

FIBRÓZNÍ POŠKOZENÍ MYOKARDU U NEMOCNÝCH SE SYSTÉMOVOU SKLERODERMÍÍ

J. Šedivý¹, M. Hromádka¹, J. Baxa², J. Seidlerová-Mlíková³, R. Rokyta¹

¹ Kardiologické oddělení FN Plzeň, ² Klinika zobrazovacích metod FN Plzeň, ³ II. interní klinika FN Plzeň

Systémová sklerodermie (SSc) je chronické celkové onemocnění pojivové tkáně postihující kůži, pohybové ústrojí a některé vnitřní orgány. Přítomnost symptomatického srdečního postižení lze považovat za špatný prognostický faktor u pacientů se systémovou sklerózou (1). Databáze Evropské skupiny pro léčbu a výzkum systémové sklerodermie potvrdila nejen nízkou prevalenci závažného srdečního onemocnění, avšak také jeho negativní prognostický dopad a vliv na mortalitu z kardiální příčiny, která se pohybuje okolo 26 % (2). Typické poškození srdce u systémové sklerózy představuje myokardiální fibróza, která neodpovídá typické lokalizaci koronárních tepen a je výsledkem opakované ischémie – reperfuční abnormality (3).

Cíl studie

Cílem naší studie bylo zhodnotit potenciální přínos parametrů magnetické rezonance (MR) schopných diagnostikovat lokalizovanou a difuzní myokardiální fibrózu, a to ve vztahu k doposud užívaným klinickým parametrům a novým laboratorním markerům kardiálního postižení u pacientů se systémovou sklerózou.

Soubor nemocných a metodika

Do prospektivní studie byli zařazeni neselektovaní pacienti sledovaní v revmatologické ambulanci Fakultní nemocnice v Plzni s diagnózou systémové sklerodermie. Náběr pacientů probíhal v r. 2015 a zařazovacími kritérii bylo: 1) splnění kritérií užívaných pro diagnostiku SSc podle American College of Rheumatology (Arthritis Rheum. 1980) a 2) sinusový rytmus. Vylučovací kritéria byla: 1) jakákoliv forma současného či prodělaného srdečního onemocnění; 2) standardní kontraindikace provedení MR vyšetření či podání Gd kontrastní látky, 3) osoby s renální dysfunkcí (úroveň glomerulární filtrace < 30 ml/min), 4) těhotné či kojící ženy. Kontrolní soubor byl vytvořen ze zdravých dobrovolníků (stejná vyřazovací kritéria jako u osob se SSc). Podmínkou zařazení do kontrolního souboru byl normální nález na EKG vyšetření.

Všechny osoby byly seznámeny se smyslem a podmínkami provedené studie, která byla schválena lokální etickou komisí Fakultní nemocnice v Plzni. Pacienti zároveň podepsali lokální komisí schválené informované souhlasy.

Celkem jsme zařadili 33 pacientů se systémovou sklerodermií a 20 kontrol. U nemocných se systémovou sklerodermií převažovaly ženy na rozdíl od kontrolní skupiny (87,9 vs. 50,0 %; $p = 0,0024$). Jinak byly obě skupiny podobné, pokud jde o věk (medián 55,5 (SD 12,5) let), hodnotu krevního tlaku (137,0/81,8 mmHg), body mass index (27,2 (SD 5,0) kg/m²) a přítomnost komorbidit (p pro všechny $\geq 0,11$). Medián trvání onemocnění systémovou sklerodermií byl 10 let (v rozmezí 1–40). Většina pacientů (87,9 %) měla difúzní formu systémové sklerodermie. Modifikované kožní skóre dle Rodnana dosáhlo 17,4 (SD, 4,4) bodů. Dvě třetiny pacientů se systémovou sklerodermií užívaly kortikosteroidy a polovina chorobu modifikující antirevmatické léky (DMARDs).

