa moglo razlikovati maligne od benignih tumora uz senzitivnost od 78.3% (95% CI 69.2-85.7) i specifičnost od 94.34% (95% CI 84.3-98.8), pozitivni omjer vjerojatnosti 13.83, negativni omjer vjerojatnosti 0.23, pozitivnu prediktivnu vrijednost 96.5% i negativnu prediktivnu vrijednost 68.5%. Kod prijelomne vrijednosti tvrdoće od 13.93 kPa, NPV za malignitet je bila 96.8 % te je samo jedan HCC klasificiran kao benigna lezija (0.9% lažno negativnih), dok je kod prijelomne vrijednosti od 33 kPa PPV za malignitet bila 98% te je samo jedan hemangiom klasificiran kao maligna lezija (1.9% lažno pozitivnih). U ovakvom pristupu 52.2% lezija je ostalo neklasificirano između ove dvije vrijednosti.

Tablica 18 donosi prijelomne vrijednosti za razlikovanje malignih i benignih tumora po svim parametrima sa optimalnom senzitivnošću i specifičnošću te pozitivnim omjerom vjerojatnosti, negativnim omjerom vjerojatnosti, pozitivnom i negativnom prediktivnom vrijednošću.

ROC krivulje za minimalnu i maksimalnu vrijednost tvrdoće lezije također su bile povoljne (AUROC 0.849, 95% CI 0.789-0.908 i AUROC 0.926, 95% CI 0.875-0.978) što je bilo za očekivati s obzirom na dobru korelaciju ovih elastografskih vrijednosti sa srednjom tvrdoćom lezije u pojedinačnim grupama i kod svih lezija zajedno (tablice 12, 13, 14 i 15), no njihova dijagnostička točnost je bila nešto slabija u odnosu na AUROC srednje vrijednosti tvrdoće.

I površina ispod krivulje za TSVC se pokazala povoljnom no ipak sa manjom diskriminativnom snagom (AUROC 0.683, 95% CI 0.605-0.755; senzitivnost 66.04%, specifičnost 67.92%, PPV 80.5% i NPV 50%), što je skladu sa razlikama po grupama tumora, pri čemu je TSCV bio statistički značajno različit kod obje grupe malignih lezija pojedinačno u odnosu na hemangiome, dok se nije razlikovao kod HCC i metastaza (tablica 7).

Iako je razlika u omjeru tvrdoće lezije i parenhima između malignih i benignih lezija bila statistički značajna ( $p=0,036$ ; tablica 16), prema ROC analizi ovaj parametar nije bio točan u diferencijaciji malignih i benignih lezija (AUROC 0.564, 95% CI 0.475-0.653, senzitivnost 39.62%, specifičnost 84.91%, PPV 84.0% i NPV 41.3;  $p=0.188$ ).



Slika 13. ROC krivulje dijagnostičke točnosti u razlikovanju malignih i benignih tumora u jetri

Tablica 17. Usporedba površina ispod ROC krivlja srednje, minimalne i maksimalne vrijednosti tvrdoće lezija, koeficijenta varijabilnosti tvrdoće lezije, tvrdoće parenhima jetre i omjera tvrdoće lezije i parenhima za diferencijaciju benignih i malignih tumora

Varijable	Površina	p-vrijednost	Asimptotski 95%-tni interval pouzdanosti	
			Donja granica	Gornja granica
Srednja vrijednost tvrdoće lezije	0.931	<0.001	0.891	0.970
Minimalna vrijednost tvrdoće lezije	0.849	<0.001	0.789	0.908
Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije	0.926	<0.001	0.875	0.978
Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije	0.683	<0.001	0.605	0.755
Tvrdoća parenhima jetre	0.947	<0.001	0.912	0.982
Omjer tvrdoće lezije i parenhima	0.564	0.188	0.475	0.653

Tablica 18. Prijelomne vrijednosti za razlikovanje malignih i benignih tumora po svim elastografskim parametrima, sa optimiziranom senzitivnošću i specifičnošću te pozitivnim omjerom vjerojatnosti, negativnim omjerom vjerojatnosti, pozitivnom i negativnom prediktivnom vrijednošću

Varijabla	Prijeloma vrijednost	Senz. (%)	95% CI	Spec. (%)	95% CI	+LR	-LR	+PV	-PV
Srednja vrijednost tvrdoće lezije (kPa)	>22.04	78.30	69.2 - 85.7	94.34	84.3 - 98.8	13.83	0.23	96.5	68.5
Minimalna vrijednost tvrdoće lezije (kPa)	>8.62	86.79	78.8 - 92.6	71.70	57.7 - 83.2	3.07	0.18	86.0	73.1
Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije (kPa)	>32.55	84.91	76.6 - 91.1	90.57	79.3 - 96.8	9.00	0.17	94.7	75.0
Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije	<=0.33	66.04	56.2 - 75.0	67.92	53.7 - 80.1	2.06	0.50	80.5	50.0
Tvrdoća parenhima jetre (kPa)	>6.6	94.34	88.1 - 97.9	86.79	74.7 - 94.5	7.14	0.07	93.5	88.5
Omjer tvrdoće lezije i parenhima	>3.42	39.62	30.3 - 49.6	84.91	72.4 - 93.2	2.63	0.71	84.0	41.3

## 5.4 Usporedba tumora u cirotičnoj i necirotičnoj jetri

U našem uzorku veći dio tumora nalazio se u necirotičnoj jetri, N=111, dok se manji dio nalazio u cirotično promijenjenoj jetri, N=48 (tablica 19), a razlika u broju lezija u cirotičnoj i necirotičnoj jetri po grupama tumora bila je statistički značajna ( $\chi^2=92,39$ ;  $df=2$ ;  $p<0,001$ ). Pri tome smo cirozu definirali prijelomnom vrijednošću srednje tvrdoće parenhima jetre od 11.1 kPa, prema ranije publiciranim rezultatima drugih istraživača (76).

Tablica 19. Broj i postotak lezija po grupama u cirotičnoj i necirotičnoj jetri

			HCC	metastaze	hemangiomi	Ukupno
<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	<b>&lt;11,1 kPa</b>	N	11	47	53	111
		%	9.9%	42.3%	47.7%	100.0%
	<b>&gt;=11,1 kPa</b>	N	42	6	0	48
		%	87.5%	12.5%	0.0%	100.0%
<b>Ukupno</b>	N	53	53	53	159	
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%	

$\chi^2=92,39$ ;  $df=2$ ;  $p<0,001$

Statistička analiza i usporedba žarišnih lezija u cirotičnoj i necirotičnoj jetri bila je limitirana neadekvatnom zastupljenošću lezija po grupama tumora u cirotičnoj i necirotičnoj jetri. U cirotičnoj jetri nije bio niti jedan hemangiom te stoga usporedba elastografskih parametara hemangioma u cirotičnoj i necirotičnoj jetri nije moguća. Također je u cirotičnoj jetri bilo svega šest metastaza, a u necirotičnoj jetri 11 HCC-a što umanjuje statističku moć kod usporedbi ovih vrsta lezija u cirotičnoj i necirotičnoj jetri.

Što se tiče svih žarišnih lezija zajedno, postojala je statistički značajna razlika u vrijednostima elastografskih parametara između lezija u cirotičnoj i necirotičnoj jetri (osim u TSVK), što je logično jer je udio malignih lezija (koje su tvrđe) u cirotičnoj jetri 100% (tablica 20).

Tablica 20. Usporedba elastografskih parametara svih tumora u cirotičnoj i necirotičnoj jetri

	<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	<b>broj</b>	<b>prosjek</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>p-vrijednost</b>
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	111	24.19	13.61	1.29	0,005
	>=11,1 kPa	48	30.52	10.47	1.51	
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	111	11.67	7.03	0.67	0,001
	>=11,1 kPa	48	15.93	7.60	1.10	
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	111	39.15	25.71	2.44	0,008
	>=11,1 kPa	48	50.16	17.75	2.56	
<b>Omjer tvrdoće lezije i parenhima</b>	<11,1 kPa	111	3.36	1.66	0.16	<0,001
	>=11,1 kPa	48	1.57	0.76	0.11	
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	111	0.37	0.20	0.02	0,309
	>=11,1 kPa	48	0.34	0.16	0.02	

S druge strane kada je analizirana grupa HCC-ova u cirotičnoj i necirotičnoj jetri, nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima elastografskih parametara tumora koji se nalaze u cirotičnoj naspram onih koje se nalaze u necirotičnoj jetri (tablica 21) što u ovom malom uzorku ukazuje na činjenicu da tvrdoća parenhima u kojoj se nalazi određena lezija ne utječe na mjerenje tvrdoće same lezije. Jedina statistički značajna razlika je bila u omjeru tvrdoće lezije i parenhima, što je bilo za očekivati s obzirom da su jedni bili smješteni u tvrdoj, a drugi u mekšoj jetri te bilo kakva diferencijacija ne temelju ovog parametra nema smisla. Isti obrazac se pokazao kada je analizirana grupa metastaza na cirotičnoj naspram necirotičnoj jetri (tablica 22).

Tablica 21. Usporedba elastografskih parametara HCC-ova u cirotičnoj i necirotičnoj jetri

	<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	<b>broj</b>	<b>prosjek</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>p-vrijednost</b>
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	11	23.21	12.83	3.87	0,08
	>=11,1 kPa	42	29.83	10.27	1.58	
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	11	11.02	8.48	2.56	0,12
	>=11,1 kPa	42	14.98	7.02	1.08	
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	11	38.74	23.19	6.99	0,08
	>=11,1 kPa	42	50.39	18.16	2.80	
<b>Omjer tvrdoće lezije i parenhima</b>	<11,1 kPa	11	2.66	1.35	0.41	<0,001
	>=11,1 kPa	42	1.44	0.68	0.10	
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	11	0.30	0.12	0.04	0,654
	>=11,1 kPa	42	0.32	0.15	0.02	

Tablica 22. Usporedba elastografskih parametara metastaza u cirotičnoj i necirotičnoj jetri

	<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	<b>broj</b>	<b>prosjek</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>p-vrijednost</b>
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	47	36.28	9.26	1.35	0,82
	>=11,1 kPa	6	35.32	11.52	4.70	
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	47	16.43	6.85	1.00	0,05
	>=11,1 kPa	6	22.55	8.84	3.61	
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	47	59.39	20.86	3.04	0,23
	>=11,1 kPa	6	48.53	15.90	6.49	
<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	<11,1 kPa	47	8.29	1.57	0.23	<0,001
	>=11,1 kPa	6	14.42	1.51	0.62	
<b>Omjer tvrdoće lezije i parenhima</b>	<11,1 kPa	47	4.53	1.40	0.20	0,001
	>=11,1 kPa	6	2.45	0.79	0.32	
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	<11,1 kPa	47	0.30	0.14	0.02	0,01
	>=11,1 kPa	6	0.47	0.15	0.06	



Kada su uspoređivane maligne i benigne lezije na terenu cirotične i necirotične jetre, ponovno usporedba na terenu cirotične jetre nije bila moguća jer u cirotičnoj jetri nije bilo niti jedne benigne žarišne lezije - hemangioma. U necirotičnoj jetri usporedba malignih i benignih žarišnih lezija pokazala je isti obrazac kao i kada su maligne i benigne lezije uspoređene neovisno u tvrdoći parenhima jetre, pri čemu su svi elastografski parametri pokazali statistički značajnu razliku malignih naspram benignih žarišnih lezija (tablica 23).

