

1. Wprowadzenie

Rozprawa doktorska pt: „Echokardiograficzna ocena mięśnia sercowego za pomocą metody śledzenia markerów akustycznych u chorych z dziedziczną hemochromatozą” powstała w oparciu o monotematyczny cykl czterech artykułów opublikowanych w polskich i międzynarodowych czasopismach naukowych indeksowanych w bazie PubMed.

1.1 Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską:

Tytuł publikacji, autorzy, tytuł czasopisma	Punkty MNiSW	Impact Factor
Hemochromatoza dziedziczna oczami kardiologa <u>Katarzyna Rozwadowska</u> , Ludmiła Daniłowicz – Szymanowicz, Katarzyna Sikorska, Grzegorz Raczak Annales Academiae Medicae Gedanensis 2017; 47: 104-112	5	-
Does the age of patients with hereditary hemochromatosis at the moment of their first diagnosis has an additional effect on the standard echocardiographic parameters? <u>Katarzyna Rozwadowska</u> , Ludmiła Daniłowicz – Szymanowicz, Marcin Fijałkowski, Katarzyna Sikorska, Wiktor Szymanowicz, Dariusz Kozłowski, Ewa Lewicka, Grzegorz Raczak European Journal of Translational and Clinical Medicine 2018; 1: 18-23	5	-
Influence of hereditary hemochromatosis on left ventricular wall thickness – does iron overload exacerbate cardiac hypertrophy? <u>Katarzyna Rozwadowska</u> , Grzegorz Raczak Katarzyna Sikorska, Marcin Fijałkowski, Dariusz Kozłowski, Ludmiła Daniłowicz- Szymanowicz Folia Morphologica, DOI: 10.5603/FM.a2019.0025	15	0,582
Can two-dimensional speckle tracking echocardiography be useful for the left ventricular assessment in the early stages of hereditary hemochromatosis? <u>Katarzyna Rozwadowska</u> , Ludmiła Daniłowicz-Szymanowicz, Marcin Fijałkowski, Katarzyna Sikorska, Rafał Gałąska, Dariusz Kozłowski, Marcin Gruchała, Grzegorz Raczak Echocardiography, DOI: 10.1111/echo.14141	20	1,197
Podsumowanie punktów	45	1,779

3. Wstęp

Hemochromatoza dziedziczna (HH – *hereditary hemochromatosis*) należy do najczęstszych chorób metabolicznych rasy kaukaskiej uwarunkowanych genetycznie, występuje z częstotliwością ok. 1-2 na 500 osób. W ponad 80% przypadków związana jest z homozygotyczną mutacją C282Y genu HFE, a sporadycznie z mutacjami innych genów, których produkty biorą udział w regulacji gospodarki żelazem w organizmie. Dysfunkcje cząsteczek kontrolujących homeostazę żelaza prowadzą do nadmiernego wchłaniania żelaza w dwunastnicy oraz w górnym odcinku jelita cienkiego oraz do zaburzeń wewnątrzustrojowej dystrybucji tego pierwiastka. W związku z tym, że w ludzkim organizmie nie ma mechanizmów regulujących wydalanie gromadzonego w nadmiarze żelaza, w przebiegu choroby dochodzi do jego odkładania się w wielu narządach, między innymi w wątrobie, trzustce, skórze, stawach, gonadach, jak również w sercu.

Aktywne biologicznie jony żelaza generują stres oksydacyjny wywołujący destrukcję tkanek, w których dochodzi do spichrzania tego pierwiastka. Kardiomiocyty, ze względu na intensywny wychwyt jonów żelaza, są bardzo podatne na tego typu uszkodzenie. Proces zajęcia serca przez chorobę jest powolny i przebiega latami. Objawia się początkowo jako zaburzenie funkcji rozkurczowej i przerost. Późnym objawem choroby, po wielu latach jej trwania, jest między innymi zastoinowa niewydolność serca, która odpowiada za około 1/3 zgonów w przebiegu naturalnym hemochromatozy. Znanym powikłaniem HH są również arytmie, zarówno nadkomorowe, jak i komorowe. Kolejnymi obciążeniami występującymi częściej wśród chorych z HH, niż w populacji ogólnej, są nadciśnienie tętnicze i cukrzyca.