MR vyšetření

MR vyšetření byla prováděna za použití 3T MR přístroje (MAGENTOM Skyra, Siemens Healthcare, Forchheim, Německo). Pro vyšetření byla použita 32 kanálová cívka pro hrudník, případně tělová cívka. Všechny použité sekvence byly provedeny za použití EKG synchronizace a se zadržením dechu v lehkém nádechu. Pro T1 mapování byly použity sekvence ShMOLLI (Shortened Modified Look-Locker Inversion Recovery (4)). Kromě sekvencí pro T1 mapování byly provedeny sekvence pro funkční analýzu levé srdeční komory, sekvence pro hodnocení přítomnosti edému myokardu (STIR – short-Tau inversion recovery), dále sekvence pro hodnocení LGE a také dynamické T1 sekvence pro hodnocení perfúze.

Echokardiografie

Komplexní vyšetření jsme prováděli na přístroji Vivid 7, GE Medical Systems, Horton, Norsko. Hodnocení diastolické funkce LK zahrnovalo změření rychlosti časného plnění (vlna E) a pozdního diastolického plnění levé komory (vlna A), poměru E/A, deceleračního času (DT) rychlosti časného plnění.

Laboratorní stanovení

Hodnota kreatininu v séru, albuminu v moči, myoglobinu, kyseliny močové, C reaktivního proteinu (CRP), NT-pro BNP byly stanoveny pomocí originální analytické soupravy od Roche na analyzátoru Cobas 8000. Hypersenzitivní troponin I (hsTnI) byl měřen pomocí setu STAT High Sensitive Troponin-I assay (Abbott Diagnostics, USA) na analyzátoru Architect i2000. Cirkulující imunokomplexy (CIK) byly měřeny pomocí polyethylenglykolové precipitace s fotometrickou detekcí na Microplate Reader). Interleukin 6 (IL-6) byl stanoven imunoenzymatickou analýzou s chemiluminiscenční detekcí na analyzátoru Immulite 2000, Siemens. Anti-nukleární protilátky (ANA IgG) byly stanoveny nepřímým imunofluorescenčním testem s HEp-2 buňkami (Euroimmun), použit fluorescenční mikroskop Olympus. Extrahovatelné nukleární antigeny (ENA) byly určeny imunoenzymatickou analýzou s fluorescenční detekcí na Unicap 250 analyzátoru, Thermo Scientific. Složky komplementu 3 a 4 (C3, C4) byly měřeny pomocí nefelometrického imunostanovení na BN II analyzátoru, Siemens. GDF-15 (RayBiotech, Norcross, USA), procollagen III N terminální propeptid (Blue Gene, Shanghai, Čína), IL1R (Blue Gene, Shanghai, Čína)

a galectin-3 (MyBiosource.com, San Diego, USA) byly stanoveny pomocí ELISA kitů na Nexgen ELISA Reader (Adaltis, Řím, Itálie).

VÝSLEDKY

Laboratorní parametry charakterizující aktivitu onemocnění v porovnání s kontrolami vyšší u pacientů se systémovou sklerodermií; sedimentace erytrocytů (10,0 (střední hodnota, 7,0–14,0) vs. 6,0 (IQR, 4,0–8,5) mm/h; $p = 0,0068$); C-reaktivní protein (4,6 (SD, 6,7) vs. 2,2 (SD, 1,6) mg/l; $p = 0,063$); extrahovatelné nukleární antigeny (9,8 (IQR, 1,0–22,0) vs. 0,15 (IQR, 0,10–0,20) mm/h; $p < 0,0001$). U sedmi pacientů (21,2 %) byla přítomna systémová sklerodermie spolu s intersticiálním onemocněním plic; 48,5 % pacientů mělo patologickou hodnotu DLCO (<80 %).

Echokardiografie

Mezi pacienty se systémovou sklerózou a kontrolami jsme nenalezli žádné rozdíly v konvenčních echokardiografických parametrech. U nemocných se systémovou sklerodermií jsme nenalezli známky možné plicní hypertenze.

Zobrazení srdce pomocí magnetické rezonance

Pacienti se systémovou sklerózou měli v porovnání s kontrolami vyšší prevalenci přítomnosti LGE (42,4 % vs. 0 %; $p = 0,007$), jak dokládá tab. 1. Všechny léze LGE byly malé fokální plochy s neischemickým obrazem lokalizovaným v intramyokardiální vrstvě. Dvě třetiny lézí LGE se nacházely ve volné stěně a zbytek v septu. Pomocí sekvence T2 STIR jsme u pacientů se systémovou sklerózou našli malou plochu myokardiálního edému (3,0 %). ECV and nativní T1 relaxační čas byly signifikantně vyšší ($p < 0,0001$ pro oba parametry), zatímco postkontrastní T1 bylo nižší u pacientů se systémovou sklerózou než v případě kontrol ($p = 0,0018$; tab. 1).