Tablica 23. Usporedba malignih i benignih žarišnih lezija po elastografskim parametrima u necirotičnoj jetri

	<b>Malignitet</b>	<b>broj</b>	<b>prosjek</b>	<b>SD</b>	<b>SE</b>	<b>p-vrijednost</b>
<b>Srednja vrijednost tvrdoće lezije</b>	Ne	53	13.68	6.29	0.86	<0,001
	Da	58	33.80	11.17	1.47	
<b>Minimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	Ne	53	7.59	3.41	0.47	<0,001
	Da	58	15.41	7.42	0.97	
<b>Maksimalna vrijednost tvrdoće lezije</b>	Ne	53	21.29	14.63	2.01	<0,001
	Da	58	55.47	22.63	2.97	
<b>Tvrdoća parenhima jetre</b>	Ne	53	5.74	1.17	0.16	<0,001
	Da	58	8.39	1.59	0.21	
<b>Omjer tvrdoće lezije i parenhima</b>	Ne	53	2.47	1.27	0.17	<0,001
	Da	58	4.17	1.57	0.21	
<b>Koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije</b>	Ne	53	0.45	0.22	0.03	<0,001
	Da	58	0.30	0.14	0.02	

## 5.5 Predikcija maligniteta

Predikciji maligniteta pristupilo se preko dva modela: logistička regresijska analiza i umjetna neuronska mreža koja je relativno nova statistička metoda pogodna za biološke sustave, a na kraju su ova dva modela uspoređena.

### 5.5.1 Predikcija maligniteta logističkom regresijom

U univarijantnoj logističkoj regresiji četiri su se parametra pokazala kao statistički značajna u predikciji maligniteta ( $p < 0.05$ ): promjer lezije, srednja vrijednost tvrdoće, koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije i tvrdoća parenhima jetre. Potom je cijeli uzorak nasumce podijeljen na dvije grupe: testnu ( $N=79$ ) te validacijsku ( $N=80$ ): Predikcijski parametri analizirani u na testnoj grupi u multivarijantnoj logističkoj regresiji, pri čemu koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije nije bio značajan prediktor ( $p > 0,05$ ). Tri statistički signifikantna prediktora na multivarijantnoj analizi su potom iskorištena za novu multivarijantnu regresiju, rezultati koje su prikazani u tablici 24.

Tablica 24. Logistička regresijska analiza

Parametar	B	S.E.	df	p- vrijednost	OR	95% interval pouzdanosti za OR	
						donja granica	gornja granica
Promjer	0.054	0.024	1	0.026	1.056	1.006	1.108
Srednja vrijednost tvrdoće lezije	0.271	0.073	1	<0.001	1.311	1.136	1.514
Tvrdoća parenhima jetre	1.221	0.322	1	<0.001	3.390	1.804	6.372
Konstanta	-15.957	3.715	1	<0.001	<0.001		

Iz regresijske analize dobili smo sljedeću jednadžbu regresijskog modela predikcije:

$$\text{Logg odds} = [0,054 \times \text{promjer lezije}] + [0,271 \times \text{srednja vrijednost tvrdoće lezije}] + [1,221 \times \text{tvrdoća parenhima}] - 15,957$$

Pri tome je vjerojatnost maligniteta:

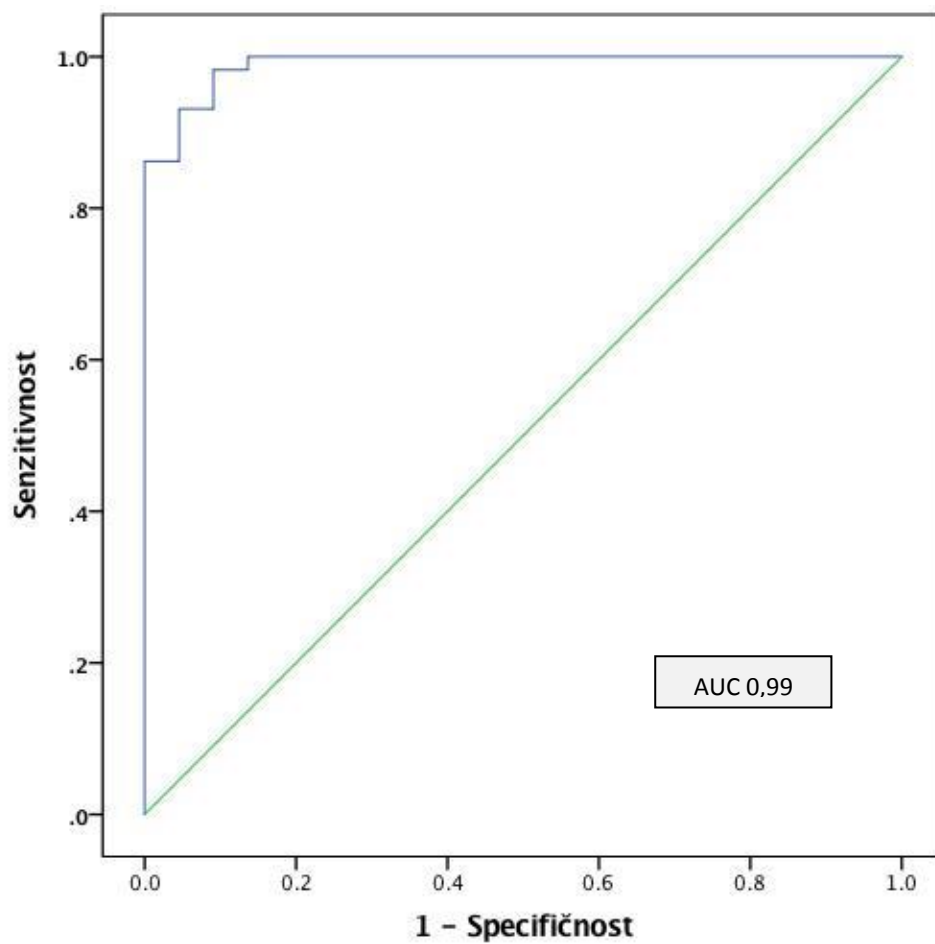
$$\text{Vjerojatnost maligniteta} = \exp(\log \text{ odds}) / (1 + \exp(\log \text{ odds}))$$

Potom je na validacijskoj kohorti (N=80) procijenjena dijagnostička točnost predikcije maligniteta regresijom. ROC analiza je pokazala izrazito povoljnu krivulju ovog modela u predikciji maligniteta (AUROC 0.99; 95% CI 0.975-1.0; tablica 25, slika 14) uz izvanredne parametre dijagnostičke točnosti (senzitivnost 98,3%; specifičnost 90,9%; PPV 96,6%; NPV 95,2%; LR+ 10,81; LR- 0,02).

Tablica 25. Dijagnostička točnost prediktivnog alata baziranog na logističkoj regresiji u validacijskoj kohorti

		Stvarno stanje (malignitet da/ne)	Predviđeno stanje (malignitet da/ne)		Ukupno
			ne	da	
<b>Malignitet</b>	<b>ne</b>	broj	20	2	22
		% sa malignitetom	90.9%	9.1%	100.0%
	<b>da</b>	broj	1	57	58
		% sa malignitetom	1.7%	98.3%	100%
<b>Ukupno (N=80)</b>	broj	21	59	80	
	% sa malignitetom	26.3%	73.8%	100%	

\*Senz. 98,3%; Spec. 90,9%; PPV 96,6%; NPV 95,2%; LR+ 10,81; LR- 0,02



Slika 14. ROC krivulja dijagnostičke točnosti za razlikovanje malignih i benignih žarišnih lezija u jetri uz pomoć logističke regresije

## 5.5.2 Predikcija maligniteta umjetnom neuronskom mrežom

Konstrukciji umjetne neuronske mreže kao prediktivnog alata pristupilo se prema metodologiji opisanoj u poglavlju o metodama, a uzorak je podijeljen u odnosu 50 : 25 : 25 (trening grupa : testna grupa : validacijska grupa).

Kao ulazne varijable za predikciju korišteni su: promjer lezije, srednja vrijednost tvrdoće lezije, minimalna vrijednost tvrdoće lezije, maksimalna vrijednost tvrdoće lezije, tvrdoća parenhima jetre, omjer tvrdoće lezije i parenhima te koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije. Izlazna varijabla za trening i potvrdu točnosti bila je dihotomna varijabla maligniteta (DA/NE), a konstruirana je iz grupe HCC-a i metastaza (malignitet) i hemangioma (bez maligniteta). Arhitektura mreže je prikazana na slici 1 (u uvodu, u paragrafu o dijagnostičkim predikcijskim modelima kod žarišnih lezija u jetri).

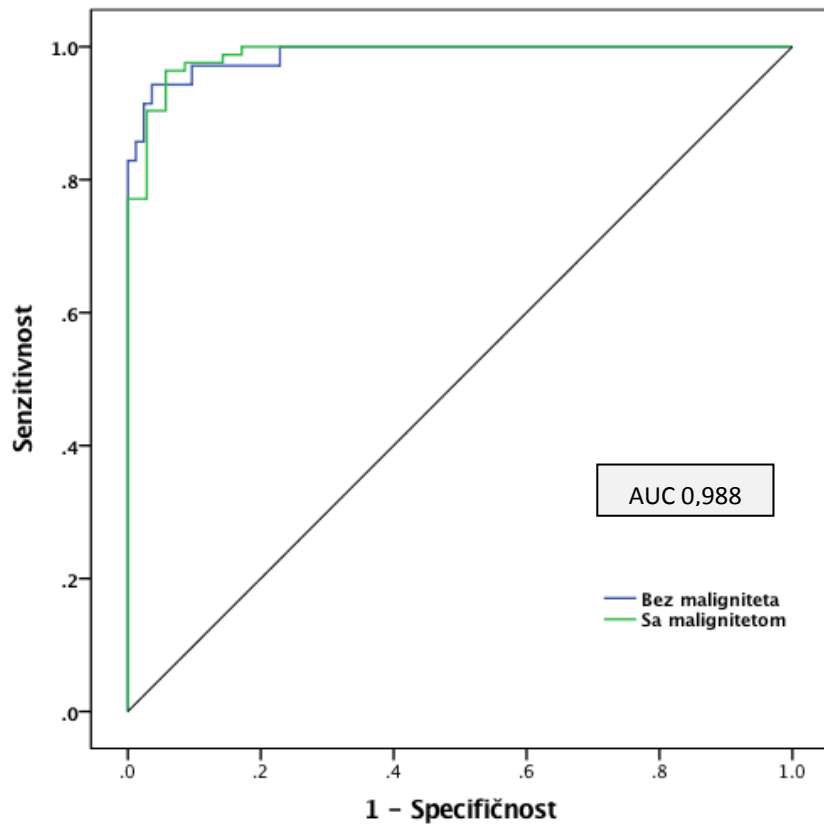
ANN je prema rezultatima imala odličnu predikcijsku snagu kada je u pitanju detekcija maligniteta u kompletnom uzorku (tablica 26), odnosno u validacijskoj skupini koja nije korištena ni u jednom koraku treninga mreže, pri čemu je točnost predikcije iznosila 97,6%, sa izvanrednim ostalim parametrima dijagnostičke točnosti (senzitivnost 100%; specifičnost 94,4%; PPV 95,8%; NPV 100%; LR+ 18,0; LR- 0,0). Ako ovo prevedemo u brojke, u validacijskoj grupi ANN je samo jedan hemangiom krivo klasificirala kao malignu leziju, dok je sve druge žarišne lezije (ukupno 41) točno klasificirala.

ROC analiza dijagnostičke točnosti ANN u predikciji prisustva/odsustva maligniteta na osnovu elastografskih parametara je pokazala površinu ispod krivulje od 0,988 (95% CI 0,945-1;  $p < 0,001$ ) za oba ishoda (slika 15).

