



Contents lists available at ScienceDirect

## Acta Haematologica Polonica

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/achaem](http://www.elsevier.com/locate/achaem)

### Praca poglądowa/Review

# Stany chorobowe związane z nadmiernym gromadzeniem żelaza oraz metody oznaczania zawartości żelaza w wątrobie



## Iron overload related diseases and methods of liver iron quantification

Cyprian Olchowy<sup>1,\*</sup>, Jowita Frączkiewicz<sup>2</sup>, Marcin Pawłowski<sup>1</sup>, Daria Smoląg<sup>1</sup>, Anna Olchowy<sup>1</sup>, Adam Maślak<sup>1</sup>, Urszula Zaleska-Dorobisz<sup>1</sup>, Krzysztof Kałwak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Radiologii Ogólnej i Pediatrycznej Katedry Radiologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

<sup>2</sup>Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

#### INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 22.05.2017

Zaakceptowano: 30.08.2017

Dostępne online: 06.10.2017

Słowa kluczowe:

- ilościowa ocena żelaza w wątrobie
- rezonans magnetyczny
- relaksometria
- metoda SIR
- przeładowanie żelazem

Keywords:

- Liver iron quantification
- Magnetic resonance imaging
- Relaxometry
- Signal intensity ratio
- Haemochromatosis
- Iron overload

#### ABSTRACT

Iron overload refers to the excessive accumulation of iron in different organs. It occurs in the course of increased intestinal absorption in hereditary hemochromatosis, repeated blood transfusions, or liver diseases. Excess of iron exerts toxic effect on internal organs leading to liver damage resulting in liver cirrhosis, liver failure, or hepatocellular carcinoma among others. Assessment of liver iron content is essential for diagnosing diseases caused by iron overload and monitoring of iron-reducing therapy. A biopsy is a gold standard of assessment of liver iron concentration; however, new techniques based on the use of magnetic resonance imaging (MRI) gain in importance, as they are non-invasive, reliable, and enable to evaluate iron content in areas inaccessible by biopsy such as brain. This article reviews the currently used methods for assessment of liver iron overload, especially using MRI, in terms of their clinical usefulness and accuracy in different diseases. The authors conclude that assessment of iron overload is difficult, especially in patients with very high or very low level of iron and should be conducted taking into account the patient's clinical condition and the course of primary disease. Increase in the popularity of magnetic resonance signal intensity ratio (SIR) results from its safety, relatively low costs, availability, and possibility to obtain reliable results.

© 2017 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

\* Adres do korespondencji: Zakład Radiologii Ogólnej i Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. M. Curie-Skłodowskiej 68, 50-369 Wrocław, Polska. Tel.: +48 663 953 879.

Adres email: [cyprian.olchowy@gmail.com](mailto:cyprian.olchowy@gmail.com) (C. Olchowy).

Spis skrótów: LIC – pomiar stężenia żelaza w wątrobie (liver iron concentration); MRI – obrazowanie rezonansem magnetycznym (magnetic resonance imaging); SIR – współczynnik intensywności sygnału (signal intensity ratio).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2017.08.004>

0001-5814/© 2017 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

## Wstęp

Żelazo należy do kluczowych mikroelementów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Organizm dorosłego człowieka zawiera średnio 35–45 mg żelaza na kilogram masy ciała [1], ale 80% jego zawartości znajduje się w hemoglobinie, mioglobinie oraz w enzymach zawierających żelazo [2–4]. Niewielka ilość tego pierwiastka, czyli około 4 mg, związana jest z transferyną, tj. białkiem, które dostarcza żelazo do wątroby, szpiku kostnego oraz innych tkanek. Około 20% żelaza zmagazynowane jest w kompleksach z ferrytyną, która znajduje się głównie w cytoplazmie komórek Kupffera, ale również w makrofagach śledziony i szpiku kostnego [2, 4–6]. Około 10% spożywanego żelaza (1–2 mg) wchłaniane jest w dwunastnicy i jelicie cienkim. Podobna ilość jest tracona poprzez złuszczenie naskórka oraz nabłonka [7–9]. Żelazo w organizmie podlega procesowi recykulacji, tzn. odzyskiwane jest ze zużytych erytrocytów, które są pochłaniane na drodze fagocytozy przez makrofagi układu siateczkowo-śródbłonkowego, a następnie uwalniane i wykorzystywane głównie w procesie erythropoezy. Proces ten ma podstawowe znaczenie dla utrzymania równowagi tego pierwiastka [4, 10]. Niemniej jednak, obrót żelaza w organizmie charakteryzuje się brakiem fizjologicznych procesów usuwania żelaza z organizmu z wyjątkiem utraty krwi związanej z cyklem miesięcznym u kobiet w wieku rozrodczym. Cecha ta stanowi poważne zagrożenie dla pacjentów z zaburzeniami metabolizmu tego pierwiastka.

Obrót żelaza w organizmie regulowany jest przez szereg białek. Dzięki nim możliwe jest prawidłowe wchłanianie i transport żelaza, utlenianie jego jonów oraz ochrona przed toksycznymi następstwami działania jonów  $Fe^{2+}$ . Multimerowe oksydazy, tj. hefajstyna i ceruloplazmina, wykazują aktywność ferrokazydazową. Hefajstyna produkowana jest głównie w jelicie cienkim, gdzie odpowiada za wiązanie żelaza z apotransferyną, a tym samym odgrywa istotną rolę podczas wchłaniania żelaza i dalszego transportu tego pierwiastka do wątroby. Mutacje genu *HFE* prowadzą do wytwarzania nieprawidłowej cząsteczki hefajstyny, w wyniku czego dochodzi do zwiększonego gromadzenia się żelaza w organizmie ze powodu nadmiernego jego wchłaniania w obrębie jelit oraz obniżenia ekspresji genu hepcydyny. Natomiast ceruloplazmina uczestniczy w wewnątrzkomórkowym procesie wiązania żelaza z ferrytyną (główne białko magazynujące żelazo) zależnego od zmiany stopnia utleniania żelaza (z  $Fe^{2+}$  na  $Fe^{3+}$ ). Warto wspomnieć, że sam proces enzymatycznego utleniania żelaza zapobiega produkcji wolnych rodników, a tym samym chroni przed uszkodzeniem białek, lipidów i DNA [11]. Hepcydyna jest białkiem syntetyzowanym w wątrobie, pełniącym istotną rolę w regulacji absorpcji żelaza z przewodu pokarmowego oraz recykulacji żelaza z komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego. Mutacje w obrębie genu *HAMP* odpowiadają za poziom hepcydyny w organizmie, a jego obniżona ekspresja związana jest z rozwojem hemochromatozy wieku młodzieńczego, która charakteryzuje się ciężkim przebiegiem [4].

