

## **STRESZCZENIE**

### **Wstęp:**

Mukowiscydoza (CF) jest jedną z najczęstszych chorób genetycznych autosomalnych recesywnych wywołanych mutacjami w wewnątrz błonowym regulatorze przewodnictwa – białku tworzącym kanał chlorkowy w błonie komórkowej – CFTR. Zaburzenia białka CFTR prowadzą do szerokiego spektrum schorzeń wątroby i dróg żółciowych, określanych jako choroba wątroby związana z mukowiscydozą (CFLD – *cystic fibrosis liver disease*). Modulatory CFTR to leki, które wiążą się z białkiem CFTR i zwiększają przewodnictwo chlorkowe w błonie komórkowej. Wprowadzenie modulatorów CFTR zrewolucjonizowało leczenie CF, zmieniło życie i rokowanie u chorych przyczyniając się do poprawy jakości życia i spowolnienia progresji zmian w przebiegu CF.

Prezentowana praca naukowa wykorzystuje dwie metody elastografii: SWE w badaniu USG (*Shear Wave Elastography*) oraz MRE (*Magnetic Resonance Elastography*) do oceny uszkodzenia wątroby u pacjentów z CF przed i po leczeniu modulatorami CFTR. Badanie MR umożliwia także ilościowy pomiar stłuszczenia wątroby (%) z wykorzystaniem techniki „IDEAL-IQ”. W literaturze światowej brak doniesień naukowych z wykorzystaniem jednocześnie dwóch technik elastografii (SWE i MRE) u chorych z CF po leczeniu modulatorami CFTR.

### **Cel pracy:**

Nadrzędnym celem przedstawionego badania jest wykorzystanie elastografii jako kluczowej metody w nieinwazyjnej diagnostyce uszkodzenia i włóknienia wątroby u chorych z CF przede wszystkim jako alternatywy do wykonywania biopsji, a także zoptymalizowanie diagnostyki i leczenia. Cele szczegółowe:

1. Ocena zmian w wątrobie u pacjentów z CF z wykorzystaniem metody SWE, MRE i MR „IDEAL-IQ” oraz porównanie otrzymanych wyników z grupą kontrolną
2. Ocena zmian w wątrobie u pacjentów z CF po leczeniu modulatorami CFTR w porównaniu do badań wykonanych przed włączeniem leczenia z wykorzystaniem metod SWE i MRE oraz oceny stłuszczenia wątroby w badaniu MR „IDEAL-IQ”
3. Ocena monitorowania uszkodzenia wątroby u pacjentów z CF przy użyciu nieinwazyjnych metod elastografii SWE i MRE

## **Material i metody:**

Do badania włączono 84 osoby: 41 (48.8%) pacjentów z CF (potwierdzone badaniem genetycznym), w tym 22 kobiety (53,66%) i 19 mężczyzn (46,34%), w wieku 5–39 lat (średnia 19,95), którzy w latach 2020–2022 byli leczeni i diagnozowani w Klinice Alergologii i Mukowiscydozy Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego Nr 2 im. Św. Jadwigi Królowej w Rzeszowie lub w Przyklinicznej Poradni Mukowiscydozy. Grupę kontrolną stanowiło 43 (51.2% badanych) zdrowych ochotników: 28 kobiet 65,12% i 15 mężczyzn 34,88% w przedziale wiekowym 8–9 lat (średnia 20,93), u których nie stwierdzono chorób wątroby. Sztywność wątroby była mierzona w badaniu SWE (u wszystkich uczestników badania, w grupie z CF przed włączeniem leczenia modulatorami CFTR) i MRE u wszystkich ochotników oraz 27 pacjentów z CF przed włączeniem leczenia modulatorami CFTR. W badaniu MR zmierzono stopień stłuszczenia wątroby wykorzystując technikę „IDEAL-IQ”. Badanie MRE wykonano do 3 m-cy od badania SWE. Pomiar sztywności wyrażono w kPa (SWE i MRE), stopień stłuszczenia wątroby w % (MR „IDEAL-IQ”).