Tablica 26. Dijagnostička točnost ANN

	Stvarno stanje (malignitet da/ne)	Predviđeno		Ukupno
		Ne	Da	
<b>Trening grupa (N=72)</b>	Ne	20	0	100.0%
	Da	1	51	98.1%
	<b>Ukupno</b>	29.2%	70.8%	98.6%
<b>Testna grupa (N=46)</b>	Ne	12	3	80.0%
	Da	1	30	96.8%
	<b>Ukupno</b>	28.3%	71.7%	91.3%
<b>*Validacijska grupa (N=41)</b>	Ne	17	1	94.4%
	Da	0	23	100.0%
	<b>Ukupno</b>	41.5%	58.5%	97.6%

\*Senz. 100%; Spec. 94,4%; PPV 95,8%; NPV 100%; LR+ 18,0; LR- 0,0



Slika 15. ROC krivulje dijagnostičke točnosti u razlikovanju malignih i benignih žarišnih lezija u jetri uz pomoć ANN

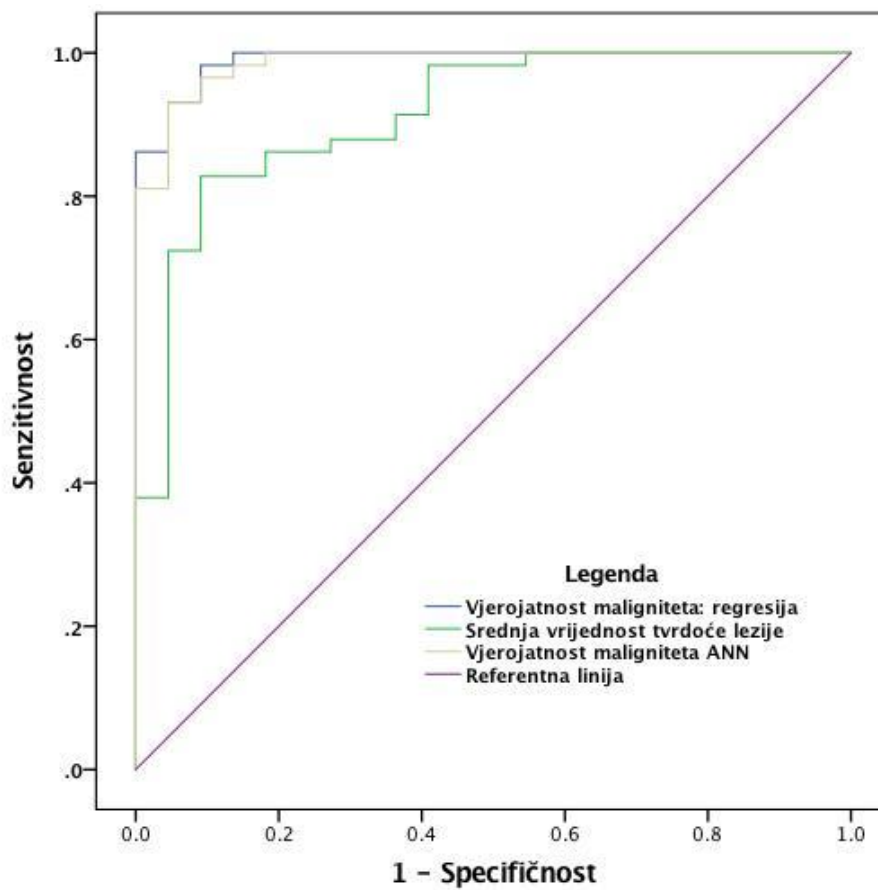
### 5.5.3 Usporedba korištenih modela predikcije maligniteta

Uspoređene su ROC krivulje dijagnostičke točnosti korištenih predikcijska modela na istoj validacijskoj grupi (N=80), pri čemu se pokazalo da nema značajne razlike, ali je regresijski model blago bolji (tablica 27).

S obzirom da oba predikcijska modela zahtijevaju složeno računanje te moraju biti implementirani kao aplikacija u računalo (ili u budućnosti u UZV aparat), na validacijskoj grupi usporedili smo dijagnostičku točnost najjednostavnijeg predikcijskog parametra – srednje vrijednosti tvrdoće, sa točnošću dva korištena predikcijska modela. ROC analiza je pokazala da su oba predikcijska alata statistički značajno bolja u predikciji maligniteta odnosu na srednju vrijednost tvrdoće lezije: AUROC 0.99 za regresiju vs. AUROC 0.914 za srednju vrijednost tvrdoće lezije,  $P=0.0133$  te 0.986 za ANN vs. AUROC 0.914 za srednju vrijednost tvrdoće lezije,  $P=0.03$ , dok razlika između regresije i ANN nije bila statistički značajno različita,  $P=0.58$  (tablica 27). Na slici 16 prikazane su ROC krivulje dijagnostičke točnosti u predikciji maligniteta uz pomoću srednje vrijednosti tvrdoće te dva korištena predikcijska modela: regresijski i ANN.

Tablica 27. Predikcija maligniteta u validacijskoj kohorti pomoću srednje vrijednosti tvrdoće te dva korištena predikcijska modela: regresijski i ANN

Predikcijski model	Površina	SE	p-vrijednost	Asimptotski 95%-tni interval pouzdanosti	
				Donja granica	Gornja granica
Regresijski model	0.990	0.008	<0.001	0.974	1.000
ANN	0.986	0.010	<0.001	0.966	1.000
Srednja vrijednost tvrdoće lezije	0.914	0.035	<0.001	0.845	0.983



Slika 16. ROC krivulje dijagnostičke točnosti u predikciji maligniteta uz pomoću srednje vrijednosti tvrdoće te dva korištena predikcijska modela: regresijski i ANN.



## 6 RASPRAVA

S obzirom na sve veću incidenciju tumora u jetri općenito, veću dostupnost slikovnih metoda te češću detekciju poglavito benignih tumora u asimptomatskih bolesnika (tzv. incidentalomi) koji su podvrgnuti slikovnom prikazu abdominalnih organa iz raznih razloga, rast zdravstvenih troškova za razjašnjenje etiologije žarišnih lezija u jetri je u stalnom porastu. Stoga se u novije vrijeme zbog svojih prednosti u odnosu na standardne slikovne radiološke metode koje se koriste za definiranje etiologije žarišnih lezija u jetri (prvenstveno kontrastom potpomognuti CT i MRI i u novije vrijeme CEUS), ultrazvučna elastografija nudi kao metoda koja bi mogla pojednostavniti i smanjiti troškove definiranja prirode žarišnih lezija u jetri. Elastografija je već prihvaćena od strane kliničara za pouzdanu evaluaciju fibroze u jetri te je ušla u smjernice i algoritme za obradu pacijenata sa difuznim bolestima jetre (63), a također je ušla u smjernice za procjenu portalne hipertenzije (80), no do sada nije našla svoje mjesto u dijagnostičkim algoritmima za obradu bolesnika sa žarišnim lezijama u jetri, iako recentne smjernice eminentnih društava navode potencijal ultrazvučne elastografije kao dodatne metode za rasvjetljenje etiologije žarišnih lezija u određenim grupama pacijenata (55).

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se tumori u jetri razlikuju u tvrdoći mjereno dvodimenzionalnom kvantitativnom ultrazvučnom elastografijom u stvarnom vremenu (RT-2D-SWE) te da bi se tvrdoća mogla koristiti za diferencijaciju malignih i benignih tumora u jetri, što je u skladu sa publiciranim istraživanjima (64,65,88,89). I rezultati sa drugim elastografskim metodama (TE, RTE i ARFI) potvrdili su tezu da su maligne žarišne lezije načelno tvrđe od benignih (92,93,100,126,127). No ova su istraživanja rađena elastografskim metodama 1) koje su konstruirane isključivo za mjerenje tvrdoće parenhima jetre i nisu pogodne za ciljano mjerenje tvrdoće žarišnih lezija (TE), 2) ne mogu kvantificirati tvrdoću (RTE) već samo prikazuju relativnu tvrdoću ili 3) nemaju mogućnost simultanog prikaza klasičnog B-moda i elasticiteta, te sve navedeno predstavlja limitirajuće faktore kod analize žarišnih lezija. S obzirom da je RT-2D-SWE najnaprednija elastografska metoda koja nema ove limitirajuće faktore, nameće se kao metoda izbora među elastografskim metodama za neinvazivnu evaluaciju i karakterizaciju žarišnih lezija u jetri.

Naši rezultati ukazuju da su maligne lezije tvrđe od benignih mjereno metodom RT-2D-SWE (tablica 16) što bi se potencijalno moglo koristiti za diferencijaciju malignih i benignih žarišnih lezija. Kako je ranije navedeno, prema našim saznanjima do trenutka pisanja ove disertacije u međunarodnim indeksiranim časopisima publicirano je samo pet radova koji istražuju primjenu RT-2D-SWE kod malignih i benignih žarišnih lezija u jetri, od kojih je jedno izvedeno isključivo u pedijatrijskoj populaciji. Guibal i suradnici pokazali su da su maligne žarišne lezije tvrđe od benignih, imaju veću

intratumoralnu varijabilnost tvrdoće te da je omjer tvrdoće lezije i parenhima niži kod većine HCC-ova (64), a isti obrasci su bili prisutni i u našem istraživanju. Navedena studija limitirana je malim brojem ispitanika, posebice u nekim grupama, što utječe na pouzdanost zaključaka izvedenih iz istraživanja. Drugo publicirano istraživanje Renota i suradnika (65) imalo je svega tri (2,8%) maligne od ukupno 105 lezija, zbog čega nije bilo moguće zapažati razlike malignih i benignih tumora kod tolike disproporcije između grupa. Istraživanje Tian-a i suradnika (88) također je pokazalo da se maligne i benigne lezije statistički značajno razlikuju u tvrdoći (srednjoj, minimalnoj i maksimalnoj), no ovo istraživanje pokazuje određene razlike u obrascima jer je najtočniji parametar za diferencijaciju malignog i benignog bila maksimalna tvrdoća lezije (AUROC za maksimalnu tvrdoću 0.92 vs. 0.879 za srednju tvrdoću lezije), a isti obrazac je zabilježen i kod evaluacije žarišnih lezija u dojčkama metodom RT-2D-SWE (103,130). U našem istraživanju površine ispod ROC krivulja zapravo su bile gotovo jednake za srednju i maksimalnu vrijednost uz diskretnu, gotovo zanemarivu prednost srednje tvrdoće (AUROC 0.931 vs 0.926). S obzirom da drugi autori nisu pokazali superiornost maksimalne vrijednosti tvrdoće, a uvažavajući težnju za što preciznijom diferencijacijom i što manje lažno negativnih rezultata, vjerujemo da će se na većem broju lezija i kroz sumaciju istraživanja u meta-analizama pokazati koji je od ova dva parametra bolji.

Zanimljivo je da se prema rezultatima našeg istraživanja mogu razlikovati HCC i metastaze po vrijednosti srednje i maksimalne tvrdoće lezije (tablica 6 i 7; srednja vrijednost tvrdoće HCC 28.46 kPa, metastaza 36.17;  $p < 0,01$ ). Ovakve rezultate Guibal nije potvrdio tj. nije mogao prema vrijednostima srednje tvrdoće razlikovati ove dvije skupine, no za napomenuti je da je imao duplo manje HCC-ova nego naša kohorta (64). Mogućnost razlikovanja HCC i metastaza nije potvrdio niti Le Hang sa pSWE (98). S druge strane Tian i suradnici našli su statistički značajnu razliku u maksimalnoj tvrdoći HCC (N=103) i metastaza (n=35), 61.83 kPa vs. 90.32 kPa,  $p < 0.0237$ , dok nisu naveli podatke za srednju vrijednost tvrdoće lezije (88).

