

**ANNALES
ACADEMIAE MEDICAE
GEDANENSIS
TOM XLII
2012
SUPPLEMENT 9**

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Jolanta Neubauer-Geryk

**Czynnościowa ocena mikrokrażenia obwodowego
za pomocą kapilaroskopii i testu infuzji L-argininy
a występowanie angiopatii u chorych
na cukrzycę typu 1**

*Functional assessment of peripheral
microcirculation with
use of capillaroscopy and l-arginine infusion
and angiopathy presence
in patients with type 1 diabetes mellitus*

Rozprawa habilitacyjna

Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii,
Zakład Fizjologii Klinicznej
Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik: prof. dr hab. Leszek Bieniaszewski

GDAŃSK 2012

Wydano za zgodą
Senackiej Komisji Wydawnictw Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

REDAKTOR NACZELNY
EDITOR-IN-CHIEF
Marek Grzybiak

HONOROWY REDAKTOR NACZELNY
HONORARY EDITOR-IN-CHIEF
Stefan Raszeja

KOMITET REDAKCYJNY
EDITORIAL BOARD
z-ca redaktora naczelnego – Adam Szarszewski
sekretarz redakcji – Włodzimierz Kuta
redaktor techniczny – Tadeusz Skowrya
Tomasz Bączek, Zdzisław Bereznowski, Anna Grygorowicz, Andrzej Hellmann,
Jerzy Kuczkowski, Krzysztof Narkiewicz, Michał Obuchowski,
Zbigniew Kmiec, Julian Świerczyński, Aleksandra Żurowska

ADRES REDAKCJI
ADDRESS OF EDITORIAL OFFICE
Annales Academiae Medicae Gedanensis
Zakład Anatomii Klinicznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk, Poland
e-mail: annales@gumed.edu.pl

Artykuły opublikowane w Annales Academiae Medicae Gedanensis
są zamieszczane w bazie EMBASE
Articles published in Annales Academiae Medicae Gedanensis are covered
by the Excerpta Medica database (EMBASE)

PL ISSN 0303–4135

Gdański Uniwersytet Medyczny

Składam serdeczne podziękowania Panu Profesorowi Leszkowi Bieniaszewskiemu kierownikowi Zakładu Fizjologii Klinicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za cenne uwagi oraz pomoc merytoryczną podczas realizacji badań i powstawania manuskryptu pracy habilitacyjnej. Bardzo dziękuję za ciągle wsparcie i mobilizację do twórczego wysiłku, bez którego realizacja tej pracy byłaby niemożliwa. Jestem wdzięczna za stworzenie mi warunków do pracy naukowej oraz wyrozumiałość i życzliwość w ciągu wszystkich lat pracy.

Mojej Rodzinie

SPIS TREŚCI

Spis publikacji dorobku autora zawierających cząstkowe wyniki prezentowane w rozprawie habilitacyjnej	10
1. Wstęp.....	12
1.1. Śródbłonek.....	14
1.2. Mikrokrążenie.....	18
1.3. Makrokrążenie	22
1.4. Powikłania naczyniowe w cukrzycy	23
1.5. Metody oceny struktury i funkcji naczyń	27
2. Cele pracy	44
3. Materiał i metody	45
3.1. Grupa chorych na cukrzycę	46
3.2. Grupa kontrolna	47
3.3. Protokół badania	48
3.3.1. Badanie przedmiotowe i podmiotowe	49
3.3.2. Badania biochemiczne.....	50
3.3.3. Badanie kapilaroskopowe	50
3.3.4. Ocena kompleksu błona wewnętrzna-środkowa	55
3.3.5. Ocena elastyczności naczyń.....	58
3.4. Metody oceny statystycznej.....	58
4. Wyniki.....	59
4.1. Porównanie badanych grup.....	59
4.1.1. Badanie podmiotowe i przedmiotowe	59
4.1.2. Ciśnienie tętnicze	60
4.1.3. Lipidogram	61
4.1.4. Pozostałe analizy laboratoryjne określone protokołem.....	62
4.1.5. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa	63
4.1.6. Prędkość rozchodzenia się fali tętna.....	64
4.1.7. Parametry mikrokrążenia skórniego w warunkach podstawowych oraz po infuzji L-argininy w badanych grupach	64
4.2. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a markerami biochemicznymi.....	67
4.2.1. Angiogenina.....	70
4.2.2. Asymetryczna dimetyloarginina.....	72
4.3. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a parametrami opisującymi strukturę i funkcję naczyń	74
4.3.1. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa	74
4.3.2. Prędkość rozchodzenia się fali tętna.....	74
4.4. Analiza zależności pomiędzy parametrami struktury i funkcji naczyń a wybranymi zmiennymi	75
4.5. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a ciśnieniem tętniczym	80
4.6. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a czasem trwania, wiekiem zachorowania i stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy	82

4.7. Ocena zależności między występowaniem mikroangiopatii a wybranymi zmiennymi	85
4.8. Porównanie podgrup chorych na cukrzycę	87
4.8.1. Badanie podmiotowe i przedmiotowe	89
4.8.2. Ciśnienie tętnicze	90
4.8.3. Lipidogram	91
4.8.4. Pozostałe analizy biochemiczne	91
4.8.5. Mikrokążenie skórne	92
4.8.6. Powikłania mikroangiopatyczne	97
4.8.7. Funkcja i struktura makrokążenia	98
4.8.8. Zależności pomiędzy parametrami mikrokążenia skórniego a zmiennymi opisującymi funkcji i struktury makrokążenia	99
4.8.9. Zależności pomiędzy parametrami mikrokążenia skórniego a ciśnieniem tętniczym	100
4.9. Zależność pomiędzy paleniem tytoniu a wybranymi zmiennymi	102
5. Dyskusja	103
6. Wnioski	122
7. Piśmiennictwo	123
8. Streszczenie	157
9. Summary	161
10. Aneks	164

WYKAZ NAJCZĘŚCIEJ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ACEI	<i>angiotensin-converting enzyme inhibitor</i> / inhibitor konwertazy angiotensyny II
Ach	<i>acetylcholine</i> / acetylocholina
ADMA	<i>asymmetric dimethylarginine</i> / asymetryczna dimetyloarginina
ARB	<i>angiotensin receptor blocker</i> / antagonist receptora angiotensyny II
ATIII	<i>antytrombin</i> / antytrombina III
B_coverage	<i>the ratio between area of the capillaries and total area of determined rows at baseline condition</i> / stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanych rzędów kapilar w warunkach podstawowych
B_distance	<i>mean distance between successive capillaries at baseline condition</i> / średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami w warunkach podstawowych
BH4	<i>tetrahydrobiopterin</i> / tetrahydrobiopteryna
BMI	<i>body mass index</i> / wskaźnik masy ciała
B-Mode	<i>brightness mode</i> / obrazowanie w skali szarości
CAD	<i>coronary artery disease</i> / choroba wieńcowa
CRP	<i>C-reactive protein</i> / białko C-reaktywne
DCCT	Diabetes Complication Clinical Trial
DM	<i>diabetes mellitus</i> / cukrzyca
eNOS	<i>endothelial nitric oxide synthase</i> / śródbłonkowa izoforma syntazy tlenku azotu
ESRD	<i>end stage renal disease</i> / zaawansowana choroba nerek
FMD	<i>flow mediated dilatation</i> / wazodylatacja tętnicy ramiennej
GUMed	Gdański Uniwersytet Medyczny
Hb	<i>hemoglobin</i> / hemoglobina
HbA1c	<i>glycated hemoglobin</i> / hemoglobina glikowana
HDL	<i>high density lipoproteins</i> / lipoproteiny wysokiej gęstości
ICC	<i>intraclass correlation coefficient</i> / współczynnik powtarzalności
IDF	<i>International Diabetes Federation</i> / Międzynarodowa Federacja Cukrzycy
ISH	<i>Isolated Systolic Hypertension</i> / Izolowane Nadciśnienie Skurczowe
IMT	<i>intima media thickness</i> / grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa
LDL	<i>low density lipoproteins</i> / lipoproteiny małej gęstości
NO	<i>nitric oxide</i> / tlenek azotu
NOS	<i>nitric oxide synthase</i> / syntaza tlenku azotu
NT	<i>arterial hypertension</i> / nadciśnienie tętnicze
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
p	<i>significance level</i> / poziom istotności
PORH	<i>post occlusive reactive hiperemia</i> / pookluzyjne przekrwienie czynne
PWV	<i>pulse wave velocity</i> / prędkość fali tętna
r	<i>correlation coefficient</i> / współczynnik korelacji
rż.	rok życia / age

<i>R_coverage</i>	<i>index $\Delta_coverage$ to $B_coverage$ / proporcja $\Delta_coverage$ do $B_coverage$</i>
<i>R_distance</i>	<i>index $\Delta_distance$ to $B_distance$ / proporcja $\Delta_distance$ do $B_distance$</i>
SD	<i>standard deviation / odchylenie standardowe</i>
<i>T_coverage</i>	<i>the ratio between area of the capillaries and total area of determined rows after L-arginine infusion / stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanych rzędów kapilar po infuzji L-argininy</i>
<i>T_distance</i>	<i>mean distance between successive capillaries after L-arginine infusion / średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami po infuzji L-argininy</i>
TG	<i>triglycerides / trójglicerydy</i>
UCK	Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
vWf	<i>von Willebrand factor/czynnik von Willebrand'a</i>
WESDR	Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy
WHO	<i>World Health Organisation / Światowa Organizacja Zdrowia</i>
<i>$\Delta_coverage$</i>	<i>the difference between the values of coverage obtained after and before L-arginine infusion / różnica pomiędzy polem powierzchni zajętym przez kapilary wyznaczonym po i przed infuzją L-argininy</i>
<i>$\Delta_distance$</i>	<i>the difference between the values of distance obtained after and before L-arginine infusion / różnica pomiędzy odległością kapilar wyznaczoną po i przed infuzją L-argininy</i>

**SPIS PUBLIKACJI DOROBKU AUTORA ZAWIERAJĄCYCH
CZĄSTKOWE WYNIKI PREZENTOWANE W ROZPRAWIE
HABILITACYJNEJ**

1. Neubauer-Geryk J., Kozera G.M., Wolnik B., Szczyrba S., Nyka W.M., Bieniaszewski L. Angiogenin in middle-aged type 1 diabetes patients. *Microvasc Res.* 2012 Nov;84(3):387-9.
2. Neubauer-Geryk J., Kozera G.M., Wolnik B., Szczyrba S., Nyka W.M., Bieniaszewski L. Decreased reactivity of skin microcirculation in response to L-arginine in later onset type 1 diabetes. *Diabetes Care* published ahead of print November 12, 2012, doi:10.2337/dc12-0320.

1. WSTĘP

Cukrzyca jest ogólnoswiatowym problemem, który dotyczy każdej grupy wiekowej. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia z 2011 roku ocenia się, że obecnie na świecie na cukrzycę choruje około 346 milionów ludzi [308]. Szacuje się, że u około 10% z tych chorych występuje cukrzyca typu 1. Mimo olbrzymiego postępu medycyny, w diagnostyce, prewencji i leczeniu powikłań cukrzycowych opartych o interdyscyplinarną opiekę nad chorym na cukrzycę, jej przewlekłe powikłania pod postacią mikroangiopatii i makroangiopatii stanowią główne przyczyny inwalidztwa oraz pogorszenia jakości życia.

Ocenia się, że ponad trzy czwarte chorych na cukrzycę umiera z powodu powikłań sercowo-naczyniowych. Występowanie niedokrwienia kończyn dolnych i/lub neuropatii może stać się przyczyną amputacji kończyn dolnych. W Polsce nefropatia cukrzycowa odpowiedzialna jest za około 30% przypadków ESRD (zaawansowana choroba nerek, *end stage renal disease*) wymagających leczenia nerkozastępczego. Retinopatia zaś prowadzi do znacznego pogorszenia widzenia i ślepoty.

Według obecnych koncepcji patofizjologicznych, genezy powikłań narządowych występujących w przebiegu cukrzycy, należy upatrywać w zaburzeniach mikrokrażenia. Na uwagę zasługują wyraźne relacje pomiędzy mikroalbuminurią a ryzykiem sercowo-naczyniowym u chorych na cukrzycę [151, 317]. Wyniki prowadzonych badań ciągle nie dają jednoznacznego wyjaśnienia pytania: czy mikroalbuminuria zapoczątkowuje miażdżycę, czy też jest efektem procesu miażdżycowego? Związek pomiędzy mikroalbuminurią i chorobami układu krążenia jest zapewne wynikiem wspólnego procesu: dysfunkcji śródbłonna i przewlekłego procesu zapalnego [287]. Podobną zależność wykazano również dla retinopatii [4, 149, 239]. Niektóre prace nie potwierdzają jednak tej zależności [60].

Przewlekła hiperglikemia odpowiedzialna jest za postępujące zwężanie światła naczyń z następczym upośledzeniem perfuzji skutkującej zaburzeniami funkcji i zmianami morfologicznymi tkanek i narządów. Zaburzenia mikrokrażenia, są wykładnikiem uogólnionego procesu, który dotyczy wszystkich tkanek i narządów. W nadciśnieniu tętniczym, przepływ wieńcowy koreluje z wskaźnikiem błona środkowa-światło (media: lumen) małych tętniczek w biopsji podskórnej tkanki tłuszczowej [248]. Dylatacja naczyń żylnych w siatkówce jest niezależnym czynnikiem prognostycznym progresji Choroby Małych Naczyń Mózgu (*cerebral small-vessel disease*) [129], wystąpienie retinopatii u chorych na cukrzycę wyprzedza zmniejszenie przepływu wieńcowego [214].

Zmiany patologiczne w cukrzycy typu 1. są rezultatem głównie hiperglikemii oraz czasu jej trwania. W wyniku hiperglikemii dochodzi do zwiększenia aktywności szlaku polioowego, zwiększonego powstawania wewnątrzkomórkowych końcowych produktów glikacji, aktywacji kinazy białkowej C oraz nadreaktywności szlaku heksozaminowego [32].

Zarówno w cukrzycy jak i nadciśnieniu tętniczym występuje niedokrwienie miokardium oraz objawy stenokardialne przy prawidłowym obrazie angiograficznym naczyń nasierdziowych, zwane kardiologicznym zespołem X. Pogorszenie perfuzji miokardium jest również przyczyną rozwoju niewydolności serca [145].

W cukrzycy typu 1. bez powikłań mikroangiopatycznych obserwuje się rozszerzenie a nie zwężenie małych i dużych naczyń oraz zwiększenie przepływu w mikrokrażeniu. Dylatacja naczyń może być przyczyną nadciśnienia w mikrokrażeniu. Według hemodynamicznej hipotezy patogenezy mikroangiopatii, przewlekłe nadciśnienie uszkadza śródbłonek kapilar i zapoczątkowuje dalsze zmiany w mikrokrażeniu. [335].

Wykazano, że przewlekła hiperglikemia jest podstawowym czynnikiem zapoczątkującym procesy doprowadzające do zmniejszenia rezerwy wieńcowej w grupie chorych na cukrzycę typu 2. Stwierdzono też, iż zmniejszenie rezerwy wieńcowej jest wprost proporcjonalne do zaawansowania retinopatii. u chorych na cukrzycę typu 2. bez retinopatii ubytek rezerwy jest mniejszy niż przy jej obecności [4]. Zaobserwowana przez Sundell i wsp. [294] odwrotna zależność pomiędzy poziomem glikemii na czczo a poniedokrwiennym przepływem wieńcowym w grupie zdrowych nieotyłych ochotników sugeruje, związek nawet umiarkowanej oporności na insulinę, ze zmniejszeniem przepływu wieńcowego.

Zmniejszenie perfuzji wieńcowej w cukrzycy wynika głównie ze zmniejszonego maksymalnego przepływu wieńcowego. Dzięki badaniom z zastosowaniem *Cold Pressor Test* (reakcja zależna od śródbłónka) i testów z adenozyną lub dipirydamolem (testy niezależne od śródbłónka) uzyskano możliwość zebrania informacji o mechanizmach leżących u podstaw tego zjawiska u osób z różnymi stopniami zaburzeń metabolizmu węglowodanów [239].

Nadciśnienie tętnicze nasila progresję nefropatii i retinopatii [34]. Wykazano również, że częstość występowania zmian neuropatycznych ulega nasileniu w obecności zespołu metabolicznego (nadciśnienie tętnicze, zaburzenia lipidowe, otyłość) oraz nałogu palenia tytoniu. Wszystkie te czynniki, łącznie z opornością na insulinę i zaburzeniami fibrynolizy, powodują uszkodzenie ściany naczyń, które objawia się stanem zapalnym i dysfunkcją śródbłónka [34].

Zarówno hiperglikemia jak również insulinooporność poprzez stres oksydacyjny oraz zapalenie i końcowe produkty glikacji indukują zaburzenia mikrokrażenia [254]. Zapalenie również odgrywa dużą rolę w powstawaniu insulinooporności [270] i powstawaniu zaburzeń w perfuzji mikrokrażenia. Insulinooporność jest jednym z czynników sprawczych dysfunkcji mikrokrażenia, która zwrótnie nasila insulinooporność. Jest to ewidentny przykład działania sprzężenia zwrotnego dodatniego, czyli błędnego koła. Podobne zjawisko *circulus vitiosus* występuje w przypadku dysfunkcji mikrokrażenia i podwyższonego oporu obwodowego w rozwoju nadciśnienia tętniczego.

Badania kliniczne przeprowadzone w grupie chorych na cukrzycę typu 1. (DCCT, Diabetes Complication Clinical Trial) [307] oraz na cukrzycę typu 2. (UKPDS, United Kingdom Prospective Diabetes Study) [327] wykazały, iż ścisła kontrola poziomu glikemii oraz wysokości ciśnienia tętniczego przyczynia się do zmniejszenia ryzyka powikłań mikroangiopatycznych. Badanie EDIC (Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study), będące kontynuacją 6,5-letniego badania DCCT wykazało, że efekt intensywnej kontroli poziomu glikemii w postaci redukcji powikłań utrzymuje się w okresie 4, 7 i 10 lat [309]. Bardzo cennym wnioskiem z badania DCCT jest fakt, że intensywne leczenie cukrzycy opóźnia początek, jak również spowalnia progresję zarówno nefropatii, jak też retinopatii cukrzycowej [307].

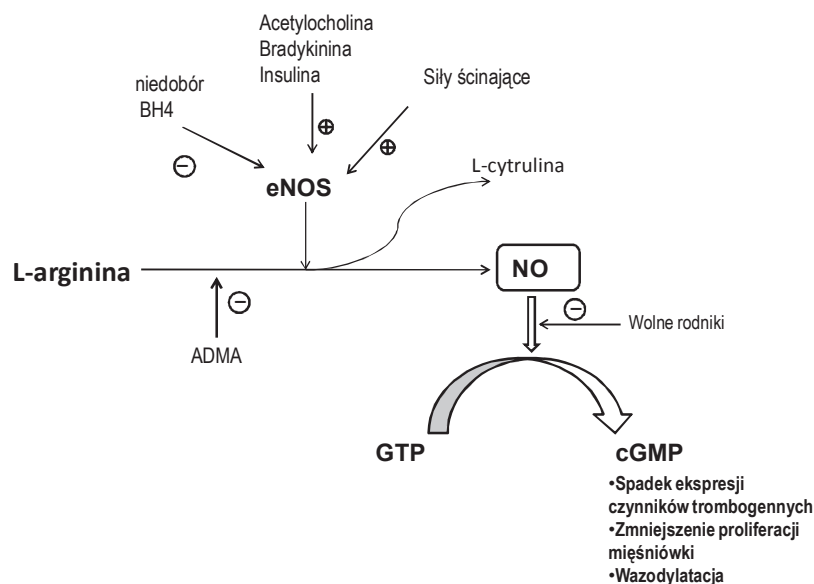
1.1. Śródbłonek

Śródbłonek jest określany mianem największego narządu wewnątrzwydzielniczego człowieka, który jest miejscem kontroli funkcji naczyń i tkanek [50]. Produkuje on i uwalnia substancje: wazoaktywne, regulujące układ krzepnięcia i fibrynolizy oraz czynniki wzrostu. Należą do nich m.in.: tlenek azotu, śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący, prostaglandyny oraz endotelina 1, angiotensyna II. Zaburzenia funkcji śródbłonka przejawiają się zmianami właściwości antykoagulacyjnych i przeciwzapalnych, nieprawidłową modulacją wzrostu naczyń, a także dysregulacją remodelingu naczyń.

Wśród wielu substancji wazoaktywnych wydzielanych przez komórki śródbłonka do krążenia istotną rolę spełnia zależny od śródbłonka czynnik wazodylatacyjny, którym jest tlenek azotu (NO, *nitric oxide*), po raz pierwszy opisany przez Furgota i Zawadzkiego w 1980. Odkrycie to uhonorowano Nagrodą Nobla w 1998. Tlenek azotu uczestniczy także w wielu funkcjach służących ochronie śródbłonka. Ogranicza adhezję, agregację i aktywację leukocytów, hamując ekspresję prozapalnych cytokin, chemokin czy też substancji adhezyjnych leukocytów. Ponadto NO hamuje proliferację komórek mięśniowych naczyń krwionośnych, adhezję i agregację płytek [148]. Jest produkowany razem z cytruliną z zasadowego aminokwasu L-argininy przez grupę izoenzymów zwanych syntazami NO (NOS). NOS generuje NO tylko wówczas, gdy znajduje się w postaci dimerycznej. Do powstania NO konieczna jest obecność L-argininy i tetrahydrobiopteryny (patrz rycina 1). Brak jednego ze składników powoduje, że NOS zaczyna działać jako reduktaza i redukuje tlen do anionu nadadtlenkowego O_2^- , który reaguje z wolnorodnikowym tlenkiem azotu, tworząc peroksyazotyn ($ONOO^o$) – związek bardzo aktywny niszczący m.in. śródbłonek.

Tlenek azotu jest wytwarzany w komórkach śródbłonka z L-argininy przez śródbłonkową izoformę syntazy tlenku azotu (eNOS, *endothelial nitric oxide synthase*), która jest produktem genu NOS3. Enzym eNOS jest również stymulowany do zwiększonej syntezy NO przez fizjologicznych agonistów, przez siły ścinania oraz substancje farmakologiczne.

W warunkach podstawowych NO uwalniany jest przez śródbłonek naczyń krwionośnych w sposób ciągły, w ilościach pikomolowych. Jego wytwarzanie wzrasta na skutek zmian napięcia ściany naczyń po przyspieszeniu przepływu krwi i gdy dochodzi do pobudzenia komórek śródbłonka przez substancje aktywujące NOS3.



Rycina 1. Procesy regulujące biodostępność NO u chorych na cukrzycę (zmodyfikowane na podstawie Idzior-Waluś i wsp. [127])

Figure 1. Mechanism of bioavailability of NO in patients with diabetes (modified from Idzior-Waluś et al. [127])

W budowie ściany kapilar śródbłonek odgrywa zasadniczą rolę konstrukcyjną i funkcjonalną. u chorych na cukrzycę typu 1. stwierdza się postępującą dysfunkcję śródbłonek, która wiąże się z nasiloną progresją zmian miażdżycowych. Zaburzenia funkcji śródbłonek polegają głównie na zwiększeniu przepuszczalności śródbłonek, która sprzyja przechodzeniu proaterogennych lipoprotein i cytokin do przestrzeni pod-śródbłonnej.

W cukrzycy dochodzi do zmniejszenia syntezy NO zależnej od śródbłonek oraz do skrócenia czasu półtrwania NO. W wyniku zwiększenia reaktywnych rodników tlenowych dochodzi do zamiany NO w nadtlenoazotyn. Zmniejszona synteza NO w cukrzycy jest wynikiem zahamowania ekspresji białka eNOS, zwiększenia poziomu ADMA (*asymmetric dimethylarginine*, asymetryczna dimetyloarginina) endogennego inhibitora syntazy tlenku azotu oraz niedoboru tetrahydrobiopteryny, kofaktora eNOS (rycina 1). Utrata biologicznej aktywności NO zależnego od śródbłonek wiąże się z wazokonstrykcją, zwiększoną gotowością zatorowo-zakrzepową, aktywnością procesu zapalnego i proliferacją komórek mięśniówki naczyń.

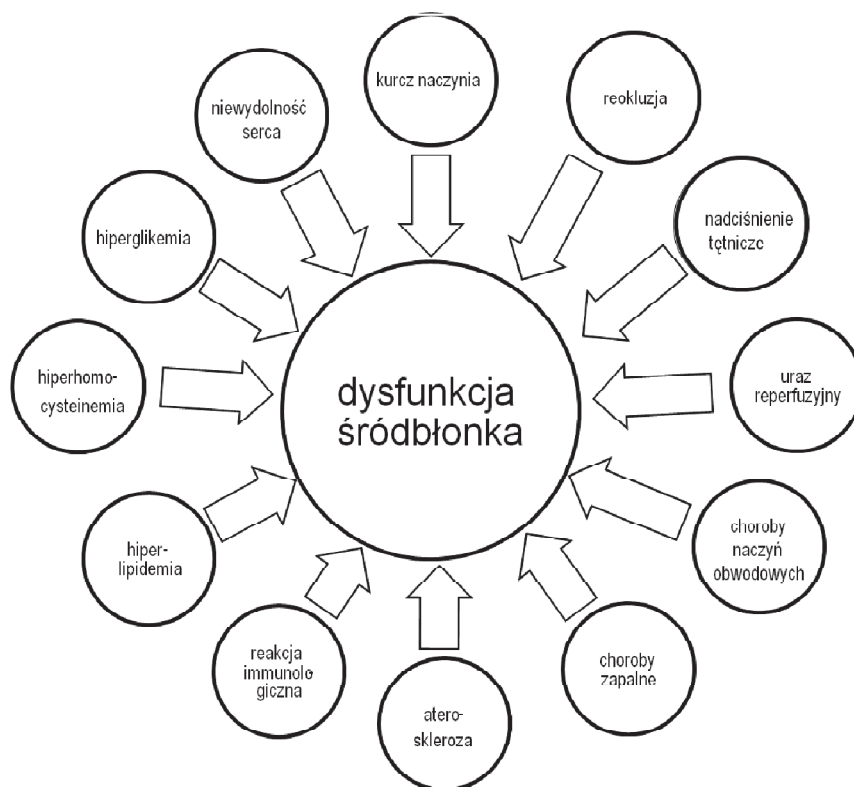
Szczególne znaczenie badań prowadzonych nad śródbłonkiem wynika z faktu, że jego dysfunkcja (wtórna do zmniejszenia syntezy bądź aktywności NO) odgrywa istotną rolę we wczesnych etapach rozwoju miażdżycy. Ocena funkcji śródbłonek może zatem ułatwić oszacowanie intensywności procesu miażdżycowego. Czynność śródbłonek można określić z wykorzystaniem badań odnoszących się zarówno do morfologii, jak i mechanicznej funkcji ściany naczyń. Użytecznych informacji dostarczają między innymi ocena grubości kompleksu błona wewnętrzna-środkowa (IMT, *intima-media*

thickness), badanie podatności naczyń tętniczych (PWV, *pulse wave velocity*) oraz wskaźniki przebudowy naczyniowej. Dodatkowe informacje wnoszą badania stężenia rozpuszczalnych markerów śródbłonna takich jak czynnik von Willebrandta, molekuly adhezyjne, aktywator plazminogenu [125].

Wielkość przepływu uwarunkowana funkcją śródbłonna ulega zmianie zależnie od występowania czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego [196].

Dysfunkcja śródbłonna nie tylko odgrywa kluczową rolę w zapoczątkowaniu procesu arteriosklerozy, czyli stwardnienia tętnic związanego z utratą ich elastyczności i zmniejszenia podatności na odkształcanie. Ma również ściśle związek z rozwojem retinopatii i nefropatii zarówno w cukrzycy typu 1, jak i typu 2. [285].

Przyczyny dysfunkcji śródbłonna przedstawiono na rycinie 2.



Rycina 2. Główne czynniki wywołujące dysfunkcję śródbłonna [251]

Figure 2. Main reasons causing endothelial dysfunction [251]

Ostatnio podkreśla się znaczenie tzw. nowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w rozwoju patologii mikrokrazenia: ADMA, angiogeniny oraz homocysteiny.

Asymetryczna dimetyloarginina (ADMA). Czynnikiem ten jest uznanym biomarkerem dysfunkcji śródbłónki i koreluje z ryzykiem akceleracji miażdżycy oraz chorób układu sercowo-naczyniowego. Eliminacja ADMA odbywa się zarówno poprzez enzymatyczną degradację przez dimetyloaminohydrolazę dimetyloargininy (DDAH)-1 i -2, jak i wydalanie drogą nerkową. W warunkach fizjologicznych aktywność DDAH jest odpowiedzialna za ok. 80% całkowitej eliminacji ADMA. W warunkach patologicznych nerkowe wydalanie wpływa istotnie na stężenie ADMA [3, 331]. ADMA może powodować zmniejszenie produkcji NO i być przyczyną dysfunkcji śródbłónki (rycina 1).

Wzrost poziomu ADMA stwierdza się w przewlekłej chorobie nerek, nadciśnieniu tętniczym, cukrzycy typu 2. [28, 138, 295]. Ponadto z dostępnych danych wynika, że podwyższone stężenie ADMA stwierdza się w hipercholesterolemii [26], nadciśnieniu tętniczym [229], u chorych z insulinoopornością [228, 291]. Wykazano, że podwyższone stężenie ADMA jest związane z zaburzeniami funkcji śródbłónki [26] oraz jest niezależnym czynnikiem ryzyka śmiertelności z powodu zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych w schyłkowym stadium przewlekłej choroby nerek [178, 321, 355].

Zaburzenia działania NOS są nierozdzielnie związane z dysfunkcją śródbłónki u chorych na cukrzycę typu 1. u tych chorych badania oceniające stężenie ADMA przyniosły rozbieżne wyniki. Część badaczy dowodzi, że stężenie ADMA jest podwyższone u chorych na cukrzycę typu 1. bez powikłań narządowych [5, 348], niektórzy zaś wykazują, iż stężenie ADMA jest u tych chorych obniżone [114, 271].

Angiogenina. Czynnikiem ten jest proangiogenną cytokiną, zwiększającą aktywność komórek śródbłónki naczyń oraz nasilającą ich proliferację i migrację na wczesnych etapach angiogenezy [273]. Angiogenina jest czynnikiem o właściwościach przeciwzapalnych [325], neuroprotektoryjnych [292]. Angiogenina wpływa na powstawanie prostacykliny i NO-poprzez aktywację NOS, działając wazodylatacyjnie [21, 323]. Zmniejszone stężenie angiogeniny w surowicy krwi osób chorujących na cukrzycę może być czynnikiem odpowiedzialnym za gorszą wydolność angiogenezy u chorych z wieloletnią cukrzycą [186, 274, 275]. Chiarelli i wsp. [44] wykazali podwyższone stężenie angiogeniny u dzieci na cukrzycę typu 1. przed osiągnięciem okresu dojrzewania. Ciężkość powikłań mikroangiopatycznych była związana z istotnym wzrostem stężenia angiogeniny, zaś długoterminowa ścisła kontrola glikemii powodowała zmniejszenie jej stężenia.

Homocysteina. Hiperhomocysteinemia jest uznanym czynnikiem rozwoju miażdżycy, wymienianym wśród potencjalnych kofaktorów uszkodzenia małych naczyń w przebiegu cukrzycy [127, 357]. Ostra hiperhomocysteinemia powoduje zmniejszenie wazodylatacji zależnej i niezależnej od śródbłónki w mikrokrażeniu skórnym u chorych na cukrzycę typu 2. Takie zmiany mogą przyczyniać się do rozwoju powikłań naczyniowych u cukrzycy [46].

Przegląd metod służących do oceny funkcji śródbłónki przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Przegląd metod służących do oceny funkcji śródbłónka [106]

Table 1. Review of methods for assessment of endothelial function [106]

Rodzaj <i>Type</i>	Bodziec <i>Stimulus</i>	Mierzone parametry <i>Parameters measured</i>
Metoda pośrednia <i>Indirect methods</i> Biochemiczna <i>in vivo</i> <i>/ Biochemical</i>	L-arginina ADP, 5-HT, histamina	Osoczowy NO i PGI2 Azotany i azotyny w moczu, cząstki adhezyjne, czynniki krzepnięcia
Metody bezpośrednie <i>Direct methods</i>		
<i>In vitro</i> (hodowle komórek) <i>/(cell culture)</i>	L-NAME, fenylefryna, noradrenalina, inhibitory NOS i COX	Przepływ
<i>In vitro</i> (izolowane tętnice) <i>/ (isolated artery)</i>	Siły ścinania	Współczynnik ścierania
<i>In vivo</i> – inwazyjnie <i>/ invasive</i>	L-NMMA Acetylocholina, serotonina, bradykinina, substancja P	Średnica tętnicy Przepływ tętniczy
<i>In vivo</i> – nieinwazyjnie <i>/ noninvasive</i>	Siły ścinania Dipiridamol	Średnica tętnicy + przepływ tętniczy (FMD) Przepływ tętniczy

NO (*nitric oxide*) – tlenek azotu; PGI2 (*prostaglandin I2*) – prostaglandyna I2; ADP (*adenosine diphosphate*) – adenosynodifosforan; 5-HT (*5-hydroxytryptamine*) – 5-hydroksytryptamina (serotonina); L-NAME (*N (G)-nitro-L-arginine methyl ester*) – inhibitor syntazy tlenu azotu; NOS (*nitric oxide synthase*) – syntaza tlenu azotu; COX (*cyclooxygenase*) – cyklooksygenaza; L-NMMA (*NG-monomethyl-L-arginine*) – N-etylo-L-arginina

1.2. Mikrokążenie

Mikrokążenie jest częścią układu kążenia o bardzo istotnym znaczeniu dla regulacji przepływu i ciśnienia krwi. Jest obszarem, w którym następuje prawie cała wymiana gazów, składników odżywczych jak również produktów przemiany materii pomiędzy krwią a tkankami. Prawidłowa czynność tego obszaru naczyniowego utrzymuje homeostazę organizmu.

Mikrokążenie strukturalnie jak i funkcjonalnie znajduje się pomiędzy częścią tętniczą i żylną układu kążenia. Do tego obszaru zalicza się naczynia o średnicy mniejszej niż 150 µm, tzn. tętniczki, drobne żyłki, naczynka chłonne oraz zespolenia tętniczko-żyłne, które budują jednostki mikrokążenia [170, 171] (rycina 3).