Od czasu wprowadzenia do powszechnej praktyki klinicznej badań genetycznych możliwe jest wykrycie HH na wczesnym etapie, a w konsekwencji szybkie wdrożenie odpowiedniego leczenia, które powinno zatrzymać postępujące zmiany patologiczne w różnych narządach, w tym w sercu. Od wielu dziesiątek lat w leczeniu HH stosuje się z powodzeniem krwiopustę. Jednak niektóre dodatkowe problemy kliniczne mogące mieć miejsce u pacjentów z HH, takie jak niedokrwistość, nowotwory złośliwe, czy niestabilność hemodynamiczna, są przeciwwskazaniem do tego typu terapii. Wówczas alternatywą są leki chelatujące, np: deferoksamina (stosowana parenteralnie), czy deferipron (lek doustny). Leczeniem ostatniego rzutu jest przeszczep serca.

Na podstawie przeglądu dotychczasowego piśmiennictwa, szczegółowo opisanego w pracy poglądowej niniejszej rozprawy, zostało dostrzeżone, że dotychczas niewiele badań

poświęconych było ocenie kardiologicznej chorych z HH, a zdecydowana większość publikacji w tej kwestii dotyczyła chorych z pełnoobjawową niewydolnością serca wikłającą HH w jej późnych okresach. Zajęcie procesem chorobowym serca w przebiegu HH jest bardzo poważnym czynnikiem rokowniczym, w związku z czym szczególny nacisk powinien być kładziony na szybkie i wczesne wykrycie zmian, zanim dojdzie do rozwoju pełnoobjawowej choroby serca. W tym zakresie najważniejszym narzędziem klinicystów jest powszechnie dostępna echokardiografia, a jej najnowsza technika polegająca na metodzie śledzenia markerów akustycznych (*2D speckle tracking echocardiography* – 2D STE) pozwala na bardzo wczesne wykrywanie nieprawidłowości w sercu, zanim dojdzie do zmian w parametrach standardowych echo oraz zanim dojdzie do rozwoju pełnoobjawowej choroby serca. Może to mieć istotne znaczenie praktyczne, zarówno w przewidywaniu wystąpienia uszkodzenia serca w przebiegu HH, jak i w monitorowaniu skuteczności jej leczenia.

4. Cele rozprawy doktorskiej

Niniejsza rozprawa doktorska miała na celu ocenę przydatności badania echokardiograficznego serca w wykrywaniu wczesnych zmian zachodzących w sercu u chorych z HH.

Szczegółowe cele:

1. Ocena wpływu wieku pacjenta w momencie rozpoznania HH na parametry echokardiograficzne lewej komory serca.
2. Ocena wpływu HH, zarówno świeżo rozpoznanej, jak i wieloletniej, na grubość mięśnia lewej komory serca, a także jego związek z współwystępującymi nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą.
3. Ocena przydatności zarówno standardowych, jak i uzyskanych za pomocą metody 2D STE, parametrów echokardiograficznych (wskaźników mechaniki obrotowej oraz odkształcenia mięśnia lewej komory serca) w wykrywaniu wczesnych zmian w sercu u chorych ze świeżo rozpoznaną HH.
4. Ocena korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami echokardiograficznymi a biochemicznymi wskaźnikami gospodarki żelaza.