Tab. 1 MR parametry

	SSc, n = 33	Kontroly, n = 20	P
Pozdní syčení gadolinem, n (%)	14 (42,4)	0	0,0007
Objem extracelulární tekutiny, %	27,5 ± 2,8	22,8 ± 1,9	< 0,0001
Nativní T1, ms	1258,9 ± 51,2	1192,2 ± 32,6	< 0,0001
Postkontrastní T1, ms	586,7 ± 64,3	629,3 ± 28,1	0,0018
Myokardiální edém, n (%)	1 (3,0)	0	0,4300

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr ± standardní odchylka či číslo (procenta), p pro rozdíl mezi skupinami vypočítán pomocí Studentova t -testu nebo χ^2 testu.

Dále jsme posuzovali, zda by doba trvání mohla být spojena s parametry MR. Mezi délkou onemocnění a přítomností LGE ($p = 0,43$), ECV ($p = 0,47$), prekontrastní T1 ($p = 0,74$)

a postkontrastní T1 ($p = 0,81$) jsme nezjistili podstatnou souvislost. Taktéž jsme otestovali možný vliv kortikoterapie na parametry CMR. Všechny parametry CMR zahrnuté ve studii byly obdobné u pacientů, kteří byli léčeni pomocí kortikosteroidů, ($n = 22$), oproti těm, kteří byli neměli tuto léčbu ($n = 11$, $p \geq 0,45$).

Biochemické parametry

Sérové koncentrace vysoce senzitivního troponinu I (hsTnI) a prokolagenu typu III byly o dvou skupin podobné (tab. 2). Naopak koncentrace NT-pro BNP, GDF 15 a galectinu 3 byly vyšší u pacientů se systémovou sklerózou než u kontrol ($p \geq 0,028$; tab. 2). Růstový diferenciační faktor (GDF 15) pozitivně koreloval s objemem extracelulární tekutiny ($r = 0,36$; $p = 0,0076$) a nativním T1 ($r = 0,31$; $P = 0,023$). Po ajustaci k pohlaví, věku a renální funkci byl faktor GDF-15 i nadále signifikantně asociovaný s objemem extracelulární tekutiny ($F = 8,27$; $p = 0,0060$) a nativním T1 ($F = 5,46$; $p = 0,024$).

Tab. 2 Biochemické parametry

	SSc, n = 33	Kontroly, n = 20	P
hsTnI, ng/l	3,7 (2,3–9,2)	8,0 (2,9–13,9)	0,1600
NT-proBNP, ng/l	127 (98–174)	47 (33–123)	0,0041
GDF 15, ng/ml	1,24 ± 0,51	0,81 ± 0,43	0,0027
Galectin-3, ng/ml	5,1 ± 8,8	1,5 ± 0,9	0,0280
PIIINP, pg/ml	437,8 ± 648,3	240,8 ± 108,6	0,0970

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr ± standardní odchylka či číslo (procenta), p pro rozdíl mezi skupinami vypočítán pomocí Studentova t-testu nebo χ^2 testu.

hsTnI – vysoce senzitivní troponin I; GDF 15 – růstový diferenciační faktor 15; PIIINP – N-terminální propeptid prokolagenu typu III

U pacientů se systémovou sklerózou jsme pozorovali, že plazmatická hladina GDF 15 negativně korelovala s difúzní kapacitou plic pro oxid uhelnatý ($r = -0,58$; $p = 0,0004$). Plazmatická hladina GDF 15 rovněž pozitivně korelovala s modifikovaným kožním skórem dle Rodnana ($r = 0,59$; $p = 0,0003$). V multivariační analýze zůstal GDF-15 významným determinantem DLCO ($F = 18,53$; $p = 0,0002$) a mRSS ($F = 18,76$; $p = 0,0002$).