Coraz powszechniej proponowana jest definicja naczyń mikrokążenia oparta nie tylko na średnicy naczynia, ale również na reakcji mięśniówki naczyń na różnicę ciśnień. Wszystkie naczynia, które reagują redukcją średnicy na podwyższone ciśnienie krwi zaliczamy do mikrokążenia [170]. Ta definicja uwzględnia małe tętniczki, tętnice i jest zgodna z ostatnio uznanym poglądem, że zarówno tętniczki jak i małe tętnice powinny być traktowane jako ciągłość, a nie oddzielne części układu kążenia odpowiadające za regulację oporu obwodowego.

Naczynia mikrokążenia stanowią około 99% całkowitej liczby około 10^{11} naczyń krwionośnych dorosłego człowieka [107]. Krew dopływa do jednostki mikrokążenia

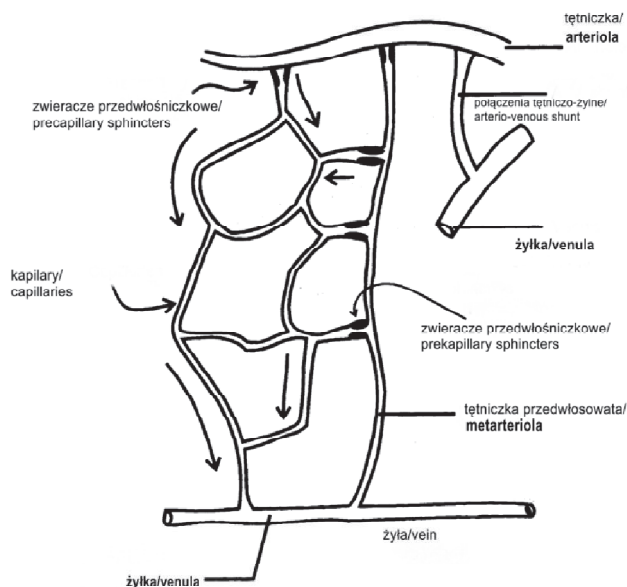
tętniczką doprowadzającą o średnicy około 100 μm . Zamknięcie jej światła prowadzi do czynnościowego wyłączenia zaopatrywanego przez nią obszaru [203, 204].

Odchodzące od niej drobniejsze (10–20 μm) naczynia przedwłosowate mające okrężnie ułożone komórki mięśniowe, tworzą zwieracze naczyń przedwłosowatych, które regulują przepływ przez daną włosniczkę. Między naczyniami tętniczymi i żylnymi znajdują się połączenia – metarteriole, od których odchodzi sieć naczyń włosowatych oraz zespolenia tętniczo-żylne, z pominięciem sieci włosniczek [203, 204].

Skurcz mięśni gładkich ściany zespolenia (unerwionych przez włókna nerwowe układu współczulnego) powoduje zamknięcie jego światła i napływ krwi do naczyń włosowatych z ominięciem całej sieci wymiany odżywczej. Zespolenia najliczniej występują w dystalnych częściach ciała, gdzie spełniają ważną rolę w termoregulacji.

Ściana naczyń włosowatych składa się z jednej warstwy komórek śródbłonna, zawierających aktynę i miozynę oraz łącznotkankowej błony podstawnej.

Mikrokrążenie jest obszarem, w którym powstaje zarówno lokalny jak i systemowy opór obwodowy. W badaniach na szczurach wykazano, iż około 70-90% systemowego ciśnienia krwi dociera do mikrokrążenia, tu właśnie indukowany jest opór obwodowy [64].



Rycina 3. Jednostka mikrokrążenia
Figure 3. Microcirculation unit

Tabela 2. Struktura i funkcja poszczególnych obszarów naczyniowych [252])

Table 2. Structure and function of respective vascular area [252]

	Tętnice elastyczne <i>Elastic arteries</i>	Tętnice mięśniowe <i>Muscular arteries</i>	Tętniczki <i>Arterioles</i>	Kapilary <i>Capillaries</i>
Średnica <i>Diameter</i>	>2 mm	150 µm-2 mm	8-150 µm	< 8 µm
Śródbłonek <i>Endothelium</i>	+	++	+++	++++
Warstwa środkowa <i>Medial layer</i>	++	++	+	–
Funkcja <i>Function</i>	przepływ, podatność	podatność, opór	opór	wymiana

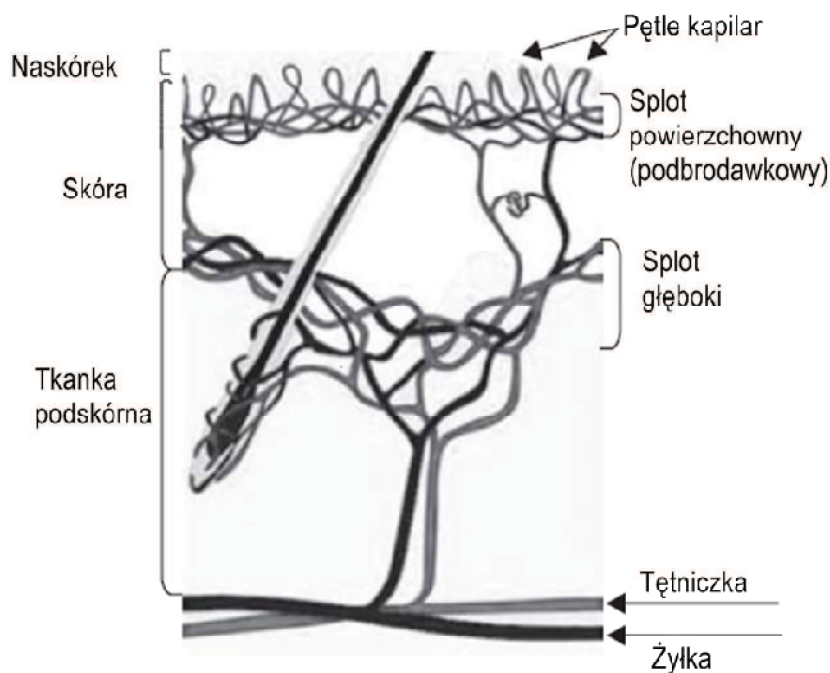
+/- obecność/brak

Prekapilary chronią kapilary przed potencjalnym wpływem wysokiego ciśnienia, regulują przepływ przez włosniczki.

W warunkach spoczynkowych 25% naczyń włosowatych jest otwartych [324]. Na każdy milimetr kwadratowy przekroju poprzecznego tkanek przypada około 600 naczyń mikrokrażeń, ale ich zagęszczenie jest różne i zależne od zapotrzebowania na tlen. Najgęstsza sieć naczyń występuje w mózgu, mięśniu sercowym oraz nerkach.

Mikrokrażenie skórne

W różnych tkankach stwierdza się odrębności w budowie i niektórych funkcjach mikrokrażenia. Sieć naczyń mikrokrażenia skórnoego tworzą dwa sploty: powierzchniowy (podbrodawkowy) na głębokości 400–500 µm oraz głęboki splot skórny zlokalizowany około 1,9 mm od powierzchni skóry (rycina 4). Od splotu powierzchniowego w kierunku warstwy podstawnej odchodzą pętle kapilar o średnicy 10 µm. Oba sploty są połączone przez wstępujące arteriole i zstępujące żyłki, pomiędzy którymi występują anastomozy tętniczo-żylnie. Połączenia te umożliwiają szybkie zwiększenie lub zmniejszenie przepływu przez skórę przy regulacji jej temperatury. Anastomozy tętniczo-żylnie są szczególnie liczne w niektórych częściach ciała (palce, nos, wargi i uszy). Najgłębszą warstwą skóry jest tkanka podskórna, która zawiera tkankę tłuszczową stanowiącą izolację termiczną i mechaniczną. Przepływ krwi przez tę warstwę skóry zapewniają pary wstępujących arterioli i zstępujących żyłek. Inne struktury skóry, takie jak włosy i gruczoły, są otoczone przez odrębne niewielkie sieci kapilarne [30].



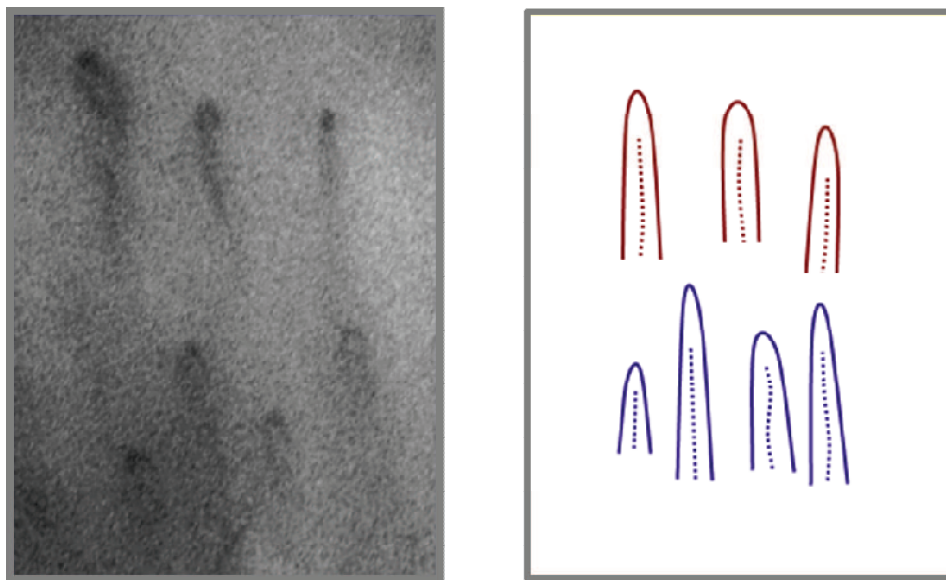
Rycina 4. Schemat unaczynienia skóry. Zmodyfikowano na podstawie [105]

Figure 4. Scheme of skin circulation. Modified from [105]

Elementem budującym układ mikrokrażenia, jak wspomniano powyżej, są m.in. kapilary, czyli naczynia włosowate.

Wyróżniono cztery rodzaje naczyń włosowatych różniących się przepuszczalnością naczyń: naczynia włosowate o ciągłej ścianie (A), naczynia włosowate o ścianie nieprzepuszczalnej- zwartej (B), naczynia włosowate okienkowate (C) oraz naczynia włosowate o ścianie nieciągłej- łatwo przepuszczalne (D). W skórze występują naczynia włosowate o ścianie ciągłej oraz naczynia włosowate okienkowate.

Naczynia włosowate skóry badane są za pomocą kapilaroskopii najczęściej w wale paznokciowym. W warunkach prawidłowych obserwujemy w wale paznokciowym regularne ułożenie naczyń. W jednej brodawce skórnej znajduje się od 1 do 3 pętli naczyńniowych, co odpowiada liczbie 9–13 kapilar na milimetr liniowy [101]. Prawidłowy kształt pętli przypomina odwróconą literę u lub spinę do włosów (*hairpin-like*) (patrz rycina 5).



Rycina 5. Obraz i schemat kapilar w badaniu kapilaroskopowym

Figure 5. The picture and scheme of capillaries in capillaroscopy

W przebiegu pętli naczyniowej można wyróżnić ramię tętnicze (wstępujące-A), część szczytową oraz ramię żylnie (zstępujące-B). Średnica ramienia wstępującego wynosi $6\text{--}19\text{ }\mu\text{m}$ ($11 \pm 3\text{ }\mu\text{m}$). Jest ono węższe od ramienia żylnego, którego średnica wynosi od $8\text{ do }20\text{ }\mu\text{m}$ ($12 \pm 3\text{ }\mu\text{m}$). Proporcja szerokości ramienia żylnego do ramienia tętniczego wynosi typowo 2:1 [101]. W warunkach prawidłowych w obrębie jednego wału paznokciowego wszystkie pętle mają zbliżoną długość i średnicę, są rozmieszczone równomiernie na bladoróżowym tle, równolegle względem siebie i prostopadle do linii naskórka. Jednakże długość pętli jest zmienna i wykazuje różnice – najkrótsze pętle naczyniowe występują w wale paznokciowym palca wskazującego, najdłuższe w palcach IV–V [99, 101].

1.3. Makrokrążenie

Makrokrążenie obejmuje duże i średnie naczynia tętnicze, elastyczne i mięśniowe. Udział poszczególnych warstw w budowie ściany ilustruje tabela 2. Różna budowa naczyń tętniczych jest związana z odmiennymi funkcjami pełnionymi przez te naczynia w układzie krążenia. Tętnice elastyczne, dzięki dużej ilości włókien sprężystych pełnią rolę „powietrzników”, dzięki której przepływ z pulsacyjnego wynikającego z objętości wyrzutowej staje się laminarny. Tętnice mięśniowe regulują obwodowy napływ tętniczy poprzez regulację obwodowego ciśnienia tętniczego.

Miażdżycy dotyczy dużych i średnich naczyń, elastycznych i mięśniowych. u chorych na cukrzycę obejmuje także naczynia tętnicze małego kalibru. W tętnicach wraz ze starzeniem się organizmu zachodzą zmiany funkcjonalno-strukturalne. Fizjolo-

giczna przebudowa naczyń polega na pogrubieniu błony wewnętrznej tętnic, lipidozie, czyli odkładaniu się lipidów i lipoprotein w ścianie naczyń. W błonie środkowej dochodzi do rozrostu włókien kolagenowych. Naturalny proces starzenia się organizmu, czyli miażdżyca, który objawia się powstawaniem zmian w miejscach predysponowanych, w cukrzycy przybiera nieco inny, złośliwy obraz. W cukrzycy zachodzi proces tzw. ateroskleropatii, czyli patologicznej, przyspieszonej i bardziej inwazyjnej postaci miażdżycy [66]. Proces ten jest konsekwencją współistnienia kilku czynników ryzyka, takich jak: hiperglikemia, dyslipidemia, insulinooporność i nadciśnienie tętnicze. u chorych na cukrzycę typu 1. zasadniczy wpływ mają również duże dobowe wahania stężenia glikemii we krwi z częstymi epizodami hipoglikemii [119].

Agresywność miażdżycy wynika ze znacznej aktywności stanu zapalnego i innej przebudowy ścian. Hiperglikemia wywołuje metaboliczną hipoksję, która łącznie z mikroangiopatią w *vasa vasorum* doprowadza do niedotlenienia ścian naczyń tętniczych, promując angiogenezę [66]. Proces ten poprzez towarzyszące krwotoki ze słabych nowotworzonych patologicznych naczyń oraz przez pobudzenie procesów zapalnych, dylatację naczyń i zwiększoną ich przepuszczalność sprzyja „złośliwości” miażdżycy.

1.4. Powikłania naczyniowe w cukrzycy

Powikłania mikroangiopatyczne cukrzycy

Nefropatia cukrzycowa. Jest powikłaniem cukrzycy prowadzącym do zaawansowanej choroby nerek. Celem wykrycia lub oceny nasilenia nefropatii u chorych na cukrzycę określa się wydalanie albumin z moczem. Powszechnie stosowany jest również wskaźnik albumina/kreatynina, obliczany jako iloraz stężeń albuminy i kreatyniny w przygodnej porcji moczu [8, 233].

Tabela 3. Definicja zaburzeń w wydalaniu albumin z moczem [8, 233]

Table 3. Definition of urinary albumin excretion disorders [8, 233]

Kategoria <i>Category</i>	wydalanie albuminy $\mu\text{g}/\text{mg}$ kreatyniny w moczu <i>albumin $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine excretion</i>
Normoalbuminuria / <i>Normoalbuminuria</i>	<30
Mikroalbuminuria / <i>Microalbuminuria</i>	30–299
Makroalbuminuria / <i>Macroalbuminuria</i> Jawna nefropatia / <i>Overt nephropathy</i>	>300

Mikroalbuminuria uznawana jest jako wykładnik uszkodzenia śródbłonna oraz jako niezależny czynnik ryzyka poważnych powikłań sercowo-naczyniowych zarówno w cukrzycy, jak również u chorych bez tejże choroby [89, 153, 285, 333]. Najczęściej nefropatia rozwija się od stadium mikroalbuminurii, poprzez fazę makroalbuminurii (nefropatia jawna) do przewlekłej choroby nerek. Badania DCCT/EDIC wykazały, że u znacznej części chorych na cukrzycę przewlekła choroba nerek rozwija się bez wstępnej fazy mikroalbuminurii [197].

Wykazano jednakże, że pacjenci na cukrzycę i normoalbuminurią w porównaniu z osobami bez cukrzycy charakteryzują się nieznacznie podwyższonym ciśnieniem tętniczym, większą sztywnością naczyń i dysfunkcją układu autonomicznego [256, 332, 334]. Obserwacje te były podstawą sformułowania hipotezy o zaburzeniu czynności śródbłonna wyprzedzającej pojawienie się mikroalbuminurii. Dogra i wsp. [70] potwierdzili tę hipotezę wykazując, że w typie 1. krótkotrwałej niepowikłanej cukrzycy dochodzi do pogorszenia zależnej od śródbłonna pośredniczonej przez NO wazodylatacji naczyń, zaś hiperglikemia *per se* zaburza zależną od śródbłonna wazodylatację. Należy jednak zaznaczyć, że badania Vervoort [335], przeprowadzone w grupie chorych z krótkotrwałą niepowikłaną cukrzycą typu 1., przyniosły odmienne wnioski, w których wykazano dylatację naczyń oraz wzrost przepływu w mikrokrążeniu.

Intensywna insulinoterapia, która zapewniała bardzo dobrą kontrolę glikemii okazała się opóźniać pojawienie się mikroalbuminurii lub jej progresję do makroalbuminurii [244, 306].

Kłębuszkowe i okołokanalikowe rozrzedzenie sieci kapilar stwierdza się zarówno w warunkach eksperymentalnych na modelach zwierzęcych oraz podczas progresji przewlekłej choroby nerek u ludzi. Proces ten poprzedzają zaburzenia perfuzji i przewlekłego niedotlenienia [143]. Uważa się, że hipoksja może być elementem łączącym różne formy postępującej choroby nerek [208].

Retinopatia. Jest zaburzeniem prowadzącym w konsekwencji do całkowitej utraty wzroku. Na każdym etapie retinopatii może wystąpić niezależnie cukrzycowy obrzęk plamki. Klasyfikacja retinopatii cukrzycowej wg International Clinical Classification for Diabetic Retinopathy przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Klasyfikacja retinopatii cukrzycowej [341]

Table 4. Classification of diabetic retinopathy [341]

Zaawansowanie <i>Progression</i>	Objawy <i>Signs</i>
bez retinopatii <i>without retinopathy</i>	bez nieprawidłowości
łagodna retinopatia nieproliferacyjna <i>mild nonproliferative retinopathy</i>	tylko mikrotętniaki
retinopatia nieproliferacyjna <i>nonproliferative retinopathy</i>	mikrotętniaki, ale mniej nasilona niż ciężka
ciężka retinopatia nieproliferacyjna <i>severe nonproliferative retinopathy</i>	> 20 wybroczyn wewnątrzsiatkówkowych w każdym z 4 kwadrantów, paciorkowatość naczyń żylnych ≥ 2 kwadrantach, IRMA w 1 lub więcej kwadrantów, bez retinopatii proliferacyjnej
retinopatia proliferacyjna <i>proliferative retinopathy</i>	nowotworzenie naczyń, krwotoki w ciele szklistym/przedsiatkówkowe

Najsilniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju retinopatii jest hiperglikemia, czas jej trwania i stopień nasilenia [182, 297]. Do czynników również wpływających na wystę-

powanie i progresję retinopatii należą: nadciśnienie tętnicze [169], dyslipidemia, występowanie nefropatii cukrzycowej, okres dojrzewania, okres ciąży [67, 83].

Po 20 latach trwania cukrzycy typu 1. retinopatię prostą stwierdza się niemal u wszystkich chorych, po dalszych 10 latach trwania choroby u 70% tych chorych rozwija się retinopatia proliferacyjna [219]. Czas zachorowania jest również istotnym czynnikiem warunkującym częstość i ryzyko wystąpienia retinopatii. Wykazano, że u chorych, u których na cukrzycę typu 1. rozpoznaną przed 30. rokiem życia częstość występowania retinopatii jest większa w porównaniu z grupą, która zachorowała po 30. roku życia i nie była leczona insuliną [154]. Podczas 10-letniej obserwacji w badaniu WESDR (Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy) [154] stwierdzono najwyższą zapadalność i progresję retinopatii u chorych z wcześniej rozpoznaną cukrzycą. Donaghue i wsp. stwierdzili, że zachorowanie na cukrzycę przed wiekiem pokwitania skutkuje wystąpieniem retinopatii w późniejszym czasie [72].

Neuropatia. Uważa się, że neuropatia jest najczęstszym powikłaniem cukrzycy. Częstość jej występowania ocenia się na 10 do 90%. Różnice te wynikają z odmiennych kryteriów diagnostycznych oraz stosowanych metod diagnostycznych. Często ze względu na ubogą symptomatykę powikłanie to sprawia duże trudności diagnostyczne. Różne objawy neuropatii, somatycznej jak i autonomicznej mogą współistnieć lub występować niezależnie. Długo uważano, że przyczyną tychże powikłań są zaburzenia w *vasa vasorum* włókien nerwowych, jednakże w ostatnim czasie zmiany te uważane są za marginalne, a znaczenia nabiera badanie przewodnictwa nerwowego oraz funkcjonowania komórek Schwanna [344].

Cukrzyca jest główną przyczyną neuropatii obwodowej, powszechnie objawia się jako dystalna polineuropatia czuciowo-ruchowa. Neuropatia cukrzycowa jest związana z wpływem czynników ryzyka, zarówno makroangiopatii i innych mikroangiopatii takimi jak: zła kontrola metaboliczna, zaburzenia gospodarki lipidowej, wskaźnik masy ciała, palenie tytoniu. Jest również związana z występowaniem mikroalbuminurii i retinopatii cukrzycowej. Badania na zwierzętach i u ludzi wykazały zmniejszoną perfuzję nerwów i niedotlenienie *endoneurium*. Badania materiału z biopsji od chorych z różnym nasileniem neuropatii wykazały zmiany strukturalne w mikrokrażeniu nerwu, polegające na pogrubieniu błony podstawnej, zwyrodnieniu pericytów i rozroście komórek śródbłonna. Można zatem wyróżnić dwa główne mechanizmy rozwoju neuropatii: zaburzenia metaboliczne będące konsekwencją hiperglikemii oraz angiopatię [49].

Wydaje się uzasadnionym pogląd, że o ile cukrzyca *per se* odpowiedzialna jest za uszkodzenia śródbłonna, to za obraz dalszych powikłań, które rozwiną się u danego pacjenta odpowiada konstelacja innych czynników ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych.

Powikłania makroangiopatyczne w cukrzycy

W 2003 roku, Laing i wsp. [165] przedstawili wyniki prospektywnego badania 23751 chorych na cukrzycę typu 1. z Wielkiej Brytanii. Czas obserwacji sięgał 29 lat. Głównym celem badania była ocena ogólnej śmiertelności z powodu chorób serca. Choć częstość zdarzeń sercowo-naczyniowych w tej populacji, stosunkowo młodej, pozostaje

stała znacznie niższa w porównaniu z populacją osób na cukrzycę typu 2., ich względne ryzyko śmiertelności z powodu choroby wieńcowej było kilkakrotnie wyższe niż w populacji bez cukrzycy [165]. Ponieważ częstość występowania innych czynników ryzyka, w tym związanych z zespołem metabolicznym, była znacznie niższa w cukrzycy typu 1. w porównaniu do częstości występowania tych czynników w cukrzycy typu 2., raport Lainga sugerował związek przyczynowy pomiędzy hiperglikemią i chorobami układu sercowo-naczyniowego.

U chorych na cukrzycę typu 1. z długim okresem jej trwania wcześniej niż w populacji osób zdrowych może ujawnić się choroba dużych naczyń. u chorych na cukrzycę w porównaniu z populacją ogólną zmiany w tętnicach są bardziej rozsiane i rozległe oraz dotyczą naczyń tętniczych o mniejszej średnicy. Dochodzi w nich do przebudowy ściany ze wzmożoną kalcyfikacją [33].

Cukrzyca sprzyja destabilizacji blaszki miażdżycowej i zakrzepicy w porównaniu do osób bez cukrzycy [276]. Zaobserwowano również inne morfologiczne różnice [51, 337, 340].

Miażdżycza naczyń obwodowych w cukrzycy rozwija się 3-krotnie częściej niż u osób bez tej choroby. Zmiany występują wcześniej, mają często odmienny charakter oraz są bardziej zaawansowane. Umieralność z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego jest 2–4-krotnie większa u osób z współistniejącą cukrzycą w porównaniu do populacji ogólnej. Główną przyczyną zgonów jest choroba niedokrwienna serca, jako wyraz makroangiopatii cukrzycowej, chociaż trudno oddzielić wpływ mikroangiopatii, zmian metabolicznych czy neuropatii autonomicznej, które stwarzają również zagrożenie wystąpienia nagłej śmierci sercowej. Ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na cukrzycę porównywalne jest do tego wykazywanego u chorych po zawale mięśnia sercowego bez cukrzycy, dlatego w raporcie ATP III [78] cukrzycę typu 2. uznano za równoważnik choroby niedokrwiennej serca.

Do powikłań makroangiopatycznych należy oprócz choroby wieńcowej, choroba naczyń kończyn dolnych (LEAD, *lower extremity artery disease*) oraz udar niedokrwieny mózgu wywołany chorobą dużych naczyń.

Cukrzyca jest szczególnie ważnym czynnikiem ryzyka w rozwoju LEAD. Ten wpływ jest znaczący w epidemiologii martwicy czy owrzodzeń. Związek cukrzycy i LEAD nie jest spójny w analizach wieloczynnikowych, które biorą pod uwagę również inne czynniki ryzyka, jednak wydaje się, że czas trwania choroby i jej przebieg kliniczny warunkują poziom ryzyka naczyniowego [53, 85].

Z uwagi na wysokie ryzyko sercowo-naczyniowe jakie niesie ze sobą cukrzyca, zalecenia ESC (European Cardiac Society) z 2011 wskazują na to, aby u chorych z PAD (*peripheral artery disease*) oraz towarzyszącą cukrzycą utrzymywać stężenie HbA1c $\leq 6,5\%$ [302].

Badanie Framingham wykazało, że cukrzyca typu 2. 2,5–3,5-krotnie zwiększa ryzyko wystąpienia udaru mózgu. Ryzyko to jest większe u kobiet niż u mężczyzn. Opisany związek cukrzycy i udaru mózgu dotyczy jednakże tylko cukrzycy typu 2. u chorych na cukrzycę typu 1. często nie dochodzi do udaru mózgu, ponieważ wcześniej mają miejsce inne poważne zdarzenia, często zakończone zgonem.

U chorych na cukrzycę, podobnie jak w populacji ogólnej, często mamy do czynienia z współwystępowaniem miażdżycy kilku łożysk naczyniowych. Trzeba mieć świa-

domość, że każda z manifestacji miażdżycy może być wykładnikiem zmian toczących się w innych obszarach naczyniowych.

1.5. Metody oceny struktury i funkcji naczyń

Łożysko skórne, a zwłaszcza wał paznokciowy jest najlepszym obszarem do oceny zaburzeń śródłonka oraz do testów farmakologicznych substancji wpływających na jego funkcję. Metody oceny mikrokrażenia skórnoego przedstawiono w tabeli 5.

W ocenie zaburzeń mikrokrażenia skórnoego znajdują zastosowanie takie metody jak: ortogonalna polaryzacja spektralna [157], laserowy przepływomierz dopplerowski [157] i laserowy skaner dopplerowski [326], tkankowa fotometria odbiciowa [157], termografia [54], fotopletyzmografia [54], przezskórny pomiar prężności tlenu w skórze [54], kapilaroskopia [101] i wideokapilaroskopia [92, 93] (tabela 5).

Techniki kapilaroskopowe umożliwiają bezpośrednią wizualizację naczyń odżywczych skóry *in vivo* [99, 101, 117]. Są stosowane w rutynowej diagnostyce chorób tkanki łącznej przebiegającej z pierwotnym lub wtórnym objawem Raynaud [6, 55, 110, 121, 130, 132, 168, 199, 246, 278, 293, 301, 329]. Stosując kapilaroskopię wykazano zmiany w mikrokrażeniu skórnoym w nadciśnieniu tętniczym [170, 225, 258] oraz w chorobach tkanki łącznej, chorobie Crohna, łuszczycy, zaburzeniach funkcji tarczycy [38, 142, 150, 250, 262, 350]. Badania kapilaroskopowe, które były dotychczas wykonywane u chorych na cukrzycę typu 1. uzupełniano o test pookluzyjnego przekrwienia czynnego (PORH) w celu oceny reaktywności naczyń skórnych [140, 141, 311].

Niektóre metody jedynie w sposób pośredni mierzą parametry charakteryzujące funkcję mikrokrażenia. Należą do nich m.in. spektroskopia w bliskiej podczerwieni, ocena mikrokrażenia po przekrwieniu czynnym i żylna pletyzmografia okluzyjna (tabela 5). Ocenę reaktywności naczyń skóry można uzyskać po wprowadzeniu do skóry substancji wazoaktywnych przy zastosowaniu jonoforezy lub mikrodializy. Najczęściej stosowanymi substancjami są acetylocholina [61, 268], nitroprusydek sodu [61, 128, 268]

Tabela 5. Wybrane nieinwazyjne metody oceny mikrokrazenia- na podstawie [54, 157]
Table 5. Noninvasive methods of assessment of microcirculation- based on [54, 157]

Metoda <i>Method</i>	Zasada pomiaru <i>Measuring principle</i>	Parametry mierzone <i>Measured parameters</i>	Tkanki badane <i>Examined tissues</i>	Korzyści <i>Advantages</i>	Niedogodności <i>Disadvantages</i>
¹ Ortogonalna polaryzacja spektralna/ <i>Orthogonal polarization spectral</i>	Ocena mikrokrazenia – światło spolaryzowane dl. 548 nm.	Średnica naczyń, prędkość przepływu krwi, gęstość kapilar	Okolice podjęzykowa, skóra u noworodków, powierzchnia narządów wewnętrznych- zabiegi operacyjne	Krótki czas pomiaru, różnorodność miejscowego przepływu krwi	Penetracja jedynie na głębokość 1mm, czasochłonne, ocena półfiliściowa, offline
² Żyłna pletyzmografia okluzyjna/ <i>Venous occlusion pletysmography</i>	Pomiar zmian objętości kończyny po zatrzymaniu odpływu żylnego	Przepływ krwi	Mięśnie szkieletowe kończyn	Wartości bezwzględne	Czasochłonne, wymagające kalibracji
³ Laserowy przepływomierz dopplerowski / <i>Laser Doppler Flowmetry</i>	Monochromatyczne światło o wąskim paśmie od czerwieni do pobliza podczerwieni	Strumień erytrocytów	Powierzchnie wszystkich narządów, gł. skóra i błona śluzowa żołądka	Łatwość opracowania, krótki czas pomiaru	Światło penetruje jedynie na głębokość 1-1, 5 mm, pigmentacja powoduje, że głębokość wnikanie wiązek światła oraz odczyt wiązki odbitej mogą ulegać zmianie; nie pokazuje wartości absolutnych
⁴ Termografia/ <i>Thermography</i>	Korelacja temperatury ciała i przepływu krwi	Mapa temperatury skóry	Skóra	Ocena objawu Raynauda	Temperatura skóry i przepływ krwi – nie ma prostej zależności
⁵ Tkankowa fotometria odbiciowa/ <i>Tissue reflectance spectrophotometry</i>	Rejestracja światła odbitego w spektrum określonej długości (Hb natlenowana -542 nm i 577 nm; Hb odtlenowana 556 nm)	Saturacja hemoglobina natlenowaną, koncentracja hemoglobiny w kapilarach	Wszystkie powierzchnie organów gł. skóra i błona śluzowa żołądka	Prosta technika, wartości bezwzględne, pomiar wielokrotnie w krótkim czasie	Spektrum długości fal zależne od zawartości innych chromoforów tkankowych (melaniny, cytochromów)
⁶ Spektroskopia bliskiej podczerwieni/ <i>Near-infrared spectroscopy</i>	Światło podczerwone(700-1000 nm) absorbowane przez chromofory np. Hb, mioglobinę, cytochrom aa3,	Utlonowanie hemoglobiny	Powierzchnia narządów zwłaszcza mózg	Łatwa w użyciu, krótki czas	Nieznana dokładna głębokość wnikanie światła, nie mierzy wartości absolutnych,

Metoda <i>Method</i>	Zasada pomiaru Measuring principle	Parametry mierzone <i>Measured parameters</i>	Tkanki badane Examined tissues	Korzyści <i>Advantages</i>	Niedogodności <i>Disadvantages</i>
⁷ Fotopletyzmografia/ <i>Photoplethysmography</i>	Pomiar małych wahań w intensywności odbitego światła w podzerwieni związane ze zmianami w perfuzji tkankowej	Zmiany objętości krwi	SaO ₂ , ciśnienie tętnicze na palcach, reaktywność naczyń w teście ochłodzenia		Wrażliwa na artefakty ruchowe
⁸ Prześkórny pomiar przeźności tlenu w skórze (TcPO ₂)/ <i>Transcutaneous Oximetry</i>	Metoda polarograficzna/elektroda podgrzewana jest do 45°C w celu wywołania miejscowego przekrwienia.	TcPO ₂ (mmHg) jest miarą nadmiaru cząsteczek tlenu, który może dyfundować z włosienek brodawek skóry do jej powierzchni w warunkach przekrwienia.	Skóra		Stale warunki pomiarowe stabilizują się po 10-15 minutach
⁹ Wideokapilaro-skopia/ <i>Videocapillaroscopy</i>	Ocena pętli włosienkowych za pomocą specjalnej ruchomej głowicy wyposażonej w źródło światła i kamerę, która przesyła obraz na monitor komputera	Wizualizacja mikrokrażenia, gł. wału paznokciowego, w czasie rzeczywistym Ocena morfologii i funkcji mikrokrażenia	Każda okolica ciała (błon śluzowych)	Powiększenia do 200×	Komputerowa analiza i archiwizacja obrazów kapilaroskopowych. Badanie trudne w skórze z dużą ilością pigmentu
¹⁰ Kapilaroskopia/ <i>Capillaroscopy</i>	Soczewki pozwalają na analizę morfologii kapilar i mikrokrażenia wału paznokciowego	Wizualizacja mikrokrażenia, gł. wału paznokciowego, w czasie rzeczywistym	Wąły paznokciowe rąk i stóp		Nieinwazyjna, prosta, odtwarzalna i powtarzalna, czuła metoda. Mało kosztowna

^{1-3,5-6} [157], ² [18, 290, 211], ^{4,7-8} [54], ⁹ [224, 92, 93], ¹⁰ [63, 101, 99]

Kapilaroskopia

Najpowszechniej stosowaną obecnie metodą do oceny mikrokrażenia jest kapilaroskopia głównie wału paznokciowego dłoni bądź stóp.