Kontrolne badanie SWE objęło 38 z 41 wyjściowo badanych pacjentów z CF (19 kobiet - 50% i 19 mężczyzn - 50%), w przedziale wiekowym 8–42 lat (średnia 22,39). Łącznie 30 pacjentów (78,95 %) badanej grupy zostało objętych leczeniem modulatorami CFTR – grupa leczona (w tym 14 kobiet – 46,67%, 16 mężczyzn – 53,33% w przedziale wiekowym 8–42 lat, średnia wieku 21 lat), podczas gdy 8 pacjentów (21,05%) nie otrzymywało tej terapii – grupa kontrolna, w tym 5 kobiet – 62,5%, 3 mężczyzn – 37,5%, w przedziale wiekowym 11–42 lat., średnia 27 lat). W grupie objętej leczeniem kontrolne USG SWE wykonano od 28 do 54 miesięcy od poprzedniego badania USG (średnia 36,6 m-cy). Czas od rozpoczęcia leczenia do kontrolnego badania USG wynosił od 12 do 33 miesięcy (średnia 29,9 m-cy).

Kontrolne badanie MRE wykonano u 24 pacjentów z CF z 27 badanych wyjściowo, jednak do analizy włączono 22 badania (12 kobiet (54,54%) i 10 mężczyzn 46,46%), w przedziale wiekowym 11–42 r.ż. (średnia 24 lata). 17 pacjentów z badanej grupy (77%) zostało objętych leczeniem modulatorami CFTR (9 kobiet – 53%, 8 mężczyzn – 47%, w przedziale wiekowym 14–35 r.ż. średnia wieku 22 lata), 5 pacjentów (23%) nie włączono do leczenia modulatorami CFTR. U wszystkich pacjentów wykonano pomiar stopnia stłuszczenia wątroby (MR „IDEAL-IQ”).

Do analizy w grupie z CF wykorzystano wiek, płeć, BMI, wyniki badań laboratoryjnych (AspAt, AlAt, GGTP), spirometrię, zarówno podczas badania wyjściowego jak i kontrolnego.

## Wyniki:

Badanie SWE wykazało wyższą medianę sztywności wątroby w całej grupie z CF Mdn = 5,27 kPa (IQR: 4,26 kPa – 6,81 kPa) w porównaniu z grupą kontrolną Mdn = 4,14 kPa (IQR: 3,43 kPa – 4,86 kPa), ( $p < 0.001$ ). Częstość występowania sztywności wątroby  $>5$  kPa (SWE) w grupie z CF wyniosła 41,46%, w grupie kontrolnej 0%;  $p < 0.001$ . W grupie ochotników  $<18$  r.ż. wykazano wyższą medianę sztywności wątroby w SWE, Mdn = 4,66 kPa (IQR 4,11 kPa – 4,99 kPa), w porównaniu z grupą ochotników  $>18$  r.ż., Mdn = 3,78 (IQR 3,39 kPa – 4,55 kPa), ( $p = 0,019$ ), jednak w obu grupach sztywność wątroby pozostawała w zakresie normy. Pomiar SWE w grupie chorych z CF nie wykazały istotnej statystycznie różnicy między pacjentami  $<18$  r.ż. (Mdn = 4,91 kPa; IQR: 4,63–5,66 kPa) i  $>18$  r.ż. (Mdn = 5,42 kPa; IQR: 3,75–7,25 kPa), ( $p=0,885$ ).

Badanie MRE nie wykazało istotnej różnicy w sztywności wątroby między całą grupą z CF a grupą kontrolną ( $p = 0,764$ ). Natomiast MRE potwierdziło podwyższoną medianę sztywności wątroby u pacjentów z CF  $<18$  r.ż. (Mdn = 2.27 kPa; IQR: 1.93 kPa – 2.51 kPa) w porównaniu z pacjentami z CF  $>18$  r.ż. (Mdn = 1.74 kPa; IQR: 1.56 kPa – 2.06 kPa), ( $p = 0.017$ ).