5. Materiał i metody

5.1 Populacja badana

Od listopada 2014 do listopada 2018 do badania włączano kolejnych pacjentów z HH. Rozpoznanie zostało postawione w specjalistycznej klinice w oparciu o charakterystykę kliniczną, nieprawidłowe parametry gospodarki żelazem oraz potwierdzoną genetycznie mutację genu HFE. Zdrowi ochotnicy, dobrani względem wieku i płci, utworzyli grupę kontrolną. Dokładny opis poszczególnych chorych, kryteria włączenia i wykluczenia podane są w odpowiednich artykułach. Pacjentów ze świeżo rozpoznaną HH charakteryzowano jako chorych do 3 miesięcy od postawienia rozpoznania, przed rozpoczęciem leczenia. Wszyscy uczestnicy podpisali świadomą zgodę na udział w badaniu. Protokół badania został zatwierdzony przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKBBN/541/2017).

5.2 Analiza laboratoryjna

U wszystkich pacjentów w momencie włączenia brano pod uwagę wyniki badań laboratoryjnych takich jak: poziom żelaza, ferrytyny, saturacji transferryny, poziom hemoglobiny, glukozy i aminotransferaz w surowicy krwi. Notowano również rodzaj mutacji włączonych chorych (dane są zawarte w poszczególnych publikacjach rozprawy).

5.3 Badanie echokardiograficzne

Ocena echokardiograficzna serca została wykonana u każdego uczestnika badania. Przeprowadzono ją przy użyciu aparatu GE VIVID E9 (*GE Ultrasound, Horten, Norway*) wyposażonego w głowicę kardiologiczną M5S, dodatkowo dane z akwizycji 3D pozyskiwane były przy pomocy głowicy trójwymiarowej 4V. Zapisy echokardiograficzne analizowano następnie *off-line* za pomocą stacji roboczej EchoPAC (*GE Healthcare, Horten, Norway, v201.*). Szczegółowy opis techniki wykonywania badania echokardiograficznego, jak również analizy poszczególnych parametrów, zawarty jest w artykułach wchodzących w skład niniejszej dysertacji.

5.4 Analizy statystyczne

Analiza statystyczna została przeprowadzona z użyciem programów STATISTICA 9,0 (StatSoft, Tulsa OK, USA) oraz środowiska statystycznego R 2.25.2. Wyczerpujący opis stosowanych metod statystycznych zawarty jest w artykułach wchodzących w skład dysertacji.

6. Wyniki

6.1 Mutacje genetyczne i wyniki laboratoryjne badanych chorych

Wśród 58 włączonych do badania chorych z HH mutacje genetyczne w obrębie genu HFE były następujące: mutacja C282Y/C282Y – 41 osób, C282Y/H63D – 11 osób, H63D/H63D – 4 osoby oraz C282Y/wt – 2 osoby.

Charakterystyka parametrów laboratoryjnych badanych grup chorych (gospodarka żelazem, poziom transaminaz, hemoglobiny i glikemii) przedstawiona jest w tabeli pierwszej każdego z artykułów (Tabela 1- strona rozprawy 38; Tabela I - strona rozprawy 52; Tabela 1 - strona rozprawy 70).

6.2 Wyniki szczegółowe pracy oryginalnej nr 1

Na podstawie danych z piśmiennictwa wiadomo, że wraz ze starzeniem się populacji wzrasta grubość ścian lewej komory serca oraz pojawiają się zmiany w zakresie funkcji rozkurczowej. Podobny wpływ na serce wywiera HH. W pierwszej pracy oryginalnej podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, jak wiek pacjenta w momencie rozpoznania HH wpływa na parametry echokardiograficzne lewej komory serca. Grupa 20 chorych ze świeżo rozpoznaną HH składała się z 10 pacjentów w wieku ≥ 50 i 10 w wieku < 50 lat. Wybór takiej granicy wieku podyktowany był faktem dość młodego średniego wieku chorych z wcześniej rozpoznaną HH, ale również faktem, że wiek 50 lat uznawany jest za graniczny dla istotnych zmian w funkcji rozkurczowej lewej komory serca. Dodatkowymi kryteriami włączenia w pracy 1 były: brak objawów ze strony układu sercowo-naczyniowego, brak wywiadu chorób kardiologicznych, a co bardzo ważne – brak nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy; nie