U našem istraživanju pojedinačno gledano srednja vrijednost tvrdoće parenhima jetre statistički se značajno razlikovala među grupama tumora (tablica 7) te također između malignih i benignih tumora (tablica 16), pri čemu se sa viskom točnošću moglo po ovom parametru razlikovati maligne i benigne lezije (AUROC 0.947; kod prijelomne vrijednosti 6.6 kPa senzitivnost 94.34%, specifičnost 86.79%, PPV 93.5, NPV 88.5); tablice 17 i 18, slika 13. Razlog tome je što benigne tumore u našoj kohorti čine samo hemangiomi koji su u našoj kohorti u velikoj većini detektirani u potpuno zdravoj jetri, dok je kod bilo koje vrste malignih lezija tvrdoća u prosjeku viša: kod HCC-a jer ih se većina javlja u fibrotičnoj/cirotičnoj jetri, a kod metastaza je vjerojatno tvrdoća parenhima jetre nešto povišena zbog lokalnog kompresivnog učinka većeg broja metastaza na okolni parenhim ili moguće veće

prevalencije masne jetre i fibroze u bolesnika oboljelih od malignih bolesti. Naime, gotovo sve maligne lezije nalazile su se u jetri tvrdoće parenhima većem od 6,6 kPa, a gotovo svi hemangiomi u jetrenom parenhimu mekšem od 6,6 kPa. U našem istraživanju nismo posebno analizirali zastupljenost masne jetre, pa prethodni zaključak tj. pretpostavku izvlačimo iz činjenice da je pretilost čimbenik rizika za razvoj niza malignih tumora (131,132), a da prevalencija masne jetre raste s porastom BMI (133,134). Slijedom toga u bolesnika oboljelih od maligne bolesti može se očekivati veća zastupljenost masne jetre i fibroze.

Omjer tvrdoće HCC-ova i parenhima jetre je relativno nizak (1.69) u odnosu na druge dvije grupe tumora u našoj kohorti (4.29 kod metastaza i 2.47 kod hemangioma). S obzirom da je tvrdoća cirotične jetre u kakvoj je detektirana većina HCC-ova visoka, omjer tvrdoće lezije i parenhima relativno nizak. Predmnijevani spomenuti lokalni kompresivni učinak, lokalna kolestaza ili veća razina fibroze u bolesnika sa metastatskom bolesti jetre rezultira nešto povišenom tvrdoćom parenhima jetre, no ipak je ona značajno niža u odnosu na cirotičnu jetru, te s obzirom da su metastaze najtvrđe žarišne lezije u ovoj kohorti omjer tvrdoće lezije i parenhima je visok. S drug strane hemangiomi, iako najmekši u našoj kohorti, redovito se javljaju na podlozi jetre potpuno uredne tvrdoće parenhima zbog čega je omjer tvrdoće lezije i parenhima viši u odnosu na isti parametar u grupi HCC-a. Drugi istraživači koji su uključili više vrsta tumora u svoja istraživanja, pronašli su da ova biološka pojava nastajanja HCC-ova (i CCC-ova) na terenu ciroze može koristiti u diferencijaciji raznih vrsta malignih žarišnih lezija u jetri: HCC vs CC vs metastaze (88).

## 6.1 Predikcija maligniteta

U našem istraživanju koristili smo sveobuhvatni pristup koji uzima u obzir: 1) tumorske elastografske parametre (vrijednost srednje, minimalne i maksimalne tvrdoće tumora), 2) izvedeni parametar intratumoralne varijabilnosti tvrdoće kao mjeru heterogenosti tvrdoće koja je u korelaciji prirodom žarišne lezije, 3) tvrdoću parenhima jetre te 4) izvedeni parametar omjera tvrdoće lezije i parenhima koji je u korelaciji opet sa prirodom lezije koja se javlja na podlozi zdrave ili fibrotične/cirotične jetre. U logističkoj regresijskoj analizi tri su se parametra pokazala kao prediktori za diferencijaciju malignih i benignih lezija: promjer lezije, srednja vrijednost tvrdoće lezije i tvrdoća parenhima jetre. Regresijski model sa regresijskom jednadžbom predikcije pokazao se izrazito točnim na validacijskoj skupini: AUROC 0.99; 95% CI 0.975-1.0, senzitivnost 98,3%, specifičnost 90,9%, PPV 96,6%, NPV 95,2%. S druge strane konstruirani prediktivni alat na bazi umjetne neuronske mreže (ANN) kao relativno nove statističke metode koja se bazira na principu učenja, kao ulazne varijable za predikciju koristio je promjer lezije i sve elastografske parametre (srednja, minimalna i maksimalna vrijednost tvrdoće lezije, tvrdoća parenhima jetre, omjer tvrdoće lezije i parenhima te koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije. Vrlo visoka točnost i ovog predikcijskog modela sa AUROC 0.986 (95% CI 0.966-1.000) te izvanrednim ostalim parametrima dijagnostičke točnosti (senzitivnost 100%; specifičnost 94,4%; PPV 95,8%; NPV 100%) potvrđuje vrijednost elastografije kao pouzdane metode u evaluaciji žarišnih lezija u jetri, a dodatno i neiskorišteni potencijal umjetnih neuronskih mreža u medicinskoj dijagnostici. Pouzdanost ANN ranije je demonstrirana u hepatologiji kod bolesnika sa cirozom jetre. MELD je najrašireniji bodovni sustav u svijetu za predikciju ishoda bolesnika sa cirozom, koji se koristi kod procjene potrebe za slanjem bolesnika na konzultacije i u rangiranju lista prioriteta za transplantaciju jetre. S obzirom da su bolesnici sa cirozom zapravo složeni biološki sustavi u kojima su veze između varijabli koje određuju prognozu vrlo kompleksne i nelinearne, Cucchetti i suradnici su konstruirali ANN sa deset ulaznih laboratorijskih rutinskih podataka te su predikcijsku snagu ovog alata usporedili sa validiranom MELD bodovnom ljestvicom (106). U validacijskim kohortama ANN su se pokazale statistički značajno točnije u odnosu na MELD: u internoj validacijskoj kohorti ANN AUROC je bio 0.95 naspram MELD AUROC 0.85;  $p = 0.032$ , a u neovisnoj vanjskoj kohorti ANN AUROC je bio 0.96 naspram MELD AUROC 0.86;  $p = 0.044$ .

Usporedba regresijskog modela i ANN-a ROC analizom na istoj validacijskoj kohorti pokazala je da su oba modela vrlo točna te su razlike vrlo male u korist regresijskog modela (AUROC za regresiju 0.99 i 0.986 za ANN;  $p=0.58$ ). S obzirom da prema ovom istraživanju sofisticirana predikcija ANN-om nema prednost nad logističkom regresijom koja je s obzirom na ranija istraživanja na neki način bila očekivana, ovakve modele bi trebalo testirati i validirati u svakom kliničkom kontekstu prije

eventualne uporabe. S druge strane jednostavna predikcija uz pomoć jedinstvene prijelomne vrijednosti srednje tvrdoće lezije također je imala visok dijagnostički potencijal za diferencijaciju malignog i benignog (AUROC na validacijskoj grupi 0.914). Ovakav model predikcije klinički je vrlo praktičan jer zahtjeva pamćenje samo jedinstvene prijelome vrijednosti. No iako statistički gledano ima dobru diskriminacijsku snagu, u kliničkoj praksi ovakva jednostavna predikcija ima svoje nedostatke i potencijalne medikolegalne implikacije. Kod optimizirane prijelome vrijednosti srednje tvrdoće za diferencijaciju malignih i benignih žarišnih lezija u ovom istraživanju od 22.04 kPa, 87 od 106 (82,1%) malignih tumora bi bilo točno klasificirano kao maligno, dok bi tri metastaze i 16 HCC-ova (ukupno 17.9%) bilo krivo klasificirano kao benigno. S obzirom na kliničke implikacije misklasificiranih malignih lezija kao benignih tj. lažno negativnih nalaza (17.9%), u kliničkoj praksi bi se mogli poslužiti dihotomnim prijelomnim vrijednostima. Kod prijelomne vrijednosti srednje tvrdoće od 13.93 kPa, NPV je za malignitet je 96.8 % te bi kod primjene ove prijelomne vrijednosti samo jedna maligna lezija (HCC) bila lažno klasificirana kao benigna (0.9% lažno negativnih). S druge strane kod prijelomne vrijednosti od 33 kPa, PPV je 98% te bi samo jedan hemangiom bio lažno klasificiran kao malignitet (1.9% lažno pozitivnih). Kod bi u analizi koristili samo ove dvije vrijednosti, 31 od 159 lezija bilo klasificirano kao benigno (19.4%) od kojih bi jedna bila maligna što daje točnost od 96.7%, dok bi 52 od 159 lezija bile klasificirane kao maligne od kojih bi jedna bila benigna, što daje točnost od 98.1%, ali bi 83 od 159 lezija (52.2%) ostalo bi u 'sivoj zoni'. Zbog svega navedenog za sada ne bismo mogli preporučiti isključivo oslanjanje na elastografsku analizu uz jedinstvene prijelomne vrijednosti u procjeni malignosti/benignosti žarišne lezije u jetri. Međutim, rezultati ovog istraživanja upućuju da elastografska analiza može biti od pomoći prilikom evaluacije neke žarišne lezije u jetri u slučaju kad je nalaz drugih slikovnih metoda dvojben ili pak kad morfološke, doplerske i kliničke značajke ukazuju na neku specifičnu vrstu lezije, u kojem slučaju bi kompatibilan elastografski nalaz, prvenstveno u osipanom dihotomnom pristupu, pojačao vjerojatnost određene dijagnoze. Stoga, iako obećavajući, ove rezultate treba dodatno testirati na neovisnim uzorcima, s još više uključenih bolesnika i analiziranih lezija.

## 6.2 Razlozi razlika u elastografskim parametrima žarišnih lezija

Dosadašnje spoznaje o tome zašto su maligni tumori tvrdi u odnosu na benigne ne daju jasan i jednoznačan odgovor te su razlozi moguće višestruki. Razlike u tvrdoći bi se mogle objasniti različitim sastavom malignih tumora u odnosu na benigne tumore i različitom tkivnom arhitektonikom te količinom fibroznog tkiva kao što je to slučaj kod difuznih bolesti jetre (58–60). I razlike u tvrdoći između različitih vrsta tumora su često velike (npr. HCC vs metastaze vs CCC), a razlozi bi mogli biti slični onima prethodno navedenim. Velike razlike u intratumoralnoj varijabilnosti tvrdoće kod malignih tumora naspram benignih (tablice 6 i 16, slika 12) mogle bi se objasniti prevladavanjem različitih klonova stanica u različitim dijelovima tumora, patološkom vaskularizacijom te kompresijom iste zbog nekontroliranog rasta tumora (135) sa posljedičnom ishemijom određenih dijelova koja također može utjecati na dinamiku rasta dijelova tumora, ali i razvoja sitnih ili većih područja intratumoralnih nekroza. Tomu u prilog govore i podaci iz ovog istraživanja da intratumoralna varijabilnost tvrdoće načelno raste sa porastom veličine/promjera žarišne lezije (tablice 8, 9, 10 i 11), pri čemu je za očekivati da će kod malih malignih tumora (10–20 mm) biti manje različitih klonova tumorskih stanica i/ili će patološka tumorska vaskularizacija u manjoj mjeri rezultirati ishemijom i/ili tumorskom nekrozom. Vezano na ovo postavlja se pitanje da li stupanj diferencijacije tumora i histološki gradus utječu na tvrdoću određenog tumora mjereno elastografijom, o čemu nema istraživanja, a ako i utječu trebalo bi utvrditi dijagnostičku važnost toga.