W warunkach fizjologicznych żelazo przechowywane jest głównie w kompleksach z ferrytyną w cytoplazmie komórek. Kiedy zdolność ferrytyny do magazynowania żelaza zostaje

przekroczona, wolne żelazo kumuluje się w komórkach organów wewnętrznych. Cząsteczki ferrytyny gromadzą się w cytoplazmie i w lizosomach zajętych komórek, a ponadto część ferrytyny denaturuje do nierozpuszczalnych form hemosyderyny. Nadmiar żelaza prowadzi do zwłóknienia i dysfunkcji organów, co jest szczególnie istotne w przypadku takich narządów, jak wątroba czy serce, gdyż są one kluczowe dla utrzymania zdrowia i życia człowieka. Monitorowanie stężenia żelaza w organach wewnętrznych jest ważnym elementem prewencji powikłań oraz kluczowym elementem terapii. Stały rozwój metod oceny nadmiernego gromadzenia żelaza pozwala na oszacowanie ryzyka powikłań i odpowiednie dobranie terapii, a tym samym wydłuża życie pacjentom z grup ryzyka [12, 13].

Celem niniejszej pracy jest przegląd obecnie dostępnych metod oceny nadmiernego gromadzenia żelaza w komórkach wątroby w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego w kontekście ich przydatności klinicznej w różnych jednostkach chorobowych oraz dokładności metod diagnostycznych.

## Nadmierne gromadzenie żelaza w komórkach wątroby

Główną przyczyną nadwyżki żelaza jest jego nadmierne wchłanianie w przewodzie pokarmowym i/lub powtarzane transfuzje krwi. Początkowo nadmierne wchłanianie żelaza w jelitach prowadzi do gromadzenia się go w okołowrotnych hepatocytach, a później również w hepatocytach w całym płaciku wątroby. Następnie żelazo kumuluje się w komórkach Kupffera i komórkach nabłonka dróg żółciowych. W końcu następuje wyciek żelaza do krwiobiegu, gdzie łączy się ono z transferyną, która przekazuje jego nadmiar do narządów mających dużą gęstość receptorów typu 2 dla transferyny (trzustka, mięsień sercowy, tarczyca, gonady, przysadka mózgowa, skóra), co prowadzi do nadmiernej akumulacji żelaza w tych miejscach [6, 14]. Podczas transfuzji krwi pacjent otrzymuje od 200 do 250 mg żelaza na jednostkę koncentratu krwinek czerwonych. Żelazo to odkłada się w układzie siateczkowo-śródbłonkowym komórek wątroby, śledziony, szpiku kostnego i węzłów chłonnych, gdzie jest gromadzone w formie ferrytyny, aż do nasycenia pojemności układu siateczkowo-śródbłonkowego (10 g żelaza lub ilość żelaza dostarczanego przez 40–50 transfuzji) [3]. Po nasyceniu układu żelazo zaczyna kumulować się w hepatocytach i w komórkach śródmiąższowych gruczołów trzustki, mięśnia sercowego i układu hormonalnego.

## Stany chorobowe związane z nadmiernym gromadzeniem żelaza

### Dziedziczna hemochromatoza

Hemochromatoza (*hereditary haemochromatosis*) jest chorobą dziedziczną związaną z mutacją genów regulujących metabolizm żelaza. Związek mutacji genu *HFE* z hemochromatozą został odkryty przez Federa w 1996 roku. Gen *HFE* zlokalizowany jest w bezpośrednim sąsiedztwie genów kodujących białka układu HLA-A3 na ramieniu krótkim