włączano też chorych < 18 rż. Dobrani względem wieku i płci zdrowi ochotnicy utworzyli grupę kontrolną. Na podstawie przeprowadzonych analiz zauważono, że w porównaniu do osób zdrowych, chorzy z HH w wieku ≥ 50 rż cechowali się gorszymi parametrami odzwierciedlającymi funkcję rozkurczową: IVS, LVMI, Em, E/Em, PV S/D, LAAI, LAVI (Tabela 2, strona rozprawy 38). Można to próbować tłumaczyć dodatkowym wpływem HH na szybsze uszkodzenie funkcji rozkurczowej oraz nasileniem zmian przerostowych, niż to wynika z wieku badanych chorych. Może to pośrednio wskazywać na szybsze „starzenie się serca” u chorych z HH. U pacjentów młodszych (< 50 roku życia) nie stwierdzono różnic w parametrach odpowiadających funkcji rozkurczowej, podczas gdy zauważono je w odniesieniu do funkcji skurczowej: LVEF była istotnie niższa u chorych z HH, niż u osób zdrowych (Tabela 3, strona rozprawy 39).

Podsumowując, wyniki przedstawionej publikacji mogą wskazywać na możliwy wpływ wieku w momencie rozpoznania HH, bowiem chorzy ≥ 50 rż. wykazują różnice w zakresie parametrów funkcji rozkurczowej, podczas gdy u młodszych (< 50 rż) różnice w porównaniu do grupy kontrolnej dotyczą parametrów funkcji skurczowej. Ze względu na niewielką liczbą badanych spostrzeżenia te wymagają weryfikacji na większej grupie osób.

6.3 Wyniki szczegółowe pracy oryginalnej nr 2

W kolejnej pracy oryginalnej rozprawy oceniano wpływ HH, zarówno świeżo rozpoznanej, jak i leczonej, na grubość mięśnia lewej komory serca, z uwzględnieniem współwystępujących: nadciśnienia tętniczego i cukrzycy. Wiadomo, że HH sama w sobie może prowadzić do przerostu mięśnia serca, zwłaszcza w późniejszych okresach jej trwania. Często współwystępujące z hemochromatozą nadciśnienie tętnicze oraz cukrzyca mogłyby nasilać przerost jeszcze bardziej.

Badaniu poddano 39 pacjentów ze świeżo rozpoznaną oraz 19 pacjentów z leczoną HH. Poza rutynowym pomiarem echokardiograficznym przy użyciu techniki 2D, dodatkowym narzędziem w tej pracy było użycie obrazowania trójwymiarowego dla oceny masy lewej komory serca (*full-volume*, akwizycja 6 cykli w trybie *multi-beat*). Należy zaznaczyć, że metoda ta dokonuje pomiaru masy, a nie jej szacowania, jak to ma miejsce przy zastosowaniu techniki 2D.

Wyniki przedstawionej publikacji ujawniły większe wartości parametrów odnoszących się do grubości lewej komory serca zarówno w grupie świeżo rozpoznanej, jak i wieloletniej, leczonej HH, w porównaniu do osób zdrowych. Różnice w obu grupach HH dotyczyły parametrów IVS i PW, wskaźnika RWT, długości, masy i objętości lewej komory (Tabele II i III, strony rozprawy 52 – 53). Zmiany również stwierdzono w odniesieniu do wielkości lewego przedsionka (LADs i LAVI), a należy zauważyć, że powiększenie lewego przedsionka jest znanym wskaźnikiem ciężkości i czasu trwania dysfunkcji rozkurczowej. Warto dodatkowo zauważyć, że nadciśnienie tętnicze i cukrzyca u badanych chorych nie wywierały znaczącego dodatkowego wpływu na parametry przerostu lewej komory serca (Tabele IV i V, strony rozprawy 53 – 54). To wszystko może sugerować, iż w HH mamy do czynienia raczej z kardiomiopatią indukowaną hemochromatozą, niż z prostym przerostem serca. Na zwrócenie szczególnej uwagi zasługuje też fakt, że nie parametry gospodarki żelazem, lecz czas jaki upłynął od rozpoznania, był wskaźnikiem istotnie korelującym z parametrami przerostu lewej komory serca (Tabela VI, strona rozprawy 54).