Benigni pak tumori su načelno mekši, vjerojatno zbog pravilne strukture i odsustva patološkog nekontroliranog rasta što ih po karakteristikama čini sličnima stanicama/tkivima od kojih su nastali, a iz istog razloga uz odsustvo patološke vaskularizacije te predmnijevani mali udio intratumoralnih nekroza, intratumoralna heterogenost tvrdoće je manja. Ovakve karakteristike prema dostupnoj literaturi imaju hemangiomi koji se sastoje od tortuotičnih kavernoza vaskularnih prostora sa različitom količinom većinom vrlo tankih fibroznih septa, te adenomi koji predstavljaju klonalnu proliferaciju hepatocita, a sadrže male krvne žile i nemaju bilijarne vodove (4). Navedene teze kompatibilne su sa našim rezultatima te rezultatima drugih istraživača (64,65,91). Tako je prosječna srednja vrijednost tvrdoće hemangioma (N=53) u našem istraživanju iznosila 13.68 kPa, u istraživanju Ronot-a 17.1±7 kPa, a kod Guibal-a 13.8±5.5 kPa. S druge strane, iako benigni po naravi, FNH pokazuju nešto drugačije karakteristike. Histološki gledano FNH predstavlja poliklonalnu proliferaciju hepatocita nastalu zbog arterijske malformacije (koja se često lijepo vidi doplerom), a sadrži obilje fibroznih septa koji često formiraju centralni ožiljak (4), što je vjerojatni uzrok visoke tvrdoće ovih lezija zabilježenih u literaturi (64,65,91). Tako je Ronot sa suradnicima pronašao da FNH (N=60) ima

prosječnu srednju vrijednost tvrdoće  $33.3 \pm 12.7$  kPa, Guibal (N=16)  $33 \pm 14.7$  kPa, dok je Brunel sa suradnicima pronašao višu prosječnu srednju vrijednost tvrdoće FNH ( $46.99 \pm 31.15$ ; N=57). Relativno veliki udio FNH u istraživanju Guibal-a i suradnika može objasniti viši prosjek srednje vrijednosti tvrdoće benignih lezija u njihovom istraživanju (18.53 kPa) u odnosu na naše istraživanje (13.26 kPa) u koje su uključeni samo hemangiomi.

### 6.3 Ograničenja istraživanja

Ovim istraživanjem obuhvaćeni su samo pacijenti sa najčešćim malignim i benignim žarišnim lezijama u jetri: hepatocelularni karcinomi kao najčešći primarni maligni tumori u jetri, metastaze kao sekundarni tumori te hemangiomi kao daleko najčešći benigni tumori u jetri. Ovakav odabir predstavlja limitaciju jer nisu uključene sve vrste tumora u jetri, no s obzirom na višestruko manju pojavnost drugih benignih tumora (prevalencija FNH kao drugog najčešćeg benignog tumora u jetri je 0,03%, a prevalencija HA je još desetak puta manja, do 0,004%) (4), trebalo bi značajno duže vrijeme da se u monocentričnom istraživanju kakvo je ovo skupi dovoljan broj pacijenata sa ovim dijagnozama za adekvatnu snagu studije (engl. *power*). Slično je i sa intrahepatičkim kolangiocelularnim karcinomima koji su drugi po učestalosti primarni maligni tumori u jetri sa incidencijom 2.1 na 100 000 pacijent-godina (10), za koje bi također trebalo mnogo vremena da se prikupe u kliničkom kontekstu ovog istraživanja.

Nadalje, naš je uzorak selekcioniran u pogledu tumora na terenu cirotične i necirotične jetre što je također ograničenje ovog istraživanja. Naime u našem uzorku nismo imali benignih tumora tj. hemangioma u cirotičnoj jetri, u kojoj smo pak dominantno nalazili HCC, dok se u necirotičnoj jetri našla samo petina od ukupnog broja HCC-a. Kada smo izolirano promatrali samo žarišne lezije u necirotičnoj jetri (N=111), u grupi benignih lezija našli su se svi hemangiomi (N=53), a u grupi malignih lezija (N=58) našle su se gotovo sve metastaze iz naše kohorte (N=47) uz još dodatno 11 HCC-ova. Ovakav dizajn istraživanja te evidentna razlika u tvrdoći između metastaza i hemangioma bez preklapanja u vrijednostima tvrdoće između ove dvije grupe (tablica 6) dodatno uz selekcionirani uzorak grupe HCC-a koji se velikim dijelom nalaze kod bolesnika sa cirozom jetre zasigurno pridonosi vrlo visokoj točnosti elastografije kod predikcije regresijom i ANN-om. No iako ovakav odabir lezija predstavlja ograničenje istraživanja, treba naglasiti da je ovakav 'selekcionirani' uzorak zapravo epidemiološka slika stvarnog stanja. Što se tiče HCC-ova, prema globalnim epidemiološkim podacima većina HCC-ova (>80%) nastaje na terenu cirotične jetre (1) te nije bilo moguće izbjeći ovakav uzorak u kontekstu ovog istraživanja. Dodatno smo zbog relativno male očekivane incidencije HCC-a molili kolege iz drugih bolnica da nam upućuju pacijente s cirozom kod kojih je ultrazvučno detektirana žarišna lezija, što doprinosi selektivnosti jer su kolege prilikom odluke o tome da upute bolesnika u našu ustanovu ipak imale relativno visok klinički stupanj sumnje na HCC. I drugi istraživači koji su evaluirali žarišne lezije metodom RT-2D-SWE imali su isti problem po pitanju uzorka (64,90) ili uopće nisu analizirali podatke na način da detektiraju razlike u cirotičnoj i necirotičnoj jetri (65,88). S druge strane istraživači u najvećem multicentričnom istraživanju dijagnostičke uloge CEUS-a kod žarišne patologije u jetri imali su vrlo mali broj hemangioma u cirotičnoj jetri, 2.8% od ukupno 282 žarišne



lezije (128,129). Za pravu sliku o dijagnostičkoj vrijednosti elastografije potrebno je napraviti veće istraživanje sa više uključenih grupa različitih tumora od kojih bi svaka bila dovoljno velika da se postigne statistička snaga. Također bi trebalo napraviti zasebnu studiju u bolesnika s cirozom tj. kompenziranom uznapređovalom kroničnom bolesti jetre (cACLD) koji su u programu probira na HCC te u takvoj kohorti istražiti vrijednost elastografije u diferencijaciji žarišnih lezija.

Ovo istraživanje dalo je okvir za razumijevanje vrijednosti elastografije u određenim kliničkim situacijama te ukazalo da se elastografijom može s velikom vjerojatnosti isključiti malignost kao i postaviti sumnja na malignost već jednostavnim elastografskim mjerenjima srednje tvrdoće žarišne lezije primjerice koristeći se dihotomnim prijelomnim vrijednostima. S druge strane, s obzirom na prirodu ovog istraživanja u kojem je cilj bio preliminarno istražiti potencijalnu ulogu RT-2D-SWE kod tumora jetre, ovakav odabir žarišnih lezija u istraživanju bio je prihvatljiv te je prihvaćen od nadležnih tijela.

Daljnje ograničenje ovog istraživanja je što nismo posebno vodili evidenciju o tome u kojem je kliničkom kontekstu vršena elastografska analiza. U ovakvom istraživanju trebalo bi bilježiti da li je žarišna lezija u jetri: 1) slučajan nalaz – incidentalom (bolesnici nemaju simptoma koji bi upućivali na bolest jetre ili na malignu bolest, nemaju anamnezu preboljele ili liječene maligne bolesti izvan jetre i nemaju cirozu); 2) detektirana kod bolesnika koji se obrađuje zbog sumnje na malignu bolest ili već ima poznatu malignu bolest ili 3) detektirana kod bolesnika koji već ima poznatu cirozu ili je ciroza evidentna u trenutku ultrazvučnog pregleda. Ovo je važno jer uz ostale parametre (dob i spol) određuje vjerojatnosti da je određena lezija maligna ili benigna (*pre-test probability*) čime se potencijalno uvodi pristranost te bi rezultate trebalo interpretirati u tom kontekstu.

## 7 ZAKLJUČCI

1. prosječna tvrdoća žarišnih lezija u ovom istraživanju lezija bila je statistički značajno viša od tvrdoće parenhima jetre (26,10 kPa vs. 11,63 kPa)
2. prosječna srednja vrijednost tvrdoće HCC-a, metastaza i hemangioma bila je redom 28,46 kPa (SD 11,05), 36,17 kPa (SD 9,42) i 13,68 kPa (SD 6,29) te su se grupe među sobom statistički značajno razlikovale
3. razlika u srednjoj tvrdoći između malignih i benignih tumora bila je statistički značajna (32.31 kPa vs. 13.68 kPa;  $p < 0,001$ )
4. kod prijelomne vrijednosti srednje tvrdoće od 22,04 kPa moglo se sa 78.3%-tnom senzitivnošću (95% CI 69,2-85,7) i 94,34%-tnom specifičnošću (95% CI 84,3-98,8) razlikovati maligne i benigne tumore, uz pozitivnu prediktivnu vrijednost 96,5% i negativnu prediktivnu vrijednost 68,5%, AUROC 0.931.
5. razlike između malignih i benignih tumora bile su statistički značajne i za ostale parametre: minimalnu vrijednost tvrdoće lezije ( $p < 0,001$ ), maksimalnu vrijednost tvrdoće lezije ( $p < 0,001$ ), koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije ( $p < 0,001$ ), tvrdoću parenhima jetre u određenoj grupi tumora ( $p < 0,001$ ) te omjer tvrdoće lezije i parenhima ( $p = 0,036$ )
6. prediktivni modeli na bazi logističke regresije i umjetne neuronske mreže za diferencijaciju malignih i benignih lezija vrlo su točni; AUROC za regresiju 0.990 (95% CI 0.974-1.0) i AUROC za ANN 0.986 (95% CI 0.966-1.0)
7. predikcijski modeli su točniji u predikciji maligniteta od jednostavnih mjerenih elastografskih vrijednosti jer uključuju više parametara koji reflektiraju biologiju kako samog tumora tako i jetre u kojoj se tumori javljaju
8. srednja vrijednost tvrdoće hemangioma pozitivno je korelirala sa promjerom hemangioma ( $r = 0,456$ ;  $p = 0,001$ ), dok kod HCC-a i metastaza nije bilo korelacije tvrdoće i promjera lezije

9. porast promjera hemangioma bio je u pozitivnoj korelaciji sa varijabilnosti tvrdoće lezije (tj. negativnoj sa TSVC,  $r = -0.474$ ;  $p < 0,001$ ); nije bilo značajne korelacije promjera i TSVC kod HCC-a i metastaza
10. ovo istraživanje pokazuje da je evaluacija žarišnih lezija u jetri metodom RT-2D-SWE izvediva
11. tumorski elastografski parametri (srednja, minimalna i maksimalna vrijednost tvrdoće lezije te koeficijent varijabilnosti tvrdoće lezije) trebali bi biti dio elastografske analize
12. mjerenje tvrdoće parenhima jetre te računanje omjera tvrdoće lezije i parenhima dodatni su parametri koji pomažu u diferencijaciji različitih tumora te malignih i benignih lezija
13. u ovom istraživanju RT-2D-SWE je mogla sa visokom točnošću razlikovati najčešće maligne i benigne tumore u jetri, zbog čega bi kroz daljnja istraživanja na većem broju raznovrsnih žarišnih lezija u jetri trebalo razmotriti mogućnost uvođenja kvantitativne elastografije u dijagnostičke algoritme za obradu i praćenje bolesnika s žarišnim lezijama u jetri

## 8 SAŽETAK

**Uvod i ciljevi:** S obzirom da različite vrste tumora u jetri imaju različitu tvrdoću, kvantitativne ultrazvučne elastografske metode koje mjere tvrdoću tkiva potencijalno se mogu koristiti za diferencijaciju različitih vrsta tumora u jetri. Ciljevi ovog rada su: 1) analizirati elastografske značajke najčešćih vrsta tumora u jetri primjenom dvodimenzionalne kvantitativne ultrazvučne elastografije u stvarnom vremenu (engl. real-time 2-dimensional Shear wave elastography - RT-2D-SWE); 2) utvrditi može li se na temelju elastografskih značajki neinvazivno razlikovati pojedine vrste tumora te kakva je dijagnostička izvedba RT-2D-SWE.