chromosomu 6 [15, 16]. Jego mutacje należą do najczęściej wykrywanych zaburzeń molekularnych w dziedzicznej hemochromatozie. Dalsze badania pozwoliły na wyróżnienie kilku typów hemochromatozy uwarunkowanych przez specyficzne zmiany molekularne oraz zróżnicowany przebieg kliniczny. Typ 1 (mutacje genu *HFE* na chromosomie 6p22), typ 2 (mutacje genu *HJV* na chromosomie 19q13 lub *HAMP* na chromosomie 1q21), typ 3 (mutacje genu *TFR2* na chromosomie 7q22) to zaburzenia dziedziczone autosomalnie recesywnie, natomiast typ 4 (mutacje genu *SLC40A1* na chromosomie 2q32) i typ 5 (mutacje genu *FTH1* na chromosomie 11q12) dziedziczone autosomalnie dominująco. W typie 2 objawy pojawiają się przed 30. rż., podczas gdy pozostałe typy charakteryzują się łagodnym przebiegiem i późnym rozwojem choroby [8, 15, 17–19]. Mutacje w obrębie genu *HFE* są najczęstsze – zaburzają jelitowy wychwyty żelaza, co prowadzi do 5–10-krotnego wzrostu absorpcji tego pierwiastka (nawet do 10 mg/dzień) i sprzyja odkładaniu się nadmiernej ilości żelaza w wątrobie, sercu oraz innych organach. W typie tym stwierdza się podwyższone wysycenie transferryny, podwyższone stężenie ferrytyny w surowicy oraz zawartość żelaza w wątrobie. Typ 2 charakteryzuje się ciężkim przebiegiem i wczesnym początkiem. W typie 3 stwierdza się zwiększone stężenie żelaza całkowitego oraz wysycenie transferryny i stężenie ferrytyny w granicach normy. Typ 4 charakteryzuje się znacznie podwyższonymi wartościami testów biochemicznych, takich jak wysycenie transferryny, surowicze stężenie ferrytyny przy niewielkim podwyższeniu żelaza całkowitego. Typ 5 objawia się wysokim stężeniem ferrytyny w surowicy oraz podwyższonym poziomem żelaza w surowicy jak i wysyceniem transferryny. We wszystkich typach odkładanie się żelaza w narządach prowadzi do włóknienia i marskości wątroby, zwiększonej pigmentacji skóry, zaburzeń hormonalnych, zapalenia stawów, uszkodzenia trzustki skutkującego rozwojem cukrzycy oraz kardiomiopatii. Objawy kliniczne pojawiają się wcześniej u mężczyzn niż u kobiet (przed 20. rż. i przed 40. rż. odpowiednio), ponieważ gromadzenie się tego pierwiastka jest wolniejsze z powodu większego zapotrzebowania na ten metal u kobiet miesiączkujących. U pacjentów, u których doszło do marskości wątroby, istnieje zwiększone ryzyko rozwoju raka wątrobowo-komórkowego obciążonego wysoką śmiertelnością [20, 21].

### Talasemia

Talasemia (*thalassemia*), określana często jako niedokrwistość tarczowatokrwińkowa, charakteryzuje się występowaniem zaburzeń w syntezie hemoglobiny uniemożliwiających produkcję odpowiedniej ilości hemoglobiny i krwinek czerwonych [22, 23]. Pacjenci chorujący na talasemię leczeni są transfuzjami krwi prowadzącymi do nadmiernego dostarczenia żelaza do organizmu i w następstwie odkładania się go w układzie siateczkowo-śródbłonkowym. W przypadku talasemii major i innych transfuzjozależnych anemii pacjenci otrzymują w przybliżeniu 0,4 mg/kg/dzień żelaza hemowego, co stanowi 10–50 razy większą dawkę w porównaniu z wchłanianiem fizjologicznym [24]. Dodatkowo występujące zaburzenia w tej grupie pacjentów, wśród których należy wymienić hipoksję tkanek, apoptozę wadli-

wych prekursorów erytrocytów produkowanych przez nieefektywną erytropoezę oraz hemolizę czerwonych krwinek pochodzących z transfuzji, stymulują wchłanianie żelaza w jelitach, co przyczynia się do dalszego postępu spichrzania żelaza [25]. Pacjenci z ciężką postacią talasemii wymagają intensywnej terapii chelatującej żelazo, ponieważ bez niej długość życia nie przekracza drugiej dekady, a bezpośrednią przyczyną śmierci są powikłania ze strony układu endokrynnego i niewydolność serca [6, 26].

### Anemia sierpowata

Anemia sierpowata (*sicklecell anemia*) spowodowana jest mutacją genetyczną prowadzącą do powstawania hemoglobiny o nieprawidłowej strukturze, tzw. hemoglobiny S. Hemoglobina ta przyczynia się do zmiany kształtu krwinek, które mają tendencję do przylegania do śródbłonka naczyniowego i zatykania drobnych naczyń krwionośnych. W konsekwencji następuje niedokrwienie tkanek objawiające się obrzękiem i bólem rąk i stóp, zapaleniem stawów, a także zawałami i narządach wewnętrznych w tym w śledzionie, nerkach i kościach. U pacjentów obserwuje się opóźniony wzrost. Erytrocyty zawierające hemoglobinę S charakteryzują się również skłonnością do rozpadu i pojawiania się hemoglobinurii. Z powyższych powodów anemia sierpowata przyczynia się do współwystępowania szerokiego spektrum nieprawidłowości w obrębie nerek [27, 28]. Uwolniona hemoglobina filtrowana jest w kłębuszkach nerkowych, a w przypadku jej nadmiaru dochodzi do uwolnienia żelaza i odłożenia go w postaci hemosydeminy. Hemoglobinuria, zaburzenia reabsorpcji substancji drobnocząsteczkowych i znaczne nagromadzenie hemosydeminy w komórkach kanalików proksymalnych mogą prowadzić do rozwoju niewydolności nerek, zespołu Fanconiego i martwicy brodawek nerkowych. Jednym z dodatkowych mechanizmów ochronnych i modulujących reakcje zapalne jest rozpad układu hemowego na dwuwartościowe jony żelaza ( $Fe^{2+}$ ), tlenek węgla oraz biliwerdynę  $Ix\alpha$  katalizowany przez oksygenazę hemową 1. Uwolnione żelazo jest wychwytywane przez ferrytynę, co zapobiega reakcji Fentona [29]. Należy zaznaczyć, że w tej grupie chorych erytropoeza przebiega praktycznie normalnie i nie obserwuje się znaczącego wzrostu jelitowego wchłaniania żelaza, a zatem pacjenci, którzy nie są poddawani transfuzjom, mają stężenie żelaza w granicach normy [3]. Ryzyko nadmiernej kumulacji żelaza wzrasta, jeśli pogorszenie stanu zdrowia chorych wymaga transfuzji [30].