Podsumowując, wyniki przedstawionej publikacji pokazują, że nie tylko u pacjentów z wieloletnią, ale również ze świeżo rozpoznaną HH parametry grubości lewej komory są większe, niż u osób zdrowych; efekt ten nie jest do końca związany z współwystępującymi nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą, ale może zależeć od czasu jaki upłynął od rozpoznania choroby. Wymagana jest dalsza weryfikacja tych wniosków na większych grupach osób.

6.4 Wyniki szczegółowe pracy oryginalnej nr 3

Trzecia praca oryginalna poświęcona była ocenie przydatności zarówno standardowych, jak i uzyskanych za pomocą metody 2D STE parametrów echokardiograficznych (wskaźników mechaniki obrotowej oraz odkształcenia mięśnia lewej komory serca) w wykrywaniu wczesnych zmian w sercu u chorych ze świeżo rozpoznaną HH.

Jak podkreślano we wstępie, echokardiografia jest dobrze znanym i powszechnie dostępnym narzędziem diagnostycznym, a nowoczesna technika, jaką jest dwuwymiarowa echokardiografia z zastosowaniem metody śledzenia markerów akustycznych (2D STE) wydaje się pozwalać na bardziej precyzyjną ocenę mechaniki pracy serca. Oceniane za pomocą metody 2D STE odkształcenie podłużne lewej komory serca (*global longitudinal strain*) oraz tzw. *twist* (skręt), stanowiący pochodną rotacji koniuszkowej i podstawnej lewej

komory serca, to wskaźniki funkcji skurczowej lewej komory serca. Parametry tzw. *untwisting* (odkształcenie przeciwwskrętne) charakteryzują funkcję rozkurczową lewej komory. Wiele prac w dostępnym piśmiennictwie odnosi się do wyżej wspomnianych parametrów w kardiomiopatii przerostowej, amyloidozie, stenozie aortalnej, chorobie Fabry’ego, w opisie serca sportowca czy nadużywania sterydów anabolicznych. W zakresie zaburzeń gospodarki żelazem pojedyncze prace odnoszą się do chorych z beta-talasemią. Brak natomiast danych dotyczących zastosowania techniki 2D STE u pacjentów z HH. Stanowiło to przedmiot publikacji nr 3.

Badaniem objęto 24 pacjentów z HH, a kryteriami wykluczenia były nadciśnienie tętnicze i cukrzyca, wywiad i objawy ze strony układu sercowo-naczyniowego. W metodyce pracy nr 3 znajduje się dokładny opis pomiaru poszczególnych parametrów 2D STE (strony rozprawy 66 – 67, ryciny 1 – 6 na stronach 67 – 70). Wyniki standardowych parametrów echokardiograficznych u wszystkich chorych z HH mieściły się w granicach normy i nie różniły się od parametrów grupy kontrolnej (Tabela 2, strona rozprawy 71). Nie mniej jednak badanie ujawniło znamienne mniejsze wartości parametrów rotacji, skrętu i przeciwwskrętu, jak również odkształcenia podłużnego lewej komory serca w grupie HH (Tabela 3, strona rozprawy 71). Pozwala to na wnioskowanie, iż metoda 2D STE jest czułym narzędziem mogącym się okazać przydatnym w przewidywaniu wystąpienia zmian w sercu u chorych z HH.