Parametry MR rovněž korelovaly se sérovými hladinami galectinu-3, ECV ($r = 0,38$; $p = 0,0081$) a nativním T1 ($r = 0,35$; $P = 0,012$). Po adjustaci na pohlaví, věk a renální funkce zůstal galectin-3 ve vztahu k ECV ($F = 6,99$; $p = 0,011$) a nativním T1 ($F = 5,76$; $p = 0,020$). Galectin-3 však nesouvisel s mRSS ($r = 0,31$; $p = 0,083$) a DLCO ($r = -0,17$; $p = 0,36$). Žádný z dalších laboratorních parametrů neměl spojitost s parametry CMR.

DISKUZE

Přínos tohoto sledování oproti dříve publikovaným výsledkům spočívá v jejím komplexním zhodnocení vztahu mezi novým zobrazováním pomocí MR a laboratorními

parametry. Této problematice se dosud nevěnovala žádná studie. Zaznamenali jsme, že oproti kontrolám vykazovali pacienti se systémovou sklerózou zvýšené difuzní fibrózní parametry dle MR. Tyto MR parametry korelovaly s GDF-15 a galectinem-3.

GDF-15 byl původně identifikován jako faktor sekretovaný aktivními makrofágy (4). GDF-15 je zejména dobře známý svojí rolí v imunitním systému a v regulaci tkáňového metabolismu. (5) uvádí, že u pacientů se systémovou sklerózou byly sérové hladiny GDF-15 spjaty s postižením plicních funkcí. V souladu s tímto poznatkem jsme zaznamenali, že hodnoty GDF-15 byly vyšší u pacientů se sníženým DLCO (<0,75 %) na rozdíl od pacientů se systémovou sklerózou se zachovaným DLCO ($1,15 \pm 0,60$ vs. $0,92 \pm 0,22$; $p = 0,042$).

Galectin-3 koreloval s parametry MR spojených s fibrózou. Na rozdíl od GDF-15 neměl galectin-3 spojitost s plicní funkcí nebo se závažností kožní fibrózy. Experimentální studie uvádějí, že by galectin-3 mohl být důležitým mediátorem kardiální fibrózy, což má souvislost se srdečním selháním, které tento jev doprovází, a s mortalitou (6, 7).

Postupný vývoj difuzní myokardiální fibrózy představuje velké riziko pro pacienty se systémovou sklerózou. Kromě vývoje diastolické a systolické dysfunkce LK by mohla myokardiální fibróza také zvyšovat riziko vzniku arytmií nebo náhlé smrti. Srdeční arytmiie jsou spojovány se špatným průběhem onemocnění (8). Existují domněnky, že mikrovaskulární alterace s následným morfologickým vaskulárním poškozením, kolagenovou depozicí a celkovou poruchou imunitního systému souvisí s myokardiální fibrózou (3).

Až donedávna bylo jedinou možností, jak neinvazivně vyhodnotit myokardiální fibrózu, pozdní syčení gadoliniem. Naopak T1 mapování dovoluje precizní kvantifikaci difuzních změn v relaxačním čase ovlivněnou různými postiženími a je v poslední době považováno za užitečnou a efektivní metodu určenou k detekci a kvantifikaci myokardiální fibrózy u pacientů se systémovou sklerózou (9, 10). V naší studii jsme potvrdili signifikantní rozdíl v nativním T1 mapování a hodnotách ECV mezi pacienty se systémovou sklerózou a zdravými jedinci. Kromě toho jsme zjistili fokální myokardiální edém pouze u jednoho pacienta s SSc. Toto sledování zvyšuje pravděpodobnost faktu, že zvýšená hodnota ECV a T1, které jsme u pacientů se systémovou sklerózou sledovali, byla zapříčiněna expanzí objemu myokardiálního kolagenu. Zvýšené hodnoty C-reaktivního proteinu byly zjištěny pouze u 5 pacientů se systémovou sklerózou (u nichž jsme nedetekovali myokardiální edém). Tento nálezný dále podporuje hypotézu, že sledované změny nebyly způsobeny lokálním myokardiálním zánětem. Tyto výsledky odpovídají výsledkům z dříve publikovaných studií zaměřených na změny v myokardu u pacientů se systémovou sklerózou (11, 12).