**Metode:** Istraživanjem su obuhvaćeni bolesnici kojima je ultrazvukom detektirana žarišna leziju u jetri. Za svaku analiziranu žarišnu leziju provedeno je minimalno pet elastografskih mjerenja, a također je provedeno pet mjerenja tvrdoće parenhima jetre. Izračunate su prosječna srednja, minimalna i maksimalna tvrdoća tumora, koeficijent varijabilnosti tvrdoće tumora, prosječna tvrdoća parenhima jetre i prosječni omjer tvrdoće tumora i parenhima te su se ove varijable korištene u daljnjoj analizi podataka. Priroda žarišne lezije u daljnjem tijeku utvrđena je temeljem provedenog standardnog dijagnostičkog postupka sukladno važećim smjernicama, koji je uključivao slikovne radiološke pretrage (kontrastni CT i/ili MRI) te histološku/citološku verifikaciju gdje je to bilo potrebno. U finalnu analizu su uključene najčešće maligne i benigne žarišne lezije u jetri: HCC, metastaze i hemangiomi, dok su ostale vrste tumora isključene iz analize.

**Rezultati:** Analizirano je ukupno 159 lezija: 53 HCC-a, 53 metastaze i 53 hemangioma. Prosječna srednja vrijednost tvrdoće HCC-a, metastaza i hemangioma bila je redom 28,46 kPa (SD 11,05), 36,17 kPa (SD 9,42) i 13,68 kPa (SD 6,29) te su se grupe među sobom statistički značajno razlikovale u srednjoj tvrdoći tumora. Također je razlika u srednjoj tvrdoći između malignih i benignih tumora bila statistički značajna ( $p < 0,001$ ), a kod prijelomne vrijednosti srednje tvrdoće od 22,04 kPa moglo se sa 78.3%-tnom senzitivnošću (95% CI 69,2-85,7) i 94,34%-tnom specifičnošću (95% CI 84,3-98,8) razlikovati maligne i benigne tumore, uz PPV 96,5% i NPV 68,5%. Konstruirani prediktivni alati na bazi logističke regresije i umjetne neuronske mreže (engl. *artificial neural networks*, ANN) za diferencijaciju malignih i benignih lezija bili su vrlo točni (AUROC za regresiju 0.990 i AUROC za ANN 0.986).

**Zaključak:** Rezultati ovog istraživanja ukazuju na moguću visoku dijagnostičku vrijednost metode RT-2D-SWE u razlikovanju malignih i benignih tumora jetre. S obzirom na ograničenja koja proizlaze iz inicijalnog dizajna studije potrebna su daljnja istraživanja radi validacije ovih rezultata na većem uzorku.

## 9 SUMMARY

Thesis title: Assessment of liver tumours using quantitative sonoelastography

PhD candidate: Tomislav Bokun

Zagreb, 2017

**ABSTRACT:** *Real-time two-dimensional shear-wave elastography (RT-2D-SWE)* is a quantitative ultrasound elastography method for measuring tissue stiffness. The aim of this study was to analyse elastographic characteristics of the most common liver tumours and to evaluate the potential of *RT-2D-SWE* to differentiate benign and malignant focal liver lesions (FLL). Consecutive patients with ultrasonically detected FLL were included and elastographic evaluation of FLL and non-infiltrated liver was undertaken. The nature of the FLL was defined through a standard diagnostic workup, including contrast enhanced multi-slice CT and MRI and cytology/histology, as applicable. We analysed 159 FLL, 53 in each group (HCCs, metastases and haemangioma). Malignant lesions were stiffer ( $p < 0.001$ ) with higher variability of intralesional stiffness ( $p = 0.001$ ). The best performing cut-off for lesion stiffness was 22,04 kPa (sensitivity 78.3%, specificity 94,34, positive predictive value (PPV) 96,5% negative predictive value (NPV) 68,5%). Predication of malignancy based on logistic regression and artificial neural networks was excellent (AUROC for regression and 0.986 for ANN). In conclusion, according to results of the study *RT-2D-SWE* appears to be very accurate for the differentiation of malignant and benign FLL based on tumour elasticity parameters and stiffness of liver parenchyma easily measurable during ultrasound examination with elastography.

## 10 LITERATURA

1. Marrero JA, Ahn J, Rajender Reddy K. ACG clinical guideline: the diagnosis and management of focal liver lesions. *Am J Gastroenterol* 2014;109(9):1328–47
2. Venkatesh SK, Chandan V, Roberts LR. Liver masses: a clinical, radiologic, and pathologic perspective. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12(9):1414–29.
3. Kaltenbach TE-M, Engler P, Kratzer W, Oeztuerk S, Seufferlein T, Haenle MM, et al. Prevalence of benign focal liver lesions: ultrasound investigation of 45,319 hospital patients. *Abdom Radiol (New York)* 2016;41(1):25–32.
4. European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL Clinical Practice Guidelines on the management of benign liver tumours. *J Hepatol* 2016;65(2):386–98.
5. Chiche L, Adam J-P. Diagnosis and management of benign liver tumors. *Semin Liver Dis* 2013;33(3):236–47.
6. Nault J-C, Bioulac-Sage P, Zucman-Rossi J. Hepatocellular benign tumors-from molecular classification to personalized clinical care. *Gastroenterology* 2013;144(5):888–902.
7. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015;65(2):87–108.
8. Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-Based Diagnosis, Staging, and Treatment of Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* 2016:835–53.
9. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011;53(3):1020–2.
10. Yang JD, Kim B, Sanderson SO, Sauver JS, Yawn BP, Larson JJ, et al. Biliary tract cancers in Olmsted County, Minnesota, 1976-2008. *Am J Gastroenterol* 2012;107(8):1256–62.
11. Roth CG, Mitchell DG. Hepatocellular Carcinoma and Other Hepatic Malignancies. *Radiol Clin North Am* 2014;52(4):683–707.
12. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD, American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. *Hepatology* 2009;49(3):1017–44.
13. West J, Card TR. Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. *Gastroenterology* 2010;139(4):1230–7.
14. Hata S, Imamura H, Aoki T, Hashimoto T, Akahane M, Hasegawa K, et al. Value of visual inspection, bimanual palpation, and intraoperative ultrasonography during hepatic resection for liver metastases of colorectal carcinoma. *World J Surg* 2011;35(12):2779–87.
15. Hebrang A, Lovrenčić M, urednici. *Radiologija*. 2. izdanje. Medicinska naklada, Zagreb, 2001.
16. Chou R, Cuevas C, Fu R, Devine B, Wasson N, Ginsburg A, et al. Imaging Techniques for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. *Ann Intern Med* 2015;162(10):697.
17. Toro A, Mahfouz A-E, Ardiri A, Malaguarnera M, Malaguarnera G, Loria F, et al. What is changing in indications and treatment of hepatic hemangiomas. A review. *Ann Hepatol* 2014;13(4):327–39.

18. Krause T, Hauenstein K, Studier-Fisher B. Improved evaluation of Tc-99m RBC SPECT in hemangioma of the liver. *JNM*. 1993;34:375–80.
19. Henč-Bartolić V, Kulišić P. Valovi i optika. 3. izdanje. Školska knjiga, Zagreb, 2004.
20. ESR Executive Council 2009, European Society of Radiology. ESR position paper on ultrasound. *Insights Imaging* 2010;1(1):27–9.
21. Training in diagnostic ultrasound: essentials, principles and standards. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1998;875:i-46.
22. Bricker L, Garcia J, Henderson J, Mugford M, Neilson J, Roberts T, et al. Ultrasound screening in pregnancy: a systematic review of the clinical effectiveness, cost-effectiveness and women's views. *Health Technol Assess* 2000;4(16):i–vi,1-193.
23. Halliwell M. A tutorial on ultrasonic physics and imaging techniques. *Proc Inst Mech Eng H* 2010;224(2):127–42.
24. Vilgrain V, Boulos L, Vullierme M-P, Denys A, Terris B, Menu Y. Imaging of Atypical Hemangiomas of the Liver with Pathologic Correlation. *RadioGraphics* 2000;20(2):379–97.
25. Dietrich CF, Sharma M, Gibson RN, Schreiber-Dietrich D, Jenssen C. Fortuitously discovered liver lesions. *World J Gastroenterol* 2013;19(21):3173–88.
26. Kim KW, Kim TK, Han JK, Kim AY, Lee HJ, Park SH, et al. Hepatic hemangiomas: spectrum of US appearances on gray-scale, power Doppler, and contrast-enhanced US. *Korean J Radiol* 2000;1(4):191–7.
27. Singal A, Volk ML, Waljee A, Salgia R, Higgins P, Rogers MAM, et al. Meta-analysis: surveillance with ultrasound for early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30(1):37–47.
28. Sato T, Tateishi R, Yoshida H, Ohki T, Masuzaki R, Imamura J, et al. Ultrasound surveillance for early detection of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Int* 2009;3(4):544–50.
29. Brkljačić B. Vaskularni ultrazvuk. Medicinska naklada, Zagreb; 2010.
30. Gaiani S, Volpe L, Piscaglia F, Bolondi L. Vascularity of liver tumours and recent advances in doppler ultrasound. *J Hepatol* 2001;34(3):474–82.
31. Kudo M, Tochio H, Zhou P. Differentiation of hepatic tumors by color Doppler imaging: role of the maximum velocity and the pulsatility index of the intratumoral blood flow signal. *Intervirolgy* 2004;47(3–5):154–61.
32. Wang Y, Wang W-P, Ding H, Huang B-J, Mao F, Xu Z-Z. Resistance index in differential diagnosis of liver lesions by color doppler ultrasonography. *World J Gastroenterol* 2004;10(7):965–7.
33. Nino-Murcia M, Ralls PW, Jeffrey RB, Johnson M. Color flow Doppler characterization of focal hepatic lesions. *Am J Roentgenol* 1992;159(6):1195–7.
34. Gaiani S, Piscaglia F, Serra C, Bolondi L. Hemodynamics in focal nodular hyperplasia. *J Hepatol* 1999;31(3):576.

35. Uggowitz M, Kugler C, Machan L, Gröll R, Stauber R, Mischinger HJ, et al. Power Doppler imaging and evaluation of the resistive index in focal nodular hyperplasia of the liver. *Abdom Imaging* 1997;22(3):268–73.
36. Nanda NC. History of echocardiographic contrast agents. *Clin Cardiol* 1997;20(10 Suppl 1):17-11.
37. Claudon M, Dietrich CF, Choi BI, Cosgrove DO, Kudo M, Nolsøe CP, et al. Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012. *Ultrasound Med Biol* 2013;39(2):187–210.
38. Strobel D, Seitz K, Blank W, Schuler A, Dietrich CF, von Herbay A, et al. Tumor-specific vascularization pattern of liver metastasis, hepatocellular carcinoma, hemangioma and focal nodular hyperplasia in the differential diagnosis of 1,349 liver lesions in contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Ultraschall Med* 2009;30(4):376–82.
39. Seitz K, Strobel D, Bernatik T, Blank W, Friedrich-Rust M, Herbay A von, et al. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) for the characterization of focal liver lesions - prospective comparison in clinical practice: CEUS vs. CT (DEGUM multicenter trial). *Ultraschall Med* 2009;30(4):383–9.
40. Seitz K, Bernatik T, Strobel D, Blank W, Friedrich-Rust M, Strunk H, et al. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) for the Characterization of Focal Liver Lesions in Clinical Practice (DEGUM Multicenter Trial): CEUS vs. MRI – a Prospective Comparison in 269 Patients. *Ultraschall der Medizin - Eur J Ultrasound* 2010;31(5):492–9.
41. Friedrich-Rust M, Klopffleisch T, Nierhoff J, Herrmann E, Vermehren J, Schneider MD, et al. Contrast-Enhanced Ultrasound for the differentiation of benign and malignant focal liver lesions: a meta-analysis. *Liver Int* 2013;33(5):739–55.
42. Wilson SR, Jang H-J, Kim TK, Burns PN. Diagnosis of focal liver masses on ultrasonography: comparison of unenhanced and contrast-enhanced scans. *J Ultrasound Med* 2007;26(6):775-87-90.
43. Kudo M, Izumi N, Kokudo N, Matsui O, Sakamoto M, Nakashima O, et al. Management of hepatocellular carcinoma in Japan: Consensus-Based Clinical Practice Guidelines proposed by the Japan Society of Hepatology (JSH) 2010 updated version. *Dig Dis* 2011;29(3):339–64.
44. Heimbach J, Kulik LM, Finn R, Sirlin CB, Abecassis M, Roberts LR, et al. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2017 Ahead of print
45. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56(4):908–43.
46. D’Onofrio M, Crosara S, De Robertis R, Canestrini S, Mucelli RP. Contrast-Enhanced Ultrasound of Focal Liver Lesions. *Am J Roentgenol* 2015;205(1):W56–66.
47. Wells PNT, Liang H-D. Medical ultrasound: imaging of soft tissue strain and elasticity. *J R Soc Interface* 2011; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21680780>
48. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph J-M, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003;29(12):1705–13.