Drugą ważną obserwacją w przedstawionej pracy nr 3 jest brak korelacji pomiędzy parametrami echokardiograficznymi, a biochemicznymi wskaźnikami poziomu żelaza we krwi (Tabela 4, strona rozprawy 72). W innych chorobach związanych z przeładowaniem organizmu żelazem (np. w beta-talasemii), również opisywano brak takiej korelacji, co nasuwa podejrzenie, że przeładowanie żelazem samo w sobie nie jest jedynym mechanizmem odpowiedzialnym za rozwój kardiomiopatii.

Wyniki pracy oryginalnej nr 3 wydają się mieć duże znaczenie naukowe i praktyczne, aczkolwiek wymagają rozszerzenia na większe grupy chorych z uwzględnieniem okresu obserwacji i stosowanego u tych chorych leczenia. Praca została wyróżniona przez Redaktorów gazety ***ECHOCARDIOGRAPHY*** poprzez umieszczenie jej w dziale **BEST PAPER** numeru.

7. Ograniczenia pracy

Niniejsza rozprawa doktorska posiada szereg ograniczeń. Ocena chorych z HH oparta była tylko o badanie echokardiograficzne; nie wykorzystano w publikacjach wyników innych technik, na przykład rezonansu magnetycznego serca, co na pewno przyczyniłoby się do jeszcze lepszego zrozumienia zmian zachodzących w sercu u chorych z HH. Powinno to niewątpliwie stanowić przedmiot dalszych publikacji zespołu. Jednak należy zwrócić uwagę na fakt, że echokardiografia jest metodą zdecydowanie bardziej dostępną, niż rezonans, tańszą oraz nie obciążającą dla pacjenta (brak podawania kontrastu w rutynowych badaniach), dlatego stwierdzenie jej samodzielnej roli w wykrywaniu zmian w sercu może mieć duże znaczenie kliniczne, między innymi w doborze chorych, u których ostatecznie należy wykonać również rezonans serca. Ważnym ograniczeniem rozprawy jest również brak odległej obserwacji badanych chorych oraz nieliczne badane grupy (w szczególności w pracy oryginalnej nr 1), co na pewno powinno stanowić przedmiot dalszych badań.

8. Wnioski

Zajęcie procesem chorobowym serca w HH jest poważnym czynnikiem rokowniczym, dlatego możliwość wykrywania wczesnych zmian w sercu, zanim dojdzie do rozwoju pełnoobjawowej choroby serca, wydaje się mieć ogromne znaczenie kliniczne. W tym aspekcie ocena echokardiograficzna serca, z zastosowaniem nowoczesnej techniki śledzenia markerów akustycznych, u chorych z HH stanowi ważny krok diagnostyczny.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wyciągnięto następujące szczegółowe wnioski:

1. Wiek chorych w momencie rozpoznania HH wydaje się mieć istotny wpływ na zmiany obserwowane w sercu. U chorych powyżej 50 rż. jest to szczególnie zauważalne w zakresie parametrów funkcji rozkurczowej, podczas gdy u młodszych wpływ choroby jest szczególnie istotny w zakresie funkcji skurczowej.
2. Nie tylko u pacjentów z wieloletnią, ale także ze świeżo rozpoznaną HH parametry grubości lewej komory serca są większe, niż u osób zdrowych; efekt ten nie jest do końca związany z współwystępującymi nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą, lecz może wykazywać związek z czasem jaki upłynął od rozpoznania choroby.

3. Mimo braku zmian w zakresie standardowych parametrów echokardiograficznych, oceniane za pomocą metody śledzenia markerów akustycznych wskaźniki rotacji i odkształcenia lewej komory były istotnie gorsze u pacjentów ze świeżą HH, niż u osób zdrowych, co pozwala sugerować, iż technika 2D STE może się okazać przydatnym narzędziem diagnostycznym w przewidywaniu zmian w sercu u chorych z HH.
4. Brak korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami echokardiograficznymi, a biochemicznymi wskaźnikami gospodarki żelaza we krwi może nasuwać podejrzenie, że przeładowanie żelazem samo w sobie nie jest jedynym mechanizmem odpowiedzialnym za rozwój kardiomiopatii w HH.