Po raz pierwszy pod mikroskopem (powiększającym maksymalnie 270 razy) oglądano erytrocyty w naczyniach żaby w XVII wieku. Dokonał tego holenderski przyrodnik i przedsiębiorca *Antonie van Leeuwenhoek*. Pierwszy mikroskop został wykonany przez *van Leeuwenhoek*'a w 1677 roku. W porównaniu z obecnymi kapilaroskopami był urządzeniem bardzo prostym, składał się jedynie z jednej soczewki, która była wmontowana w małej dziurze w mosiężnym talerzu. Preparat badany kładziono naprzeciw soczewki, dwie śruby pozwalały na regulację umiejscowienia badanego obiektu. Przyrząd był mały o długości 3–4 cali (ok. 7,5–10 cm). Konstrukcja urządzenia wymagała, aby był trzymany blisko oczu. Do tego badania konieczne było bardzo dobre oświetlenie oraz wytrzymałość badacza.



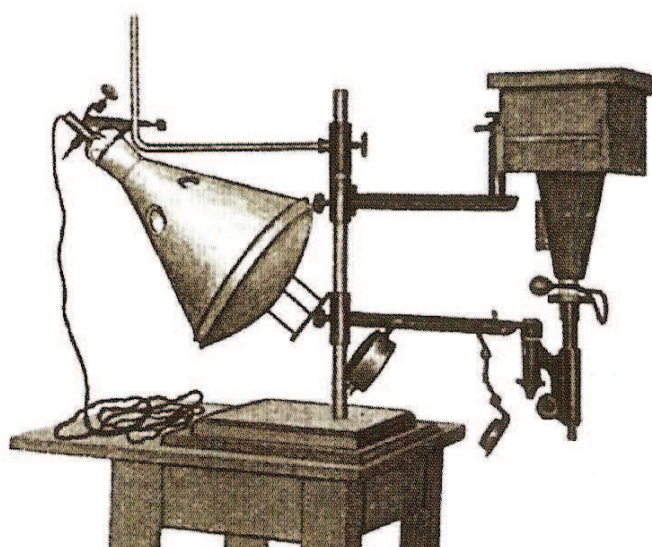
Rycina 6. Mikroskop *Antonie van Leeuwenhoek*'a

Figure 6. Antonie van Leeuwenhoek's microscope

Pierwszym naukowcem, który zastosował szkło powiększające do oglądania naczyń spojówki był Włoch *Giovanni Rasori* (1766–1837).

W 1912 roku, *Lombard* odkrył, że za pomocą mikroskopu można oglądać naczynia wału paznokciowego po wcześniejszym naniesieniu kropli oleju na wał paznokciowy [173]. Cztery lata później *Weiss* wystandaryzował technikę kapilaroskopii i sfotografował obraz kapilar skórnych. W 1922 roku ukazał się już pierwszy atlas zawierający badania kapilar skóry wykonane przez *Müllera* i ilustrowane przez niego sa-

mego. Rycina 7 sporządzona przez Mullera przedstawia kapilaroskop z początku XX [54].



Rycina 7. Kapilaroskop z początku XX wieku (rycina autorstwa Mullera) [54]

Figure 7. Capillaroscope from the beginning of the XX century (the figure drawn by Muller) [54]

Atlas ten ilustrował ryciny, które obrazowały ruch erytrocytów i morfologię kapilar w różnych stanach chorobowych. Trzy lata później Brown i O'Leary zastosowali kapilaroskopię do wykazania zmian i scharakteryzowania zaburzeń mikrokrażenia podczas objawu Raynauda w twardzinie układowej [31]. W latach 70. i 80. XX wieku ukazały się publikacje z dziedziny reumatologii opisujące charakterystyczne nieprawidłowości w badaniu kapilaroskopowym w twardzinie, przedstawiające zmiany w mikrokrażeniu zarówno w pierwotnym, jak i wtórnym objawie Raynaud. Zastosowanie tej metody nie ogranicza się tylko do oceny stanu podstawowego, ale w połączeniu z próbami prowokacyjnymi fizycznymi bądź farmakologicznymi pozwala szerzej wnioskować o funkcji i strukturze mikrokrażenia.

Na początku XXI wieku, posługując się mikroskopami wzbogaconymi o metodę rejestracji cyfrowej oraz źródła światła, na nowo sklasyfikowano zmiany mikrokrażenia w twardzinie układowej [58].

Klasyczna kapilaroskopia obejmuje badanie wałów paznokciowych kończyn górnych bądź dolnych. Zastosowanie kapilaroskopii do uwidocznienia mikrokrażenia skóry innych obszarów ciała jest ograniczone, gdyż pętle naczyniowe brodawek skórnych typowo przebiegają prostopadle do powierzchni skóry. W obrazie kapilaroskopowym widoczne są zatem tylko szczytowe części pętli dające obraz kropek lub przecinków (*comma-like pattern*) [57, 101, 117].

Badanie kapilaroskopowe powinno być przeprowadzone na wszystkich palcach, ponieważ w początkowym etapie choroby zmiany w mikrokrażeniu mogą obejmować tylko 1 lub 2 palce. Najlepszą ocenę morfologiczną uzyskuje się zazwyczaj na palcach IV i V

z uwagi na większą przezierność warstwy rogowej naskórka [56, 57, 101]. Część badaczy reprezentuje pogląd, iż badanie powinno być przeprowadzone na kończynie górnej niedominującej [63].

W rutynowym badaniu kapilaroskopowym ocenia się następujące parametry:

- tło obrazu,
- umiejscowienie kapilar, ich układ i rozmieszczenie,
- kształt pętli naczyńowych i obecność charakterystycznych typów (rozdęte, olbrzymie, kręte, rozgałęzione),
- ilość kapilar – gęstość oraz ewentualny ich brak – tzw. obszary beznacyniowe,
- wybroczyny i obrzęk podścieliska [57, 101],
- obecność neoangiogenezy [57, 168].

Zaburzenia mikrokrążenia są uznawane, jeżeli występują co najmniej na dwóch palcach [56]. Dotychczas kapilaroskopia pozwalała na ocenę mikrokrążenia skóry wąłu paznokciowego oraz przepływu włosniczkowego – wideokapilaroskopia, bez możliwości oceny ilościowej. Półautomatyczny program komputerowy do identyfikacji i oceny gęstości kapilar pozwala obiektywnie ocenić zmianę ilościową zależną od stosowanego bodźca. Stopień reaktywności mikrokrążenia daje wgląd w stan śródbłonna i stopień uszkodzenia naczyń.

Kapilaroskopia jest techniką o niskich kosztach, nieinwazyjną, bezpieczną, powtarzalną, o wysokiej czułości i specyficzności, zaś interpretacja wyników badania nie sprawia dużych trudności po przebyciu odpowiedniego przeszkolenia [118]. Jest narzędziem diagnostycznym do badania zaburzeń przepływu włosniczkowego nie tylko, jak dotychczas uważano, w przebiegu chorób tkanki łącznej, diagnostyce choroby czy zespołu Raynaud, ale również m.in. w cukrzycy czy nadciśnieniu tętniczym lub otyłości. Badanie polega na oglądaniu w powiększeniu mikroskopowym naczyń włosniczkowych warstw odżywczych mikrokrążenia skóry i ocenie struktury oraz morfologii oglądanego fragmentu. W obecnych badaniach wykorzystywany jest najczęściej stereomikroskop z oświetleniem dwupunktowym oraz kamera rejestrująca badany obszar (rycina 8).

Występują zmienne osobniczo warianty prawidłowego układu i morfologii pętli, takie jak: obecność krętych lub nieznacznie poszerzonych pętli, zróżnicowanie ich kształtu oraz obecność nieswoistych wybroczyn w następstwie urazów wąłu paznokciowego [99, 101] (rycina 9). Zmiany osobnicze w obrazie kapilaroskopowym są związane są z rasą, płcią, wiekiem jak również charakterem wykonywanej pracy [101, 172].

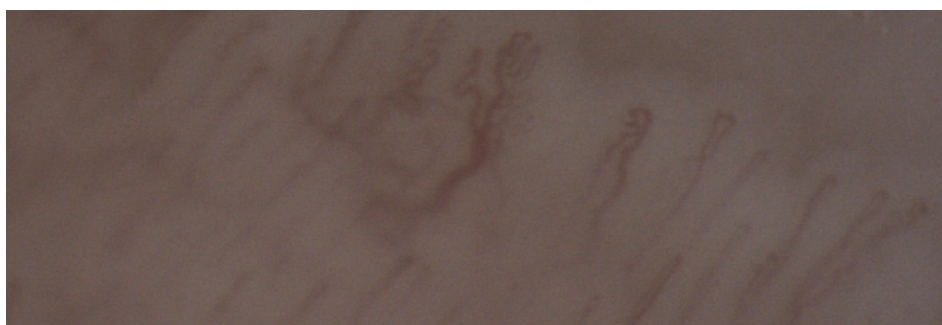
U dzieci obserwuje się mniej jednolity układ pętli naczyńowych, mniejszą liniową gęstość pętli oraz występowanie naczyń o nietypowej morfologii. Natomiast u osób starszych dochodzi do skrócenia i zmniejszenia gęstości pętli oraz ich poszerzenia i skręcania z zastojem w ramieniu żylnym. To może wiązać się z postępującą z wiekiem redukcją frakcji wyrzutowej serca i wzrostem oporu obwodowego (*senile microangiopathy*). Widoczność splotu podbrodawkowego zależy od przezierności warstwy rogowej naskórka. Jest on widoczny u ok. 1/3 osób zdrowych w postaci sieci naczyń krwionośnych o średnicy większej niż pętla włosniczkowa i ułożonych prostopadłe w stosunku do długiej osi tych pętli [101].



Rycina 8. Kapilaroskop stosowany w moich badaniach
Figure 8. Capillaroscope used in my study



Rycina 9. Obraz kapilaroskopowy z badań własnych
Figure 9. Image from the capillaroscopy personal research



Rycina 10. Przykłady kapilar patologicznych z badań własnych
Figure 10. Examples of pathological capillaries personal research

W piśmiennictwie szeroko omówione są zmiany w mikrokrażeniu będące efektem układowych procesów zapalnych, do których należą choroby reumatyczne. Kapilaroskopia była stosowana również w innych jednostkach chorobowych: reumatoidalne zapalenie stawów [191, 350], łuszczyca stawowa [100, 350], gorączka śródziemnomorska [68], choroba Behçeta [11, 199], zespół antyfosfolipidowy [11], fibromyalgia [86]. Jednakże obecnie badań kapilaroskopowych w wymienionych jednostkach rutynowo się nie przeprowadza z uwagi na niedostateczną ilość specyficznych dla poszczególnych patologii nieprawidłowości potwierdzających ich powszechną użyteczność w diagnostyce i monitorowaniu leczenia.

Obecnie uważa się, że kapilaroskopia powinna być przeprowadzona u wszystkich chorych z objawem Raynauda [131, 132] w celu ewentualnego rozpoznania, u chorych ze sklerodermią (inna nazwa twardzina układowa, ang. systemic sclerosis- SSc) [38, 131, 132, 191, 246], niezróżnicowaną chorobą tkanki łącznej, zapaleniem skórno-mięśniowym, zespołem Sjögrena. Najszerzej i najprecyzyjniej zdefiniowane nieprawidłowości obrazu kapilaroskopowego opisano w twardzinie układowej.

Badanie kapilaroskopowe ma ugruntowaną pozycję we wstępnej diagnostyce sklerodermii, poprzez wykrywanie specyficznych odchyłeń w mikrokrażeniu, które pozwalają na różnicowanie pierwotnego i wtórnego objawu Raynauda oraz są skuteczne w monitorowaniu postępu choroby [99]. Obecność olbrzymich kapilar oraz mikrowybroczyn jest wystarczająca do rozpoznania zmian twardzinowych. Najistotniejsze wydaje się to, że czułość kryteriów klasyfikacyjnych SSc Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego wzrosła z 67% do 99% po dodaniu do klasyfikacji specyficznych zaburzeń obrazu kapilaroskopowego.

Cutolo i wsp. opisali trzy fazy zmian obrazu kapilaroskopowego w twardzinie układowej. Faza wczesna, dla której charakterystyczne jest pojawienie się kilku poszerzonych lub/i olbrzymich kapilar, kilka wybroczyn. W fazie aktywnej występuje większa ilość kapilar olbrzymich i wybroczyn oraz umiarkowany ubytek kapilar. Mogą wystąpić zaburzenie organizacji i rozlany obrzęk okołokapilarny. Znaczny ubytek kapilar z obszarami beznaczyniowymi oraz kapilary porożgałęziane są charakterystyczne dla fazy późnej [58].

Istotny jest nie tylko fakt, że sprecyzowano w pewnych jednostkach chorobowych wzorzec odchyłeń dla nich charakterystyczny, ale również to, że zmiany w mikrokrażeniu korelują z zaburzeniami immunologicznymi, ciężkością stanu klinicznego i zajęciem narządowym występującymi w tych patologiach [38, 118, 132, 199, 246, 253, 293].

Zaburzenia mikrokrażenia stanowią istotny element łańcucha patologii również w chorobach spoza kręgu chorób reumatycznych.

W nadciśnieniu tętniczym najczęściej stwierdzane zaburzenia w mikrokrażeniu można podzielić na ilościowe, obejmujące zmniejszenie gęstości kapilar oraz zaburzenia jakościowe: kręte rozgałęzione olbrzymie kapilary, mikrotętniaki i mikrowybroczyny [93, 93, 134].

W akromegalii badano zależności pomiędzy hormonalną aktywnością choroby, a charakterem zaburzeń w mikrokrażeniu skórnym. Do najczęściej obserwowanych zmian w mikrokrażeniu należą kręte i meandrowate kapilary oraz istotna w stosunku do grupy zdrowych redukcja ilości i długości kapilar [258].

W niedoczynności tarczycy obserwowane jest nieprawidłowa reaktywność naczyń w odpowiedzi na przekrwienie reaktywne. Zaburzenie to koreluje z wyrównaniem hormonalnym [225].

Zaburzenia mikrokrążenia skórne występują również u chorych z kardiologicznym zespołem X [9] oraz osób zdrowych z wysokim ryzykiem sercowo-naczyniowym [128]. Ijzerman i wsp. [128] wykazali odwrotną zależność pomiędzy indywidualnym ryzykiem sercowo-naczyniowym wyrażanym skalą Framingham a procentowym wskaźnikiem rekrutacji kapilar– zwiększenie ilości kapilar w badanym obszarze–w teście niedokrwiennym ocenianym za pomocą kapilaroskopii oraz przy zastosowaniu fluksymetrii z dopplerem laserowym po jontoforezie skóry acetylocholiną i nitroprusydkiem sodu. Autorzy ci zasugerowali również, że właśnie mikrokrążenie skórne jest odpowiednie do badania wpływu czynników ryzyka układu sercowo-naczyniowego na funkcję mikrokrążenia.

W piśmiennictwie pojawiają się nieliczne opisy badań oceniających strukturę bądź funkcję mikrokrążenia w obturacyjnym bezdechu sennym [210], pierwotnej marskości żółciowej wątroby [184], chorobie Crohna [142], u chorych dializowanych metodą ciągłej dializy wewnątrznaczyniowej [262].

Kapilaroskopia w cukrzycy

Retinopatia, nefropatia i neuropatia wydają się częściej występować u chorych z nieprawidłowościami w badaniu kapilaroskopowym. W piśmiennictwie przedstawiane są wyniki badań wykazujące związek pomiędzy zaawansowaniem zmian w mikrokrążeniu a wyrównaniem metabolicznym cukrzycy [84, 92, 162, 163]. Kapilaroskopia jest również wykorzystywana jako metoda do oceny stopnia zaawansowania mikroangiopatii cukrzycowej [194] (rycina 10).

Nieliczne doniesienia wskazują na zależność pomiędzy nieprawidłowościami stwierdzanymi w obrazie kapilar a kliniczną manifestacją mikroangiopatii w przebiegu cukrzycy. Prezentowane wyniki nie są jednakże spójne.

Gasser [92] stwierdził, że przepływ krwi przez palce zmierzony przy pomocy wideokapilaroskopii wału paznokciowego w warunkach spoczynkowych oraz po lokalnym ochłodzeniu nie pozwala różnicować zdrowych i chorych na cukrzycę typu 1. Forst [84] udowodnił, że pacjenci na cukrzycę typu 1. powikłaną neuropatią nie mają istotnie zmienionego przepływu krwi przez kapilary stymulowanego acetylocholiną.

Kuryliszyn -Moskal i wsp. zwrócili uwagę na zależność między stopniem zaawansowania zmian w budowie kapilar (kapilaroskopia) ocenianym za pomocą skali opisującej zmiany morfologiczne, a kontrolą metaboliczną i obecnością przewlekłych powikłań w przebiegu cukrzycy typu 1 [163, 164]. W innej pracy potwierdzili, że jakościowe zaburzenia mikrokrążenia w kapilaroskopii występują u 81% osób na cukrzycę typu 1 [162].

Typowy wzorec zaburzeń mikrokrążenia w cukrzycy nie został jeszcze zdefiniowany. Kapilaroskopia pozwala jednakże wyszczególnić zaburzenia, które wydają się częste w cukrzycy. Najczęściej opisywanymi w piśmiennictwie zmianami w morfologii kapilar u chorych na cukrzycę są mikrotętniaki, wierzchołkowe rozszerzenia kapilar, odgałęzienia oraz wybroczyny. z wyjątkiem mikrotętników pozostałe zmiany można wykazać również u osób bez cukrzycy, jednakże w grupie chorych na cukrzycę zmian

zwłaszcza rozszerzeń kapilar jest dużo więcej i są częstsze [79]. Wyniki badań dotyczące zależności zmian w mikrokrażeniu od czasu trwania choroby, wieku badanych czy rodzaju cukrzycy są niejednorodne [79]. Tylko w jednym mało liczonym badaniu wykazano zależność pomiędzy czasem trwania cukrzycy a zmianami o charakterze rozszerzenia kapilar. Wykazano różnice pomiędzy średnicą kapilar i ich gęstością pomiędzy osobami na cukrzycę i zdrowymi. Kręte i olbrzymie kapilary są częstsze w grupie na cukrzycę, zmiany o charakterze *nodular apical elongation* są częste w grupie z długim wywiadem chorobowym [92, 224]. Również badania Kuryliszyn-Moskal pokazały, iż stopień zaawansowania zmian naczyniowych koreluje nie tylko z istnieniem i nasileniem powikłań narządowych, ale również z czasem trwania cukrzycy [162].

W badaniach oceniających zależności pomiędzy retinopatią a zmianami w mikrokrażeniu wałów paznokciowych Chang i wsp. [39] sugerują, iż rozszerzenia żyłne na dnie oka są podobne do zmian stwierdzanych w mikrokrażeniu skórnym przy użyciu kapilaroskopii. Badacze ci udowodnili również, że nieprawidłowe przenikanie fluoresceiny w mikrokrażeniu skórnym pojawia się zarówno u chorych na cukrzycę, w grupie bez retinopatii, jak również u tych z retinopatią stwierdzaną przy zastosowaniu angiografii fluoresceinowej. Powyższe różnice mogą wynikać z odmienności w budowie siatkówki i skóry. Jednakże obecnie w piśmiennictwie nie ma jednomyślności odnośnie zależności pomiędzy nieprawidłowościami w strukturze kapilar w skórze a zmianami w siatkówce. Istnieją doniesienia opisujące częstsze występowanie zmian w morfologii kapilar obwodowych (liczne pętle kręte i poszerzone) w przebiegu cukrzycy typu 1. oraz ich związek z występowaniem retinopatii [92]. Natomiast Trapp i wsp. [320], nie stwierdzili zależności pomiędzy nieprawidłową strukturą lub gęstością kapilar a retinopatią cukrzycową.

Badania chorych na cukrzycę typu 2. dowiodły, że pacjenci obciążeni tą chorobą nie różnią się istotnie z grupą kontrolną pod względem maksymalnego wzrostu perfuzji po teście niedokrwinnym, jednakże maksymalna perfuzja osiągana jest po dłuższym czasie [109]. Piśmiennictwo charakteryzuje stan mikrokrażenia skórnego w wybranych jednostkach chorobowych przedstawiono w tabeli 6.

Obecność zmian funkcjonalnych i strukturalnych w mikrokrażeniu jest istotną przyczyną powikłań sercowo-naczyniowych. Obserwuje się je również w otyłości i podczas starzenia się [170, 322]. Uważa się, że zmiany w mikrokrażeniu pełnią istotną rolę prognostyczną w populacji wysokiego ryzyka w nadciśnieniu tętniczym [190, 249].

Obraz kapilaroskopowy u osób powyżej 70. roku życia zawiera powiększone kapilary oraz zaznaczone powierzchniowe sploty żyłne. Te zmiany spowodowane są przewlekłe otwartymi anastomozami tętniczo-żylnymi i składają się na obraz tzw. "mikroangiopatii starczej" [192].

W sieci mikrokrażenia dochodzi do zjawiska angiogenezy, czyli postawiania nowych naczyń. Do czynników pobudzających proces angiogenezy należy zmniejszenie podaży tlenu, zaś nadmierna perfuzja krwią tętniczą wywołuje zmniejszone wydzielanie czynników angiogenetycznych i proces doprowadzający do zjawiska rozrzedzenia sieci kapilar.

U osób chorych na cukrzycę, niezależnie czy z nadciśnieniem tętniczym czy normotensyjnych, dochodzi do remodelingu i rozrzedzenia kapilar, co wykazano w histologicznym badaniu biopsji mięśni. u osób bez cukrzycy histologicznie oceniana gęstość kapilar koreluje odwrotnie ze stężeniem glikemii na czczo, zaś jest tym większa im insulinowrażliwość jest większa. Jörnskog i wsp. [140] zbadali, że krażenie w kapilarach

w kończynach dolnych u chorych na cukrzycę jest istotnie gorsze w porównaniu z grupą kontrolną. Zjawisko to występowało niezależnie od istnienia powikłań cukrzycowych. Zaś Schalkwijk i wsp. [257] wykazali, iż zjawisko rozrzedzenia kapilar u chorych z typem 1. cukrzycy występuje tylko w grupie z późnymi powikłaniami choroby. Tibrica i wsp. [311] potwierdzili upośledzenie funkcji mikrokrazenia skórno u chorych na cukrzycę typu 1. bez powikłań narządowych (średni czas trwania cukrzycy 9,5 roku). Wyniki Urbana i wsp. [328] wskazują, iż obecność neuropatii autonomicznej znacząco wpływa na regulację funkcji mikrokrazenia i może predysponować do występowania innych późnych powikłań cukrzycy.

Tabela 6. Kapilaroskopia w diagnostyce różnych jednostek chorobowych-przegląd piśmiennictwa
Table 6. Capillaroscopy in diagnosis of different pathology- review of literature

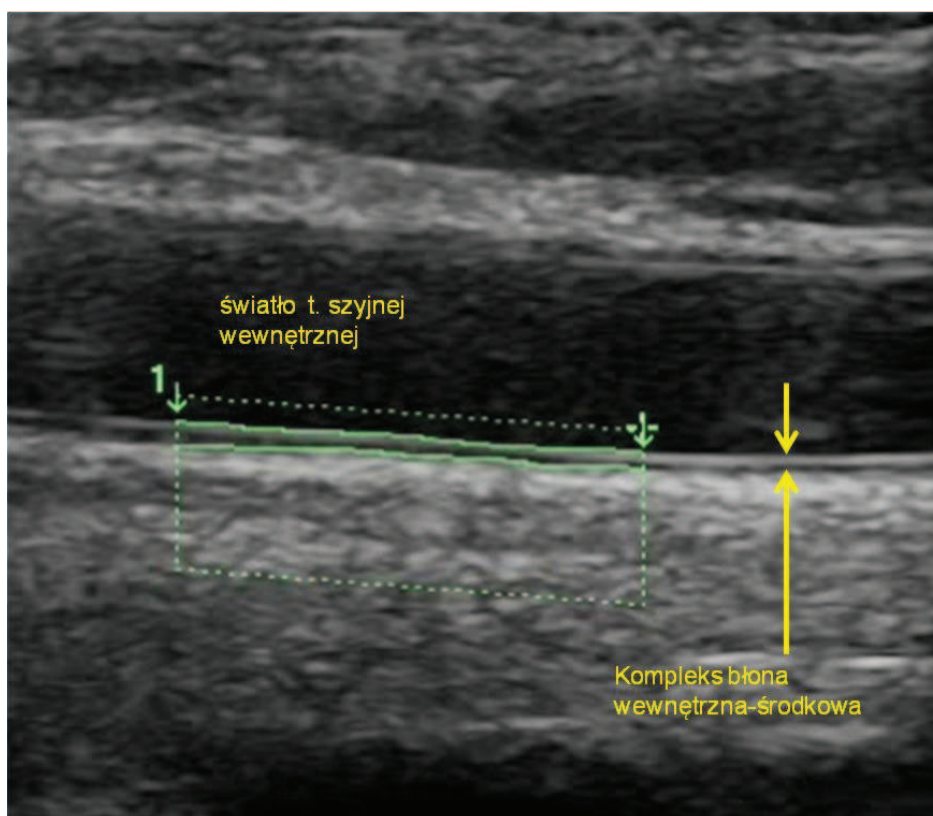
Rok publikacji/ Publication year Pozycja piśmiennictwa/ Bibliography	Charakterystyka badanych grup Characteristics of studied groups	Stosowane metody Methods used	Wniosek Conclusion
Nadciśnienie tętnicze			
1992 / [93]	NT: 20; Gr Kontr 20	Kapilaroskopia	Mniejsza gęstość kapilar vs kontrola. Zależność pomiędzy gęstością kapilar a MDBP
1996/ [29]	NT:50; Gr Kontr:25	Kapilaroskopia vs dno oka	Zmniejszenie ilości kapilar, ich wydłużenie i ścięcie w grupie z NT-zmiany takie jak na dnie oka. Kapilary poszerzone i kręte, mikrowybroczyny częściej u chorych z ISH
1998/ [187]	NT: 14	Wideokapilaroskopia/test lokalnego ochłodzenia	Poprawa mikrokrążenia związana ze zmniejszeniem dysfunkcji naczyń w NT po leczeniu hipotensyjnym
2001/[266]	NT: 26 (nielezione); Gr Kontr.:26	Wideokapilaroskopia po okluzji żyłnej oraz po przekrwieniu reaktywnym	Upośledzenie rekrutacji kapilar, funkcjonalne i strukturalne rozrzedzenie
2002/[134]	Gr kontr: 105	Fluksometria doplerem laserowym (ACh, ogrzewanie), kapilaroskopia	Zmiany w mikrokrążeniu u osób z nieznacznym wzrostem RR lub glikemii na czczo; zaburzenia funkcji i struktury mikrokrążenia nie tłumaczy zależność pomiędzy NT a insulinoopornością
Akromegalia (A)			
1999/[258]	A 8 stabilna; A 17 aktywna; Gr kontr:26	Kapilaroskopia	Redukcja ilości i długości kapilar (A vs Kontrola) A: istotnie większa ilość krętych i meandrowatych kapilar.
Niedoczynność tarczycy (h)			
1998/[225]	Gr. ontr:15;hypotyreoza-h 6; H 5	Badania przed i po uzyskaniu eutyreozy. Kapilaroskopia przed i po przekrwieniu czynnym (60 sec okluzji)	H- minimalne zmiany. h- zaburzenia autoregulacji mikrokrążenia skórniego, zaburzenie maksymalnej szybkości przepływu krwi po niedokrwieniu związane z wyrównaniem choroby
Choroba wieńcowa (CAD)			
2001/[9]	CAD 49 ; NT+ NT- dodatnia próba wysiłkowa, prawidłowa koronarografia; Gr kontr 29; NT 21 leczone	Kapilaroskopia po okluzji żyłnej	Mniejsza gęstość u chorych z Zespołem X w porównaniu z grupą kontrolną- uogólniona dysfunkcja mikrokrążenia u tych chorych.
2003/ [128]	CAD: 46	Fluksometria doplerem laserowym(ACh, Nitroprusydek sodu), kapilaroskopia wążu paznokciowego	Framingham Score dla CAD; Wysokie ryzyko- nieprawidłowa funkcja mikrokrążenia skórniego

Rok publikacji/ <i>Publication year</i> Pozycja piśmiennic- twa/ <i>Bibliography</i>	Charakterystyka badanych grup <i>Characteristics of studied groups</i>	Stosowane metody <i>Methods used</i>	Wniosek <i>Conclusion</i>
Obturacyjny bezdech senny OBS			
2008/ [210]	NT umiarkowane 32 OBS- 33 OBS umiarkowany 35 OBS ciężki	Gęstość kapilar przedramienia i wału paznokciowego- wideokapilaroskopia. Okluzja żylna	Rozrzedzenie kapilar w warunkach podstawowych oraz funkcjo- nalne, większe w grupie z ciężkim bezdechem w porównaniu do grupy z łagodnym oraz bez bezdechu snemego
Pierwotna marskość żółciowa wątroby-PBC			
1995/ [184]	PBC 59; Gr kontr 46; 15 inne choroby wątroby, 11 HLP, 20 zdrowi)	Kapilaroskopia, vWf, t-PA	Mikroangiopatia w naczyniach palców; vWf i t-PA odzwierciedla dysfunkcję śródbłonna naczyń wątroby
Choroba Crohna (CC)			
1991/ [142]	N=7	Kapilaroskopia w ostrej fazie choroby	Tylko u 3 osób duży zanik kapilar
Ciągła ambulatoryjna dializa otrzewnowa- CAPD			
1996/ [262]	CAPD 10 bez DM	Wideokapilaroskopia, lepkość osocza	Zmiany w morfologii kapilar korelowały z kliresem mocznika i kwasu moczowego. Wysoki stężenie fibrynogenu pogarsza stan mikrokrążenia
Cukrzyca			
1987/ [224]	DM t.1; DM t. 2; Gr kontr.	Wideokapilaroskopia	DM: większa ilość kapilar olbrzymich i pozakręcanych vs kon- trola. "Nodular apical elongation " tylko w DM, ich ilość kore- lowała z czasem trwania choroby. DM t 2 z powikłaniami- czę- ściej kapilary olbrzymie i "nodular apical elongation". Kontrola glikemii bez wpływu na obraz mikrokrążenia
1992/ [92]	DM t.1:25; Czas DM 19, 9 lat; Gr kontr.:25	Wideokapilaroskopia z testem ochło- dzenia vs kapilaroskopia vs dno oka	Różnice w średnicy i gęstości kapilar pomiędzy DM u chorych z retinopatią a kontrolą. Brak różnicy hemodynamicznej w spo- czynku oraz w reaktywności na zimno pomiędzy DM a kontrolą.
2004/ [62]	Kobiety: szczuple:16, Otyłe: 12	Insulinowrażliwość; Kapilaroskopia po przekrwieniu reaktywnym; Fluksome- tria doplerem laserowym (ACh, nitro- prusydek sodu)	Wpływ zmian stężenia wolnych kwasów tłuszczowych na mi- krokrążenie(FFA), zmiany poziomu FFA - odwrotna korelacja z wielkością rekrutacji kapilar i insulinowrażliwością u obu grup

Ocena kompleksu błona wewnętrzna-środkowa

Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa – IMT (*Intima-media thickness*) mierzy się w tętnicy szyjnej, która w odróżnieniu od tętnic obwodowych, jest naczyniem elastycznym, z niskooporowym spektrum przepływu. Zwiększenie IMT odzwierciedla głównie pogrubienie błony wewnętrznej naczynia, ponieważ warstwa mięśniowa ma małą grubość. Pomiar IMT dokonywany jest zgodnie z zasadami ustalonymi w 2004 roku w Mannheim *Intima-Media Thickness Consensus*. Pomiary ultrasonograficzne grubości kompleksu błona wewnętrzna-środkowa są wykonywane z wykorzystaniem głowicy liniowej o częstotliwości 7,5–10 MHz dla zapewnienia właściwej rozdzielczości obrazu [319].

Możliwe jest wykonywanie pomiarów zarówno w zakresie tętnicy szyjnej wspólnej (1–2 cm poniżej rozwidlenia), opuszki oraz w początkowym odcinku tętnicy szyjnej wewnętrznej. Zgodnie z zaleceniami pomiar IMT należy wykonywać w miejscu wolnym od blaszek, w obrębie ściany dalszej naczynia oraz przy możliwie dobrej jakości obrazu. Wynik pomiarów grubości kompleksu błona wewnętrzna-środkowa jest przedstawiany najczęściej jako wartość średnia wszystkich pomiarów IMT lub średnia maksymalnych jego grubości z wszystkich projekcji. W celu oceny IMT w obrębie tętnicy szyjnej wspólnej używa się bramkowania sygnałem elektrokardiograficznym oraz algorytm automatycznego rozpoznawania krawędzi, co pozwala na automatyzację pomiaru i zwiększenie jego dokładności. Według stanowiska Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego z 1998 r. prawidłowa wartość IMT wynosi mniej niż 1 mm, zaś większą niż 1,3 mm należy traktować jako wskaźnik rozlanych zmian miażdżycowych. Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego przyjmuje IMT przekraczające 0,9 mm za wykładnik uszkodzenia narządowego [183]. Ponadto w piśmiennictwie pojawiają się sugestie, aby IMT powyżej 1 mm traktować jako ekwiwalent choroby wieńcowej. IMT jest markerem wczesnej aterosklerozy [206].