SOUHRN

U pacientů se systémovou sklerózou byly prokázány vyšší hodnoty ECV a nativních T1 hodnot v porovnání s kontrolním souborem, což odpovídá difuznímu fibróznímu postižení myokardu. Byla zjištěna korelace MR parametrů se stupněm fibrotického postižení kůže. S myokardiální fibrózou odhalenou při MR korelovaly pouze hladiny faktoru GDF-15 a galectinu-3. GDF-15 rovněž koreloval se závažností sklerózy kůže a poškozenou plicní

funkcí u pacientů se systémovou sklerózou. Otázka toho, zdali by screeningové stanovení GDF-15 a galectinu-3 mohlo pomoci stratifikovat riziko u pacientů se systémovou sklerózou a pomoci při indikaci MR vyšetření a Holter EKG.

Fibrotic myocardial involvement in patients with systemic sclerosis

SUMMARY

Patients with systemic sclerosis have been shown to have higher ECV and native T1 values compared to the control group, which corresponds to diffuse fibrotic involvement of the myocardium. We found the correlation of MR parameters with degree of skin involvement. Myocardial fibrosis detected with MR correlated only with GDF-15 and galectin-3 levels. GDF-15 also correlated with the severity of skin sclerosis and impaired pulmonary function in patients with systemic sclerosis. The question of whether the screening assay for GDF-15 and galectin-3 could help stratify the risk of systemic sclerosis and help with MR and Holter ECG.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena projektem Ministerstva zdravotnictví koncepčního rozvoje výzkumné organizace (FN Plzeň, 00669806) a programem podpory rozvoje vědy UK (Progres Q38).

LITERATURA

1. Steen V. D., Medsger T. A. Jr.: Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum.* 43, 2000: 2437–2444. – 2. Ferri C., Valentini G., Cozzi F. et al.: Systemic Sclerosis Study Group of the Italian Society of Rheumatology (SIR-GSSSc). Systemic sclerosis: demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *Medicine.* 81, 2002:139–153. – 3. Kahaleh B.: The microvascular endothelium in scleroderma. *Rheumatology* 2008, 47 Suppl. 5: v14–v15. – 4. Bootcov M. R., Bauskin A. R., Valenzuela S. M. et al.: MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 94, 1997: 11514–11519. – 5. Lambrecht S., Smith V., De Wilde K. et al.: Growth differentiation factor 15, a marker of lung involvement in systemic sclerosis, is involved in fibrosis development but is not indispensable for fibrosis development. *Arthritis Rheumatol.* 66, 2014: 418–427. – 6. Ho J. E., Liu C., Lyass A. et al.: Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *J. Am. Coll. Cardiol.* 60, 2012: 1249–1256. – 7. McCullough P. A.: Practical experience using galectin-3 in heart failure. *Clin. Chem. Lab. Med.* 52, 2014:1425–1431. – 8. Vacca A., Meune C., Gordon J. et al.: Scleroderma Clinical Trial Consortium Cardiac Subcommittee. Cardiac arrhythmias and conduction defects in systemic sclerosis. *Rheumatology* 53, 2014: 1172–1177. – 9. Avouac J., Meune C., Chenevier-Gobeaux C. et al.: Cardiac biomarkers in systemic sclerosis: contribution of high-sensitivity cardiac troponin in addition to N-terminal pro- natriuretic peptide. *Arthritis Care Res.* 67, 2015: 1022–1030. – 10. Mavrogeni S., Spargias C., Bratis C. et al.: Myocarditis as a precipitating factor for heart failure: evaluation and 1-year follow-up using cardiovascular magnetic resonance

and myocardial biopsy. *Eur. J. Heart Fail* 13, 2011: 830–837. – 11. Perea R. J., Ortiz-Perez J. T., Sole M. et al.: T1 mapping: characterisation of myocardial interstitial space. *Insights Imaging* 6, 2015: 189–202. – 12. Thuny F., Lovric D., Schnell F. et al.: Quantification of myocardial extracellular volume fraction with cardiac MR imaging for early detection of left ventricle involvement in systemic sclerosis. *Radiology* 271, 2014: 373–380.

Adresa autora: J. Š., alej Svobody 80, 304 60 Plzeň