### Przewlekłe hepatocytopenie

Homeostaza żelaza może ulec zaburzeniu również w innych stanach chorobowych związanych z przewlekłym zaburzeniem funkcji wątroby. Podwyższone stężenie żelaza występuje u pacjentów z zapaleniem wątroby typu B i C, chorobą alkoholową wątroby, stłuszczeniem wątroby oraz porfirią skórną późną [31–33]. Skłonność akumulacji żelaza w przewlekłych hepatocytopeniach wynika z zaburzonej funkcji hepatocytów, zmniejszonej mobilizacji żelaza zmagazynowanego w wątrobie, zwiększonej ekspresji genu *HAMP* oraz podwyższonej ekspresji cytokin prozapalnych. U pacjentów tych obserwuje się zmniejszony poziom hepcydyny – hormonu

peptydowego, który reguluje poziom żelaza w organizmie [32, 33]. Stwierdzono również, że pierwotna przewlekła choroba wątroby i wtórne nadmierne gromadzenie żelaza synergicznie przyczyniają się do rozwoju włóknienia i marskości tego narządu. Ponadto stan taki zmniejsza odpowiedź na przeciwwirusową terapię interferonem oraz prowadzi do rozwoju raka wątrobowo-komórkowego [6, 34].

## Metody oceny nadmiernego gromadzenia żelaza

W praktyce klinicznej stosuje się wiele metod oceny nadmiernej kumulacji żelaza. O wyborze konkretnej metody decydują nie tylko dokładność danej metody, ale również jej dostępność i koszty badania. Dokładność oceny wątrobowego stężenia żelaza jest również istotna przy opracowywaniu nowych nieinwazyjnych metod diagnostycznych oraz oceny ich dokładności i przydatności klinicznej.

### Markery laboratoryjne

Ferrytyna może związać do 4500 jonów żelaza  $Fe^{3+}$ . Apoferrytyna, czyli białkowa część ferrytyny składa się z dwóch typów podjednostek – L (*ferritin light chain*) i H (*ferritin heavy chain*). Ferrytyna występuje przede wszystkim wewnątrzkomórkowo – głównie w cytoplazmie komórek i w niewielkich ilościach w mitochondriach. W surowicy krwi znajduje się jedynie niewielka część zasobów ferrytyny, ale jej stężenie surowicze odzwierciedla stan puli magazynowej żelaza w organizmie [35, 36]. Na stężenie ferrytyny wpływ ma wiele czynników, stąd interpretacja wyników bywa utrudniona. Współczynnik korelacji pomiędzy ferrytyną a żelazem całkowitym wynosi około 0,7, ale około 50% jego zmienności pozostaje niewyjaśnione [3, 8]. Ponadto przedziały ufności dla przewidywania wątrobowego stężenia żelaza (*liver iron concentration*; LIC) na podstawie stężenia ferrytyny w surowicy są ogromne. Pacjent, u którego stężenie ferrytyny surowiczej wynosi 1500, może mieć LIC tak niskie jak 3 lub tak wysokie jak 30 mg/g suchej masy. W rezultacie próg toksyczności oparty na stężeniu ferrytyny może być niebezpiecznie mylący. Dodatkowo stężenie ferrytyny gwałtownie rośnie w przypadku chorób wątroby i stanów zapalnych sprawiając, że wynik staje się niemiernodajny [2, 37], a pozostaje nieproporcjonalnie niskie w porównaniu do zawartości żelaza w niedoborze askorbinianu [5]. Zazwyczaj stężenie ferrytyny mierzy się przy każdej transfuzji, a następnie wylicza się średnią wartość w okresie od trzech do sześciu miesięcy, ale mimo to często obserwuje się niezgodność jej poziomu z wartością LIC. Pomimo ograniczeń oznaczania poziomu ferrytyny surowiczej jest to niewątpliwie najbardziej powszechna metoda monitorowania poziomu żelaza z powodu niskich kosztów testu oraz wysokiej dostępności.

Wskaźnik wysycenia transferyny żelazem jest kolejnym ważnym i szeroko dostępnym markerem serologicznym używanym do oceny poziomu żelaza w organizmie. Oznaczanie go służy do oceny efektywności chelacji. Wadą tej metody jest fakt, że u pacjentów poddawanych wielokrotnym transfuzjom transferyna jest całkowicie wysyciona, co czyni tę metodę bezużyteczną [24]. Stężenie wolnego żelaza niepołączonego z transferyną wzrasta dramatycznie, kiedy

wysycenie transferyny przekracza 85%. Ograniczeniem tego badania jest utrudniona ocena wysycenia transferyny w obecności krążących chelatorów, dlatego pacjenci muszą wstrzymać chelację na 24 godziny przed pobraniem krwi [24].

### Pomiar stężenia żelaza w wątrobie (LIC)

Podstawowym wskaźnikiem oceny zawartości żelaza jest pomiar LIC, gdyż to właśnie w wątrobie kuluje około 70–80% całkowitego żelaza u pacjentów dotkniętych nadmiernym spichrzaniem żelaza. Zmiany w wątrobie dokładnie obrazują równowagę pomiędzy obciążeniem wynikającym z transfuzji a terapią usuwającą żelazo. Uszkodzenie komórek następuje, gdy LIC przekroczy 17 mg/g suchej masy [24]. Podwyższony wskaźnik LIC świadczy o zwiększonym ryzyku powikłań związanych z nadmierną kumulacją żelaza, natomiast nie istnieje bezpieczny próg, poniżej którego odkładanie się żelaza w tkankach serca i układu endokrynnego nie następuje z powodu całkowitego wysycenia transferyny [38]. Pomimo tych ograniczeń LIC pozostaje najlepszym badaniem monitorującym odpowiedź na terapię chelatującą i umożliwiającym dostosowanie dawki leków. Nadal jednak prowadzone są badania nad doбором parametrów tego testu i poprawą jego dokładności [39].