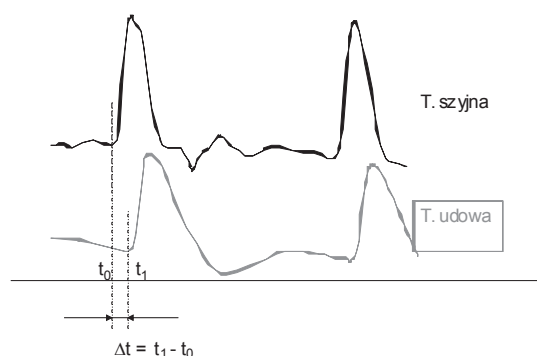
Rycina 11. Schemat tętnicy szyjnej, za zgodą autora [159]

Figure 11. Scheme of arteria carotis, with autor permission [159]

Ocena elastyczności dużych naczyń

Prędkość rozchodzenia się fali tętna (PWV, *Pulse Wave Velocity*) w danym naczyniu zależy od elastyczności jego ściany [13, 252]: im naczynie jest mniej elastyczne, tym prędkość rozchodzenia się fali tętna jest większa. Fala tętna, która jest generowana przez skurcz lewej komory, rozchodzi się wzdłuż drzewa naczyniowego a jej prędkość jest determinowana przez elastyczne i geometryczne właściwości naczynia tętniczego oraz gęstość krwi. Zmiany ciśnienia tętniczego i przepływu krwi oraz średnicy i grubości ściany naczynia wpływają na kształt zarejestrowanej fali tętna. W zależności od typu histologicznego naczynia różny jest kształt i amplituda fali ciśnienia. W naczyniach tętniczych o dużej średnicy amplituda szybkości przepływu krwi jest największa, podczas gdy zmiany ciśnienia stosunkowo niewielkie. W miarę zmniejszania się kalibru naczynia tętniczego amplituda zmian ciśnienia zwiększa się, zmniejsza się natomiast amplituda zmian szybkości przepływu. Przedstawienie fali tętna jako superpozycji dwóch fal, biegnącej od serca na obwód i odbitej, ułatwia zrozumienie zmian hemody-

namicznych, które zachodzą w układzie tętniczym podczas cyklu sercowego. Kształt każdej z fal i prędkość powrotu fali odbitej od obwodu, determinuje zmiany ciśnienia w dużych naczyniach tętniczych. Według zaleceń Europejskiego Towarzystwa Nadciśnieniowego wartość PWV powyżej ESH 12 m/s jest uznawane za jeden z wykładników subklinicznych uszkodzeń narządowych [92, 140, 162, 163, 194, 224, 257, 311].



Rycina 12. Wyznaczanie różnicy pomiędzy czasem wystąpienia tej samej fali tętna w dwóch zapisach dokonywanych jednocześnie w różnych miejscach

Figure 12. Determining the difference between the time of the same pulse wave in the two recordings made at the same time in different locations

W przebiegu cukrzycy stwierdza się postępującą dysfunkcję śródbłónka, prowadzącą do nasilenia progresji zmian miażdżycowych. Chorzy na cukrzycę oprócz ścisłej kontroli glikemii wymagają zatem kontroli ciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki lipidowej oraz innych uznanych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego celem redukcji częstości występowania i nasilenia powikłań narządowych. Dotychczasowe badania mikrokrażenia nie umożliwiają stworzenia spójnego obrazu zależności pomiędzy stanem mikrokrażenia a stopniem dysfunkcji narządowej.

Uszkodzenie funkcji śródbłónka u chorych na cukrzycę typu 1. prowadzi do występowania powikłań mikroangiopatycznych takich jak retinopatia, neuropatia czy nefropatia [123]. Niektóre badania u chorych z typem 1. cukrzycy wykazały, że dysfunkcja śródbłónka w naczyniach skórnych jest związana z obecnością neuropatii czy retinopatii [39, 212, 241]. Jednakże związek pomiędzy stanem mikrokrażenia skórniego i przebiegiem klinicznym cukrzycy nie dostał jednoznacznie zdefiniowany [92, 140, 162, 163, 194, 224, 257, 311].

2. CELE PRACY

Celem głównym pracy była ocena zależności pomiędzy reaktywnością mikrokążeń ocenianego za pomocą kapilaroskopii i testu infuzji L-argininy a występowaniem powikłań naczyniowych u chorych na cukrzycę typu 1.

Oprócz celu głównego sformułowałam również następujące cele szczegółowe:

1. porównanie wartości parametrów charakteryzujących mikrokążenie skórne w grupie chorych na cukrzycę typu 1. i grupie kontrolnej.
2. analizę zależności pomiędzy zmiennymi opisującymi stan mikrokążenia ocenianego przy użyciu kapilaroskopii a czasem trwania, stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy oraz wybranymi markerami biochemicznymi.
3. analizę zależności pomiędzy uzyskaną charakterystyką mikrokążenia skórniego a zmiennymi opisującymi strukturę i funkcję innych naczyń krążenia obwodowego zarówno u chorych na cukrzycę typu 1. jak i w grupie osób zdrowych.

3. MATERIAŁ I METODY

Badania według przedstawionego poniżej protokołu realizowano w okresie od czerwca 2009 do maja 2011 roku w Zakładzie Fizjologii Klinicznej GUMed.

Chorych na cukrzycę wybierano spośród pacjentów pozostających pod długoterminową opieką Regionalnego Centrum Diabetologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego (UCK) w Gdańsku, we współpracy z lekarzem odpowiedzialnym za ich stałe leczenie. Ochotników do grupy kontrolnej rekrutowano spośród pracowników Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku oraz ich rodzin. Badania przeprowadzano we współpracy z Pracownią Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Dobór grup oraz zastosowana metodologia badawcza i informacja dla pacjenta zostały zaakceptowane i dopuszczone do realizacji przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy GUMed (decyzje NKEBN/335/2008 z 23 XII 2008 r. oraz NKEBN/335-60/2009 z dnia 2 III 2009 r., NKEBN/204/2010 z DN 8.VII.2010 r.).

Wszyscy uczestnicy zostali poinformowani o celu, przebiegu i zakresie badania, które wykonywano tylko po pisemnym wyrażeniu przez nich zgody. u chorych na cukrzycę wstępna informacja o badaniu została przekazana przez lekarza prowadzącego. Szczegółowe informacje (pisemna informacja dla pacjenta) zostały podane wszystkim uczestnikom przez lekarza wykonującego badanie.

Badaniem objęci zostali chorzy na cukrzycę t. 1 oraz ochotnicy subiektywnie zdrowi jako grupa kontrolna.

Do badań nie kwalifikowano chorych na cukrzycę spełniających kryteria wyłączenia takie jak:

- niewydolność nerek,
- niewyrównana cukrzyca bądź kwasica ketonowa,
- przewlekłe choroby układu oddechowego,
- incydenty sercowo-naczyniowe w wywiadzie,
- kliniczna manifestacja zaburzeń krążenia mózgowego w wywiadzie, lub/i z objawami ogniskowymi uszkodzenia OUN stwierdzonymi badaniem neurologicznym,

Dodatkowo w grupie chorych wykluczono osoby:

- z ciężką hipoglikemią w okresie do 30 dni przed badaniem,

Czynnikiem wykluczającym osoby zdrowe bądź chorych na cukrzycę z badań było występowanie chorób układowych takich jak np. reumatoidalne zapalenie stawów, łuszczycy.

Osoby, u których w wywiadzie rozpoznawano choroby tarczycy zarówno niedoczynność jak i nadczynność, a w czasie kwalifikacji do badania były w stadium eutyreozy zostały włączone do badania.

Eutyreoza potwierdzona była badaniem poziomu hormonów TSH i wT4 w miesiącu poprzedzającym badanie, zaś w przypadku jego braku badania te wykonywano w ramach przeprowadzonych badań biochemicznych.

Również w obu badanych grupach kryterium wyłączenia z udziału w badaniu stanowiła ciąża i nadużywanie alkoholu.

Do udziału w badaniu zaproszono 97 osób. Część z badanych osób wyraziła jedynie częściową zgodę na badanie wykluczając infuzję L-argininy. Ponadto, ze względów bezpieczeństwa nie podawano L-argininy tym z badanych, u których w wywiadzie występowała kiedykolwiek reakcja alergiczna bądź nietolerancja substancji leczniczych.

Protokołem badania objęto 97 osób: 60 chorych na cukrzycę oraz 37 z grupy kontrolnej. Ze względu na główny cel pracy do dalszych analiz zakwalifikowano osoby, u których uzyskano obrazy kapilaroskopowe spełniające założenia zawarte w metodyce badania, tzn. 48 chorych na cukrzycę oraz 24 osoby z grupy kontrolnej.

Ostatecznie pełny protokół badania obejmujący infuzję L-argininy i badania kapilaroskopowe przeprowadzono u 72 osób: 48 chorych na cukrzycę typu 1 (grupa badana) oraz 24 subiektywnie zdrowych osób bez cukrzycy typu 1 (grupa kontrolna).

3.1. Grupa chorych na cukrzycę

Badaniami zostało objętych 48 osób z rozpoznaną cukrzycą typu 1, rekrutujących się z Regionalnego Centrum Diabetologii pozostających od kilku, a niektórzy pacjenci od kilkunastu lat pod opieką jednego diabetologa. Rozpoznanie cukrzycy typu 1. zostało postawione wg kryteriów Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2010 roku [7]. Grupę tę stanowiło: 21 kobiet i 27 mężczyzn z medianą wieku 37,9 (29,9–55,6) lat. Średni czas trwania cukrzycy w grupie badanej wyniósł 20,2 ($\pm 6,7$) lat. Średni wiek zachorowania wynosił 19,7 ($\pm 7,3$) lat. Średnie zapotrzebowanie dobowe na insulinę wynosiło 56,7 ($\pm 17,0$) jednostek międzynarodowych. Mediana stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA1c) w surowicy krwi wyniosła 7,84 (5,9–11,8)% (tabela 7).

Powikłania mikroangiopatyczne cukrzycy stwierdzono u 28 chorych. Obecność neuropatii cukrzycowej, której rozpoznanie wysunięto na podstawie diagnostyki przeprowadzonej w oparciu o subiektywne i obiektywne objawy neuropatii cukrzycowej oraz klinimetryczną ocenę zaburzeń neuropatycznych (z użyciem skal: *Neurological Symptoms Score* i *Neurological Disability Score*), wykazano u 13 chorych [75, 104].

Retinopatię cukrzycową rozpoznano w oparciu o kryteria Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (pacjenci pozostający pod kontrolą okulisty w Regionalnym Centrum Diabetologii UCK) u 22 chorych [341].

Mikroalbuminurię, rozpoznawaną zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2011 roku jako wskaźnik albumina/kreatynina w porcji moczu $> 30 \mu\text{g}/\text{mg}$ kreatyniny lub obecność zwiększonego wydalania albuminy w moczu $> 20 \mu\text{g}$ albuminy porcji moczu porannej wykazanej dwukrotnie w czasie 3–6 miesięcy stwierdzono u 5 chorych, zaś nefropatię jawną, rozpoznaną gdy wykazano zwiększone wydalanie albuminy w moczu $> 300 \text{ mg}/\text{dobę}$, u 8 chorych [233].

Chorzy obciążeni mikroangiopatią cukrzycową charakteryzowali się znamienne dłuższym średnim czasem trwania choroby w stosunku do chorych bez objawów mikroangiopatii (22,6 vs 16,7 lat, $p=0,002$), młodszym średnim wiekiem zachorowania (17,9 vs 22,1 lat, $p=0,01$) oraz wyższą medianą HbA1c (8,4 vs 7,3%; $p=0,001$). Mediana wieku chorych oraz proporcja płci nie różniła się istotnie pomiędzy podgrupami chorych z obecnością i brakiem powikłań mikroangiopatycznych.

W badanej grupie chorych nie wykryto również hemodynamicznie istotnych zwężeń w obrębie naczyń domózgowych (tętnic szyjnych i kręgowych). W tej grupie łącznie

8 chorych było leczonych z powodu niedoczynności tarczycy- w czasie badania byli w stadium eutyreozy (po 4 w grupie cukrzycowej i kontrolnej).

Tabela 7. Czas trwania i obraz kliniczny cukrzycy (N=48)

Table 7. Duration and course of diabetes

Charakterystyka <i>Characteristic</i>	Średnia <i>Mean</i>	Zakres <i>Range</i>
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration[years]</i>	20,2 ($\pm 6,7$)	4,6–35,3
Wiek zachorowania [rok życia] <i>Diabetes onset[age]</i>	19,67 ($\pm 7,3$)	6–39
HbA1c [%]* <i>Glycated hemoglobin</i>	7,84	5,9–11,8
Dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j.m./dobę] <i>Circadian insulin demand [units]</i>	56,7 ($\pm 17,0$)	24-95
	Liczba (N) <i>Number</i>	% N
Mikroangiopatia <i>Microangiopathy</i>	28	58
Retinopatia <i>Retinopathy</i>	22	46
Neuropatia <i>Neuropathy</i>	13	27
Mikroalbuminuria <i>Microalbuminuria</i>	5	8
Nefropatia jawna <i>Overt nephropathy</i>	8	16,7
HbA1c > 6,5% <i>Glycated hemoglobin > 6,5%</i>	38	79,2
Incydent ciężkiej hipoglikemii w przebiegu ostatniego roku (nie później niż 30 dni) <i>Severe hypoglycemia within one year prior to the study(no later than 30 days before)</i>	15	31,3
Incydent łagodnej hipoglikemii w przebiegu ostatniego miesiąca <i>Mild hypoglycemia within one month prior to the study</i>	40	83,3

* mediana/median

Incydenty ciężkiej hipoglikemii (wymagającej udzielenia choremu pomocy przez inną osobę) przebytej w okresie 12 miesięcy (nie później niż 30 dni) przed badaniem zgłaszało 15 chorych. Incydenty łagodnej hipoglikemii (niewymagającej pomocy) przebytej w okresie miesiąca przed badaniem zgłaszało 40 chorych (tabela 7).

3.2. Grupa kontrolna

Badaniami objęto 24 dorosłych subiektywnie zdrowych ochotników (13 kobiet i 11 mężczyzn) w wieku od 22,6 do 51,3 lat (mediana 38,3 lat). Osoby z grupy kontrolnej nie miały zaburzeń gospodarki węglowodanowej (stężenie hemoglobiny glikowanej wynosiło 5,1–6,1% (z medianą 5,5), przewlekłej choroby nerek, przewlekłych chorób

układu oddechowego, w wywiadzie nie stwierdzano u nich incydentów sercowo-naczyniowych, manifestacji klinicznych zaburzeń krążenia mózgowego, urazu głowy oraz nadużywania alkoholu.

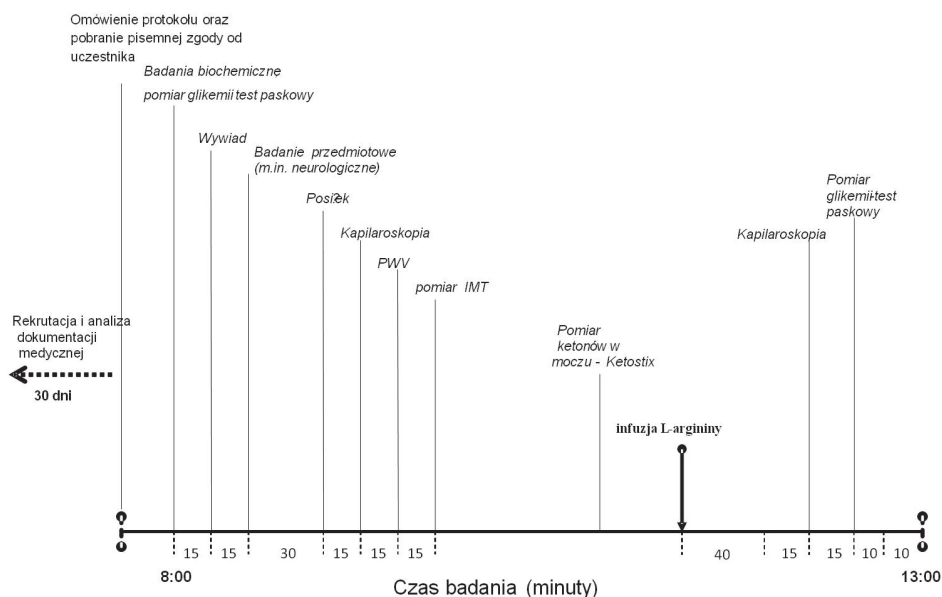
U żadnego z badanych z grupy kontrolnej nie stwierdzono nadciśnienia tętniczego oraz nie wykryto hemodynamicznie istotnych zwężeń w obrębie naczyń domózgowych (tętnic szyjnych i kręgowych).

3.3. Protokół badania

Uczestnicy proszeni byli o pozostanie na czczo, powstrzymanie się od picia kawy i palenia papierosów w dniu badania. Badania pracowniane objęte protokołem realizowano w godzinach od 8.00 do 13.00, w wyciszonym pomieszczeniu o stabilnej temperaturze i oświetleniu.

Protokół badania obejmował kolejno wykonywane procedury (rycina 13):

1. Podpisanie zgody na badanie.
2. Badania biochemiczne w kierunku identyfikacji głównych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz oznaczenie stężenia angiogeniny i ADMA. Oznaczenie poziomu glikemii.
3. Badanie podmiotowe i przedmiotowe (również neurologiczne).
4. Posiłek.
5. Kapilaroskopia naczyń wałów paznokciowych.
6. Pomiar prędkości rozchodzenia się fali tętna (PWV).
7. Pomiar grubości kompleksu błona środkowa-błona wewnętrzna (IMT).
8. Oznaczenie ketonów w moczu
9. 30-minutowa infuzja L-argininy.
10. Kapilaroskopia naczyń wałów paznokciowych.
11. Oznaczenie poziomu glikemii.



Rycina 13. Chronologia badań objętych protokołem

Figure 13. The project schedule

3.3.1. Badanie przedmiotowe i podmiotowe

Z uczestnikami badania przeprowadzono szczegółowy wywiad medyczny. W przypadku, gdy probantem była osoba chora na cukrzycę - badanie podmiotowe zawierało czas trwania choroby, schemat i ilość przyjmowanej insuliny, występowanie zarówno ciężkich jak i lekkich hipoglikemii, obecność powikłań mikro- i makroangiopatycznych. u wszystkich badanych w wywiadzie uwzględniono: wiek, obecność choroby serca, nadciśnienia tętniczego, hiperlipidemii, nałóg palenia tytoniu, stosowanie antykoncepcji, przyjmowanie innych leków oraz aktywność fizyczną.

Badanie przedmiotowe obejmowało pełne badanie internistyczne i neurologiczne. Na podstawie badania internistycznego uzyskano następujące parametry antropometryczne: wzrost, masę ciała, obwód pasa oraz spoczynkowe wartości ciśnienia tętniczego krwi (pomiar aparatem automatycznym OMRON 711 Matsusaka Co. Ltd. Japonia). W badaniu neurologicznym chorych na cukrzycę do oceny występowania zaburzeń neuropatycznych wykorzystano skale klinometryczne: *Neurological Symptoms Score* i *Neurological Disability Score* [75, 104]. Badanie neurologiczne przeprowadzane było przez specjalistę neurologa, który ma doświadczenie w badaniach diagnostycznych neuropatii.

3.3.2. *Badania biochemiczne*

Materiał do oznaczeń i badań biochemicznych pobierano od osób pozostających na czczo. z krwi pobranej z żyły odłokciowej oznaczano: morfologię, lipidogram, stężenie kwasu moczowego i białka C-reaktywnego (CRP), stężenie fibrynogenu i glukozy, albuminy, hemoglobiny glikowanej i kreatyniny w surowicy krwi. Poranna próbka moczu pobrana była w celu oznaczenia stężenia kreatyniny, białka całkowitego i albuminy w moczu. Na tej podstawie wyliczano wskaźnik kreatynina/albumina w moczu. Analizy te wykonywano w Akademickim Centrum Medycyny Laboratoryjnej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego.

Ponadto, w laboratorium Katedry Żywienia Klinicznego GUMed oznaczono również stężenia angiogeniny i asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) w surowicy krwi. Stężenie angiogeniny było oznaczane metodą immuno-enzymatyczną (SANDWICH) z użyciem testów Quantikine Human Angiogenin Immunoassay (*R&D Systems, Inc.; Minneapolis, USA*), zaś stężenie ADMA metodą immunoenzymatyczną (ELISA) z użyciem testów ADMA-ELISA kit (*DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Niemcy*).

W trakcie realizacji protokołu stosowano również testy paskowe do oceny stężenia glukozy we krwi włosniczkowej oraz ketonów w moczu. Stężenie glukozy zarówno przed, jak i po badaniu oznaczano glukometrem *Contour® TS* firmy *Bayer* z użyciem pasków testowych *Contour® TS*. Przy pomocy testów paskowych *Ketostix Reagent Strips /Ketone* (*Bayer, Niemcy*) sprawdzano stężenie ciał ketonowych w moczu celem wykluczenia z badania osób potencjalnie zagrożonych rozwojem kwasicy metabolicznej. Badanie to wprowadzono do protokołu, ponieważ producent argininy (*L- arginine hydrochloride 21 %*, *Braun, Niemcy*) wymienia wśród potencjalnych efektów ubocznych stosowania tej substancji możliwość wystąpienia kwasicy metabolicznej.

3.3.3. *Badanie kapilaroskopowe*

Badaniem kapilaroskopowym oceniano naczynia wałów paznokciowych palców IIV obu kończyn górnych. Osoby zaproszone do badania poproszone były o nie wycinanie skórek z wałów paznokciowych na 2 tygodnie przed badaniem. Pacjent przebywał w pozycji siedzącej, z rękoma wygodnie podpartymi tak, aby dłonie spoczywały stabilnie pod kapilaroskopem. Po 10 minutach adaptacji do temperatury pomieszczenia, po dokładnym oczyszczeniu wałów paznokciowych наносzono nań markery pozwalające na wyodrębnienie dwóch obszarów. W celu zwiększenia przezierności warstwy rogowej i lepszego uwidocznienia kapilar naczyniowych w badaniu stosowano olejek immersyjny.

Obrazy kapilaroskopowe, uzyskiwane przy pomocy kapilaroskopu OPTA-TECH z oświetleniem dwupunktowym (*CS-CREATIVE SOLUTIONS*; Warszawa, PL) wyposażonego w kamerę cyfrową o matrycy 5 megapixeli. Dane archiwizowano na dysku przy pomocy standardowego oprogramowania producenta. Powiększenie zapisywanych obrazów wynosiło 200 razy. Oprogramowanie do analizy obrazów kapilaroskopowych zostało napisane w języku C⁺⁺ przez Mykhailo Iaremko w ramach realizacji pracy dyplomowej zatytułowanej „Identyfikacja i ocena gęstości naczyń włosowatych na podstawie obrazów mikroskopowych”, jako realizacja tematu badawczego Zakładu Fizjologii Klinicznej. Wspomniana praca magisterska obroniona została z wynikiem celującym na

Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej w 2011 roku [126]. Oprogramowanie to wykorzystuje opracowane przeze mnie kryteria detekcji i analizy kapilar. Przyjęto, że przedmiotem analizy będą dwa pierwsze rzędy kapilar.

Analiza komputerowa obejmowała kilka etapów przedstawionych na rycinie 15:

- wyznaczenie kierunku i rotacja obrazu zgodnie z osią długą kapilar (ryc. 15A),
- wybór przez badacza obszaru do oceny gęstości kapilar (ryc. 15B),
- powiększenie wybranego obszaru (ryc. 15C),
- filtrowanie obrazu (ryc. 15D),
- weryfikacja zidentyfikowanych kapilar (ryc. 15E),
- wyznaczenie parametrów kapilar dwóch pierwszych rzędów (ryc. 15F).

Rezultatem analizy obrazu było wyznaczenie ilości kapilar w badanych obszarze, wyznaczenie średniego odstepu pomiędzy kolejnymi kapilarami (*distance*) oraz proporcji pomiędzy powierzchnią zajęta przez kapilary a całkowitą powierzchnią analizowanych rzędów kapilar (*coverage*). Do wskaźników opisowych w warunkach podstawowych należą: $B_distance$ i $B_coverage$.

Ocena reaktywności naczyń mikrokrażenia skórno-paznokciowego

Kapilaroskopia wałów paznokciowych była wykonywana dwukrotnie: przed i po 30-minutowej infuzji 30 g L-argininy (*L-Arginin-hydrochlorid 21% solution, Braun, Melsungen, Germany*). Roztwór L-argininy w 100 ml 0,9% chlorku sodu podawano do pośredniej żyły łokciowej po tej samej stronie, po której wykonywano kapilaroskopię.

Po infuzji L-argininy wyznaczano $T_distance$ i $T_coverage$. Parametry te służyły wyliczaniu reaktywności mikrokrażenia skórno-paznokciowego wyrażanej jako różnica pomiędzy odległością kapilar ($\Delta_distance$) oraz pola powierzchni zajętego przez kapilary ($\Delta_coverage$) wyznaczonymi po ($T_distance$ i $T_coverage$) i przed infuzją L-argininy ($B_distance$ i $B_coverage$).

Wyznaczano również wartości względne: $R_distance$ i $R_coverage$ definiowane jako proporcja $\Delta_distance$ oraz $\Delta_coverage$ do odpowiednich wartości w warunkach spoczynkowych dla tych parametrów.

$$\Delta_distance = T_distance - B_distance$$

$$\Delta_coverage = T_coverage - B_coverage$$

$$R_distance = \frac{\Delta_distance}{distance}$$

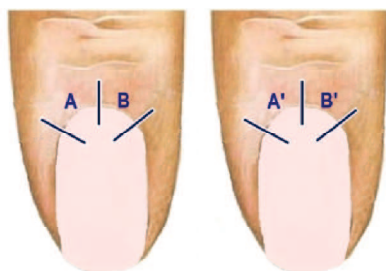
$$R_coverage = \frac{\Delta_coverage}{B_coverage}$$

Równanie 1. Definicja wskaźników reaktywności mikrokrażenia skórno-
Formula 1. Definition of parameters of the skin microcirculation reactivity

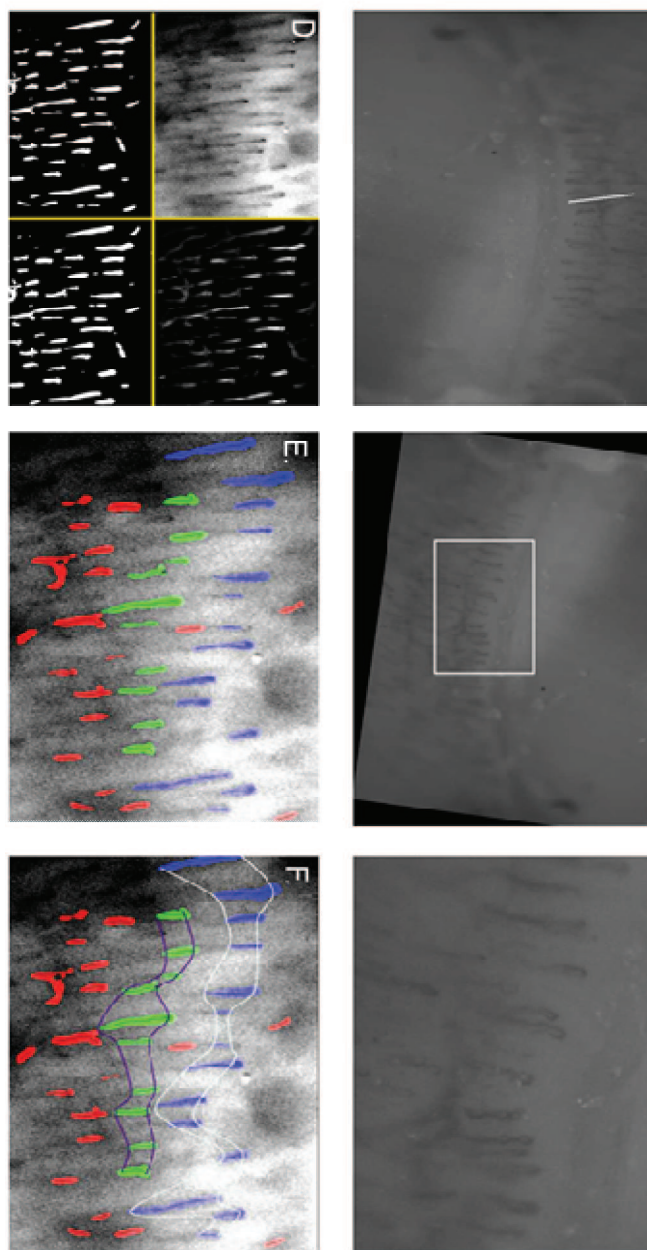
Obrazy, na których widocznych były mniej niż 5 kapilar w każdym rzędzie nie były brane pod uwagę w dalszych analizach statystycznych.

Analizowano pary obrazów z palców II i IV, ponieważ na palcu III podczas całego badania założony był czujnik FINAPRESU do ciągłego pomiaru ciśnienia tętniczego, co z pewnością zaburzyło wyniki kapilaroskopii po L-argininie.

Analizowano pary (AA' i BB'') obrazów, pochodzące z tego samego palca oraz takiego samego pola powierzchni obszaru naczyniowego. Rejestrację obszarów wykonywano w powiększeniu 2,5- lub 3,2-krotnym, które uwzględniano w obliczeniach.

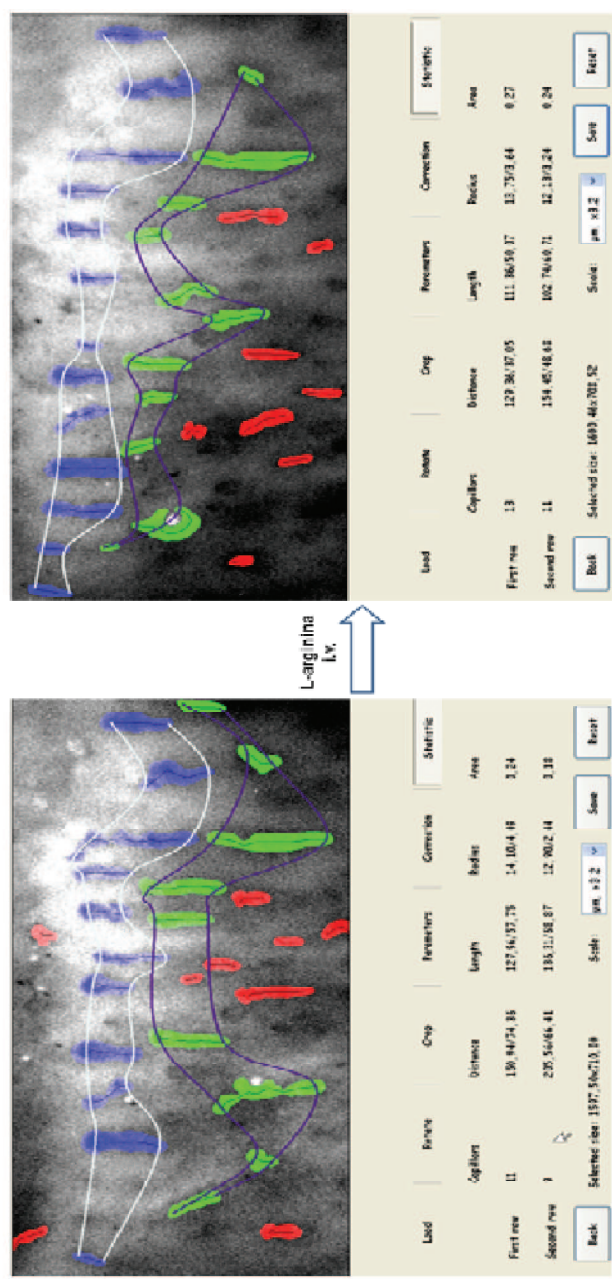


Rycina 14. Obszary wału paznokciowego przed (A, B) oraz po infuzji L-argininy (A', B')
Figure 14. The areas of nailfold before (A, B) and after L-arginine infusion (A', B')



Rycina 15. Ilustracja działania programu do detekcji kapilar (opis w tekście)

Figure 15. Illustration of the program for the detection of capillaries (description in the text)



Rycina 16. Wynik analizy obrazów kapilaroskopowych za pomocą opisywanego programu (przed i po infuzji L-argininy)
Figure 16. The result of the analysis of capillaroscopy images by described program (before and after L-arginine infusion)

Powtarzalność metody

Ocenę powtarzalności metody analizy obrazów kapilaroskopowych przeprowadzono w oparciu o wyniki dwukrotnej analizy 252 obrazów wybranych w sposób losowy. Jako miarę powtarzalności przyjęto współczynnik powtarzalności ICC (*intraclass correlation coefficient*). ICC umożliwia ocenę zgodności pomiędzy dwiema lub więcej zmiennymi ciągłymi. Przewagą ICC w porównaniu do często stosowanego współczynnika korelacji jest dostosowanie do efektu skali pomiarów.

ICC dla zmiennej określającej średnią odległość pomiędzy kapilarami *distance* wynosił 0,64 (0,58–0,70), zaś dla zmiennej określającej pole powierzchni zajętej przez kapilary *coverage* wynosił 0,63 (0,56–0,70). Według danych z piśmiennictwa [167] uzyskane wyniki wskazują na dobrą powtarzalność procedury pomiarowej.

Tabela 8. Powtarzalność kapilaroskopii
Table 8. Reproducibility of capillaroscopy

Parametr <i>Parameter</i>	N obrazy <i>N images</i>	Liczba powtórzeń <i>Number of repetition</i>	ICC (90% zakres ufności) <i>ICC (90% confidence intervals)</i>
<i>coverage</i>	252	2	0,63 (0,56–0,69)
<i>distance</i>	252	2	0,64 (0,58–0,70)

3.3.4. Ocena kompleksu błona wewnętrzna-środkowa

Wszystkie badania zostały wykonane przez specjalistę neurologa, specjalistę od badań dopplerowskich, posiadającego certyfikat *Intersociety Commision for certification In neursonology. Neurosonology Research Group in the World Federation of Neurology NSRG. European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics ESNCH*.