Mediana stłuszczenia wątroby w badaniu MR „IDEAL-IQ” w grupie z CF wyniosła Mdn = 5,90% (IQR: 3,00 – 16,25%), w grupie kontrolnej Mdn = 2,58% (IQR: 1,80 – 3,20%); ( $p < 0.001$ ). Pacjenci z CF  $<18$  r.ż. wykazują wyższe wartości stłuszczenia wątroby (%) w badaniu MR „IDEAL-IQ” (Mdn = 14,90%, IQR: 12,30 – 24,10%), w porównaniu pacjentami  $>18$  r.ż. (Mdn = 4,75%; IQR: 2,65 – 7,33 %), ( $p = 0.048$ ). Częstość występowania stłuszczenia wątroby  $\geq 6.5\%$  (MR “IDEAL-IQ”) u wszystkich pacjentów z CF wyniosła 48,15%, podczas gdy u pacjentów z CF  $<18$  r.ż. – 77.78%, u dorosłych  $>18$  r.ż. z CF – 33.33%;  $p = 0.046$ .

Nie wykazano związku włóknienia weryfikowanego w badaniu MRE ze stłuszczeniem (95% CI: - 0,02–0,03;  $p = 0,639$ ). Jedynie wiek w latach i przynależność do grupy wiekowej  $<18$  r.ż. wyłaniają się jako istotne predyktory częstości występowania włóknienia wątroby (OR = 0,83; 95% CI 95%: 0,68 – 0,95;  $p = 0,023$ ).

Powyzsze badanie pokazuje, że SWE w połączeniu z dodatkową metodą oceny, taką jak MRE, zwiększa szanse wykrycia nieprawidłowości w wątrobie i pozwala jeszcze skuteczniej wykluczyć CFLD. Najlepsze wyniki wydajnościowe uzyskano dla progu MRE  $>2,7$  kPa z punktem odcięcia SWE 11,06 kPa (czułość – 0,67, swoistość – 0,92, a suma czułości i swoistości – 1,58, przy najwyższym AUC – 0,86), co wskazuje na bardzo dobrą zdolność dyskryminacyjną SWE w identyfikacji włóknienia na tym progu. Dokładność USG w wykrywaniu włóknienia wątroby dla MRE  $>2,7$  kPa wyniosła 0,89. Dla progu MRE

>1,9 kPa punkt odcięcia 4,86 kPa (czułość 0,79, swoistość 0,77 i AUC 0,76), co może być przydatne w badaniach przesiewowych.

Badanie kontrolne SWE po leczeniu modulatorami CFTR nie wykazało istotnej statystycznie zmiany sztywności wątroby ani istotnych różnic między grupą leczoną i kontrolną podczas żadnej z wizyt (wyjściowej i kontrolnej). Podczas pierwszej wizyty mediana sztywności wątroby była nieznacznie wyższa w grupie leczonej (Mdn = 4,91 kPa, IQR: 4,35 kPa – 6,06 kPa) w porównaniu z grupą kontrolną (Mdn = 4,39 kPa, IQR: 3,43 kPa – 5,33 kPa), ( $p = 0,204$ ). Podczas drugiej wizyty wartości sztywności wątroby pozostały podobne między grupami, z Mdn = 4,93 kPa (IQR: 4,09 kPa – 6,00 kPa) w grupie leczonej i Mdn = 4,87 kPa (IQR: 2,72 kPa – 6,86 kPa) w grupie kontrolnej ( $p = 0,463$ ). Podobnie analiza wewnątrzgrupowa nie wykazała istotnej różnicy zmiany sztywności wątroby w SWE po leczeniu (wyjściowo Mdn = 5,12 kPa, IQR: 4,35 kPa – 6,45 kPa; po leczeniu Mdn = 4,93 kPa, IQR: 4,09 kPa – 6,00 kPa), ( $p = 0,590$ ).