### Biopsja wątroby

Biopsja wątroby jest złotym standardem pomiaru LIC. Do ilościowej oceny zawartości żelaza w bioptacie stosuje się metodę spektrofotometryczną. Stężenie żelaza uznaje się za prawidłowe w przypadku, jeśli LIC nie przekracza  $36 \mu\text{mol/g}$  suchej tkanki wątrobowej. Hemochromatozę rozpoznaje się przy wartości LIC przekraczającej  $80 \mu\text{mol/g}$  suchej tkanki wątrobowej [40]. Przewagą tej metody stanowi możliwość uzyskania danych na temat uszkodzenia wątroby oraz nadmiaru żelaza jednocześnie. Jednakże ze względu na inwazyjny charakter badania oraz dostępność wiarygodnych nieinwazyjnych badań pacjenci preferują inne metody. Ograniczeniem biopsji jest niejednorodne gromadzenie się żelaza w obrębie wątroby od 19% w przypadku zdrowej tkanki do 40% w przypadku zwłóknienia. Możliwe są również powikłania, wśród których najczęściej wymienia się krwotok [41, 42]. Z uwagi na inwazyjność biopsji oraz wysokie koszty tego badania, wielu lekarzy ogranicza jej zastosowanie do przypadków, w których badanie histologiczne tkanki jest niezbędne w procesie diagnostycznym.

### Tomografia komputerowa

Możliwości zastosowania tomografii komputerowej do oceny kumulacji żelaza w wątrobie znane jest od dawna, gdyż żelazo zwiększa tłumienie promieniowania rentgenowskiego proporcjonalnie do jego stężenia [43, 44]. Technika obrazowania TK z pojedynczym źródłem promieniowania (*single-energy*) wykorzystuje niskie dawki qCT na środkowym poziomie wątroby, po czym wątrobowe osłabienie sygnału porównywane jest do zewnętrznego kontrolnego widma wolnego od żelaza. Natomiast w technice z podwójnym źródłem promieniowania (*dual-energy*) pomiar wykonywany jest nisko oraz wysoko energetyczną wiązką X, a ilość żelaza ustala się

na podstawie różnicy tych pomiarów [24]. Uwagę zwraca technika *dual-energy* wykorzystująca w analizie obrazu wirtualną zawartość żelaza (*virtual iron content*; VIC), która oparta jest na algorytmie trójskładowego rozkładu charakterystycznego dla żelaza. Dla punktu odcięcia na poziomie 3,2 mg żelaza na gram suchej tkanki, który uznawany jest za graniczny w chelatacji, potencjalna możliwość oceny LIC z wykorzystaniem VIC jest porównywalna do wartości R2 uzyskanej podczas badania rezonansu magnetycznego [45, 46]. Technika ta jednak nadal pozostaje w fazie eksperymentalnej i wymaga dalszych badań w celu m.in. eliminacji wpływu czynnika zakłócającego wynik jakim jest często współwystępująca podwyższona zawartość tłuszczu w wątrobie z nadmierną kumulacją żelaza.

### Rezonans magnetyczny

Zastosowanie obrazowania rezonansem magnetycznym (*magnetic resonance imaging*; MRI) daje duże możliwości diagnostyki nadmiernego gromadzenia się żelaza w wątrobie i innych narządach wewnętrznych. Badanie to wyróżnia się dokładnością, wysokim bezpieczeństwem oraz niskimi kosztami.

### T2 relaksometria

Ocena nadmiernego gromadzenia się żelaza w wątrobie jest oparta na spadku czasu T2 relaksacji, który jest indukowany przez właściwości paramagnetyczne żelaza. Przyspieszenie T2 relaksacji jest proporcjonalne do zawartości tego pierwiastka w wątrobie i prowadzi do zmniejszenia intensywności sygnału MRI (SI) z tego narządu. T2 oraz T2\* są obliczane przez dopasowywanie modeli rozkładu do średniej intensywności sygnału przy różnych czasach echa [42]. Te wartości mogą być również wyrażone jako wskaźniki R2 i R2\* (odwrotność T2 i T2\*), które zwiększają się proporcjonalnie do zawartości żelaza w tkankach [47]. Występuje wysoka korelacja między wartościami T2 i T2\* a pomiarami zawartości żelaza w wątrobie uzyskanymi metodą biopsji. Mimo że w wielu badaniach wykazano powtarzalność techniki na różnych urządzeniach oraz opracowano wzory, które pozwalają przeliczać otrzymany czas T2 lub T2\* na zawartość żelaza w tkance w mg/g, technika ta nadal ma wiele znaczących ograniczeń. Badanie stężenia żelaza powinno być dokładne w klinicznie istotnym zakresie zdefiniowanym w granicach od 0,2 mg/g do 40 mg/g suchej masy tkankowej, jednak wciąż nie jest pewne, który wskaźnik jest najbardziej dokładny w całym zakresie oceny [47]. Przy T2\* sekwencje gradient echo są bardziej wrażliwe dla niskich zawartości żelaza, natomiast nie są tak dokładne przy wyższych stężeniach tego pierwiastka. W innych badaniach wykazano, że otrzymane wartości są najbardziej dokładne przy najkrótszym czasie pierwszego echa (TE) [42]. Poważnym ograniczeniem jest również konieczność zakupu kosztownego oprogramowania, w które aparaty MR nie są przez producentów standardowo wyposażane.