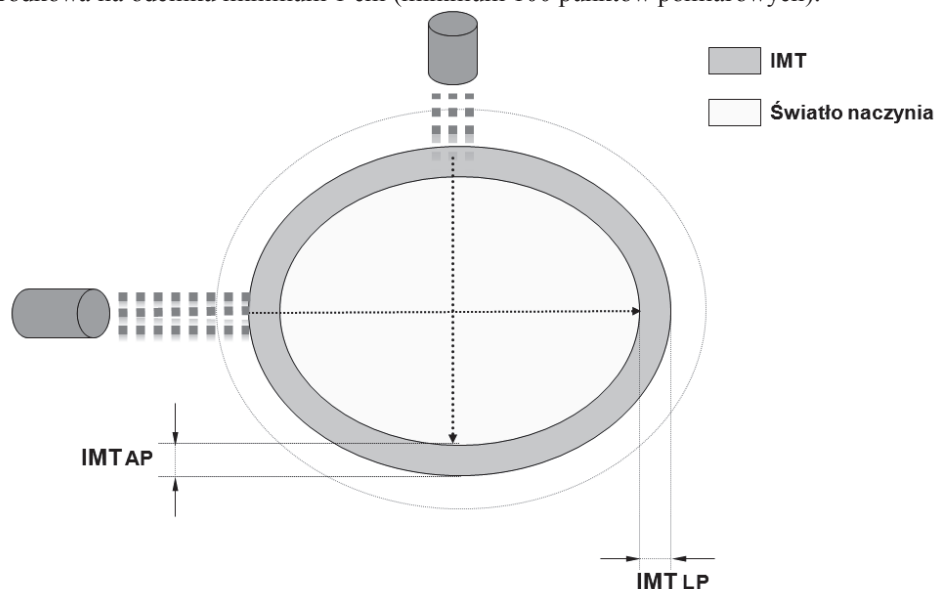
Badania wykonano aparatem Vivid i (GE Healthcare, USA), sondą liniową o częstotliwości w zakresie 3,96–8,4 MHz, z częstotliwością średnią 6,3 MHz.

Ustawienie ogniskowania było stałe, a wzmocnienie obrazu ultrasonograficznego dobierano zgodnie z zasadą uzyskania minimalnych artefaktów w świetle naczynia. Badanie przeprowadzano po okresie 10 min spoczynku, w pozycji leżącej z głową w osi ciała.

Badania grubości kompleksu błony wewnętrznej-środkowej wykonywano z użyciem sekwencji B-mode, zgodnie z zaleceniami Międzynarodowego Komitetu Ekspertów (*Manheim Carotid Intima-Media Thickness Consensus*) [318, 319].

Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa mierzono w obu tętnicach szyjnych wspólnych w odległości 1–3 cm od opuszki, w każdym naczyniu w projekcji przednio-tylnej oraz boczno-tylnej (rycina 17). W trakcie badania dążono do uzyskania równoległej pozycji głowicy względem ściany tętnicy szyjnej. Obraz zapisywany był przy możliwie największym powiększeniu. Podstawą kwalifikacji obrazu do pomiaru

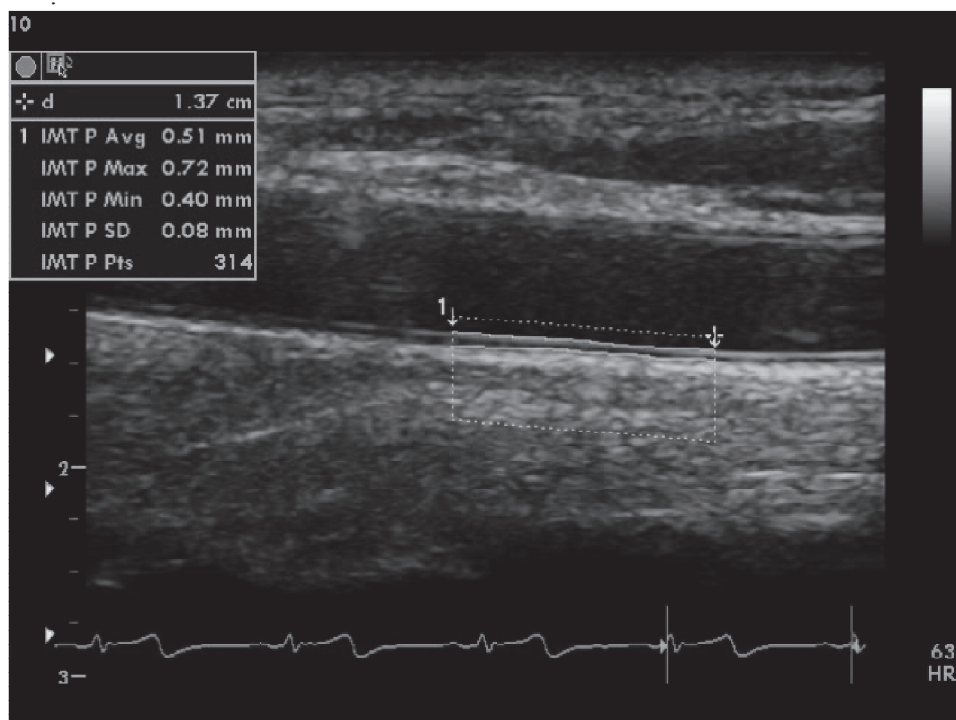
IMT było uzyskanie zadawalającej jakości obrazu kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa na odcinku minimum 1 cm (minimum 100 punktów pomiarowych).



Rycina 17. Zasada wyznaczania IMT przyjęta w badaniu: IMT AP – grubość w projekcji przednio-tylnej, IMT PL – grubość w projekcji boczno-tylnej, za zgodą [159]

Figure 17. IMT measurement: IMT AP - antero-posterior diameter, IMT LP – latero-posterior diameter, with permission [159]

Pomiar IMT wykonywano metodą półautomatyczną, z użyciem oryginalnego oprogramowania będącego na wyposażeniu aparatu, w sposób zsynchronizowany z załamkiem R krzywej elektrokardiograficznej (rycina 18). Za ostateczną wartość IMT przyjęto wynik uśredniony z wszystkich 4 pomiarów.



Rycina 18. Okno robocze oprogramowania aparatu Vivid i Półautomatyczne wyznaczenie wartości średniej IMT dla ściany tylnej tętnicy szyjnej wspólnej: d – długość okna pomiarowego (1,37 cm), P Avg – średnia IMT 0,051 cm, IMT P Max – maksymalne IMT 0,072 cm, IMT P Min – minimalne IMT 0,040 cm, IMT P SD – odchylenie standardowe pomiaru IMT 0,008 cm, IMT P Pts – liczba punktów pomiarowych (314), HR – częstość akcji serca (63 uderzeń/min), wykonano w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, sondą liniową z częstotliwością średnią 6,3 MHz) – za zgodą autora dr. Grzegorza Kozery [159]

Figure 18. Semi-automatic IMT measurement in posterior wall of common carotid artery with use of dedicated software of Vivid i device (GE Healthcare, USA): d – diameter of measurement window, IMT P Avg – average IMT 0.051 cm, IMT P Max – maximal IMT 0.072 cm, IMT P Min – minimal IMT 0.040 cm, IMT P SD – standard deviation of IMT 0.008 cm, IMT P Pts – number of measure points (314), HR – heart rate (63 beats/min) (from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG with linear transducer with average frequency 6.3 MHz)- with dr Grzegorz Kozera permission [159]

3.3.5. Ocena elastyczności naczyń

W obecnych badaniach podatność naczyń tętniczych oceniano mierząc prędkość rozchodzenia się fali tętna metodą opisaną przez Asmara [13]. Badanie przeprowadzano po 15 minutach odpoczynku w pozycji leżącej w cichym pomieszczeniu. Rejestrowano jednocześnie fale tętna z nad prawej tętnicy szyjnej wspólnej i prawej tętnicy udowej. Tętnice te wybrano ze względu na podobną budowę histologiczną obydwu naczyń. Zapisu fali tętna dokonywano przy pomocy przetworników ciśnieniowych TY- 306 (Fukuda Co., Japan). Przetworniki przykładano prostopadle do naczyń w miejscach, w których tętno było dobrze wyczuwane palpacyjnie. Prędkość rozchodzenia się fali tętna [PWV] wyznacza się za pomocą wzoru $PWV = D/T$, gdzie D oznacza odległość pomiędzy dwoma punktami rejestracji fali tętna, natomiast T oznacza czas potrzebny do przebycia fali tętna między tymi punktami. Czas T był obliczany jako różnica czasu $[\Delta t]$ pojawienia się analogicznego punktu krzywej fali tętna w dwóch miejscach, w których równocześnie dokonywano rejestracji. Punktem tym był punkt przegięcia ramienia wstępującego. PWV obliczano według wzoru: $PWV = L/\Delta t$, gdzie L oznacza odległość pomiędzy punktami przyłożenia przetworników ciśnieniowych. Uważa się, że ten punkt na krzywej zapisu podlega w najmniejszym stopniu interferencji fali odbitej [12, 13]. Prędkość rozchodzenia się fali tętna wyznaczano jako wartość średnią z dziesięciu kolejnych pomiarów.

3.4. Metody oceny statystycznej

Analizę statystyczną zebranych danych prowadzono z użyciem programu statystycznego STATISTICA wersja 9.1 firmy StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, USA; nr licencji JGNP0087539331AR-J.

Rozkład zmiennych oceniany był przy pomocy testu Shapiro–Wilka. W przypadku, gdy nie występował rozkład normalny badanych zmiennych, ich wartości porównywano przy pomocy testów nieparametrycznych – testu U Manna-Whitney’a. Zależności między zmiennymi badano testem analizy korelacji rang Spearmana oraz testem χ^2 , lub testem χ^2 z poprawką Yatesa w przypadku, gdy liczba zmiennych nie przekraczała 10.

Porównanie zmiennych charakteryzującym się rozkładem normalnym, przedstawianych jako średnia (SD – *standard deviation*), wykonywano z pomocą testów parametrycznych – testu t-Studenta.

Za statystycznie istotny uznawano poziom istotności $p < 0,05$. Wartości znamienne statystycznie zamieszczone w tabelach zapisano wytłuszczoną czcionką.

4. WYNIKI

4.1. Porównanie badanych grup

4.1.1. Badanie podmiotowe i przedmiotowe

Badane grupy nie różniły się częstością stosowania farmakoterapii, nałogu palenia tytoniu lub uprawiania regularnej aktywności fizycznej. Regularną aktywność fizyczną (wysiłek dynamiczny minimum 2× w tygodniu przez 30 minut) uprawiało 12 chorych i 7 osób z grupy kontrolnej. Do aktywnego palenia tytoniu przyznało się 10 chorych, o medianie 11,5 (4–12) paczko-lat oraz 3 osoby z grupy kontrolnej z medianą 4 (2–20) (tabela 9).

Tabela 9. Porównanie danych z badania podmiotowego u osób na cukrzycę i w grupie kontrolnej
Table 9. Medical history data in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients</i> N=48		Grupa kontrolna <i>Control group</i> N=24		p
	N	%	N	%	
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	12	25,0	7	29,2	0,92
Leczenie: ACEI, ARB, β-blokery <i>Treatment: ACEI, ARB, β-blockers</i>	8	16,7	0	0	0,08
Antykoncepcja hormonalna <i>Oral contraceptives</i>	2	4,2	1	4,2	0,53
Palenie tytoniu <i>Cigarette smoking</i>					0,54
Niepalący/ <i>nonsmoker</i>	32	66,7	19	79,2	
Palący obecnie/ <i>current smoker</i>	10	20,8	3	12,5	
Palenie w wywiadzie/ <i>previous smoker</i>	6	12,5	2	8,3	

Porównanie badanych grup wykazało, iż grupa kontrolna była dobrze dobrana pod względem płci, wieku oraz parametrów antropometrycznych do grupy chorych na cukrzycę.

W grupie kontrolnej było 13 kobiet i 11 mężczyzn, zaś w grupie na cukrzycę odpowiednio 26 kobiet i 22 mężczyzn. Rozkład płci nie różnił się w sposób statystycznie istotny pomiędzy obiema grupami. Porównanie median: wieku, BMI, obwodu pasa oraz wzrostu nie wykazało znamienych statystycznie różnic pomiędzy obiema grupami (tabela 10). Badane grupy nie różniły się częstością występowania nadwagi i otyłości. Nadwagę (BMI > 25 kg/m²) stwierdzono u 5 ochotników i 20 osób na cukrzycę, zaś otyłość (BMI > 30 kg/m²) u 4 ochotników i u 4 chorych na cukrzycę. Otyłość brzuszna wg kryteriów *Adult Treatment Panel III* [209] (obwód pasa > 88 cm u kobiet oraz > 102 cm u mężczyzn) u 6 osób z grupy kontrolnej i 6 chorych na cukrzycę. Częstość

występowania otyłości centralnej nie różniła się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi grupami.

Tabela 10. Porównanie wieku, płci i danych antropometrycznych u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

Table 10. Comparison of age, gender and anthropometric data in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>		p
	Średnia <i>Mean</i>	SD	Średnia <i>Mean</i>	SD	
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	39,8	6,3	38	6,7	0,27
Mężczyźni – n(%) <i>Males</i>	22 (45,8)		11 (45,8)		1,00
Kobiety – n(%) <i>Women</i>	26 (54,2)		23 (54,2)		1,00
Wzrost [cm] <i>Height</i>	172	10	171,8	7,4	0,95
Masa ciała [kg]* <i>Body mass</i>	75	55-101	71	54-115	0,89
Obwód pasa [cm] <i>Waist circumference</i>	84	66-110	83,5	68-113	0,87
	Liczba/number	%	Liczba/number	%	
Otyłość brzuszna, <i>Abdominal obesity,</i>	6	12,5	6	25	0,31
<i>BMI [kg/m²]</i>					0,18
<i>BMI < 25</i>	15	62,5	24	50	
<i>< 30 BMI ≥ 25</i>	5	20,8	20	41,7	
<i>BMI > 30</i>	4	16,7	4	8,3	

* mediana (zakres)

4.1.2. Ciśnienie tętnicze

Wartości średnie skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego oraz ciśnienia tętna mierzonego w warunkach spoczynku nie wykazywały statystycznie istotnej różnicy w badanych grupach (tabela 11). Według kryteriów Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego u 8 (16,7%) chorych rozpoznano współwystępowanie nadciśnienia tętniczego [8]. Wszyscy chorzy na nadciśnienie tętnicze byli leczeni hipotensyjnie (ACEI, *angiotensin-converting enzyme inhibitor*, inhibitory konwertazy angiotensyny; ARBs - *angiotensin receptor blocker*, blokery receptora dla angiotensyny; β -blokery, *β -blockers*) przez przynajmniej 3 miesiące przed badaniem. W grupie kontrolnej żadna osoba nie chorowała na nadciśnienie tętnicze. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic

w częstości występowania nadciśnienia tętniczego ($p=0,08$) pomiędzy badanymi grupami z uwagi na poprawkę Yates'a.

Tabela 11. Porównanie wartości ciśnienia tętniczego i ciśnienia tętna u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej

Table 11. Comparison of blood pressure and pulse pressure value in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>		p
	Średnia <i>Mean</i>	SD	Średnia <i>Mean</i>	SD	
Skurczowe ciśnienie tętnicze <i>Systolic blood pressure [mmHg]</i>	133	19,4	129,8	20	0,53
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze <i>Diastolic blood pressure [mmHg]</i>	67,4	14,2	71,3	13,4	0,27
Ciśnienie tętna <i>Pulse pressure [mmHg]</i>	65,6	15,6	58,6	11,5	0,1

4.1.3. Lipidogram

W grupie chorych na cukrzycę hiperlipidemię rozpoznawano, jeżeli pacjent spełniał kryteria: stężenie cholesterolu całkowitego było wyższe niż 175 mg/dl i/lub stężenie trójglicerydów przekraczało 150 mg/dl i/lub stężenie LDL cholesterolu przekraczało 100 mg/dl. Hiperlipidemię rozpoznawano również, jeżeli stężenie HDL cholesterolu był niższe niż 40 mg/dl u mężczyzn lub 50 mg/dl u kobiet, a także gdy stosowano leczenie hipolipemizujące [8]. W grupie kontrolnej hiperlipidemię rozpoznawano, jeżeli stężenie całkowitego cholesterolu i/lub trójglicerydów i/lub stężenie LDL cholesterolu było wyższe niż odpowiednio 190, 150 and 130 mg/dl lub stężenie HDL cholesterolu było niższe niż 40mg/dl u mężczyzn albo 50 mg/dl u kobiet [133].

Hiperlipidemię rozpoznano u 40 z 48 badanych chorych na cukrzycę (83%) oraz u 10 z 24 osób z grupy kontrolnej (41,7%). Grupy te różniły się istotnie pod względem częstości występowania hiperlipidemii ($p<0,001$)

Grupa kontrolna w porównaniu do grupy chorych na cukrzycę charakteryzowała się znacząco wyższą wartością mediany cholesterolu całkowitego i frakcji LDL cholesterolu.

Badane grupy nie różniły się istotnie wartościami mediany poziomu trójglicerydów i frakcji HDL cholesterolu (tabela 12).

Żadna z osób grupy kontrolnej nie przyjmowała leczenia hipolipemizującego zaś w grupie chorych na cukrzycę statynę stosowano u 5 osób (10,4%).

Tabela 12. Porównanie lipidogramu w badanych grupach

Table 12. Comparison of lipids in study groups

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>		p
	Mediana <i>Median</i>	Zakres <i>Range</i>	Mediana <i>Median</i>	Zakres <i>Range</i>	
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	181	130,0–245,0	201	128,0–315,0	0,03
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	67	38,0–380,0	80	35,0–228,0	0,44
HDL [mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	59	28,0–115,0	49	18,0–87,0	0,14
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	110	49,0–154,0	131	79,0–251,0	0,003

4.1.4. Pozostałe analizy laboratoryjne określone protokołem

U chorych na cukrzycę stwierdzono znamienne wyższe wartości mediany stężenia HbA1c, CRP w surowicy krwi niż w grupie kontrolnej. Badani z grupy kontrolnej różnili się od chorych na cukrzycę istotnie wyższą wartością mediany kwasu moczowego oraz poziomu ADMA w surowicy (tabela 13).

Porównywane grupy nie różniły się istotnie wartościami średnich stężenia hemoglobiny, wartości hematokrytu, stężenia albuminy w surowicy krwi oraz wskaźnika albumina/kreatynina w moczu. Nie stwierdzono znamiennej różnicy pomiędzy medianą stężenia fibrynogenu i kreatyniny w surowicy krwi oraz angiogeniny w obu grupach (tabela 13).

Tabela 13. Porównanie wyników badań laboratoryjnych u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

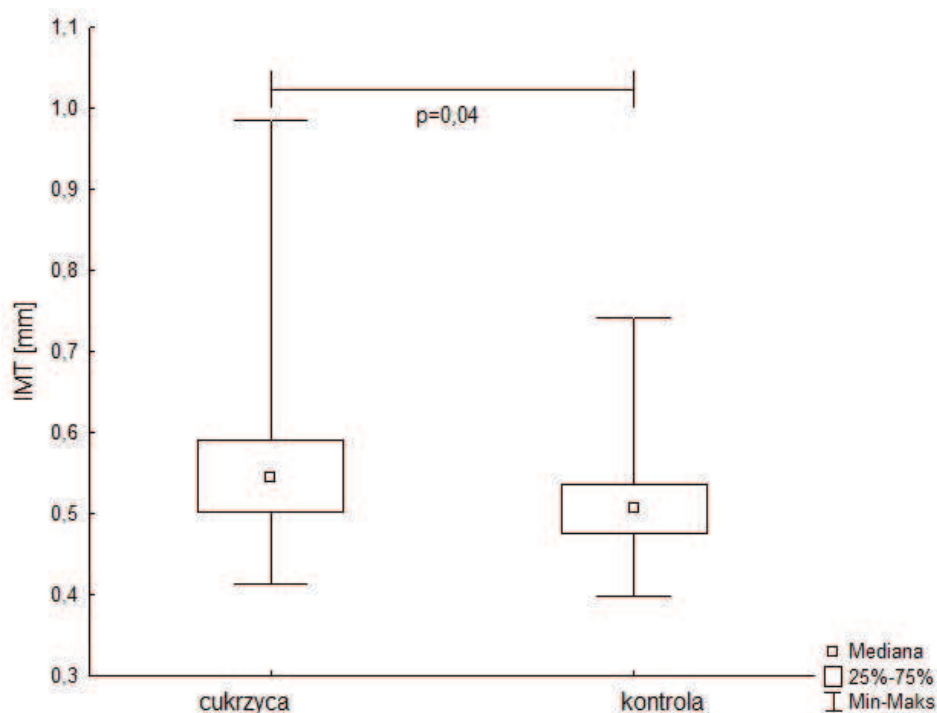
Table 13. Comparison of lab tests results in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>		p
	Mediana <i>Median</i>	Zakres <i>Range</i>	Mediana <i>Median</i>	Zakres <i>Range</i>	
HbA1c [%] <i>Glycated hemoglobin</i>	7,84	5,95–11,79	5,5	5,14–6,1	<0,001
Hemoglobina [g/dl] * <i>Hemoglobin</i>	13,6 (1,7)	9,2–16,9	13,4 (1,8)	9,1–15,9	0,64
Hematokryt [%]* <i>Hematocrit</i>	40	31,0–50,0	40,1 (4,5)	30,8–47	0,47
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	1,6	0,3–41,1	0,75	0,2–5,5	0,006
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uric</i>	3,2	1,7–5,9	3,85	1,5–6,3	0,03
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	2,96	2,1–6,68	2,8	1,59–4,15	0,57
Albumina w surowicy [g/l]* <i>Albumin(serum)</i>	41	30,0–49,0	40,5 (3,6)	36,0–51,0	0,74
Kreatynina w surowicy [mg/dl] <i>Creatinine(serum)</i>	0,81	0,62–1,17	0,74	0,65–1,13	0,09
Wskaźnik albumina/ kreatyni- na w moczu [μg alb./mg kreat.] * <i>Albumin/creatinine ratio in urine</i> [μg alb./mg creat.]	110,2 (394,1)	1,17–2506,9	12,2(12,3)	1,84–44,3	0,23
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	398,3	199,8–999,8	463,2	230,6–708,2	0,25
ADMA [μmol/l] *	0,51(0,14)	0,12–0,91	0,6(0,13)	0,35–0,95	0,01

* średnia (SD)/mean(SD)

4.1.5. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa

Wartość mediany IMT w grupie kontrolnej wynosiła 0,51 (0,39 – 0,74) mm, zaś u chorych na cukrzycę 0,54 (0,41 – 0,98) mm. Różnica IMT pomiędzy grupami była istotna statystycznie (p= 0,04) (rycina 19).



Rycina 19. Porównanie IMT u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej
 Figure 19. Comparison of IMT in diabetic and control group

4.1.6. Prędkość rozchodzenia się fali tętna

Wartość mediany PWV w grupie kontrolnej wynosiła 9,05 (7,14–14,5) m/s, zaś u chorych na cukrzycę 8,9 (7,12 – 21,12) m/s. Różnica prędkości rozchodzenia się fali tętna pomiędzy grupami była nieistotna statystycznie ($p=0,62$).

4.1.7. Parametry mikrokrążenia skórno w warunkach podstawowych oraz po infuzji L-argininy w badanych grupach

Badanie kapilaroskopowe według protokołu przeprowadzono u 97 osób.

Z powodów proceduralnych- omówione w metodyce badania kapilaroskopowego- ostatecznie analizowano 232 pary w grupie osób na cukrzycę (48 osób) i 110 par w grupie kontrolnej (24 osoby).

Parametry charakteryzujące mikrokrążenie skórno w warunkach podstawowych oraz po infuzji L-argininy uzyskano na podstawie przeprowadzonego badania kapilaroskopowego na kończynie górnej lewej w warunkach podstawowych oraz po infuzji L-argininy (tabela 14).

Badanie kapilaroskopowe przeprowadzone w warunkach podstawowych nie wykazały znamiennej różnicy w liczbie kapilar, zaś liczba kapilar po infuzji L-argininy była istotnie większa w grupie kontrolnej ($p=0,009$). Zmiana ilości kapilar w teście infuzji L-argininy (po teście vs przed testem) nie była istotna zarówno w grupie kontrolnej ($p=0,19$), jak również w grupie na cukrzycę ($p=0,57$).

$B_coverage$ w warunkach podstawowych różniły się znamienne pomiędzy grupą chorych na cukrzycę i grupą kontrolną (20 (14–30)% vs 18,1 (13–24)%; $p=0,02$).

Różnica pomiędzy grupami zmniejszyła się i była nieistotna statystycznie po infuzji L-argininy ($p=0,30$). Rekrutacja kapilar w grupie kontrolnej po infuzji leku była istotna statystycznie dla $coverage$ (z 18,1 (13–24)% do 19,9 (15–32) %; $p=0,02$).

Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupą chorych na cukrzycę a grupą kontrolną dla $R_coverage$, odpowiednio 0,2 (-20–60)% vs 10 (-20–70)%; $p=0,04$).

$B_distance$ w warunkach podstawowych różniły się znamienne pomiędzy grupą chorych na cukrzycę i grupą kontrolną (221 (153–311) μm vs 240 (185–356) μm ; $p=0,02$).

Odległość pomiędzy kapilarami w warunkach podstawowych ($B_distance$) była istotnie statystycznie niższa w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu do grupy kontrolnej, nie różniła się jednak po infuzji L-argininy ($p=0,27$). Również dla $\Delta_distance$ nie ujawniono znamiennych różnic pomiędzy badanymi grupami ($p=0,06$).

$\Delta_coverage$ był istotny od zera dla grupy kontrolnej ($p=0,02$) natomiast nie dla grupy chorych z typem 1. cukrzycy ($p=0,77$) (rycina 20). Porównanie $\Delta_coverage$ nie ujawniło znamiennej statystycznie różnicy między badanymi grupami ($p=0,053$).

Tabela 14 przedstawia porównanie parametrów opisujących mikrokążenie skórne pomiędzy grupą kontrolną a grupą chorych na cukrzycę typu 1.

Analizy wykazały, iż w grupie kontrolnej wielkość $distance$ w warunkach podstawowych była większa (niższa gęstość liniowa) u kobiet w porównaniu z mężczyznami (268,2 (184,8–306,0) μm vs 217,1 (191,1–356,5) μm , $p=0,04$). Takich różnic nie stwierdzono w grupie chorych na cukrzycę. Po infuzji L-argininy, nie występowały zależne od płci różnice w parametrach charakteryzujących mikrokążenie wału paznokciowego.

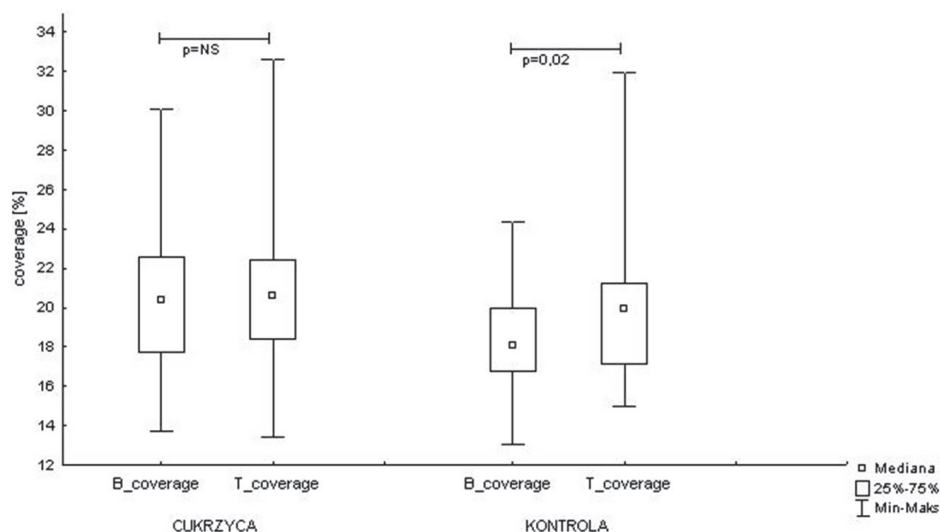
Wykonana w badanych grupach analiza różnic pomiędzy płciami wykazała u mężczyzn z grupy kontrolnej istotnie większą w porównaniu z kobietami z tejże grupy ilość kapilar w badanym obszarze przed infuzją L-argininy (17 (12,7–30) vs 14,3 (9,8–17,5) $p=0,02$), jak i po (18(10,3–22,6) vs 15(13,5–17,6), $p=0,007$).

U mężczyzn na cukrzycę wykazano istotnie więcej kapilar na badanym obszarze przed infuzją L-argininy (15,4 (9–21,8) vs 13,2(9,0–18,6), $p=0,04$). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w obu badanych grupach pomiędzy płciami dla parametrów $\Delta_coverage$, $\Delta_distance$, $R_coverage$ i $R_distance$.

Tabela 14. Porównanie parametrów mikrokrażenia skórnoego u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej w warunkach podstawowych oraz po infuzji L-argininy

Table 14. Comparison of parameters of skin microcirculation in diabetic and control group in basal condition and L-arginine infusion

Parametr mikrokrażenia skórnoego <i>Skin microcirculation parameter</i>	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients,</i> N=48	p	Grupa kontrolna <i>Control group,</i> N=24
	Mediana (Zakres) <i>Median (Range)</i>		Mediana (Zakres) <i>Median (Range)</i>
Warunki podstawowe/ <i>Basal conditions</i>			
B_N [Liczba kapilar] <i>[quantity of capillaries]</i>	14,3 (9–21,8)	0,28	15,7 (9,75–30)
B_coverage [%]	20 (14–30)	0,02	18,1 (13–24)
B_distance [μm]	221 (153–311)	0,02	240 (185–356)
Po infuzji L-argininy/ <i>After L-arginine infusion</i>			
T_N [Liczba kapilar] <i>[quantity of capillaries]</i>	14,4 (6–22)	0,009	16,0 (10,3–22,6)
T_coverage [%]	21 (13–33)	0,30	19,9 (15–32)
T_distance [μm]	223,5 (127–318)	0,27	242,5 (181–341)
Reaktywność mikrokrażenia skórnoego/ <i>Skin microcirculation reactivity</i>			
Δ_coverage [%]	0,03 (-6–12)	0,053	2 (-5–13)
Δ_distance [μm]	8,73 (-67–50)	0,06	-8,7 (-86–64)
R_coverage [%]	0,2 (-20–60)	0,04	10 (-20–70)
R_distance [μm]	0,04 (-0,35–0,29)	0,07	-0,03(-0,29–0,34)



Rycina 20. Porównanie wartości *coverage* przed i po infuzji L-argininy w badanych grupach
 Figure 20. Comparison of *coverage* before and after L-arginine infusion in studied groups

4.2. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a markerami biochemicznymi

Analizowano zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a stężeniem ADMA, angiogeniny oraz CRP, fibrynogenu, kwasu moczowego a także wskaźnikiem albumina/kreatynina.

Wykazano istotną statystycznie dodatnią zależność pomiędzy *B_distance* i stężeniem angiogeniny w surowicy krwi jedynie w grupie chorych na cukrzycę ($p=0,04$) (tabela 15). W grupie kontrolnej wykazano istotną zależność pomiędzy poziomem ADMA a $\Delta_distance$ i *R_distance*. Ponadto stężenie kwasu moczowego korelowało istotnie statystycznie ujemnie z *B_distance* (tabela 16). Zarówno w grupie chorych na cukrzycę, jak i w grupie kontrolnej stężenie CRP, fibrynogenu oraz poziom wskaźnika albumina/kreatynina w moczu nie korelowały istotnie z żadnym z analizowanych parametrów opisujących mikrokrążenie skórne.

Tabela 15. Ocena zależności pomiędzy reaktywnością mikrokrażenia skórnego a wybranymi markerami biochemicznymi u chorych na cukrzycę
Table 15. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and chosen biochemical markers in diabetic group

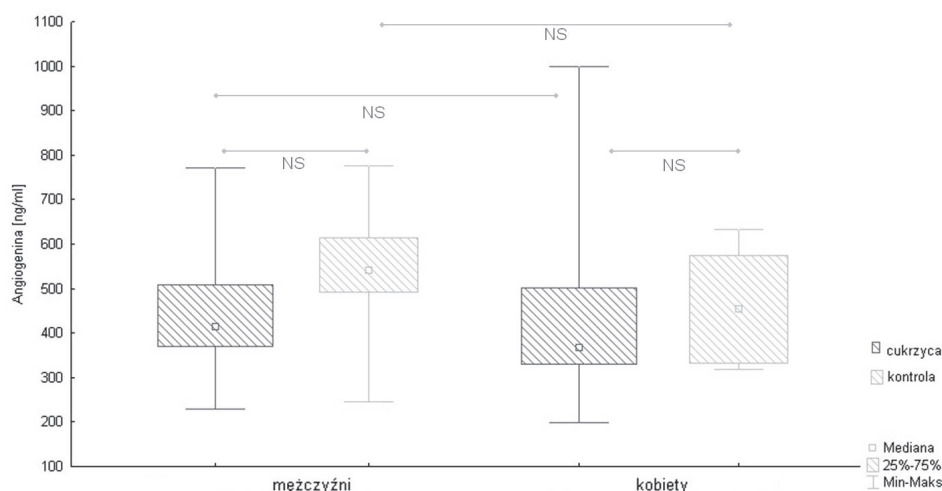
	<i>B_coverage</i>		<i>B_distance</i>		$\Delta_coverage$		$\Delta_distance$		<i>R_coverage</i>		<i>R_distance</i>	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	0,03	0,84	0,08	0,60	0,06	0,68	-0,17	0,24	0,09	0,53	-0,16	0,26
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uric</i>	-0,02	0,87	0,03	0,86	-0,10	0,50	0,01	0,95	-0,07	0,62	0,02	0,91
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	-0,12	0,43	0,19	0,20	-0,26	0,09	-0,01	0,93	-0,27	0,08	-0,01	0,97
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [µg alb./mg kreat.] <i>Albumin/creatinine ratio in urine [µg alb./mg creat.]</i>	-0,05	0,72	0,14	0,37	-0,003	0,98	-0,08	0,60	-0,01	0,93	-0,08	0,60
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	-0,14	0,33	0,30	0,04	-0,2	0,18	-0,20	0,18	-0,21	0,15	-0,19	0,19
ADMA [µmol/l]	-0,02	0,90	-0,02	0,91	-0,24	0,10	-0,001	0,99	-0,23	0,11	-0,003	0,98

Tabela 16. Ocena zależności pomiędzy reaktywnością mikrokrążenia skórnego a wybranymi markerami biochemicznymi w grupie kontrolnej
Table 16. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and chosen biochemical markers in control group

	<i>B_coverage</i>		<i>B_distance</i>		$\Delta_coverage$		$\Delta_distance$		<i>R_coverage</i>		<i>R_distance</i>	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	-0,03	0,90	-0,30	0,15	0,13	0,56	0,08	0,72	0,14	0,52	0,10	0,63
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uric</i>	0,01	0,95	-0,42	0,049	0,12	0,61	0,13	0,57	0,1	0,66	0,08	0,72
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	0,14	0,50	0,08	0,69	-0,18	0,40	0,09	0,66	-0,2	0,35	0,11	0,59
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [µg alb./mg kreat.] <i>Albumin/creatinine ratio in urine [µg alb./mg creat.]</i>	-0,07	0,76	0,13	0,54	0,14	0,51	-0,02	0,93	0,13	0,54	-0,01	0,97
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	-0,23	0,27	0,19	0,36	-0,04	0,84	-0,13	0,55	-0,02	0,92	-0,13	0,55
ADMA [µmol/l]	0,29	0,17	-0,25	0,25	-0,33	0,11	0,48	0,02	-0,3	0,15	0,49	0,01

4.2.1. Angiogenina

Porównanie stężenia angiogeniny w surowicy w grupach chorych na cukrzycę i kontrolnej nie wykazało znamiennej różnicy.