Analiza obejmująca tylko pacjentów leczonych wykazała spadek liczby pacjentów z powiększeniem wątroby w USG z 15 (50,0%) do 8 (26,7%) pacjentów,  $p = 0,043$ . W grupie leczonej odnotowano istotny wzrost mediany FEV1% z Mdn = 90,50% (IQR: 71,25 – 100,25%) do Mdn = 98,00% (IQR: 82,50 – 112,25 %), ( $p = 0,010$ ) oraz wzrost mediany FEV1/FVC% z Mdn = 81,72% (IQR: 72,67–94,50%) do Mdn = 96,00% (IQR: 81,75–98,75%), ( $p = 0,001$ ). Analiza obejmująca tylko grupę leczoną wykazała wzrost mediany BMI ( $\text{kg/m}^2$ ) z Mdn = 18,77  $\text{kg/m}^2$  (IQR: 17,32–21,42  $\text{kg/m}^2$ ) do Mdn = 20,63 (IQR: 19,44–23,94  $\text{kg/m}^2$ ), ( $p < 0,001$ ).

Nie wykazano istotnych zmian dotyczących częstości powiększenia i stłuszczenia wątroby oraz powiększenia śledziony weryfikowanego w rutynowym badaniu USG przed i po leczeniu pomiędzy grupą leczoną i kontrolną. Nie wykazano istotnych różnic zmiany poziomów markerów wątrobowych AspAt i AlAt pomiędzy grupą badaną i kontrolną porównując badanie wyjściowe i badanie kontrolne.

Analiza zmian sztywności wątroby przy użyciu wieloczynnikowego podejścia z wykorzystaniem modelu RLM (model regresji liniowej) nie wykazała wpływu na zmianę sztywności takich czynników jak typ mutacji, wiek, płeć, BMI, CFRD, stłuszczenie wątroby w wyjściowym badaniu USG, zwłóknienie wątroby czy powiększenie śledziony podczas wyjściowego badania USG. Również odstęp czasowy między badaniem wyjściowym a kontrolnym oraz odstęp czasowy między rozpoczęciem leczenia a kontrolnym badaniem SWE nie wpłynął istotnie na zmianę sztywności wątroby w badaniu SWE.

Jedynie obecność powiększenia wątroby podczas pierwszej wizyty okazała się czynnikiem ochronnym o granicznym znaczeniu ( $B = -1,45$  kPa; 95%CI: -2,90 – 0,00;

$p = 0,049$ ), wskazując, że u pacjentów z powiększeniem wątroby na początku badania częściej występowało zmniejszenie (lub mniejszy wzrost) sztywności wątroby w czasie w porównaniu z pacjentami bez powiększenia wątroby.

Analiza zmian parametrów klinicznych przed i po leczeniu w grupie 17 pacjentów leczonych modulatorami CFTR objętych kontrolnym badaniem MRE istotną zmianę w zakresie sztywności wątroby MRE, gdzie mediana wartości istotnie wzrosła z  $Mdn = 1,88$  kPa (IQR: 1,59 kPa – 2,28 kPa) do  $Mdn = 2,54$  kPa (IQR: 2,28 kPa – 2,72 kPa), ( $p = 0,001$ ). Na podstawie analizy regresji nie wykazano wpływu na sztywność i stłuszczenie wątroby (MRE i MR „IDEAL-IQ”) takich czynników jak płeć, czas od włączenia leczenia oraz czas między wyjściowym i kontrolnym badaniem MRE.