### Współczynnik intensywności sygnału (SIR)

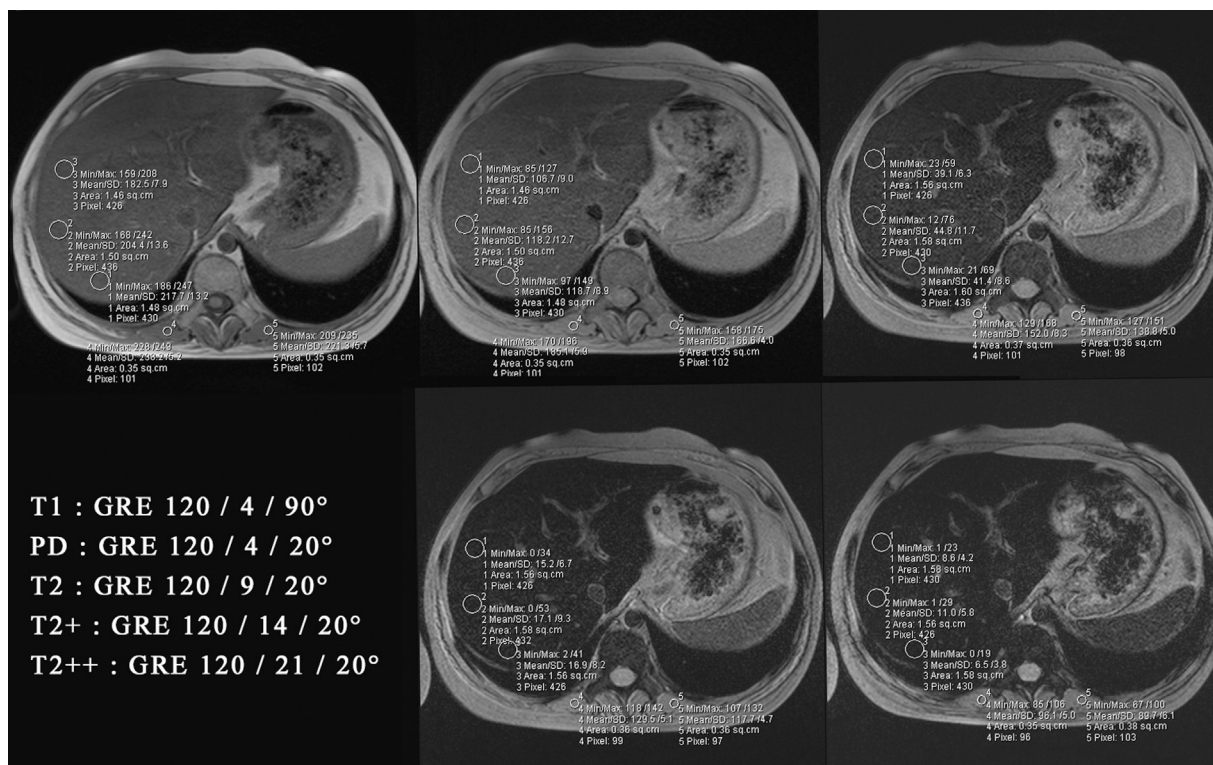
W metodzie SIR obliczenie zawartości żelaza w tkance oparte jest na porównaniu intensywności sygnału pochodzącego

z wątroby oraz z tkanki, która nie magazynuje żelaza, takiej jak mięśnie szkieletowe czy tkanka tłuszczowa [47]. Metoda SIR jest prostsza i łatwiejsza do przeprowadzenia niż T2 relaksometria przy zachowaniu porównywalnej dokładności [48]. Powszechnie stosuje się algorytm opracowany przez zespół profesora Gandona z Uniwersytetu w Rennes we Francji [49]. Podczas badania sekwencje GRE otrzymywane są na wstrzymanym oddechu (pięć powtórzeń), przy stałym czasie powtórzeń (*repetition time*; TR), ale można używać różnych kątów odchylenia namagnesowania (od 20 do 90 stopni), aby modyfikować T1 za pomocą innych czasów echa (TE) oraz zmienić T2\*. W ten sposób otrzymuje się pięć obrazów z różnymi T1 oraz T2\*. Na ich podstawie szacuje się zawartość żelaza [47]. Przy każdej sekwencji pomiar intensywności sygnału w wątrobie wykonywany jest w trzech obszarach zainteresowania (*region of interest*; ROI) w prawym płacie, natomiast intensywność sygnału w mięśniach mierzona jest w ROI w prawych i lewych mięśniach przykręgosłupowych [42]. Rycina 1 przedstawia obraz rezonansu magnetycznego otrzymany podczas badania prawego płata wątroby.

Metoda SIR posiada również swoje ograniczenia. Przy bardzo wysokiej zawartości żelaza, tj. powyżej 350  $\mu\text{mol/g}$ , nie podaje wyższych wartości wysycenia żelazem niż 350  $\mu\text{mol Fe/g}$ . Taki poziom żelaza zawsze będzie wymagał leczenia, jednak uzyskanie precyzyjnego wyniku nie jest możliwe. Ograniczenie to jest istotne dla pacjentów z wtórną hemochromatozą, u których zawartość żelaza w komórkach wątroby może przekraczać ten zakres. Aby wyeliminować ten problem, grupa badaczy z Uniwersytetu w Lille stworzyła algorytm mający na celu podanie dokładniejszych wyników u pacjentów z poziomem żelaza powyżej 350  $\mu\text{mol/g}$  żelaza i zwiększenie korelacji z faktycznym wynikiem LIC [50]. Ostatnie badania wykazały jednak, że metoda ta przeszacowuje zawartość żelaza w porównaniu do poziomu tego pierwiastka uzyskiwanego z pomiarów zawartości żelaza w biopsjach wątroby. Warto jednak zaznaczyć, że metoda SIR jest wystarczająco dokładna u pacjentów z niskimi i średnimi poziomami żelaza, a uzyskane wyniki są powtarzalne. Brak konieczności zakupu dodatkowego oprogramowania oraz możliwość przeprowadzenia badania niemal na każdym aparacie MR znacznie zwiększa jej dostępność.