Rycina 21. Zależność pomiędzy stężeniem angiogeniny a płcią w badanych grupach

Figure 21. Relationship between angiogenin concentration and gender in studied groups

W grupie chorych na cukrzycę i grupie kontrolnej nie ujawniono istotnych różnic w stężeniu angiogeniny również po wykluczeniu z analiz chorych z mikroangiopatią, nadciśnieniem tętniczym lub/i leczonych ACEI/ARB/ β -blokerami oraz palaczy.

Tabela 17. Porównanie zależności pomiędzy stężeniem angiogeniny w surowicy a wybranymi zmiennymi u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

Table 17. Comparison between angiogenin concentration and chosen parameters in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	0,18	0,22	0,11	0,60
Wiek zachorowania [rok życia] <i>Onset of the diabetes [age]</i>	0,04	0,79	-	-
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration [years]</i>	0,17	0,25	-	-

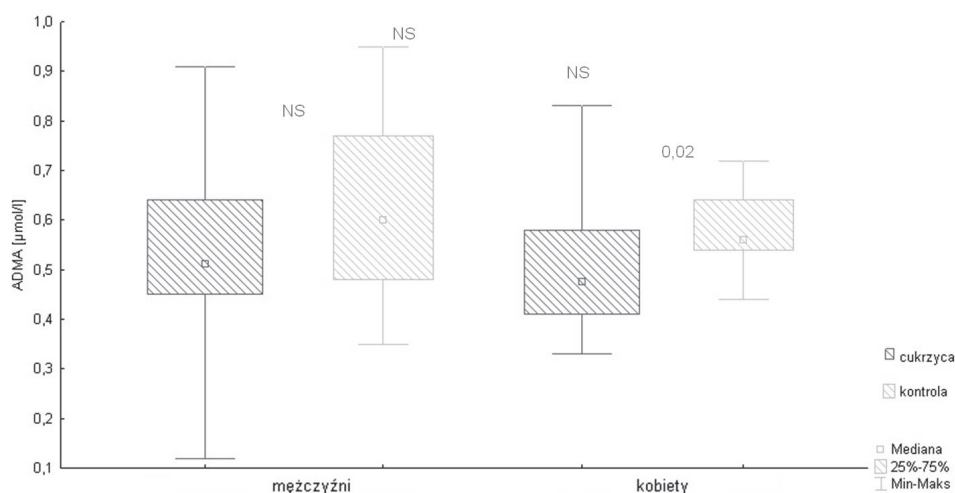
	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
Ciężka hipoglikemia <i>Severe hypoglycemia</i>	0,17	0,25	-	-
Lekkie hipoglikemie <i>Mild hypoglycemia</i>	0,24	0,10	-	-
Masa ciała[kg] <i>Body mass</i>	0,13	0,39	0,18	0,40
BMI [kg/m ²]	0,21	0,16	0,10	0,64
Obwód pasa [cm] <i>Waist circumference</i>	0,19	0,20	0,24	0,26
HbA1c [%] <i>Glicated hemoglobin</i>	-0,02	0,89	-0,08	0,70
Zapotrzebowanie na insulinę j/dobę <i>Circadian insulin demand [units]</i>	0,33	0,02	-	-
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	0,17	0,25	0,35	0,10
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uric</i>	0,21	0,15	0,29	0,19
Albumina w surowicy [g/l] <i>Albumin(serum)</i>	0,11	0,47	0,01	0,97
HDL [mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	-0,04	0,78	-0,49	0,02
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	0,26	0,07	0,42	0,04
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	0,34	0,02	0,49	0,02
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	0,35	0,02	0,30	0,16
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	0,49	0,001	0,20	0,35
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [μg alb./mg kreat.] <i>Albumin/creatinine ratio in urine [μg alb./mg creat.]</i>	0,14	0,34	0,17	0,44
ADMA [μmol/l]	0,15	0,32	0,03	0,90

Analiza, w badanych grupach, zależności pomiędzy stężeniem angiogeniny a wybranymi zmiennymi wykazała w grupie chorych na cukrzycę dodatnią korelację pomiędzy stężeniem angiogeniny a zapotrzebowaniem dobowym na insulinę, stężeniem cholesterolu całkowitego, trójglicerydów i fibrynogenu.

W grupie kontrolnej stężenie angiogeniny korelowało dodatnio ze stężeniem trójglicerydów i frakcji LDL cholesterolu zaś ujemnie z frakcją HDL cholesterolu całkowitego (tabela 17).

4.2.2. Asymetryczna dimetyloarginina

Analiza statystyczna wykazała, iż stężenie ADMA było znamienne wyższe w grupie kontrolnej w porównaniu do chorych na cukrzycę. Grupa chorych na cukrzycę charakteryzowała się istotnie niższym stężeniem ADMA również po wykluczeniu z analiz chorych z mikroangiopatią, nadciśnieniem tętniczym lub/i leczonych ACEI/ARB/ β -blokerami oraz palaczy.



Rycina 22. Zależność pomiędzy stężeniem ADMA a płcią w badanych grupach

Figure 22. Relationship between ADMA concentration and gender in studied groups

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w poziomie ADMA pomiędzy kobietami i mężczyznami w obu grupach. Również stężenie ADMA u mężczyzn chorych na cukrzycę nie różniło się znamienne od stężenia wykazywanego u mężczyzn z grupy kontrolnej.

Kobiety z grupy kontrolnej miały istotnie wyższy stężenie ADMA w porównaniu z chorymi na cukrzycę (rycina 22).

Analiza zależności pomiędzy stężeniem ADMA a wybranymi zmiennymi wykazała w grupie chorych na cukrzycę dodatnią korelację pomiędzy stężeniem ADMA a ilością lekkich hipoglikemii oraz stężeniem trójglicerydów. W grupie kontrolnej poziom ADMA korelował dodatnio z wielkością BMI (tabela 17).

Tabela 18. Porównanie zależności pomiędzy poziomem ADMA a wybranymi zmiennymi u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

Table 18. Comparison of the relationship between ADMA level and chosen parameters in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
Wiek [lata] <i>Age[years]</i>	0,05	0,73	0,21	0,33
Wiek zachorowania [rok życia] <i>Onset of the diabetes[age]</i>	0,14	0,34	-	-
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration [years]</i>	-0,13	0,38	-	-
ciężka hipoglikemia <i>Severe hypoglycemia</i>	-0,12	0,41	-	-
łagodna hipoglikemia <i>Mild hypoglycemia</i>	0,36	0,01	-	-
Masa ciała[kg] <i>Body mass</i>	0,10	0,50	0,40	0,053
BMI [kg/m ²]	0,04	0,76	0,42	0,04
Obwód pasa [cm] <i>Waist circumference</i>	0,12	0,42	0,38	0,07
HbA1c [%] <i>Glicated hemoglobin</i>	-0,05	0,73	-0,04	0,85
Zapotrzebowanie na insulinę j/dobę <i>Circadian insulin demand [units]</i>	0,18	0,22	-	-
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	-0,11	0,47	0,21	0,31
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uri</i>	0,07	0,65	0,10	0,66
Albumina w surowicy [g/l] <i>Albumin(serum)</i>	-0,16	0,29	-0,26	0,22
HDL[mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	-0,16	0,27	-0,15	0,49
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	0,22	0,14	0,06	0,80
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	0,36	0,01	0,19	0,38
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	0,09	0,53	0,20	0,36
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	0,01	0,96	0,09	0,67
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [μg alb./mg kreat.] <i>Albumin/creatinine ratio in urine [μg alb./mg creat.]</i>	0,06	0,71	-0,13	0,54
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	0,15	0,32	0,03	0,90

4.3. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórniego a parametrami opisującymi strukturę i funkcję naczyń

Oceniano zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórniego takimi jak: *coverage* i *distance* w warunkach podstawowych $\Delta_coverage$, $\Delta_distance$ i $R_coverage$, $R_distance$ a wartościami IMT oraz PWV w grupie chorych na cukrzycę i kontrolnej.

4.3.1. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa

W grupie kontrolnej analiza zależności pomiędzy parametrami charakteryzującymi mikrokrażenie skórne a strukturą dużych naczyń wykazała znamiennej, ujemną korelację pomiędzy grubością kompleksu błona środkowa – wewnętrzna a $B_distance$ ($r=-0,48$; $p=0,02$). Nie stwierdzono takiej zależności w grupie chorych na cukrzycę. Ponadto nie wykazano znamiennej zależności pomiędzy prędkością rozchodzenia się fali tętna a innymi parametrami opisującymi mikrokrażenie skórne w obu badanych grupach (tabela 19).

Tabela 19. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórniego a IMT w badanych grupach

Table 19. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and IMT value in study groups

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
$B_coverage$ [%]	-0,02	0,89	0,21	0,34
$B_distance$ [μ m]	-0,09	0,52	-0,48	0,02
$\Delta_coverage$ [%]	0,02	0,87	-0,04	0,84
$\Delta_distance$ [μ m]	0,15	0,30	0,24	0,27
$R_coverage$ [%]	0,02	0,87	-0,02	0,92
$R_distance$ [μ m]	0,15	0,31	0,24	0,26

4.3.2. Prędkość rozchodzenia się fali tętna

Badanie PWV wykonano jedynie u 43 chorych na cukrzycę i 22 osób z grupy kontrolnej. Było to spowodowane awarią aparatu typu *Complior*. Zarówno w grupie chorych na cukrzycę jak i w grupie kontrolnej nie wykazano istotnych zależności pomiędzy parametrami charakteryzującymi mikrokrażenie skórne i prędkością rozchodzenia się fali tętna (tabela 20).

Tabela 20. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórno a PWV w badanych grupach

Table 20. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and PWV value in study groups

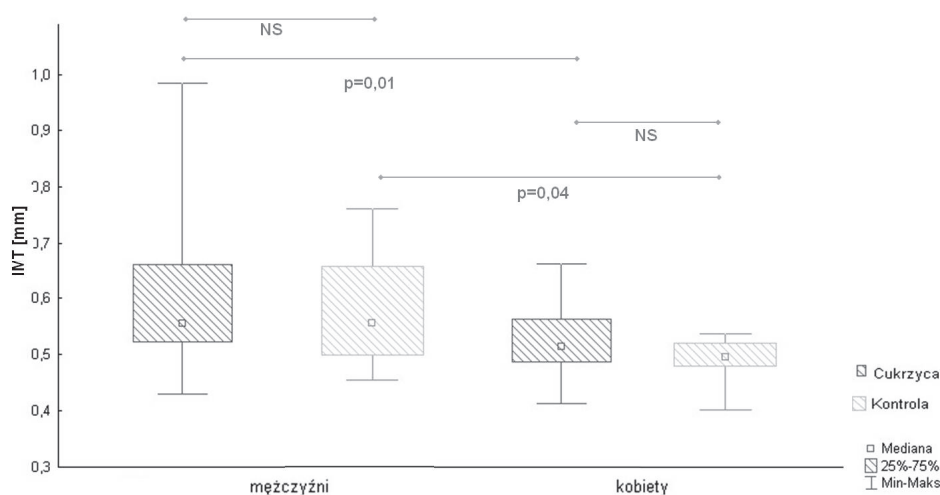
	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N= 43</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N= 22</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage [%]</i>	-0,06	0,70	-0,01	0,97
<i>B_distance [μm]</i>	0,02	0,89	-0,22	0,32
<i>Δ_coverage [%]</i>	0,28	0,07	0,20	0,37
<i>Δ_distance [μm]</i>	-0,26	0,10	0,10	0,67
<i>R_coverage [%]</i>	0,28	0,07	0,23	0,29
<i>R_distance [μm]</i>	-0,25	0,10	0,14	0,53

4.4. Analiza zależności pomiędzy parametrami struktury i funkcji naczyń a wybranymi zmiennymi

Oceniano zależności pomiędzy parametrami opisującymi strukturę i funkcję naczyń: IMT i PWV a wybranymi zmiennymi w grupie chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej. Należały do nich wiek, wiek zachorowania i czas trwania cukrzycy, parametry charakteryzujące wyrównanie metaboliczne, wybrane parametry będące czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Analizowano również zależność pomiędzy parametrami struktury i funkcji naczyń a danymi antropometrycznymi oraz w grupie na cukrzycę z nasileniem hipoglikemii w wywiadzie.

Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa

Mężczyźni w obu grupach charakteryzowali się statystycznie grubszy kompleksem błona wewnętrzna-środkowa niż kobiety. Mężczyźni na cukrzycę i bez, jak również kobiety na cukrzycę i bez nie różnili się istotnie pomiędzy sobą wartością IMT (rycina 23).



Rycina 23. Zależność pomiędzy IMT a płcią w badanych grupach
 Figure 23. The relationship between IMT and gender in studied groups

Analiza zależności pomiędzy IMT a wybranymi zmiennymi wykazała w grupie chorych na cukrzycę dodatnią korelację pomiędzy wiekiem metrykalnym oraz wiekiem początku choroby. Ponadto IMT korelowało z masą ciała i BMI.

W grupie kontrolnej również IMT korelowała z masą ciała i BMI, a ponadto z obwodem pasa. Wykazano również znamienne współzależności pomiędzy IMT a stężeniem trójglicerydów, fibrynogenu i ADMA (tabela 21).

Tabela 21. Ocena zależności pomiędzy IMT a wybranymi zmiennymi u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

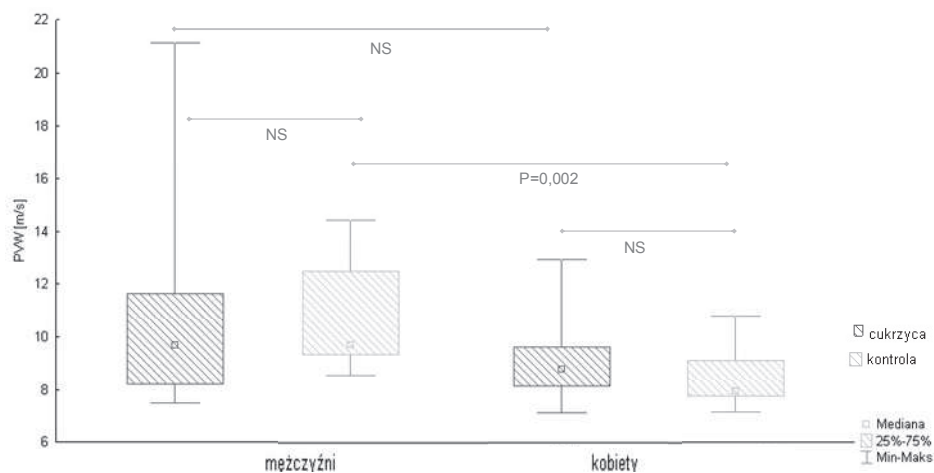
Table 21. Evaluation of the relationship between IMT and chosen parameters in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	0,58	<0,001	0,40	0,053
Wiek zachorowania [rok życia] <i>Onset of the diabetes [age]</i>	0,35	0,02	-	-
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration [years]</i>	0,12	0,41	-	-
Ciężkie hipoglikemie <i>Severe hypoglycemia</i>	0,06	0,68	-	-
Lekkie hipoglikemie <i>Mild hypoglycemia</i>	0,09	0,54	-	-
Masa ciała [kg] <i>Body mass</i>	0,39	0,01	0,44	0,03
BMI [kg/m ²]	0,36	0,01	0,48	0,02
Obwód pasa [cm] <i>Waist circumference</i>	0,31	0,03	0,50	0,01
HbA1c [%] <i>Glicated hemoglobin</i>	0,09	0,56	-0,07	0,73
Zapotrzebowanie na insulinę j/dobę <i>Circadian insulin demand [units]</i>	0,06	0,67	-	-
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	-0,03	0,86	0,30	0,15
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uric</i>	0,22	0,14	0,34	0,13
Albumina w surowicy [g/l] <i>Albumin(serum)</i>	-0,11	0,46	-0,14	0,52
HDL [mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	-0,05	0,71	-0,08	0,73
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	-0,09	0,55	0,01	0,97
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	0,10	0,51	0,51	0,01
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	-0,04	0,80	-0,26	0,23

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	0,19	0,20	0,49	0,02
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [μg alb./mg kreat.] <i>Albumin/creatinine ratio in urine [μg alb./mg creat.]</i>	-0,06	0,68	0,34	0,12
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	0,09	0,53	0,36	0,10
ADMA [μmol/l]	0,00	0,99	0,51	0,01

Prędkość rozchodzenia się fali tętna

Prędkość rozchodzenia się fali tętna (PWV) różniła się znacząco pomiędzy mężczyznami i kobietami w grupie kontrolnej. Mężczyźni na cukrzycę i bez, jak również kobiety na cukrzycę i bez nie różnili się istotnie pomiędzy sobą wartością PWV (rycina 24).



Rycina 24. Zależność pomiędzy wartością PWV a płcią w badanych grupach
Figure 24. The relationship between PWV value and gender in studied groups

Analiza zależności pomiędzy PWV a wybranymi zmiennymi wykazała w grupie chorych na cukrzycę dodatnią korelację pomiędzy PWV a wskaźnikiem albumina/ kre-

atynina, poziomem kwasu moczowego oraz wiekiem badanych, czasem trwania cukrzycy. Wartość PWV ujemnie korelowała ze stężeniem albuminy w surowicy w grupie chorych na cukrzycę (tabela 22).

W grupie kontrolnej wartość PWV korelowała dodatnio z wiekiem, masą ciała, BMI, obwodem pasa, CRP i stężeniem fibrynogenu. Zaś ujemną korelację stwierdzono pomiędzy PWV a stężeniem cholesterolu całkowitego (tabela 22).

Tabela 22. Ocena zależności pomiędzy PWV a wybranymi zmiennymi u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

Table 22. Evaluation of the relationship between PWV and chosen parameters in diabetic and control group

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=43</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=22</i>	
	r	p	r	p
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	0,35	0,02	0,44	0,04
Wiek zachorowania [rok życia] <i>Onset of the diabetes [age]</i>	-0,21	0,17	-	-
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration [years]</i>	0,53	<0,001	-	-
Ciężkie hipoglikemie <i>Severe hypoglycemia</i>	-0,19	0,22	-	-
Lekkie hipoglikemie <i>Mild hypoglycemia</i>	-0,05	0,73	-	-
Masa ciała [kg] <i>Body mass</i>	0,05	0,75	0,68	<0,001
BMI [kg/m ²]	0,21	0,17	0,62	<0,001
Obwód pasa [cm] <i>Waist circumference</i>	0,14	0,38	0,71	<0,001
HbA1c [%] <i>Glycated hemoglobin</i>	0,12	0,46	0,20	0,37
Zapotrzebowanie na insulinę j/dobę <i>Circadian insulin demand [units]</i>	-0,13	0,42	-	-
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	0,19	0,22	0,53	0,01
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Acid uric</i>	0,31	0,045	0,34	0,14
Albumina w surowicy [g/l] <i>Albumin (serum)</i>	-0,36	0,02	-0,22	0,33
HDL [mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	0,08	0,62	-0,15	0,50
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	-0,07	0,66	0,03	0,90

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=43</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=22</i>	
	r	p	r	p
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	-0,02	0,92	0,12	0,61
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	0,03	0,84	-0,47	0,03
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	-0,12	0,46	0,55	0,01
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [μg alb./mg kreat.] <i>Albumin/creatinine ratio in urine [μg alb./mg creat.]</i>	0,40	0,01	0,19	0,40
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	0,08	0,61	0,05	0,84
ADMA [μmol/l]	0,20	0,19	0,36	0,10

4.5. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórnego a ciśnieniem tętniczym

W tabelach 23-25 przedstawiono oceny zależności pomiędzy skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem tętniczym oraz ciśnieniem tętna a parametrami mikrokrażenia skórnego w grupach chorych na cukrzycę i kontrolnej.

Analiza zależności pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrażenie skórne a wartościami ciśnienia tętniczego nie wykazała istotnych korelacji w grupie chorych na cukrzycę. Jednakże u chorych na cukrzycę stwierdzono ujemną istotną korelację pomiędzy wartością ciśnienia tętna a *B_coverage* ($r=-0,36$, $p=0,03$).

W grupie kontrolnej wykazano znamiennej statystycznie korelację pomiędzy skurczowym ciśnieniem tętniczym a *R_coverage* ($r=0,41$, $p=0,047$), a także dodatnie korelacje ciśnienia tętna z *Δ_coverage* ($r=0,43$, $p=0,04$) i *R_coverage* ($r=0,44$, $p=0,03$) (tabele 23-25).

Tabela 23. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a skurczowym ciśnieniem tętniczym w grupie chorych na cukrzycę i kontrolnej

Table 23. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and systolic blood pressure in diabetes and control groups

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage [%]</i>	-0,17	0,20	-0,23	0,28
<i>B_distance [μm]</i>	-0,14	0,34	0,26	0,21
<i>Δ_coverage [%]</i>	0,27	0,07	0,39	0,06
<i>Δ_distance [μm]</i>	-0,07	0,62	-0,29	0,17
<i>R_coverage [%]</i>	0,27	0,06	0,41	0,047
<i>R_distance [μm]</i>	-0,09	0,54	-0,25	0,23

Tabela 24. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a rozkurczowym ciśnieniem tętniczym w grupie chorych na cukrzycę i kontrolnej

Table 24. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and diastolic blood pressure in diabetes and control groups

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N=48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N=24</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage [%]</i>	0,07	0,63	-0,12	0,55
<i>B_distance [μm]</i>	-0,14	0,33	0,16	0,46
<i>Δ_coverage [%]</i>	0,10	0,50	0,18	0,40
<i>Δ_distance [μm]</i>	0,05	0,72	-0,19	0,39
<i>R_coverage [%]</i>	0,11	0,48	0,19	0,38
<i>R_distance [μm]</i>	0,03	0,83	-0,20	0,36

Tabela 25. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórno a ciśnieniem tętna w grupie chorych na cukrzycę i kontrolnej

Table 25. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and pulse pressure in diabetes and control groups

	Chorzy na cukrzycę <i>Diabetes patients, N= 48</i>		Grupa kontrolna <i>Control group, N= 24</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage [%]</i>	-0,31	0,03	-0,20	0,35
<i>B_distance [μm]</i>	-0,01	0,97	0,29	0,17
<i>Δ_coverage [%]</i>	0,25	0,09	0,43	0,04
<i>Δ_distance [μm]</i>	-0,16	0,28	-0,32	0,12
<i>R_coverage [%]</i>	0,24	0,10	0,44	0,02
<i>R_distance [μm]</i>	-0,12	0,27	-0,27	0,20

4.6. Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórno a czasem trwania, wiekiem zachorowania i stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy

W grupie chorych na cukrzycę parametry charakteryzujące mikrokrażenie skórne: *B_distance*, *Δ_coverage*, *R_coverage* korelowały ujemnie z wiekiem zachorowania, zaś *Δ_distance* i *R_distance* korelowały dodatnio z wiekiem zachorowania. Liczba lekkich hipoglikemii korelowała istotnie dodatnio z *B_distance* zaś ujemnie z *B_coverage*. Ponadto wykazano znamienne ujemną korelację pomiędzy *Δ_distance* i *R_distance* a stężeniem cholesterolu frakcji LDL.

Nie wykazano zależności między czasem trwania cukrzycy a żadnym parametrem opisującym mikrokrażenie skórne (tabela 26).

W grupie kontrolnej parametry charakteryzujące mikrokrażenie skórne nie korelowały istotnie ze stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i HDL jak również ze stężeniem trójglicerydów, poziomem HbA1c czy wiekiem badanych (tabela 27).

Tabela 26. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenie skórno z czasem trwania, początkiem choroby i stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy

Table 26. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and diabetes duration, onset of the diabetes and metabolic control

	B_coverage			B_distance			Δ _coverage			Δ _distance			R_coverage			R_distance		
	r	p		r	p		r	p		r	p		r	p		r	p	
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	0,25	0,09		-0,30	0,04		-0,26	0,07		0,24	0,10		-0,26	0,07		0,26	0,08	
Początek choroby [rok życia] <i>Onset of the diabetes [age]</i>	0,27	0,06		-0,36	0,01		-0,39	0,01		0,43	0,002		-0,38	0,01		0,42	0,003	
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration [years]</i>	-0,05	0,76		0,14	0,33		0,16	0,27		-0,26	0,07		0,15	0,30		-0,24	0,09	
Cieężkie hipoglikemie <i>Severe hypoglycemia</i>	0,04	0,79		0,06	0,67		0,07	0,62		-0,08	0,58		0,07	0,66		-0,06	0,66	
Lekkie hipoglikemie <i>Mild hypoglycemia</i>	-0,29	0,045		0,34	0,02		0,03	0,82		-0,23	0,11		0,04	0,79		-0,25	0,09	
HbA1c [%] <i>Glycated hemoglobin</i>	0,10	0,49		0,04	0,81		-0,01	0,96		-0,08	0,59		-0,01	0,97		-0,08	0,58	
Zapotrzebowanie na insulinę j/dobę <i>Circadian insulin demand [units]</i>	0,11	0,44		-0,07	0,61		-0,18	0,22		-0,07	0,65		-0,16	0,28		-0,05	0,72	
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	0,01	0,97		0,02	0,88		0,05	0,73		-0,25	0,09		0,05	0,76		-0,25	0,09	
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	0,14	0,36		-0,26	0,08		-0,15	0,32		0,05	0,72		-0,15	0,32		0,06	0,67	
HDL [mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	0,01	0,94		0,07	0,63		0,06	0,67		-0,03	0,84		0,06	0,69		-0,04	0,78	
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	0,00	0,98		0,02	0,90		0,09	0,55		-0,31	0,03		0,09	0,57		-0,30	0,04	

Tabela 27. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenie skórno a stopniem wyrównania metabolicznego w grupie kontrolnej
Table 27. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and metabolic control in control group

	B_coverage			B_distance			Δ_coverage			Δ_distance			R_coverage			R_distance		
	r	p		r	p		r	p		r	p		r	p		r	p	
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	-0,15	0,48		-0,34	0,10		-0,23	0,28		0,37	0,07		-0,22	0,31		0,40	0,054	
HbA1c [%] <i>Glycated hemoglobin</i>	-0,13	0,54		0,19	0,38		0,15	0,48		-0,16	0,46		0,16	0,47		-0,14	0,51	
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	0,02	0,91		0,02	0,93		0,01	0,98		-0,02	0,93		0,002	0,99		0,003	0,99	
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglycerides</i>	-0,06	0,80		-0,15	0,49		0,19	0,38		0,05	0,82		0,21	0,34		0,07	0,74	
HDL [mg/dl] <i>High Density Lipoproteins</i>	0,05	0,83		0,36	0,09		-0,09	0,67		-0,21	0,34		-0,10	0,65		-0,20	0,35	
LDL [mg/dl] <i>Low Density Lipoproteins</i>	-0,07	0,76		-0,02	0,93		0,03	0,88		-0,02	0,92		0,03	0,88		0,01	0,97	

4.7. Ocena zależności między występowaniem mikroangiopatii a wybranymi zmiennymi

Analiza zależności pomiędzy występowaniem mikroangiopatii zarówno klasycznej jak i skórnej a wiekiem badanych chorych, czasem trwania cukrzycy i wiekiem zachorowania wykazała, że występowanie neuropatii i retinopatii związane jest z dłuższym czasem trwania choroby; retinopatia natomiast związana jest z wiekiem zachorowania. Podobnie częstość występowania mikroangiopatii skórnej korelowała dodatnio z wiekiem zachorowania (tabela 28). Mikroangiopatię skórną zdefiniowano jako brak reaktywności naczyń skórnych w odpowiedzi na L-argininę wyrażaną poprzez $\Delta_coverage < 0$ lub $\Delta_coverage = 0$.

Analiza wyników wykazała znamienne większą PWV u chorych z retinopatią i neuropatią.

Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa, stężenie kwasu moczowego i CRP nie różniły się istotnie w podgrupach z mikroangiopatią lub bez mikroangiopatii. Pacjenci z mikroalbuminurią charakteryzowali się wyższym stężeniem ADMA, zaś z nefropatią jawną mieli wyższe stężenie angiogeniny w porównaniu do chorych bez angiopatii. Chorzy z mikroangiopatią skórną charakteryzowali się istotnie wyższym stężeniem fibrynogenu w porównaniu do osób bez angiopatii (tabela 29).

U chorych na cukrzycę bez mikroangiopatii skórnej oraz u chorych na cukrzycę z mikroangiopatią skórną nie stwierdzono znamiennych różnic pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego i ciśnienia tętna.

Tabela 28. Ocena zależności pomiędzy występowaniem mikroangiopatii a wiekiem, czasem trwania choroby i początkiem choroby

Table 28. Evaluation of the relationship between the microangiopathy occurrence, age, disease duration and age of onset

Mikroangiopatia <i>Microangiopathy</i>	Wiek <i>Age</i>	p	Czas trwania cukrzycy <i>Diabetes dura- tion</i>	p	Wiek Zachorowania <i>Onset of the diabetes</i>	p
Retinopatia / <i>Retinopathy</i>						
Tak (n=22)	40,0±7,1	0,93	23,8±6,0	<0,001	16,2±6,5	0,001
Nie (n=26)	39,7±5,7		17,1±5,8		22,6±6,7	
Neuropatia / <i>Neuropathy</i>						
Tak (n=13)	42,3±8,5	0,24	25,1±6,2	0,003	17,2±9,0	0,17
Nie (n=35)	38,9±5,1		18,3±6,0		20,6±6,5	
Mikroalbuminuria / <i>Microalbuminuria</i>						
Tak (n=5)	42,9±8,3	0,39	23,9±11,8	0,45	19,0±12,3	0,49
Nie (n=43)	39,5±6,0		19,7±6,0		19,7±6,7	
Nefropatia jawna / <i>Overt nephropathy</i>						
Tak (n=8)	41,7±6,7	0,33	23,0±8,7	0,32	18,8±11,3	0,42
Nie (n=40)	39,5±6,2		19,6±6,2		19,8±6,4	
Mikroangiopatia skórna / <i>Skin microangiopathy</i>						
Tak (n=23)	41,7±7,1	0,07	19,3±6,8	0,52	22,4±7,2	0,02
Nie (n=25)	38,1±4,9		21,0±6,7		17,1±6,5	

Tabela 29. Ocena zależności pomiędzy występowaniem mikroangiopatii a wybranymi zmiennymi
Table 29. Evaluation of the relationship between the microangiopathy occurrence and selected variables

Mikroangiopatia <i>Microangiopathy</i>	PWV	p	IMT	p	ADMA	p	Angiogenina <i>Angiogenin</i>	p	Fibrynogen <i>Fibrinogen</i>	p	Kwas Moczowy <i>Acid uric</i>	p	CRP <i>C-reactive protein</i>	p
Retinopatia / <i>Retinopathy</i>														
Tak (n=22)	9,46 (n=21) (7,46–21,12)	0,006	0,54 (0,43–0,77)	0,74	0,46 (0,36–0,91)	0,96	431,3±131,7	0,80	2,99 (n=20) (2,10–6,70)	0,66	3,2 (n=21) (2,3–5,9)	0,73	2,25 (0,3–41,1)	0,07
Nie (n=26)	8,30 (n=22) (7,12–13,42)		0,54 (0,41–0,99)		0,50 (0,12–0,83)		469,0±219,6		2,96(n=25) (2,12–6,68)		3,3 (1,7–5,9)		1,26 (0,3–7,3)	
Neuropatia / <i>Neuropathy</i>														
Tak (n=13)	10,15 (n=12) (7,99–21,12)	0,02	0,56 (0,46–0,99)	0,13	0,48 (0,40–0,91)	0,82	451,9±132,8	0,48	2,96 (n=12) (2,63–6,70)	0,39	3,55 (n=12) (2,3–5,9)	0,42	1,60 (0,3–41,1)	0,68
Nie (n=35)	8,66 (n=31) (7,12–13,42)		0,53 (0,41–0,73)		0,48 (0,12–0,83)		451,6±201,1		3,03 (n=33) (2,10–6,70)		3,2 (1,7–5,9)		1,60 (0,3–18,1)	
Mikroalbuminuria / <i>Microalbuminuria</i>														
Tak (n=5)	11,50 (n=4) (8,66–13,43)	0,07	0,56 (0,54–0,67)	0,14	0,64 (0,54–0,91)	0,006	448,4±74,1	0,47	2,95 (2,36–3,1)	0,71	3,95 (n=4) (3,2–4,7)	0,11	1,9 (0,3–3,3)	0,43
Nie (n=43)	8,86 (n=39) (7,12–21,12)		0,53 (0,41–0,99)		0,47 (0,12–0,83)		452,1±193,0		3,0(n=40) (2,1–6,7)		3,2 (1,7–5,9)		1,6 (0,4–41,1)	
Nefropatia jawna / <i>Overt nephropathy</i>														
Tak (n=8)	8,70 (n=7) (7,12–13,43)	0,88	0,52 (0,46–0,57)	0,17	0,53 (0,33–0,67)	0,67	613,4±259,8	0,03	3,03 (n=7) (2,36–3,70)	0,41	2,7 (n=7) (2,3–5,9)	0,37	2,80 (0,44–41,1)	0,22
Nie (n=40)	8,97 (n=36) (7,34–21,12)		0,55 (0,41–0,99)		0,48 (0,12–0,91)		419,4±148,8		2,94 (n=38) (2,1–6,7)		3,30 (1,7–5,9)		1,54 (0,3–39,3)	
Mikroangiopatia skórna / <i>Skin microangiopathy</i>														
Tak (n=23)	9,63 (n=20) (7,12–21,12)	0,19	0,54 (0,41–0,99)	0,70	0,55 (0,33–0,91)	0,16	504,0±234,7	0,26	3,10 (2,17–6,7)	0,03	3,2 (1,7–5,2)	0,44	1,6 (0,3–39,3)	0,97
Nie (n=25)	9,23 (n=23) (7,34–13,43)		0,55 (0,43–0,73)		0,46 (0,12–0,83)		403,6±102,9		2,66 (n=22) (2,1–3,6)		3,15 (n=24) (1,9–5,9)		1,6 (0,4–41,1)	

4.8. Porównanie podgrup chorych na cukrzycę

Analiza mediany wartości $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$ w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na parametry opisujące przebieg kliniczny cukrzycy nie wykazała różnic $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$ w podgrupach chorych wyodrębnionych ze względu na: obecność retinopatii, neuropatii, jawnej nefropatii, mikroalbuminurii, nadciśnienia tętniczego czy hiperlipidemii. Ponadto, nie wykazano różnic wielkości $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$ pomiędzy podgrupami wydzielonymi ze względu na stosowane leczenie ACEI (inhibitorami konwertazy angiotensyny), ARBs (blokerami receptora dla angiotensyny) czy β -blokerami jak również wydzielonych ze względu na stężenie HbA1c równe 6,5%. Jednakże wykazano różnice dla $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$, gdy wydzielono podgrupy ze względu na medianę wieku zachorowania oraz tylko dla $\Delta_coverage$ dla podziału dokonanego ze względu na medianę wieku metrykalnego oraz leczenie statynami. Dalsze analizy prowadzono w podgrupach chorych wydzielonych ze względu na medianę wieku zachorowania (19 lat) (tabela 30). Chorzy na cukrzycę, którzy zachorowali przed 19 rokiem życia stanowili podgrupę A, po 19 roku życia – podgrupę B. Grupa kontrolna stanowiła grupę C.