W kontrolnej spirometrii po leczeniu odnotowano wzrost parametru FEV1%, z  $Mdn = 82,00\%$  (IQR: 70,00–96,00 %) do  $Mdn = 99,00\%$  (IQR: 87,00–114,00 %) ( $p = 0,007$ ). Znaczną poprawę wykazano w zakresie zmiany wskaźnika masy ciała (BMI), który zwiększył się z  $Mdn = 18,16$  kg/m<sup>2</sup> (IQR: 17,41–19,36 kg/m<sup>2</sup>) do  $Mdn = 21,55$  kg/m<sup>2</sup> (IQR: 19,43–23,74 kg/m<sup>2</sup>), ( $p = 0,001$ ), zmniejszył się odsetek pacjentów z niedożywieniem ( $BMI < 18,5$  kg/m<sup>2</sup>), spadając z 52,94% do 5,88% ( $p = 0,013$ ).

Pozostałe oceniane parametry, w tym powiększenie śledziony, powiększenie wątroby, stłuszczenie i włóknienie wątroby oceniane metodami obrazowymi (USG, SWE, MR „IDEAL-IQ”), poziomy enzymów wątrobowych (AspAT, AlAT) oraz wskaźnik FEV1/FVC%, nie wykazały istotnych statystycznie zmian po leczeniu ( $p > 0,05$ ).

## **Wnioski:**

1. Ocena sztywności wątroby na podstawie wyników badań SWE i MRE pozwala zróżnicować pacjentów z CF z uszkodzeniem wątroby oraz ze zdrową wątrobą. Częstość występowania sztywności wątroby  $> 5$  kPa w SWE jest istotnie statystycznie wyższa w grupie z CF w porównaniu z grupą zdrowych ochotników. Pacjenci z CF  $< 18$  r.ż mają zwiększone ryzyko wystąpienia włóknienia wątroby na podstawie wyników MRE oraz większe stłuszczenie wątroby w badaniu MR „IDEAL-IQ” w porównaniu z grupą pacjentów z CF  $> 18$  r.ż oraz z grupą zdrowych ochotników.
2. Skuteczna terapia modulatorami CFTR u pacjentów z CF zwiększa konieczność wykorzystywania nieinwazyjnych metod wykrywania stopniowych zmian w nasileniu CFLD. W kontekście chorób wątroby związanych z CF każdy pacjent skutecznie służy jako własna kontrola, a zmiany sztywności wątroby w czasie służą do oceny skuteczności leczenia lub postępu choroby. Badanie SWE nie wykazało istotnych

statystycznie zmian w wątrobie, które zaszły po leczeniu modulatorami CFTR. Wyniki analizy badania MRE wykazały istotny statystycznie wzrost sztywności wątroby w badaniu kontrolnym po leczeniu modulatorami CFTR i mogą wpłynąć na praktykę kliniczną, wskazując na potrzebę dalszych badań. Ponadto badanie wykazało, że obecność powiększenia wątroby w wyjściowym badaniu przed włączeniem leczenia przyczynowego można uznać za czynnik wskazujący na poprawę obrazu wątroby po leczeniu modulatorami CFTR, ponieważ u pacjentów z powiększeniem wątroby w badaniu wyjściowym częściej występowało zmniejszenie (lub mniejszy wzrost) sztywności wątroby po leczeniu w porównaniu z pacjentami bez powiększenia wątroby.

3. Nieinwazyjne metody SWE i MRE umożliwiają ocenę wątroby u pacjentów z CF. Analiza wykorzystująca pomiary SWE i MRE oferuje cenne informacje na temat uszkodzenia wątroby w przebiegu CF. Połączenie SWE z dodatkową metodą, taką jak MRE, zwiększa możliwość skutecznego wykluczenia CFLD. Ilościowy pomiar sztywności wątroby w kPa (SWE i MRE) oraz stłuszczenia wyrażonego w % (MR „IDEAL-IQ”) umożliwia dokładniejszą obserwację zmian, które zachodzą w czasie, a pacjent sam dla siebie staje się kontrolą i punktem odniesienia.
4. Badanie potwierdziło dotychczasowe doniesienia, odnotowano istotny statystycznie wzrost BMI po leczeniu oraz poprawę parametrów oddechowych FEV1% i FEV1/FVC%.