### Spektroskopia rezonansu magnetycznego

Spektroskopia rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance spectroscopy*; MRS) pozwala na uzyskanie informacji o składzie badanych tkanek. Badanie wątroby oparte jest na pomiarze R2 na jednym wstrzymanym oddechu i polega na pozyskiwaniu spektroskopii MR pojedynczego woksela (MRS) przy zwiększającym się czasie echa (TE). Do pomiaru wartości R2 wykorzystuje się pik wody w wątrobie [51-53]. Wyniki MRS wykazały wysoką korelację z LIC uzyskanymi metodą biopsji. Ostatnio opracowano również metody pozwalające na pomiar zawartości tłuszczu wątrobowego oraz R2 niezależnie od składowych sygnału pochodzących od wody i tkanki tłuszczowej przy pomocy sekwencji spektroskopowych STEAM. Dużą zaletą tej metody jest szybka rejestracja sygnału przy wysokim stosunku sygnału użytecznego do szumu. Jej wadą natomiast jest brak informacji o stosunkach anatomicznych, co może być przeszkodą



Ryc. 1 – Rycina przedstawia obraz rezonansu magnetycznego otrzymany metodą SIR podczas badania poziomu kumulacji żelaza wątroby u młodocianego pacjenta. Punkty pomiaru (ROI) znajdują się w prawym płacie wątroby i w mięśniach przykręgosłupowych

przy niejednorodnym odkładaniu się żelaza [54]. Niektórzy producenci oferują pakiety oprogramowania przeznaczone specjalnie do wykorzystania na produkowanych przez nich aparatach MR, które ułatwiają ocenę zawartości żelaza i tłuszczu w wątrobie, np. Siemens Healthcare GmbH oferuje pakiet LiverLab kompatybilny z urządzeniami Magnetom. Ograniczeniem szerokiego zastosowania MRS jest wysoka cena oprogramowania oraz możliwość jego instalacji jedynie na określonym typie urządzeń.

## Wnioski

Ocena nadmiernego gromadzenia się żelaza w wątrobie jest trudna, szczególnie u pacjentów z bardzo wysokim i niskim poziomem żelaza, i powinna być prowadzona z uwzględnieniem stanu klinicznego pacjenta i przebiegu choroby podstawowej. Wzrost popularności metody SIR rezonansu magnetycznego opiera się na niewielkim obciążeniu pacjenta, relatywnie niskich kosztach badania, dostępności i możliwości otrzymania wiarygodnych wyników.

## Wkład autorów/Authors' contributions

CO, JF – zasadniczy wkład w koncepcję i projekt pracy, zebranie danych i interpretacja, pisanie, krytyczne zrecenzowanie pod kątem istotnej zawartości intelektualnej, zebranie piśmiennictwa, akceptacja ostatecznej wersji do opublikowania.

nia. MP, DS, AO, AM – zebranie danych i interpretacja, pisanie, zebranie piśmiennictwa, akceptacja ostatecznej wersji do opublikowania. UZ-D, KK – wkład w projekt pracy, krytyczne zrecenzowanie pod kątem istotnej zawartości intelektualnej, akceptacja ostatecznej wersji do opublikowania.

## Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

## Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

## Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

## PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341:1986-1995.

- [2] Gossuin Y, Muller RN, Gillis P. Relaxation induced by ferritin: a better understanding for an improved MRI iron quantification. *NMR Biomed* 2004;17:427–432.
- [3] Siegelman ES, Mitchell DG, Semelka RC. Abdominal iron deposition: metabolism, MR findings, and clinical importance. *Radiology* 1996;199:13–22.
- [4] Lipinski P, Starzynski RR. [Regulation of body iron homeostasis by hepcidin]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2004;58:65–73.
- [5] Li TQ, Aisen AM, Hindmarsh T. Assessment of hepatic iron content using magnetic resonance imaging. *Acta Radiol* 2004;45:119–129.
- [6] Sirlin CB, Reeder SB. Magnetic resonance imaging quantification of liver iron. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2010;18:359–381.
- [7] Bothwell TH, Charlton RW. A general approach to the problems of iron deficiency and iron overload in the population at large. *Semin Hematol* 1982;19:54–67.
- [8] Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis—a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004;350:2383–2397.
- [9] Cook JD, Skikne BS, Lynch SR, Reusser ME. Estimates of iron sufficiency in the US population. *Blood* 1986;68:726–731.
- [10] Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:394–400.
- [11] Wierzbicka D, Gromadzka G. [Ceruloplasmin, hephaestin and zyklopen: the three multicopper oxidases important for human iron metabolism]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2014;68:912–924.
- [12] Anderson ER, Shah YM. Iron homeostasis in the liver. *Compr Physiol* 2013;3:315–330.
- [13] Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 2008;88:7–15.
- [14] Ghugre NR, Coates TD, Nelson MD, Wood JC. Mechanisms of tissue-iron relaxivity: nuclear magnetic resonance studies of human liver biopsy specimens. *Magn Reson Med* 2005;54:1185–1193.
- [15] Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399–408.
- [16] Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. The discovery of the new haemochromatosis gene. 1996. *J Hepatol* 2003;38:704–709.
- [17] OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>; Accesed date: 2017-04-01.
- [18] Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005;1:191–200.
- [19] Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Hepcidin—central regulator of iron metabolism. *Eur J Haematol* 2007;78:1–10.
- [20] Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000;33:485–504.
- [21] Niederau C, Fischer R, Sonnenberg A, et al. Survival and causes of death in cirrhotic and in noncirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Engl J Med* 1985;313:1256–1262.
- [22] Leecharoenkiat K, Lathanatudom P, Sornjai W, Smith DR. Iron dysregulation in beta-thalassemia. *Asian Pac J Trop Med* 2016;9:1035–1043.
- [23] Vichinsky E. Advances in the treatment of alpha-thalassemia. *Blood Rev* 2012;26(Suppl 1):S31–S34.
- [24] Wood JC. Magnetic resonance imaging measurement of iron overload. *Curr Opin Hematol* 2007;14:183–190.
- [25] Papakonstantinou O, Alexopoulou E, Economopoulos N, et al. Assessment of iron distribution between liver, spleen, pancreas, bone marrow, and myocardium by means of R2 relaxometry with MRI in patients with beta-thalassemia major. *J Magn Reson Imaging* 2009;29:853–859.
- [26] Vitrano A, Calvaruso G, Lai E, et al. The era of comparable life expectancy between thalassaemia major and intermedia: Is it time to revisit the major-intermedia dichotomy? *Br J Haematol* 2017;176(1):124–130.
- [27] Ataga KI, Orringer EP. Renal abnormalities in sickle cell disease. *Am J Hematol* 2000;63:205–211.
- [28] Powars DR, Elliott-Mills DD, Chan L, et al. Chronic renal failure in sickle cell disease: risk factors, clinical course, and mortality. *Ann Intern Med* 1991;115:614–620.
- [29] Misztal T, Tomasiak M. [Pathophysiological consequences of hemolysis. Role of cell-free hemoglobin]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2011;65:627–639.
- [30] Yawn BP, Buchanan GR, Afenyi-Annan AN, et al. Management of sickle cell disease: summary of the 2014 evidence-based report by expert panel members. *JAMA* 2014;312:1033–1048.
- [31] Dostalíkova-Cimburova M, Balusikova K, Kratka K, et al. Role of duodenal iron transporters and hepcidin in patients with alcoholic liver disease. *J Cell Mol Med* 2014;18:1840–1850.
- [32] Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, et al. The Role of Iron and Iron Overload in Chronic Liver Disease. *Med Sci Monit* 2016;22:2144–2151.
- [33] Handa P, Vemulakonda AL, Maliken BD, et al. Differences in hepatic expression of iron, inflammation and stress-related genes in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Hepatol* 2017;16:77–85.
- [34] Wang J, Dong A, Liu G, et al. Correlation of serum hepcidin levels with disease progression in hepatitis B virus-related disease assessed by nanopore film based assay. *Sci Rep* 2016;6:34252.
- [35] Slomka A, Zekanowska E, Piotrowska K, Kwapisz J. [Iron metabolism and maternal-fetal iron circulation]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2012;66:876–887.
- [36] Arosio P, Elia L, Poli M. Ferritin, cellular iron storage and regulation. *IUBMB Life* 2017.
- [37] Carneiro AA, Fernandes JP, de Araujo DB, et al. Liver iron concentration evaluated by two magnetic methods: magnetic resonance imaging and magnetic susceptibility. *Magn Reson Med* 2005;54:122–128.
- [38] Nezelzli LJ, Carson SM, Nord AS, Coates TD, Wood JC. Longitudinal analysis of heart and liver iron in thalassemia major. *Blood* 2008;112:2973–2978.
- [39] Saiviroonporn P, Viprakasit V, Krittayaphong R. Improved R2\* liver iron concentration assessment using a novel fuzzy c-mean clustering scheme. *BMC Med Imaging* 2015;15:52.
- [40] Bassett ML, Halliday JW, Powell LW. Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron level associated with fibrosis. *Hepatology* 1986;6:24–29.
- [41] Crisponi G, Ambu R, Cristiani F, et al. Does iron concentration in a liver needle biopsy accurately reflect hepatic iron burden in beta-thalassemia? *Clin Chem* 2000;46:1185–1188.
- [42] Alustiza Echeverria JM, Castiella A, Emparanza JL. Quantification of iron concentration in the liver by MRI. *Insights Imaging* 2012;3:173–180.
- [43] Howard JM, Ghent CN, Carey LS, Flanagan PR, Valberg LS. Diagnostic efficacy of hepatic computed tomography in the detection of body iron overload. *Gastroenterology* 1983;84:209–215.
- [44] Chapman RW, Williams G, Bydder G, et al. Computed tomography for determining liver iron content in primary haemochromatosis. *Br Med J* 1980;280:440–442.
- [45] Luo XF, Xie XQ, Cheng S, et al. Dual-Energy CT for Patients Suspected of Having Liver Iron Overload: Can Virtual Iron Content Imaging Accurately Quantify Liver Iron Content? *Radiology* 2015;277:95–103.

- [46] Fischer MA, Reiner CS, Raptis D, et al. Quantification of liver iron content with CT-added value of dual-energy. *Eur Radiol* 2011;21:1727-1732.
- [47] Hernando D, Levin YS, Sirlin CB, Reeder SB. Quantification of liver iron with MRI: state of the art and remaining challenges. *J Magn Reson Imaging* 2014;40:1003-1021.
- [48] Runge JH, Akkerman EM, Troelstra MA, et al. Comparison of clinical MRI liver iron content measurements using signal intensity ratios, R 2 and R 2. *Abdom Radiol (NY)* 2016;41:2123-2131.
- [49] Gandon Y, Olivie D, Guyader D, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004;363:357-362.
- [50] Rose C, Vandevenne P, Bourgeois E, Cambier N, Ernst O. Liver iron content assessment by routine and simple magnetic resonance imaging procedure in highly transfused patients. *Eur J Haematol* 2006;77:145-149.
- [51] Stark DD, Moseley ME, Bacon BR, et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy of hepatic iron overload. *Radiology* 1985;154:137-142.
- [52] Wang ZJ, Haselgrove JC, Martin MB, et al. Evaluation of iron overload by single voxel MRS measurement of liver T2. *J Magn Reson Imaging* 2002;15:395-400.
- [53] Yokoo T, Browning JD. Fat and iron quantification in the liver: past, present, and future. *Top Magn Reson Imaging* 2014;23:73-94.
- [54] Hamilton G, Middleton MS, Bydder M, et al. Effect of PRESS and STEAM sequences on magnetic resonance spectroscopic liver fat quantification. *J Magn Reson Imaging* 2009;30:145-152.