Tabela 30. Wpływ wybranych zmiennych na reaktywność mikrokrążenia skórno w cukrzycy
 Table 30. The influence of chosen parameters on the skin microcirculation reactivity

	Tak/ Nie	$\Delta_coverage$ [%]	p	$\Delta_distance$ [μ m]	p
Płeć męska, n=22, <i>Males (T)</i> Płeć żeńska, n=26, <i>Women (N)</i>	T	-0,045 (-6–11,6)	0,9	13,5 (-66,8–40,8)	0,07
	N	1,4 (-0,05–0,08)		-4,17 (-56,5–50,0)	
Początek choroby powyżej 19 rż., n=23 <i>Onset of diabetes after 19 years</i>	T	-1,2 (-5,1–11,6)	0,02	14,51 (-66,8–50)	0,02
	N	1,4 (-6–8,1)		-5,07 (-56,5–40,8)	
Czas trwania cukrzycy >19,7 lat, n=24 <i>Duration of Diabetes > 19.7 years</i>	T	-0,01(-6–8,06)	0,83	2,2 (-56,5–35,9)	0,31
	N	0,03(-5,1–11,6)		11,2 (-66,8–50,0)	
Mediana wieku metrykalnego >37,9 lat, n=24 <i>Median of age > 37.9 years</i>	T	-0,9 (-5,1–3,95)	0,04	9,72 (-29,9–41, 6)	0,13
	N	1,27 (-6–11,6)		-3,38 (-66,8–50,0)	
HbA1c >6,5 %, n=42 <i>Glycated hemoglobin > 6.5 %</i>	T	-0,16 (-6–11,6)	0,38	9,3 (-66,8–41, 6)	0,49
	N	1,9 (-3,7–5,9)		-10,83 (-46,3–50,0)	
Nadciśnienie tętnicze, n=8 <i>Hypertension</i>	T	0,6 (-4,8–8,1)	0,8	2,2 (-56,5–16,3)	0,91
	N	-0,16 (-6–11,6)		9,51 (-66,8–50,0)	
Hiperlipidemia, n=40 <i>Hyperlipidemia</i>	T	0,03 (-6–11,6)	0,14	6,15 (-66,8–50,0)	0,15
	N	0,36 (-3,9–2,1)		15,58 (-13,4–40,8)	
Neuropatia, n=13 <i>Neuropathy</i>	T	-0,6 (-5,1–8,1)	0,6	-2,5 (-56,5–41,6)	0,79
	N	0,06 (-6–11,6)		9,5 (-66,8–50,0)	
Retinopatia, n=22 <i>Retinopathy</i>	T	-0,15 (-6–11,6)	0,9	7,6 (-66,8–40,8)	0,95
	N	0,03 (-5,1–4,4)		9,5 (-52,9–50,0)	
Jawna nefropatia, n=8 <i>Overt nephropathy</i>	T	-0,24 (-5,1–8,1)	0,9	-3, 9 (-56,5–41, 6)	0,95
	N	0,03 (-6–11,6)		9,72 (-66,8–50,0)	
Mikroalbuminuria, n=5 <i>Microalbuminuria</i>	T	-0,33 (-2,4–2,7)	0,9	5,43 (-15,2–12,5)	1
	N	0,06 (-6–11,6)		9,5 (-66,8–50,0)	
Leczenie ACEI, ARB lub β -blokery, n=8 <i>Treatment ACEI, ARB lub β-blockers</i>	T	0,6 (-4,8–8,1)	0,8	2,2 (-56,5–16,3)	0,64
	N	-0,16 (-6–11,6)		9,51(-66,8–50,0)	
Leczenie statynami, n=5 <i>Statin treatment</i>	T	-1,66 (-4,8– -0,7)	0,02	16,26 (-5,1–39,4)	0,14
	N	0,38 (-6–11,6)		8,36 (-66,8–50,0)	
Palenie tytoniu, n=10 <i>Cigarette smoking</i>	T	-1,3 (-6–11,6)	0,79	-3,89 (-66,8–41,6)	0,19
	N	0,08 (-4,8–8,1)		9,3 (-56,5–50,0)	

Wartość Tak/Nie wskazują na zgodność lub jej brak z kryterium podziału w pierwszej kolumnie; $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$ przedstawiono jako medianę i zakres; p – współczynnik istotności statystycznej dla porównań za pomocą testu U Manna-Whitney'a.

4.8.1. Badanie podmiotowe i przedmiotowe

Podgrupy chorych na cukrzycę wydzielone ze względu na medianę początku choroby (19 rż.) nie różniły się znacząco statystycznie częstością regularnej aktywności fizycznej, paleniem tytoniu ($p=0,12$), stosowanym leczeniem oraz zapotrzebowaniem dobowym na insulinę (tabela 31).

Tabela 31. Porównanie danych z badania podmiotowego w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę początku choroby

Table 31. Comparison of medical history data in subgroups of patients created according to the median age of onset of diabetes

	Podgrupa A, N=25 Subgroup A		Podgrupa B, N=23 Subgroup B		p
	n	%	n	%	
Zapotrzebowanie na insulinę jednostki / dobę* <i>Circadian insulin demand [units]</i>	55,4±17,6		58,3±16,6		0,56
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	5		7	30,4	0,62
Leczenie: ACEI, ARB, B-blokery <i>Treatment: ACEI, ARB, B-blockers</i>	5	20	3	13	0,80
Antykoncepcja hormonalna <i>Oral contraceptives</i>	1	4	1	4,3	0,51
Palenie tytoniu <i>Cigarette smoking</i>					0,12
Niepalący <i>nonsmoker</i>	20	80	12	52,2	
Palący obecnie <i>current smoker</i>	3	12	7	30,4	
Palenie w wywiadzie <i>previous smoker</i>	2	8	4	17,4	

* Średnia±SD/Mean±SD

Analiza danych antropometrycznych podgrup chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę początku choroby wykazała, że pacjenci, którzy zachorowali przed 19 rż. (podgrupa A) są istotnie młodsi ($p=0,008$) i chorują dłużej niż chorzy, którzy zachorowali na cukrzycę po 19 rż. ($p<0,001$). Pacjenci, którzy zachorowali po 19 rż. (podgrupa B) mają wyższy wzrost i większą masę ciała. Jednakże wskaźnik BMI nie różnił się istotnie pomiędzy podgrupami A i B ($p=0,45$) (tabela 32).

Tabela 32. Porównanie podstawowych danych opisowych pomiędzy podgrupami chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę początku choroby

Table 32. Comparison of basic characteristics between subgroups of diabetes patients created according to the median age of onset of diabetes.

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>		p
	Średnia <i>Mean</i>	SD	Średnia <i>Mean</i>	SD	
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	37,6	4,6	42,3	7,0	0,008
Mężczyźni, n (%) <i>Males, n (%)</i>	8 (32)		14 (61)		0,09
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Duration of Diabetes [years]</i>	23,6	5,2	16,5	6,3	<0,001
Wiek zachorowania [rok życia] <i>Diabetes onset [age]</i>	14	3,8	25,8	4,7	def.
Wzrost [cm] <i>Height</i>	168,3	9,1	176,0	9,6	0,007
Masa ciała [kg] * <i>Body mass</i>	69	55-98	81,5	61-99	0,03
	Ilość/number	%	Ilość/number	%	
Otyłość <i>Obesity</i>	3 (12)	12	3 (13)	13	0,74
BMI [kg/m ²]					0,45
BMI <25	14	56	10	43,5	
30 ≥ BMI > 25	10	40	10	43,5	
BMI > 30	1	4	3	13	

* mediana (zakres) /median (range)

4.8.2. Ciśnienie tętnicze

Analizując podgrupy chorych na cukrzycę wydzielone ze względu na początek choroby nie stwierdzono pomiędzy podgrupami istotnych różnic wartości ciśnienia tętniczego i ciśnienia tętna (tabela 33). Częstość występowania nadciśnienia tętniczego nie różniła się pomiędzy grupami (p=0,80).

Tabela 33. Porównanie wartości ciśnienia tętniczego i ciśnienia tętna w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę początku choroby

Table 33. Comparison of blood pressure and pulse pressure value in subgroups of diabetes patients created according to median age of onset of diabetes.

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>		p
	Średnia <i>Mean</i>	SD	Średnia <i>Mean</i>	SD	
Skurczowe ciśnienie tętnicze <i>Systolic blood pressure</i> [mmHg]	129,3	20,2	137	18	0,17
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze <i>Diastolic blood pressure</i> [mmHg]	65,04	12,4	69,9	15,8	0,24
Ciśnienie tętna <i>Pulse pressure</i> [mmHg]	64,24	15,5	67,0	16,0	0,54

4.8.3. Lipidogram

Analiza wyników w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę początku choroby wykazano, iż pacjentów, którzy zachorowali na cukrzycę po 19 rż. charakteryzuje istotnie wyższe stężenie trójglicerydów w surowicy w porównaniu z osobami, które zachorowały przed 19 rż. (tabela 34).

W podgrupie A 2 chorych (8%) przyjmowało statynę zaś w podgrupie B 3 osoby były leczone statyną (13%). Częstość przyjmowania statyn nie różniła się istotnie statystycznie pomiędzy omawianymi podgrupami ($p=0,92$).

Tabela 34. Porównanie lipidogramu w badanych podgrupach wydzielonych ze względu na medianę początku choroby

Table 34. Comparison of lipids in subgroups of diabetes patients created according to median age of onset of diabetes.

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>		p
	Mediana <i>Median</i>	Zakres <i>Range</i>	Mediana <i>Median</i>	Zakres <i>Range</i>	
Cholesterol całkowity [mg/dl] <i>Total cholesterol</i>	183	161–232	179	130–245	0,67
Triglicerydy [mg/dl] <i>Triglyceride</i>	58	39–380	75	38–299	0,03
HDL [mg/dl] <i>High Density Cholesterol</i>	62	33–111	54	28–115	0,17
LDL [mg/dl] <i>Low Density Cholesterol</i>	112,5	49–154	107	60–152	0,51

4.8.4. Pozostałe analizy biochemiczne

Analizując podgrupy chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę początku choroby wykazano, iż pacjentów, którzy zachorowali na cukrzycę po 19 rż. charakteryzuje znamienne wyższe stężenie albuminy w surowicy w porównaniu

z osobami, które zachorowały przed 19 rż. ($p=0,04$). Pozostałe parametry nie wykazywały znamiennych różnic pomiędzy wydzielonymi podgrupami (tabela 35).

Tabela 35. Porównanie wyników badań laboratoryjnych w podgrupach chorych na cukrzycę podzielonych ze względu na medianę wieku zachorowania

Table 35. Comparison lab results in subgroups of patients with type 1 diabetes created according to median age of onset of diabetes.

	Podgrupa A, N=25 Subgroup A		Podgrupa B, N=23 Subgroup B		p
	Mediana Median	Zakres Range	Mediana Median	Zakres Range	
HbA1c [%] <i>Glycated hemoglobin</i>	7,99	6,15–11,79	7,66	5,95–9,09	0,38
Hemoglobina [g/dl]* <i>Hemoglobin</i>	13,4 (1,5)	11–16,3	13,8 (1,96)	9,2–16,9	0,43
Hematokryt [%]* <i>Hematocrit</i>	40 (3,7)	34–48	41,91 (5,12)	31–50	0,14
CRP [mg/l] <i>C-reactive protein</i>	1,9	0,3–41,1	1,58	0,3–39,31	0,42
Kwas moczowy [ng/dl] <i>Uric acid</i>	2,95	1,9–5,9	3,50	1,7–5,9	0,08
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	3,03	2,1–3,78	2,94	2,17–6,68	0,90
Albumina w surowicy [g/l]* <i>Albumin(serum)</i>	39,7 (4,1)	30–46	42,0	38–49	0,04
Kreatynina w surowicy [mg/dl] <i>Creatinine(serum)</i>	0,79	0,65–1,17	0,82	0,62–1,01	0,17
Wskaźnik albumina/ kreatynina w moczu [$\mu\text{g alb./mg kreat.}$]* <i>Albumin/creatinine ratio in urine [$\mu\text{g alb./mg creat.}$]</i>	186,4 (538,7)	2,3–2506,9	27,03 (32,8)	1,17–99,13	0,17
Angiogenina [ng/ml] <i>Angiogenin</i>	428,5	228,6–999,8	392,5	199,8–999,8	0,76
ADMA [$\mu\text{mol/l}$]	0,513	0,149	0,505	0,135	0,85

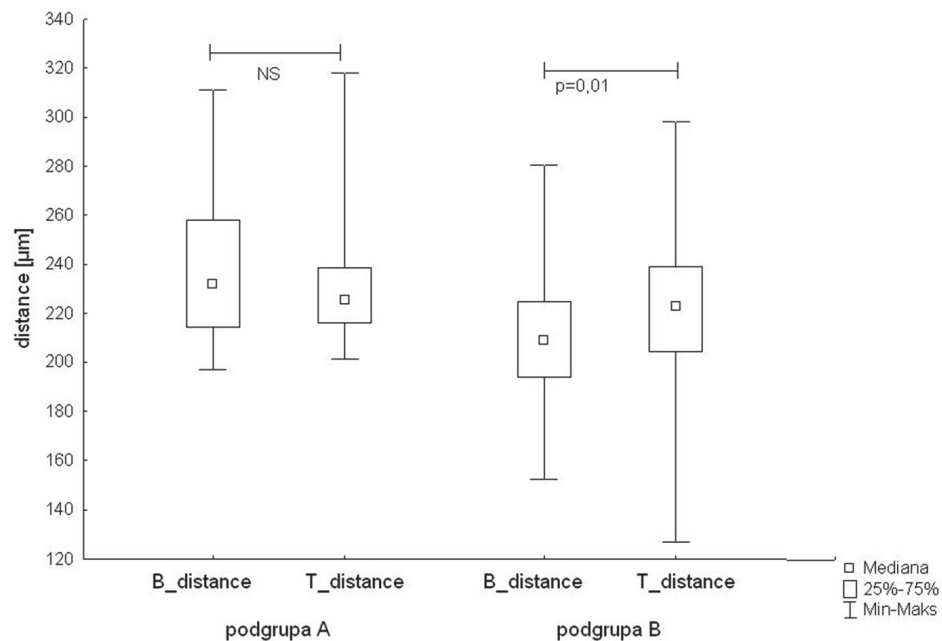
* Średnia (SD)/Mean (SD)

4.8.5. Mikrokrążenie skórne

Gdy grupa chorych na cukrzycę została podzielona ze względu na medianę początku choroby (19 lat) analizy wykazały, że zmiany zależne od infuzji L-argininy były istotne dla zmiennej odległości pomiędzy kapilarami – *distance* – w podgrupie chorych z późniejszym początkiem choroby (podgrupa B) ($p=0,01$) (rycina 25), natomiast nie stwierdzono różnic dla *coverage* (rycina 26).

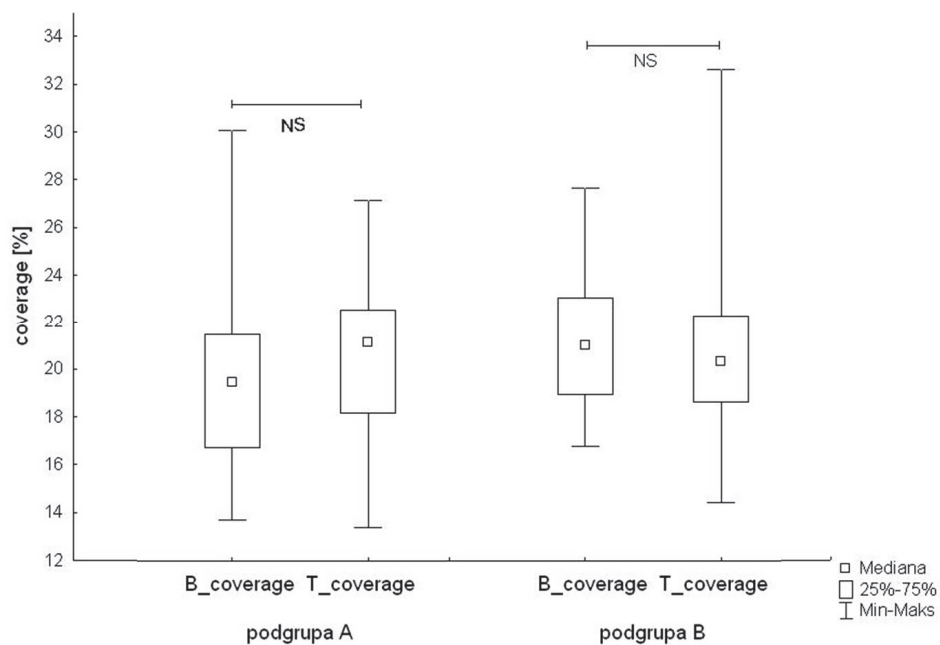
Wykazano również istotnie niższą wartość $\Delta_{coverage}$ i istotnie wyższą statystycznie wartość $\Delta_{distance}$ u chorych z początkiem choroby po 19 rż. (podgrupa B) w porównaniu do chorych, którzy zachorowali przed 19 rż. (podgrupa A) (tabela 36, rycina

27). Reaktywność mikrokrażenia skórno opisywana poprzez $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$ nie różniła się pomiędzy grupą chorych z wcześniejszym początkiem choroby (podgrupa A) i grupą kontrolną. Parametry te różniły się statystycznie pomiędzy grupą chorych z późniejszym początkiem choroby (podgrupa B) i grupą kontrolną.



Rycina 25. Porównanie wartości *distance* przed i po infuzji L-argininy w podgrupach chorych na cukrzycę

Figure 25. Comparison of *distance* before and after L-arginine infusion in subgroups of diabetic patients

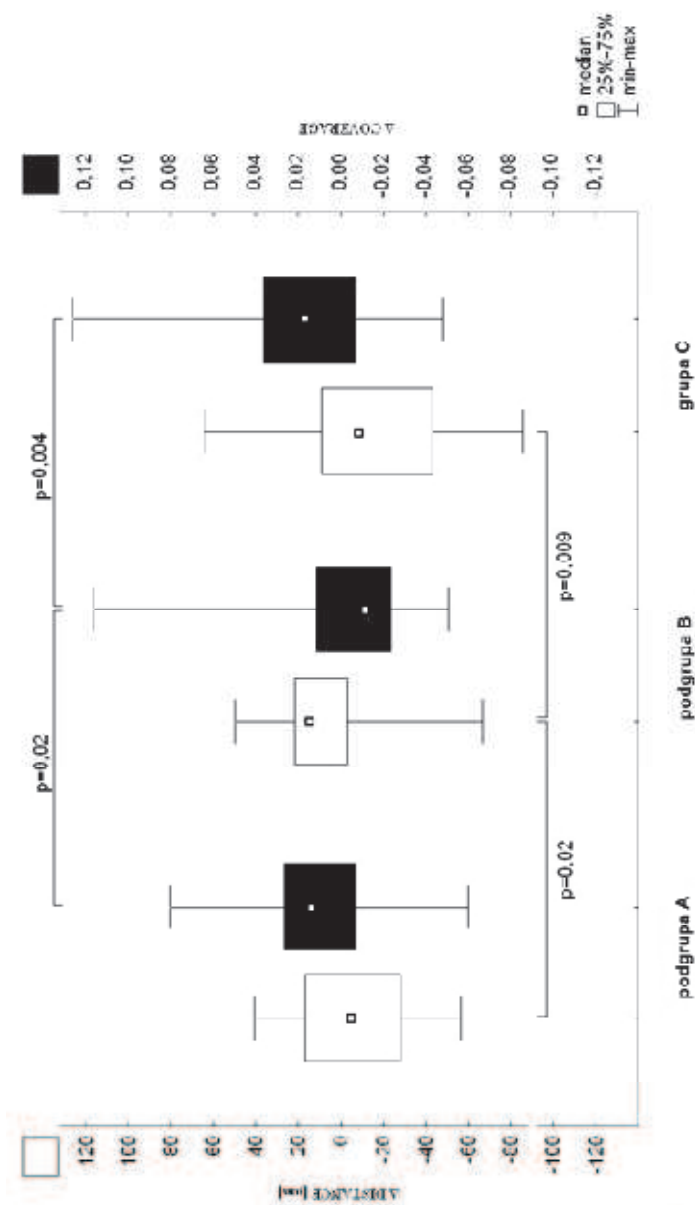


Rycina 26. Porównanie wartości *coverage* przed i po infuzji L-argininy w podgrupach chorych na cukrzycę
Figure 26. Comparison of coverage before and after L-arginine infusion in subgroups of diabetic patients

Tabela 36. Porównanie parametrów mikrokążenia skórno w grupie kontrolnej oraz w podgrupach chorych na cukrzycę wyszczególnionych ze względu na medianę początku choroby w warunkach podstawowych oraz po infuzji L-argininy

Table 36. The comparison of the skin capillary data in control group and subgroups of patients created according to the median age of onset of diabetes at baseline and after L-arginine infusion

Parametr Parameter	Grupa kontrolna Control group-C	Podgrupa A, N=25 Subgroup A	Podgrupa B, N=23 Subgroup B	p		
	mediana (zakres) median (range)			A vs B	A vs C	B vs C
Przed infuzją L-argininy / Before L-arginine infusion						
B_N [Liczba kapilar] [number of capillaries]	15,7 (9,75–30)	14,2 (9–17,5)	14,6 (9–21,8)	0,21	0,08	0,96
B_coverage [%]	18,1 (13–24)	19,6 (14–30)	21 (17–28)	0,07	0,39	0,001
B_distance [µm]	240 (185–356)	232 (197–311)	209 (153–280)	0,02	0,32	0,001
Po infuzji L-argininy / After L-arginine infusion						
T_N [Liczba kapilar] [number of capillaries]	16,0 (10,3–22,6)	14,6 (9–22)	14,6 (9–21,8)	0,93	0,02	0,03
T_coverage [%]	19,9 (15–32)	21,1 (13–27)	20,3 (14–33)	0,71	0,30	0,46
T_distance [µm]	242,5 (181–341)	225,6 (201–318)	223,1 (127–298)	0,50	0,37	0,30
Reaktywność mikrokrażenia skórno / Skin microcirculation reactivity						
Δ_coverage [%]	2 (-5–13)	1,4 (-6–8)	-1,2 (-5–12)	0,02	0,58	0,004
Δ_distance [µm]	-8,7 (-86–64)	-5,1 (-57–41)	14,5 (-67–50)	0,02	0,47	0,009
R_coverage [%]	10 (-20–70)	5 (-20–50)	-5 (-20–60)	0,02	0,47	0,005
R_distance [µm]	-0,03(-0,29–0,34)	-0,02 (-0,2–0,2)	0,06 (-0,35–0,29)	0,03	0,56	0,008



Rycina 27. Porównanie parametrów określających zmianę w reaktywności mikrokrążenia skórne-
go po infuzji L-argininy w badanych grupach

Figure 27. Comparison of changes in skin microvascular reactivity parameters due to L-arginine
infusion between studied groups

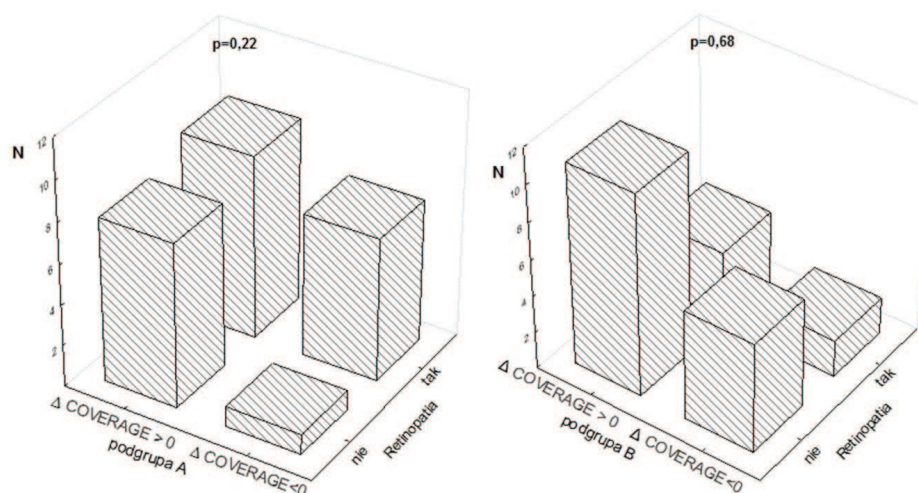
4.8.6. Powikłania mikroangiopatyczne

Analiza podgrup chorych wydzielonych ze względu na medianę wieku zachorowania wykazała, że podgrupy te różnią się istotnie pomiędzy sobą reaktywnością mikrokążeń ($p=0,04$) ($\Delta_coverage$) oraz częstością występowania retinopatii ($p=0,02$) (tabela 37). Mimo różnic pomiędzy reaktywnością mikrokążeń i występowaniem retinopatii, nie stwierdzono znamiennych zależności pomiędzy tymi parametrami (rycina 28).

Tabela 37. Reaktywność mikrokążenia skórno oraz częstość mikroangiopatii w podgrupach wydzielonych ze względu na medianę początku choroby.

Table 37. Skin capillary reactivity and prevalence of microangiopathy in subgroups of patients with diabetes divided from the onset of diabetes mellitus.

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>	Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>	p
	n	n	
Reaktywność / <i>Reactivity</i>			
Nie / <i>No</i> ($\Delta_coverage<0$)	8	15	0, 04
Tak / <i>Yes</i> ($\Delta_coverage >0$)	17	8	
Mikroangiopatia / <i>Microangiopathy</i>			
Nie / <i>No</i>	7	13	0, 09
Tak / <i>Yes</i>	18	10	
Retinopatia / <i>Retinopathy</i>			
Nie / <i>No</i>	9	17	0, 02
Tak / <i>Yes</i>	16	6	
Nefropatia / <i>Nephropathy</i>			
Nie / <i>No</i>	20	20	0, 80
Tak / <i>Yes</i>	5	3	
Neuropatia / <i>Neuropathy</i>			
Nie / <i>No</i>	17	18	0, 63
Tak / <i>Yes</i>	8	5	



Rycina 28. Ocena zależności pomiędzy reaktywnością mikrokrążenia skórniego a występowaniem retinopatii w podgrupach chorych na cukrzycę
 Figure 28. Evaluation of the relationship between skin microcirculation reactivity and prevalence of retinopathy in subgroups of diabetic patients

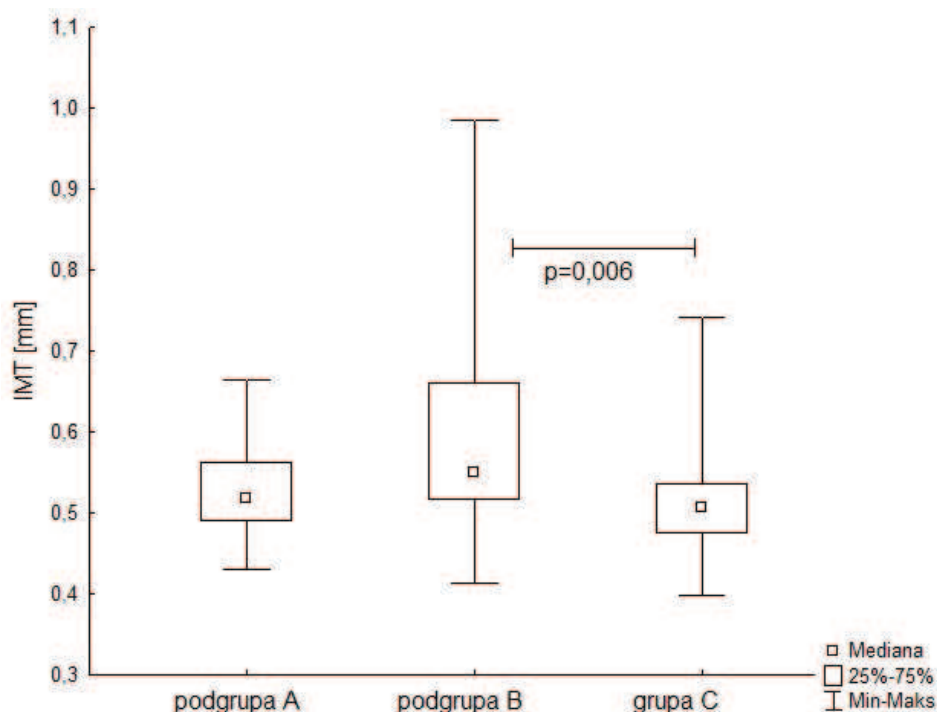
4.8.7. Funkcja i struktura makrokrążenia

Porównywano zmienne opisujące funkcje i strukturę naczyń: IMT i PWV pomiędzy podgrupami chorych na cukrzycę wydzielonymi ze względu na medianę wieku zachorowania oraz grupą kontrolną.

Kompleks błona wewnętrzna-środkowa (IMT)

Mediana IMT w podgrupie A wynosiła 0,52 (0,43– 0,67) mm, zaś w podgrupie B 0,55 (0,41–0,99) mm. Różnica IMT pomiędzy wyszczególnionymi podgrupami chorych na cukrzycę i grupą kontrolną była istotna statystycznie ($p=0,02$), jednak podgrupy chorych na cukrzycę nie różniły się istotnie pomiędzy sobą wartością mediany IMT ($p=0,06$).

Wartość mediany IMT w podgrupie A i w grupie kontrolnej nie była istotna statystycznie ($p=0,39$), natomiast podgrupa B i grupa kontrolna różniły się znamienne grubością kompleksu błona wewnętrzna-środkowa – $p=0,006$ (rycina 29).



Rycina 29. Porównanie IMT u chorych na cukrzycę w podgrupach wyszczególnionych zależnie od początku choroby oraz w grupie kontrolnej.

Figure 29. Comparison of IMT in subgroups of patients with diabetes created according to age of onset and in control group.

Prędkość rozchodzenia się fali tętna (PWV)

Mediana PWV u chorych na cukrzycę, którzy zachorowali przed 19 rż. wynosiła 9,28 (7,12–13,4) m/s, u tych którzy zachorowali po 19 rż. 8,74 (7,51–21,1) m/s, zaś w grupie kontrolnej 9,05 (7,14–14,5) m/s.

Wartość mediany PWV nie różniła się statystycznie pomiędzy podgrupami chorych na cukrzycę wyróżnionymi ze względu na medianę wieku początku choroby i grupą kontrolną ($p=0,86$).

4.8.8. Zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a zmiennymi opisującymi funkcję i struktury makrokrążenia

Analiza zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a IMT i PWV w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę wieku zachorowania wykazała brak istotnej korelacji pomiędzy analizowanymi parametrami.

Tabela 38. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a IMT w podgrupach chorych na cukrzycę

Table 38. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and IMT in subgroup of diabetic patients

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage [%]</i>	-0,02	0,91	-0,13	0,55
<i>B_distance [μm]</i>	-0,19	0,36	0,27	0,21
<i>Δ_coverage [%]</i>	0,003	0,99	0,25	0,25
<i>Δ_distance [μm]</i>	0,35	0,09	-0,17	0,34
<i>R_coverage [%]</i>	-0,004	0,98	0,22	0,30
<i>R_distance [μm]</i>	0,36	0,36	-0,14	0,52

Tabela 39. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a PWV w podgrupach chorych na cukrzycę

Table 39. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and PWV in subgroup of diabetic patients

	Podgrupa A, N=23 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=20 <i>Subgroup B</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage [%]</i>	-0,16	0,47	0,12	0,61
<i>B_distance [μm]</i>	0,17	0,43	-0,14	0,55
<i>Δ_coverage [%]</i>	0,22	0,32	0,35	0,13
<i>Δ_distance [μm]</i>	-0,21	0,35	-0,41	0,07
<i>R_coverage [%]</i>	0,26	0,23	0,32	0,16
<i>R_distance [μm]</i>	-0,21	0,34	-0,37	0,11

4.8.9. Zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a ciśnieniem tętniczym

Analiza zależności pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne a wartościami ciśnienia tętniczego w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na wiek zachorowania wykazała istotne korelacje wyłącznie u chorych z wcześniejszym czasem zachorowania (podgrupa A). W żadnej z wydzielonych podgrup ciśnienie tętna nie korelowało znamienne z parametrami mikrokrążenia skórniego (tabela 42).

Wykazano ujemną istotną korelację pomiędzy wartością ciśnienia skurczowego a $B_coverage$. Ponadto stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym a $\Delta_coverage$ i $R_coverage$ (tabele 40-41).