49. Shiina T. JSUM ultrasound elastography practice guidelines: basics and terminology. *J Med Ultrason* 2013;40(4):309–23.
50. Piscaglia F, Salvatore V, Mulazzani L, Cantisani V, Schiavone C. Ultrasound Shear Wave Elastography for Liver Disease. A Critical Appraisal of the Many Actors on the Stage. *Ultraschall Med* 2016;37(1):1–5.
51. Shiina T, Nightingale KR, Palmeri ML, Hall TJ, Bamber JC, Barr RG, et al. WFUMB Guidelines and Recommendations for Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 1: Basic Principles and Terminology. *Ultrasound Med Biol* 2015;41(5):1126–47.
52. Sarvazyan A, Hall TJ, Urban MW, Fatemi M, Aglyamov SR, Garra BS. An Overview of Elastography - an emerging branch of medical imaging. *Curr Med Imaging Rev* 2011;7(4):255–82.
53. Bamber J, Cosgrove D, Dietrich CF, Fromageau J, Bojunga J, Calliada F, et al. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. *Ultraschall Med* 2013;34(2):169–84.
54. Palmeri ML, Nightingale KR. Acoustic radiation force-based elasticity imaging methods. *Interface Focus* 2011;1(4):553–64.
55. Ferraioli G, Filice C, Castera L, Choi BI, Sporea I, Wilson SR, et al. WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 3: liver. *Ultrasound Med Biol* 2015;41(5):1161–79.
56. Friedrich-Rust M, Poynard T, Castera L. Critical comparison of elastography methods to assess chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;13(7):402–11.
57. Muller M, Gennisson J-L, Deffieux T, Tanter M, Fink M. Quantitative viscoelasticity mapping of human liver using supersonic shear imaging: preliminary in vivo feasibility study. *Ultrasound Med Biol* 2009;35(2):219–29.
58. Germani G, Burroughs AK, Dhillon AP. The relationship between liver disease stage and liver fibrosis: a tangled web. *Histopathology* 2010;57(6):773–84.
59. Rosselli M, MacNaughtan J, Jalan R, Pinzani M. Beyond scoring: a modern interpretation of disease progression in chronic liver disease. *Gut* 2013;62(9):1234–41.
60. Hytiroglou P, Snover DC, Alves V, Balabaud C, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, et al. Beyond “cirrhosis”: a proposal from the International Liver Pathology Study Group. *Am J Clin Pathol* 2012;137(1):5–9.
61. Asrani SK, Larson JJ, Yawn B, Therneau TM, Kim WR. Underestimation of Liver-Related Mortality in the United States. *Gastroenterology* 2013;145(2):375–382.e2.
62. Cosgrove D, Piscaglia F, Bamber J, Bojunga J, Correas J-M, Gilja OH, et al. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 2: Clinical applications. *Ultraschall Med* 2013;34(3):238–53.
63. European Association for Study of Liver, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol* 2015;63(1):237–64.

64. Guibal A, Boullaran C, Bruce M, Vallin M, Pilleul F, Walter T, et al. Evaluation of shearwave elastography for the characterisation of focal liver lesions on ultrasound. *Eur Radiol* 2013;23(4):1138–49.
65. Ronot M, Di Renzo S, Gregoli B, Duran R, Castera L, Van Beers BE, et al. Characterization of fortuitously discovered focal liver lesions: additional information provided by shearwave elastography. *Eur Radiol* 2015;25(2):346–58.
66. Lu Q, Ling W, Lu C, Li J, Ma L, Quan J, et al. Hepatocellular carcinoma: stiffness value and ratio to discriminate malignant from benign focal liver lesions. *Radiology* 2015;275(3):880–8.
67. World Health Organization. Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. WHO, 2015
68. Tsochatzis E, Gurusamy K, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson B, Burroughs A. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol* 2011;54(4):650–9.
69. Friedrich-Rust M, Ong M-F, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008;134(4):960–74.
70. Talwalkar J a, 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(10):1214–20.
71. Chon YE, Choi EH, Song KJ, Park JY, Kim DY, Han K-H, et al. Performance of Transient Elastography for the Staging of Liver Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis B: A Meta-Analysis. Fung J, editor. *PLoS One* 2012;7(9):e44930. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23049764>
72. Li Y, Huang Y-S, Wang Z-Z, Yang Z-R, Sun F, Zhan S-Y, et al. Systematic review with meta-analysis: the diagnostic accuracy of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43(4):458–69.
73. Stebbing J, Farouk L, Panos G, Anderson M, Jiao LR, Mandalia S, et al. A meta-analysis of transient elastography for the detection of hepatic fibrosis. *J Clin Gastroenterol* 2010;44(3):214–9.
74. Pavlov CS, Casazza G, Nikolova D, Tsochatzis E, Glud C. Systematic review with meta-analysis: diagnostic accuracy of transient elastography for staging of fibrosis in people with alcoholic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43(5):575–85.
75. Jiang T, Tian G, Zhao Q, Kong D, Cheng C, Zhong L, et al. Diagnostic Accuracy of 2D-Shear Wave Elastography for Liver Fibrosis Severity: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2016;11(6):e0157219. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27300569>
76. Feng J-C, Li J, Wu X-W, Peng X-Y. Diagnostic Accuracy of SuperSonic Shear Imaging for Staging of Liver Fibrosis: A Meta-analysis. *J Ultrasound Med* 2016;35(2):329–39.
77. Li C, Zhang C, Li J, Huo H, Song D. Diagnostic Accuracy of Real-Time Shear Wave Elastography for Staging of Liver Fibrosis: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit* 2016;22:1349–59.

78. Cassinotto C, Lapuyade B, Mouries A, Hiriart J-B, Vergniol J, Gaye D, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: Comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and FibroScan®. *J Hepatol* 2014;61(3):550–7.
79. Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, et al. Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Liver Int* 2013;33(8):1138–47.
80. de Franchis R. Expanding consensus in portal hypertension. Report of the Baveno VI Consensus Workshop: stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol* 2015;63(3):743–52.
81. Maurice JB, Brodtkin E, Arnold F, Navaratnam A, Paine H, Khawar S, et al. Validation of the Baveno VI criteria to identify low risk cirrhotic patients not requiring endoscopic surveillance for varices. *J Hepatol* 2016; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27388923>
82. Singh S, Eaton JE, Murad MH, Tanaka H, Iijima H, Talwalkar JA. Accuracy of spleen stiffness measurement in detection of esophageal varices in patients with chronic liver disease: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12(6):935–45.e4
83. Grgurevic I, Bokun T, Pinzani M. Non-Invasive Assessment of Chronic Liver Disease by Two Dimensional Shear Wave Elastography: An Overview. *Curr Med Imaging Rev* 2017;13(E-pub Ahead of Print).
84. Grgurević I, Bokun T, Mustapić S, Trkulja V, Heinzl R, Banić M, et al. Real-time two-dimensional shear wave ultrasound elastography of the liver is a reliable predictor of clinical outcomes and the presence of esophageal varices in patients with compensated liver cirrhosis. *Croat Med J* 2015;56(5):470–81.
85. Singh S, Fujii LL, Murad MH, Wang Z, Asrani SK, Ehman RL, et al. Liver stiffness is associated with risk of decompensation, liver cancer, and death in patients with chronic liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11(12):1573-84-2-9.
86. Jaffer OS, Lung PFC, Bosanac D, Patel VM, Ryan SM, Heneghan MA, et al. 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;85(1018):e858-63.
87. D’Onofrio M, Gallotti A, Mucelli RP. Tissue quantification with acoustic radiation force impulse imaging: Measurement repeatability and normal values in the healthy liver. *AJR Am J Roentgenol* 2010;195(1):132–6.
88. Tian W-S, Lin M-X, Zhou L-Y, Pan F-S, Huang G-L, Wang W, et al. Maximum Value Measured by 2-D Shear Wave Elastography Helps in Differentiating Malignancy from Benign Focal Liver Lesions. *Ultrasound Med Biol* 2016;42(9):2156–66.
89. Özmen E, Adaletli İ, Kayadibi Y, Emre Ş, Kılıç F, Dervişoğlu S, et al. The impact of shear wave elastography in differentiation of hepatic hemangioma from malignant liver tumors in pediatric population. *Eur J Radiol* 2014;83(9):1691–7.
90. Park HS, Kim YJ, Yu MH, Jung S II, Jeon HJ. Shear Wave Elastography of Focal Liver Lesion. *Ultrasound Q* 2015;31(4):262–71.

91. Brunel T, Guibal A, Boularan C, Ducerf C, Mabrut J-Y, Bancel B, et al. Focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma: The value of shear wave elastography for differential diagnosis. *Eur J Radiol* 2015;84(11):2059–64.
92. Ying L, Lin X, Xie Z-L, Tang F-Y, Hu Y-P, Shi K-Q. Clinical utility of acoustic radiation force impulse imaging for identification of malignant liver lesions: a meta-analysis. *Eur Radiol* 2012;22(12):2798–805.
93. Ma X, Zhan W, Zhang B, Wei B, Wu X, Zhou M, et al. Elastography for the differentiation of benign and malignant liver lesions: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2014;35(5):4489–97.
94. Gallotti A, D’Onofrio M, Romanini L, Cantisani V, Pozzi Mucelli R. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) ultrasound imaging of solid focal liver lesions. *Eur J Radiol* 2012;81(3):451–5.
95. Sakorafas GH, Smyrniotis V, Reid-Lombardo KM, Sarr MG. Primary pancreatic cystic neoplasms revisited. Part I: serous cystic neoplasms. *Surg Oncol* 2011;20(2):e84-92.
96. Heide R, Strobel D, Bernatik T, Goertz RS. Characterization of focal liver lesions (FLL) with acoustic radiation force impulse (ARFI) elastometry. *Ultraschall Med* 2010;31(4):405–9.
97. Davies G, Koenen M. Acoustic radiation force impulse elastography in distinguishing hepatic haemangiomas from metastases: preliminary observations. *Br J Radiol* 2011;1–5.
98. Guo L-H, Wang S-J, Xu H-X, Sun L-P, Zhang Y-F, Xu J-M, et al. Differentiation of benign and malignant focal liver lesions: value of virtual touch tissue quantification of acoustic radiation force impulse elastography. *Med Oncol* 2015;32(3):68.
99. Zhang P, Zhou P, Tian S-M, Qian Y, Deng J, Zhang L. Application of acoustic radiation force impulse imaging for the evaluation of focal liver lesion elasticity. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013;12(2):165–70.
100. Park H, Park JY, Kim DY, Ahn SH, Chon CY, Han K-H, et al. Characterization of focal liver masses using acoustic radiation force impulse elastography. *World J Gastroenterol* 2013;19(2):219–26.
101. Barr RG, Nakashima K, Amy D, Cosgrove D, Farrokh A, Schafer F, et al. WFUMB Guidelines and Recommendations for Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 2: Breast. *Ultrasound Med Biol* 2015;41(5):1148–60.
102. Cosgrove D, Barr R, Bojunga J, Cantisani V, Chammas MC, Dighe M, et al. WFUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 4. Thyroid. *Ultrasound Med Biol* 2017;43(1):4–26.
103. Blank MAB, Antaki JF. Breast Lesion Elastography Region of Interest Selection and Quantitative Heterogeneity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ultrasound Med Biol* 2017;43(2):387–97.
104. Ronot M, Vilgrain V. Shear-wave Elastography for the Noninvasive Diagnosis of Focal Liver Lesions: It Always Starts with the Clinical Context. *Radiology* 2015;276(3):928–9.
105. Tapper EB, Castera L, Afdhal NH. FibroScan (Vibration-Controlled Transient Elastography): Where Does It Stand in the United States Practice. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13(1):27–36.

106. Cucchetti A, Vivarelli M, Heaton ND, Phillips S, Piscaglia F, Bolondi L, et al. Artificial neural network is superior to MELD in predicting mortality of patients with end-stage liver disease. *Gut* 2007;56(2):253–8.
107. Cross SS, Harrison RF, Kennedy RL. Introduction to neural networks. *Lancet* 1995;346(8982):1075–9.
108. Forsström JJ, Dalton KJ. Artificial neural networks for decision support in clinical medicine. *Ann Med* 1995;27(5):509–17.
109. Briceño J, Cruz-Ramírez M, Prieto M, Navasa M, Ortiz de Urbina J, Orti R, et al. Use of artificial intelligence as an innovative donor-recipient matching model for liver transplantation: Results from a multicenter Spanish study. *J Hepatol* 2014;61(5):1020–8.
110. Zheng M-H, Seto W-K, Shi K-Q, Wong DK-H, Fung J, Hung IF-N, et al. Artificial Neural Network Accurately Predicts Hepatitis B Surface Antigen Seroclearance. *PLoS One* 2014;9(6):e99422. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24914537>
111. Kalyan K, Jakhia B, Lele RD, Joshi M, Chowdhary A. Artificial Neural Network Application in the Diagnosis of Disease Conditions with Liver Ultrasound Images. *Adv Bioinformatics* 2014;2014:1–14.
112. Procopet B, Cristea VM, Robic MA, Grigorescu M, Agachi PS, Metivier S, et al. Serum tests, liver stiffness and artificial neural networks for diagnosing cirrhosis and portal hypertension. *Dig Liver Dis* 2015;47(5):411–6.
113. Castéra L, Foucher J, Bernard P-H, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology* 2010;51(3):828–35. 6
114. Aixplorer Tips - Evaluation of Liver Fibrosis using ShearWave™ Elastography on Aixplorer®. 2011. p. SSID02223-01.
115. McNaughton DA, Abu-Yousef MM. Doppler US of the liver made simple. *Radiographics* 2011;31(1):161–88.
116. Fizazi K, Greco FA, Pavlidis N, Daugaard G, Oien K, Pentheroudakis G, et al. Cancers of unknown primary site: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015;26(suppl 5):v133–8.
117. Silva AC, Evans JM, McCullough AE, Jatoi M a, Vargas HE, Hara AK. MR imaging of hypervascular liver masses: a review of current techniques. *Radiographics* 2009;29(2):385–402.
118. Choi BY, Nguyen MH. The diagnosis and management of benign hepatic tumors. *J Clin Gastroenterol* 2005;39(5):401–12.
119. Namasivayam S, Martin DR, Saini S. Imaging of liver metastases: MRI. *Cancer Imaging* 2007;7:2–9.
120. Liu PS, Francis IR. Hepatic imaging for metastatic disease. *Cancer J* 2010;16(2):93–102.
121. Arciero CA, Sigurdson ER. Diagnosis and treatment of metastatic disease to the liver. *Semin Oncol* 2008;35(2):147–59.

122. Caseiro-Alves F, Brito J, Araujo AE, Belo-Soares P, Rodrigues H, Cipriano A, et al. Liver haemangioma: common and uncommon findings and how to improve the differential diagnosis. *Eur Radiol* 2007;17(6):1544–54.
123. Assy N, Nasser G, Djibre A, Beniashvili Z, Elias S, Zidan J. Characteristics of common solid liver lesions and recommendations for diagnostic workup. *World J Gastroenterol* 2009;15(26):3217–27.
124. Bahirwani R, Reddy KR. Review article: the evaluation of solitary liver masses. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28(8):953–65.
125. Heiken JP. Distinguishing benign from malignant liver tumours. *Cancer Imaging* 2007;7:S1-14.
126. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Sato T, Ohki T, Goto T, et al. Assessing liver tumor stiffness by transient elastography. *Hepatol Int* 2007;1(3):394–7.
127. Wang J, Ai H, Guo L, Tan L, Gong H, Wei W, et al. Application of Real-Time Tissue Elastography with a Low Frequency Convex Array Probe: A Noninvasive Approach to Differential Diagnosis of Liver Tumors. *ISRN Hepatol* 2014;2014(Article ID 378243). Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/378243>
128. Strobel D, Seitz K, Blank W, Schuler A, Dietrich C, Herbay A, et al. Contrast-enhanced Ultrasound for the Characterization of Focal Liver Lesions – Diagnostic Accuracy in Clinical Practice (DEGUM multicenter trial). *Ultraschall der Medizin - Eur J Ultrasound* 2008;29(5):499–505.
129. Dietrich C, Maddalena M, Cui X, Schreiber-Dietrich D, Ignee A. Liver Tumor Characterization – Review of the Literature. *Ultraschall der Medizin - Eur J Ultrasound* 2012;33(S 01):S3–10.
130. Ren W-W, Li X-L, He Y-P, Li D-D, Wang D, Zhao C-K, et al. Two-dimensional shear wave elastography of breast lesions: Comparison of two different systems. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017;1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28211807>
131. Wong VW-S, Wong GL-H, Tsang SW-C, Fan T, Chu WC-W, Woo J, et al. High prevalence of colorectal neoplasm in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2011;60(6):829–36.
132. Stickel F, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for hepatocellular carcinoma: mechanisms and implications. *Gut* 2010;59(10):1303–7.
133. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults. *N Engl J Med* 2003;348(17):1625–38.
134. Renehan AG, Soerjomataram I, Leitzmann MF. Interpreting the epidemiological evidence linking obesity and cancer: A framework for population-attributable risk estimations in Europe. *Eur J Cancer* 2010;46(14):2581–92.
135. Padera TP, Stoll BR, Tooredman JB, Capen D, di Tomaso E, Jain RK. Pathology: cancer cells compress intratumour vessels. *Nature* 2004;427(6976):695.

## 11 POPIS KRATICA

2D-SWE - dvodimenzionalna SWE (od engl. *two dimensional Shear Wave elastography*)

AF – alkalna fosfataza

ALT – alanin-aminotransferaza

ANN – umjetne neuronske mreže (od engl. *artificial neural network*)

AST – aspartat-aminotransferaza

AUC – površina ispod krivlje (od engl. *area under curve*)

BMI – indeks tjelesne mase (od engl. *body mass index*)

B-mod – klasični UZV mod u sivoj skali (od engl. *brightness modulation*)

CCC – intrahepatički kolangiocelularni karcinom

CEUS – kontrastni ultrazvuk (od engl. *contrast enhanced ultrasound*)

CI – interval pouzdanosti (od engl. *confidence interval*)

CSPH – klinički značajna portalna hipertenzija (od engl. *clinically significant portal hypertension*)

CT – kompjutorizirana tomografija

df – stupnjevi slobode (od engl. *degrees of freedom*)

FFS – zone slabije zamašćenosti jetrenog parenhima (od engl. *focal fatty sparing*)

FNH – fokalna nodularna hiperplazija

HA – hepatocelularni adenom

HCC – hepatocelularni karcinom

HSROC – od engl. *hierarchical summary receiver operating characteristic*

HVPG – gradijent tlaka u hepaticnim venama (od engl. *hepatic venous pressure gradient*)

Hz – herc

ICC – međuklasni korelacijski koeficijent (engl. *intra-class correlation coefficient, ICC*)

kHz – kiloherc

MHz – megaherc

MRI – magnetna rezonanca (od engl. *magnetic resonance imaging*)

NPV – negativna prediktivna vrijednost

OR – omjer vjerojatnosti (od engl. *odds ratio*)

PET-CT – kompjutorizirana tomografija u kombinaciji sa pozitronskom emisijskom tomografijom

PPV – pozitivna prediktivna vrijednost

pSWE – tehnika mjerenja brzina posmičnih valova u točki (od engl. *point shear wave elastography*)

Q-box – mjerni okvir kod SWE™

ROC – od engl. *receiver operating characteristic*

ROI – od engl. *region of interest*

SCD – udaljenost od površine kože do kapsule jetre (od engl. *skin to capsule distance*)

SD - standardna devijacija

SE – elastografija deformacije (od engl. *strain elastography*)

SE – standardna pogreška (od engl. *standard error*)

SROC – od engl. *summary receiver operating characteristic*

SWV – brzina posmičnih valova (od engl. *shear-wave velocity*)

TE – tranzijentna elastografija (od engl. *transient elastography*)

TSCV – koeficijent varijabilnosti tvrdoće tumora (od engl. *tumour stiffness variability coefficient*)

UZV – ultrazvuk

γGT – gama-glutamiltransferaza



## 12 ŽIVOTOPIS

Tomislav Bokun, dr.med., specijalist interne medicine i subspecijalist gastroenterologije, rođen je 1982. godine u Zagrebu gdje je završio osnovnu školu i matematičku gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao je 2000. godine te je diplomirao 2006. godine, nakon čega je kroz godinu dana radio kao znanstveni novak na Imperial College London, UK, na znanstveno-istraživačkom projektu koji je istraživao utjecaj informacijskih tehnologija na sigurnost i kvalitetu zdravstvene zaštite. Od 2007. do 2009. godine radio je kao znanstveni novak na projektu 'Bolesti pankreato-bilijarnog kanalnog sustava: etiologija, dijagnostika i terapija' voditelja prof.dr.sc. Milana Kujundžića, a u nastavku je završio specijalizaciju iz interne medicine i subspecijalizaciju iz gastroenterologije te poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Sudjeluje u izvođenju nastave kolegija Patofiziologija s patologijom na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, u nastavi modula Hitna stanja u medicini na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te u nastavi poslijediplomskog specijalističkog studija iz gastroenterologije na medicinskom fakultetu u Zagrebu. Od 2013. godine zaposlen je u Zavodu za gastroenterologiju, hepatologiju i kliničku prehranu Klinike za unutarnje bolesti u Kliničkoj bolnici Dubrava, a područja njegovog užeg interesa su hepatologija, ultrazvučne metode u gastroenterologiji i hepatologiji te bolesti pankreato-bilijarnog kanalnog sustava, posebice endoskopska terapija bolesti pankreato-bilijarnog kanalnog sustava. Autor je i koautor više znanstvenih i stručnih publikacija sa preko 500 nezavisnih citata te je od godine 2013. predsjednik Sekcije mladih Hrvatskog gastroenterološkog društva. Aktivno je sudjelovao u organizaciji više simpozija, radionica, stručnih sastanaka i kongresa kao član organizacijskog odbora, a bio je organizator i voditelj Prvog simpozija Sekcije mladih Hrvatskog gastroenterološkog društva. U periodu od 2013. do 2016. aktivno je sudjelovao u radu tijela krovne europske gastroenterološke organizacije *United European Gastroenterology*, kao član *Young Talent Group* i *Public Affairs Committee*. Oženjen je i otac troje djece.