Tabela 40. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórniego a skurczowym ciśnieniem tętniczym w podgrupach chorych na cukrzycę

Table 40. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and systolic blood pressure in subgroup of diabetic patients

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>	
	r	p	r	p
$B_coverage$ [%]	-0,41	0,04	0,01	0,98
$B_distance$ [μm]	-0,01	0,97	-0,15	0,49
$\Delta_coverage$ [%]	0,44	0,03	0,18	0,42
$\Delta_distance$ [μm]	-0,16	0,44	-0,04	0,86
$R_coverage$ [%]	0,46	0,02	0,20	0,37
$R_distance$ [μm]	-0,17	0,41	-0,07	0,75

Tabela 41. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrażenia skórniego a rozkurczowym ciśnieniem tętniczym w podgrupach chorych na cukrzycę

Table 41. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and diastolic blood pressure in subgroup of diabetic patients

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>	
	r	p	r	p
$B_coverage$ [%]	-0,12	0,56	0,25	0,26
$B_distance$ [μm]	-0,05	0,81	-0,19	0,38
$\Delta_coverage$ [%]	0,41	0,04	-0,19	0,40
$\Delta_distance$ [μm]	-0,19	0,35	0,24	0,26
$R_coverage$ [%]	0,42	0,04	-0,17	0,44
$R_distance$ [μm]	-0,21	0,31	0,19	0,38

Tabela 42. Ocena zależności pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a ciśnieniem tętna w podgrupach chorych na cukrzycę

Table 42. Evaluation of the relationship between skin microcirculation parameters and pulse pressure in subgroup of diabetic patients

	Podgrupa A, N=25 <i>Subgroup A</i>		Podgrupa B, N=23 <i>Subgroup B</i>	
	r	p	r	p
<i>B_coverage</i> [%]	-0,33	0,11	-0,26	0,22
<i>B_distance</i> [μm]	-0,03	0,90	0,08	0,71
<i>Δ_coverage</i> [%]	0,10	0,64	0,38	0,08
<i>Δ_distance</i> [μm]	0,03	0,89	-0,32	0,14
<i>R_coverage</i> [%]	0,11	0,61	0,38	0,08
<i>R_distance</i> [μm]	0,04	0,87	-0,31	0,15

4.9. Zależność pomiędzy paleniem tytoniu a wybranymi zmiennymi

W grupie chorych na cukrzycę nie wykazano istotnych zależności pomiędzy nałogiem palenia tytoniu a występowaniem retinopatii, neuropatii, mikroalbuminurii czy jawnej nefropatii.

W grupie chorych na cukrzycę, jak również w grupie kontrolnej nie wykazano wpływu palenia tytoniu na reaktywność naczyń skórnych.

Analizując wpływ palenia tytoniu na stężenie angiogeniny wykazano istotną statystycznie różnicę w stężeniu angiogeniny pomiędzy palaczami i osobami niepalącymi w grupie na cukrzycę (537,6 (294,4–999,8) ng/ml vs 375,4 (199,8–924,8) ng/ml, $p=0,01$), nie zaś w grupie kontrolnej (526,2 (399,4–708,2) ng/ml vs 456,5 (230,6–665,0) ng/ml, $p=0,40$).

Analiza wpływu palenia tytoniu na stężenie ADMA nie wykazała istotnej statystycznie różnicy w stężeniu ADMA pomiędzy palaczami i osobami niepalącymi w grupie na cukrzycę ($0,519 \pm 0,105$ μmol/l vs $0,506 \pm 0,150$ μmol/l, $p=0,61$) i grupie kontrolnej ($0,487 \pm 0,064$ μmol/l vs $0,617 \pm 0,132$ μmol/l, $p=0,07$).

Zarówno w grupie na cukrzycę jak i grupie kontrolnej nie wykazano wpływu przewlekłego palenia tytoniu na wielkość parametrów biochemicznych: HbA1c, CRP i kwasu moczowego oraz na IMT i PWV.

Podgrupa palących chorych na cukrzycę charakteryzowała się wyższym stężeniem fibrynogenu (3,30 (2,64–6,68) g/l vs 2,82 (2,10–6,67) g/l; $p=0,005$) jednakże w grupie kontrolnej palenie tytoniu nie miało wpływu jego stężenie.

5. DYSKUSJA

Wykazanie, że zaburzenia mikrokrążenia stanowią patofizjologiczną podstawę procesu starzenia się organizmu, miażdżycy i chorób przewlekłych, takich jak cukrzyca i nadciśnienie tętnicze było możliwe dzięki rozwojowi technik diagnostycznych, które poprzez ocenę przepływu, ciśnienia oraz przepuszczalności kapilar w obszarze mikrokrążenia umożliwiły wielowymiarowe opisywanie rozwoju mikroangiopatii.

Według hipotezy hemodynamicznej, ogłoszonej już w latach 90. XX wieku przez Tooke i Zatz i wsp. [314, 351], we wczesnym etapie rozwoju powikłań mikroangiopatycznych w cukrzycy główną rolę odgrywa podwyższone ciśnienie kapilarne oddziałujące na śródbłonek. Postęp wiedzy pozwolił na wykazanie, że śródbłonek jest tym narządem, który dzięki swoim licznym właściwościom kontroluje funkcję naczyń poprzez wpływ na równowagę pomiędzy czynnikami rozszerzającymi i wywołującymi wazokonstrykcję, do których należą m.in. tlenek azotu (zależny od śródbłonka wazodylator) i noradrenalina (silny wazokonstryktor). Hiperperfuzja w naczyniach kapilarnych wyprzedza sprzyja rozwojowi mikroangiopatii cukrzycowej [335]. Dysfunkcja śródbłonka jest obecnie uważana za istotną podstawę patogenetyczną powikłań mikro- i makroangiopatycznych w cukrzycy. W cukrzycy dysfunkcja śródbłonka poprzedza jawne klinicznie mikroangiopatie cukrzycowe. Mikroangiopatia naczyń nerkowych i siatkówki wywołuje nefropatię i retinopatię cukrzycową zaś mikroangiopatia naczyń odżywczych nerwów jest ważną przyczyną neuropatii w cukrzycy. Zależność pomiędzy dysfunkcją śródbłonka a rozwojem nefropatii, retinopatii cukrzycowej tak, w typie 1. jak i 2. cukrzycy była i jest przedmiotem badań wielu zespołów naukowych. Prace te różniły się jednak metodyką i obszarem badań naczyniowych [77, 92, 135, 137, 139, 152, 163, 257, 260, 284, 286, 288, 289, 311, 315, 328].

Kapilaroskopia

Jest metodą oceny mikrokrążenia skórniego, którą badacze często wykorzystują do oceny funkcji śródbłonka. Spośród 16 wyżej wymienionych prac w 6 kapilaroskopia bądź wideokapilaroskopia została użyta do oceny funkcji śródbłonka [92, 139, 163, 311, 315, 328]. W piśmiennictwie przeważa pogląd, że badanie kapilaroskopowe powinno być przeprowadzone na wszystkich palcach kończyny [57], gdyż w początkowym etapie choroby zmiany w mikrokrążeniu mogą obejmować tylko 1–2 palców, choć niektórzy badacze pomijają kciuk [278]. Zaburzenia mikrokrążenia skórniego są uznawane, jeżeli występują co najmniej na dwóch palcach [56]. Część badaczy reprezentuje pogląd, że badanie powinno być przeprowadzone na kończynie górnej nie dominującej [63, 88, 101, 120]. Pogląd ten ukształtowany został w czasie, gdy jedyną możliwą oceną kapilar była ocena jakościowa.

Najlepszą jakość obrazu kapilar uzyskuje się zwykle w palcach IV i V ze względu na większą przezierność warstwy rogowej naskórka [56, 57, 88, 101] lub tylko IV palca [120, 328]. Badanie kciuka razem z innymi palcami ręki rodzi istotną trudność techniczną ze względu na zachowanie stabilnej pozycji śródreżca. z tego powodu w przyjętym protokole nie rejestrowano obrazów kciuka. z rejestracji wykluczono ponadto palec III, gdyż podczas całego badania założony był nań czujnik do ciągłego pomiaru ciśnienia tętniczego, co mogłoby zaburzać obraz kapilaroskopowy po L-argininie.

U badanych osób pozyskiwano zatem pary obrazów z palców II, IV i V z kończyny górnej lewej. Dla palca V uzyskano najmniejszą liczbę sparowanych obrazów. W związku z tym analizy przedstawione w pracy oparte zostały na obrazach uzyskanych z palca II i IV kończyny niedominującej.

Przyjęty przeze mnie protokół badania zawierał wśród kryteriów wyłączenia występowanie chorób układowych (reumatoidalne zapalenie stawów, łuszczyca) a także hiperbądź hipotyreozy. Restrykcyjność w tym względzie podyktowana była powszechnie znanym wpływem chorób układowych [38, 118, 132, 150, 199, 246, 250, 253, 293, 350] i zaburzeń funkcji tarczycy a zwłaszcza niedoczynności [225] na mikrokążenie skórne.

Dotychczasowa ocena reaktywności naczyń skórných u chorych z typem 1. cukrzycy z użyciem kapilaroskopii przeprowadzana była z wykorzystaniem testu PORH [311], testów farmakologicznych [84] czy okluzji żyłnej [311] zarówno na kończynach górnych [328] jak i dolnych [84, 311]. Do badań mikrokążenia wykorzystywano także inne bodźce. Gasser i wsp. [92] zastosowali miejscowe ochłodzenie łącznie z oceną przepływu krwi w kapilarach palców rąk. Metoda ta nie pozwoliła jednak na wykazanie różnic w przepływie krwi u chorych na cukrzycę typu 1. i w grupie kontrolnej. Opublikowane badania prowadzone były w młodszych grupach chorych w porównaniu z grupą badaną przeze mnie [84, 95, 311, 314, 316, 328]. Ponadto, grupy te charakteryzowały się różnym początkiem i czasem trwania cukrzycy. Niektóre z tych badań prowadzone były wyłącznie u chorych z cukrzycą typu 1. bez powikłań mikroangiopatycznych [2, 316].

Test PORH stymuluje zarówno relaksację mięśniówki naczyń [223], uwolnienie miejscowych mediatorów i metabolitów z niedokrwionych tkanek [158] jak i opisany w ostatnim czasie udział kanałów wapniowych i nerwów czuciowych w mechanizmie PORH [175]. W przeciwieństwie do PORH, infuzja L-argininy - substratu dla syntazy tlenu azotu (NOS) - jest selektywnym bodźcem wazodylatacyjnym naczyń mikrokążenia skórnego. Piśmiennictwo zawiera rozbieżne informacje dotyczące efektów hemodynamicznych działania L-argininy, zarówno zależnych od dawki, sposobu jej podania a także grup badanych. Udowodniono, iż L-arginina nie wpływa istotnie na wielkość ciśnienia tętniczego, częstość akcji serca i na temperaturę skóry u zdrowych oraz na hemodynamikę kążenia dużego i płucnego u chorych z nadciśnieniem płucnym [16]. u ludzi zdrowych krótkotrwały wlew argininy nie wpływał na autonomiczną kontrolę rytmu serca [47]. Infuzja małych dawek L-argininy przywraca funkcję śródbłónka naczyń wieńcowych pogorszoną w wyniku starzenia się organizmu [43], poprawia funkcję śródbłónka u osób z hipercholesterolemią [147], zmniejsza skurcz naczyń wieńcowych u chorych po pomostowaniu naczyń wieńcowych [339].

Bode-Böger i wsp. argumentowali, iż 30-minutowa infuzja 30 g L-argininy powoduje rozszerzanie naczyń u ludzi [23, 25]. Reakcja ta obserwowana była w krótkim czasie po zakończeniu infuzji u osób zdrowych [25], była ponadto powtarzalna u chorych z krytycznym niedokrwieniem kończyn dolnych [23]. Rozszerzenie naczyń wywołane poprzez L-argininę było związane ze zwiększeniem stężenia azotynów i azotanów w moczu, co sugeruje, że reakcja ta była zależna od NO. Część badaczy wykazała w podwójnie ślepej próbie znaczną poprawę wydolności wysiłkowej u chorych z chorobą niedokrwinną serca, którzy otrzymywali doustnie L-argininę w dawce 6g/dobę, przez 3 dni, badaniu kontrolowanym placebo [17, 37]. Rector i wsp. w grupie

15 chorych z umiarkowaną lub ciężką niewydolnością serca, otrzymujących L-argininę od 5,6 do 12,6 g/dobę przez 6 tygodni, wykazali znacząco zwiększony przepływ krwi podczas ćwiczeń przedramienia, 6-minutowego marszu oraz poprawy samopoczucia wg kwestionariusza „Życie z niewydolnością serca” w porównaniu z osobami otrzymującymi placebo [242]. Korzystnego wpływu L-argininy na funkcje naczyń nie wykazano w szeregu innych badań u chorych z chorobą wieńcową [22, 74, 338].

Wpływ L-argininy na zależną od NO funkcję śródbłonna u chorych na cukrzycę był przedmiotem wielu doniesień [65, 124, 146, 279, 310]. Smulders i wsp. na podstawie badań przeprowadzonych w 10-osobowej grupie chorych z cukrzycą typu 1. bez powikłań i grupie kontrolnej, nie stwierdzili istotnych różnic w poziomie endoteliny, CGMP, L-citruliny w odpowiedzi na podanie L-argininy [279]. Delles i wsp. wykazali [65], że infuzja małych dawek L-argininy miała porównywalny efekt wazodylatacyjny na naczynia nerkowe u chorych z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą oraz u zdrowych. Dowiedli również, że infuzja L-argininy (0,1 mg/kg) lub podaż doustna (14 g/dobę) nie ma wpływu na funkcję śródbłonna u chorych na cukrzycę typu 1 [202, 310].

Efekt wazodylatacyjny L-argininy ściśle zależy od jej stężenia [25], przedstawiono przeprowadzając badania w grupach osób z wczesnymi zmianami naczyniowymi [27].

Wyniki badań nielicznych, 10-osobowych grup osób zdrowych dają podstawy do stwierdzenia, że L-arginina stosowana w dużych dawkach wywiera efekt wazodylatacyjny również poprzez wzrost stężenia hormonu wzrostu i insuliny w surowicy [24, 96].

Obserwacje przeprowadzone przeze mnie w grupie chorych na cukrzycę typu 1. oraz grupie kontrolnej pozwalają zakładać, że główny mechanizm efektu wazodylatacyjnego L-argininy nie zależał od insuliny. Reaktywność naczyń skórnych w wyniku infuzji L-argininy obserwowana przeze mnie w grupie kontrolnej i porównywalna do niej reaktywność u chorych na cukrzycę którzy zachorowali przed 19 rokiem życia, a z drugiej strony brak reaktywności u chorych na cukrzycę którzy zachorowali po 19 roku życia może sugerować, że L-arginina działa bezpośrednio jako substrat dla eNOS a nie tylko pośrednio poprzez insulinę.

Mimo że infuzja L-argininy u chorych na cukrzycę typu 1. jest uznana za bezpieczną i skuteczną metodę badania reaktywności naczynioruchowej krążenia siatkówki i małych naczyń mózgu [90, 227], nie była dotąd wykorzystana do określenia reaktywności mikrokrażenia skórno. Nie była zatem możliwa również odpowiedź na interesujące pytanie o zależność pomiędzy reaktywnością mikrokrażenia skórno w odpowiedzi na infuzję L-argininy przy zastosowaniu techniki kapilaroskopowej a występowaniem powikłań mikroangiopatycznych w cukrzycy typu 1.

Zastosowanie oceny morfologicznej kapilar stanowi główne ograniczenie wartości analizy obrazów tak w ocenie pojedynczej jak i w testach stymulacyjnych, w których rejestrowane są obrazy przed i po zadziałaniu bodźca. W rutynowym, jakościowym badaniu kapilaroskopowym ocenia się następujące parametry: tło obrazu, umiejscowienie kapilar, ich układ i rozmieszczenie, kształt pętli naczyniowych i obecność charakterystycznych typów (rozdęte, olbrzymie, kręte, rozgałęzione), liczbę kapilar – gęstość oraz ewentualny ich brak (tzw. obszary beznaczyniowe), wybroczyny i obrzęk podścieliska [57, 101], obecność neoangiogenezy [57, 168]. Wyniki badań Fahriga i wsp. na grupie 100 zdrowych osób (36 mężczyzn, 64 kobiety) w wieku od 5 do 58 lat wykazały, że podczas oceny jakościowej kapilary, które uznawano za nieprawidłowe opisywano w dużym procencie w populacji zdrowych [80].

Ilościowa ocena mikrokążenia skórno w obszarze wału paznokciowego poprzez wyznaczanie stopnia pokrycia kapilarami analizowanego obszaru (*coverage*) oraz wyznaczanie średniej odległości pomiędzy kapilarami (*distance*) jest nowatorskim narzędziem badawczym. W oparciu o przyjęte przeze mnie kryteria detekcji i opisu kapilar powstało oprogramowanie do analizy obrazów kapilaroskopowych. Posiada ono walor obiektywnego narzędzia oceny reaktywności mikrokążenia. Dotychczas w piśmiennictwie nie opublikowano informacji o badaniu, w którym ocenę reaktywności mikrokążenia skórno w teście z L-argininą przeprowadzano przy użyciu kapilaroskopii i wyżej wymienionych parametrów u chorych na cukrzycę typu 1.

W moich badaniach L-arginina podawana była do żyły odłokciowej lewej kończyny górnej w dawce 30 g w ciągu 30 minut przy pomocy strzykawki automatycznej. Wybór dawki oparłam na protokołach stosowanych w badaniach reaktywności naczyń mózgowych [236–238].

L-arginina – podawana doustnie lub parenteralnie – jest dobrze tolerowana. Opisywane są jednakże powikłania w postaci lokalnego podrażnienia lub nawet zapalenia żył, spadku ciśnienia tętniczego [207], kwasicy metabolicznej i zaburzeń rytmu serca [218] oraz uogólnionego odczynu skórno. u części badanych osób odstąpiłam od testu farmakologicznego ze względu na brak zgody na infuzję L-argininy, bądź uzyskaną drogą wywiadu lekarskiego informację o wystąpieniu reakcji alergicznej lub nietolerancji substancji leczniczych. W moich badaniach, u osób u których wykonałam test farmakologiczny nie obserwowano żadnych objawów ubocznych.

Omówioną metodę analizy ilościowej zastosowałam w realizowanym protokole badawczym. W założeniach przyjętych w pracy obrazy, na których widocznych było mniej niż 5 kapilar w rzędzie, nie były brane pod uwagę w dalszych analizach statystycznych. To założenie pozwoliło na zwiększenie powtarzalności metody. Do analizy efektu dylatacyjnego L-argininy wybierano pary obrazów z uwzględnieniem lokalizacji w obrębie wału paznokciowego danego palca.

Ocenę powtarzalności uzyskanych parametrów przeprowadziłam za pomocą współczynnika ICC (*intraclass correlation coefficient*). W przypadku parametru *distance* uzyskano wartość współczynnika powtarzalności ICC równą 0,64, zaś dla *coverage* 0,63, co w interpretacji zakresów proponowanych przez Landis i wsp. [167] oznacza dobrą powtarzalność metody pomiarowej. Trzeba zaznaczyć, że w przyjętej metodologii oceny powtarzalności badacz wybierał odpowiadające temu samemu obszarowi naczyniowemu fragmenty obrazów kapilaroskopowych w czasie dwóch niezależnych sesji.

Ponieważ przyjęty opis obrazu kapilaroskopowego posługuje się nowo zdefiniowanymi parametrami nie jest możliwe bezpośrednie odniesienie się do ocen powtarzalności analiz obrazów kapilaroskopowych przedstawianych przez innych badaczy.

Powtarzalność oceny gęstości zidentyfikowanych kapilar patologicznych, ocenianych na podstawie obrazów uzyskanych metodą wideokapilaroskopii, była zbliżona w grupie osób zdrowych i chorych z pierwotnym objawem Raynauda wynosząc odpowiednio 0,71 i 0,67 [120].

Ocena powtarzalności identyfikacji kapilar przedstawiona przez Smitha i wsp. [278] przeprowadzona na podstawie badań wideokapilaroskopowych u chorych z twardziną układową wahała się od wartości ICC=0,64 dla kapilar rozgałęzionych do ICC=0,96 dla pól beznaczyniowych. Podobne wartości uzyskali Hudson i wsp. [121] dla oceny powtarzalności gęstości kapilar z tych samych obrazów lub obrazów powtarzanych w tej samej porze dnia (ICC 0,72–0,84). Z kolei, Ijzerman i wsp. [128] na pod-

stawie badań kapilaroskopowych w grupie 9. osób badanych podczas dwóch sesji określili współczynnik zmienności dla oceny gęstości kapilar jako $8,3 \pm 5,9\%$.

Z uwagi na inwazyjność procedury (infuzja L-argininy) w niniejszej pracy nie przeprowadziłam oceny powtarzalności krótkoterminowej reaktywności mikrokrążenia skórno-

Mikrokrążenie skórne u chorych na cukrzycę

W badanej przeze mnie grupie chorych na cukrzycę i grupie kontrolnej nie stwierdziłam istotnej korelacji pomiędzy parametrami mikrokrążenia a wskaźnikiem masy ciała (BMI), co wykazał Tibirica i wsp. [311]. Zauważyć jednak należy, że protokół naszego badania wykluczał osoby z otyłością patologiczną (BMI powyżej 35 kg/m^2).

W badanej przeze mnie grupie kontrolnej wystąpiła zależna od płci różnica wielkości *distance*. *Distance* w warunkach podstawowych był większy (niższa gęstość liniowa) u kobiet w porównaniu z mężczyznami ($260 \text{ }\mu\text{m}$ vs $235 \text{ }\mu\text{m}$, $p=0,04$). Ta różnica nie występowała w grupie cukrzycowej. Po infuzji L-argininy, nie występowały różnice w parametrach charakteryzujących mikrokrążenie wału paznokciowego zależne od płci. Te dane stoją w opozycji do wyników uzyskanych przez Tibirica i wsp. [311], którzy stwierdzili, że gęstość kapilar (liczba kapilar/ mm^2) w palcach kończyn górnych była istotnie większa u kobiet.

Doniesienia literaturowe potwierdzają, że kapilaroskopia - zyskująca coraz większe uznanie, jako metoda wizualizacji łożyska naczyniowego - może przynieść dodatkowe informacje pozwalające na wyjaśnienie zależności pomiędzy mikrokrążeniem skórno-

a występowaniem powikłań mikroangiopatycznych w cukrzycy typu 1 [162–164]. W moim badaniu analiza uzyskanych obrazów kapilaroskopowych pozwoliła na wykazanie, że w warunkach podstawowych *coverage* był istotnie większy u chorych na cukrzycę, zaś *distance* istotnie mniejszy, przy porównywalnej liczbie kapilar w badanych obszarach. Po infuzji L-argininy wartości *coverage* i *distance* nie różniły się istotnie pomiędzy grupą chorych na cukrzycę a grupą kontrolną, mimo iż w grupie chorych na cukrzycę liczba kapilar była istotnie niższa w porównaniu z grupą kontrolną.

Wyniki moich badań pokazały brak reakcji kapilar skórnych na bodziec jakim jest L-arginina w grupie chorych na cukrzycę typu 1. w odróżnieniu od grupy kontrolnej, gdzie taki efekt był obserwowany. Zależna od L-argininy zmiana w powierzchni kapilar w odniesieniu do powierzchni badanego obszaru ($\Delta_coverage$) w grupie kontrolnej była istotnie różna od zera ($p=0,02$), podczas gdy dla chorych na cukrzycę typu 1. takiej zmiany nie wykazano ($p=0,053$). Zaobserwowałam wystąpienie fizjologicznej odpowiedzi na L-argininę w grupie kontrolnej i brak odpowiedzi w grupie na cukrzycę. Odzwierciedlać to może brak reaktywności mikrokrążenia skórno-

w odpowiedzi na PORH w grupie chorych na cukrzycę. Wart podkreślenia jest fakt, że w pracy tej uzyskano podobne wnioski, mimo odmiennej metodologii oceny reaktyw-

ność naczyń. Test infuzji L-argininy opisuje reaktywność zależną jedynie od NO, natomiast główny, choć nie jedyny mechanizm PORH to efekt działania sił ścinających [196].

Badania innych autorów przynoszą odmienne informacje o różnicy w gęstości kapilar pomiędzy osobami zdrowymi a chorymi na cukrzycę. We wspomnianych wyżej badaniach Gassera i wsp. [92] nie wykazano różnic w gęstości kapilar przed i po teście oziębieniomym pomiędzy chorymi na cukrzycę a osobami zdrowymi. Gęstość kapilar zidentyfikowanych metodą wideokapilaroskopową przez Pazos-Moura i wsp. [224] u chorych na cukrzycę nie różniła się istotnie od wartości stwierdzanej dla osób zdrowych. W tym samym badaniu wykazano, że u chorych na cukrzycę występuje istotnie więcej nieprawidłowych (krętych i powiększonych) kapilar w porównaniu z grupą kontrolną. Niektóre nieprawidłowości występowały wyłącznie u chorych na cukrzycę, zaś ich liczba korelowała z czasem trwania choroby [162]. Podobny rezultat przedstawili Meyer i wsp. [194], którzy wykazali istnienie mikroangiopatii cukrzycowej polegającej na obecności większej liczby kapilar krętych i rozszerzonych.

Ze względu na odmienną metodyczną i unikalną charakterystykę chorych nie jest możliwe bezpośrednie odniesienie się do danych zawartych w pracach opisujących reaktywność mikrokrążenia skórno w typie 1 cukrzycy. Wynika to z faktu nowatorskiego zastosowania przez mnie L-argininy do oceny reaktywności mikrokrążenia skórno oraz analizy ilościowej nowo zdefiniowanych parametrów obrazów kapilaroskopowych. Podobny rodzaj analizy zastosowali jedynie Abi-Chahina i wsp [2]. Badacze ci porównywali powierzchnię kapilar w warunkach podstawowych oraz po PORH u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej. Wykazali oni, że zmiana powierzchni kapilar w następstwie zastosowania PORH była istotna statystycznie mniejsza w grupie osób chorych na cukrzycę w porównaniu do kontrolnej grupy osób zdrowych. Wykazali również, że czas, w którym obserwowano maksymalne powiększenie pola powierzchni kapilar był istotnie dłuższy u osób chorych na cukrzycę niż u osób zdrowych.

Moje badania wykazały istotnie większą powierzchnię kapilar w warunkach podstawowych w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną oraz potwierdziły istotną zmianę w teście z L-argininą w grupie kontrolnej, zaś brak zmiany w grupie chorych na cukrzycę. Porównanie wielkości zmian w obydwu grupach wykazało graniczny poziom istotności statystycznej ($p=0,053$). Trzeba w tym miejscu przypomnieć, że badana przez Abi-Chahina i wsp. grupa różniła się istotnie od tej, którą badałam. Byli to pacjenci bez powikłań mikroangiopatycznych, niejednorodni rasowo (rasa biała 43,3%), znacznie młodsi ($23,7 \pm 4,3$ lat), z krótszym czasem trwania cukrzycy, różnorodnym czasem trwania choroby (od 8 miesięcy do 28 lat, $\text{śr } 12,95 \pm 6,68$ lat). [2].

Mikrokrążenie skórne a przebieg kliniczny cukrzycy

Należy podkreślić, że moje badania mikrokrążenia skórniego przeprowadziłam w grupie chorych na cukrzycę nieporównywalnej z grupami opisywanymi w dostępnym piśmiennictwie. Średnia wieku badanych chorych wynosiła 37,9 (29,9-55,6) lat, zaś czas trwania choroby wynosił 20,2 ($\pm 6,7$) lat. W badanej populacji chorych na cukrzycę stwierdziłam istotną ujemną korelację pomiędzy reaktywnością mikrokrążenia skórniego a wiekiem zachorowania przy jednoczesnym braku takiej zależności z czasem trwania cukrzycy, odmiennie niż inni badacze [163, 164].

Warto zauważyć, że stosując skalę opartą na jakościowej ocenie obrazów kapilaroskopowych Kuryliszyn-Moskal i wsp. [162] oraz Tooke i wsp. [316] wykazali dodatnią korelację pomiędzy stopniem zaawansowania zmian a czasem trwania choroby. z kolei Gasser i wsp. [92] nie wykazali zależności pomiędzy zmianą w gęstości kapilar po teście oziębieniom a czasem trwania cukrzycy. Tibrica i wsp. [312] wykazali dodatnią korelację pomiędzy średnią gęstością kapilar w warunkach podstawowych jak i po PORH a wiekiem chorych oraz czasem trwania choroby.

Wykazany przeze mnie w podgrupie chorych na cukrzycę z późniejszym czasem zachorowania brak zmiany w wartości *coverage* przy jednoczesnym istotnym zmniejszeniu wartości *distance* sugeruje paradoksalne pogorszenie w odpowiedzi na infuzję L-argininy. W pracach dotyczących mikrokrążenia skórniego w cukrzycy typu 1. zwykle pomijane jest omówienie zależności pomiędzy tymi parametrami a wiekiem, czasem trwania czy wiekiem zachorowania na cukrzycę.

Brak istotnych zmian w *coverage* i *distance* w reakcji na infuzję L-argininy w grupie chorych z wcześniejszym początkiem choroby oraz brak różnic wyżej wymienionych parametrów w porównaniu z grupą kontrolną pozwalają wysnuć hipotezę, że ci pacjenci mogą odnieść korzyść z suplementacji L-argininy jako substratu dla NOS.

Mikrokrążenie skórne a klasyczne mikroangiopatie

W badanej przeze mnie populacji chorych cukrzycą typu 1. wykazałam u 58% jakąkolwiek mikroangiopatię, zaś u 46% wyłącznie retinopatię, u 27% neuropatię, u 8% i 16,7% odpowiednio mikroalbuminurię i nefropatię jawną.

Badanie DCCT wykazało, że w cukrzycy typu 1. retinopatia rozwija się u około 10% chorych z dobrą kontrolą metaboliczną. W grupie pacjentów ze złym wyrównaniem cukrzycy obserwowano retinopatię *de novo* u 60% chorych. Autorzy raportu z tego badania przeprowadzając analizy uwzględniające kontrolę metaboliczną i czas trwania badania wykazali, że poprzednia ekspozycja na glikemię i wielkość wskaźnika masy ciała może wyjaśniać rozwój tego powikłania [353]. Częstość występowania neuropatii raportowana w piśmiennictwie wynosi od 28% do 50% [81, 103, 188, 305]. Jest to zapewne wynikiem stosowania różnych metod diagnostycznych oraz kryteriów rozpoznawczych neuropatii, jak też wynika z analizowanych grup chorych. Przedstawiane w piśmiennictwie oceny częstości występowania nefropatii zależą od badanej populacji. Badanie WESDR wykazało, że u 14% badanej populacji na cukrzycę typu 1. doszło do rozwoju przewlekłej choroby nerek lub ESRD w ciągu 10 lat [155]. W badaniach niemieckich skumulowane ryzyko wystąpienia białkomoczu po 20 latach trwania cukrzycy wynosiło 28%, zaś po 25 latach 46% [111].

W badaniach Krolewski i wsp. [161] zachorowalność na mikroalbuminurię rosła wraz ze zwiększeniem się długości trwania cukrzycy po okresie dojrzewania, o każde

6 lat czasu trwania cukrzycy. Występowanie mikroalbuminurii w grupie referencyjnej (HbA1c – średnia 7,3%) wynosiło 3,8%. Odczytując z przedstawionych przez Krolewski i wsp. tablic uwzględniających stężenie HbA1c i czas trwania cukrzycy, badana przeze mnie grupa chorych z HbA1c 7,84% (5,9-11,8%) i czasem trwania cukrzycy 20 ($\pm 6,7$) lat powinna mieć iloraz szans wystąpienia mikroalbuminurii równy 11,3.

W badanej populacji chorych na cukrzycę podobnie jak w badaniach innych autorów potwierdzono zależność pomiędzy występowaniem neuropatii [304] i retinopatii a czasem trwania cukrzycy. Występowanie retinopatii korelowało z wiekiem zachorowania, w młodszym wieku było częstsze niż w starszym [71, 72, 217]. W badanej przeze mnie populacji chorych na cukrzycę nie wykazałam zależności pomiędzy występowaniem mikroalbuminurii czy jawnej nefropatii a wiekiem badanych, czasem trwania cukrzycy czy wiekiem zachorowania. Podobnie badania Olsen i wsp. [217] nie wykazały związku pomiędzy zwiększonym wydalaniem albumin z moczem a czasem trwania cukrzycy, odmienne spostrzeżenia opisał Krolewski [161]. Występowanie neuropatii w badanej przeze mnie grupie chorych na cukrzycę korelowało z czasem trwania choroby, podobnie jak w badaniu EURODIAB IDDM Complications Study [40, 305], nie korelowało zaś z wiekiem badanych. [40].

Zależność pomiędzy stanem mikrokrążenia skórno a występowaniem mikroangiopatii jest ciągle dyskutowana w piśmiennictwie. Jednakże zależność pomiędzy mikrokrążeniem skórno i mikroangiopatią w cukrzycy typu 1. nadal pozostaje sprawą otwartą. Meyer i wsp. wykazali korelację pomiędzy obecnością mikroangiopatii cukrzycowej a obecnością nieprawidłowości w badaniu kapilaroskopowym [194]. Forst i wsp. nie obserwowali wpływu obecności neuropatii na indukowany acetylocholiną wzrost przepływu w kapilarach [84]. Trapp i wsp. w 1986 roku badając grupę 48 chorych na cukrzycę typu 1. przy użyciu kapilaroskopii nie wykazali zmian w morfologii kapilar oraz różnic w liczbie i gęstości kapilar pomiędzy cukrzycą i grupą kontrolną. W badanej przez nich grupie 50% chorych miało retinopatię, Trapp i wsp. [320] sformułowali zatem wniosek, że zaburzenia naczyniowe stwierdzane w cukrzycy nie mają swojego odzwierciedlenia w obrazie kapilaroskopowym.

Po analizie reaktywności krążenia skórno w teście z L-argininą wyrażaną poprzez $\Delta_coverage$ zarówno w grupie chorych na cukrzycę jak i grupie kontrolnej uznałam, iż osoby, u których mikrokrążenie skórno nie reaguje ($\Delta_coverage=0$) bądź reaguje nieprawidłowo ($\Delta_coverage< 0$) na infuzję L-argininy, można uznać za mikroangiopatię skórno.

W całej badanej grupie chorych z typem 1. cukrzycy mikrokrążenie skórno po infuzji L-argininy nie różniło się w podgrupach chorych z mikroangiopatią i bez mikroangiopatii.

Podgrupa, w której mediana wieku zachorowania była powyżej 19 lat (podgrupa B, późny początek choroby) charakteryzowała się niższą reaktywnością mikrokrążenia skórno mimo krótszego czasu trwania cukrzycy. Wyniki te są odwrotne niż w podgrupie chorych na cukrzycę, których mediana wieku zachorowania jest mniejsza niż 19 lat (podgrupa A, wczesny początek cukrzycy), w której to podgrupie występuje jednakże wyższa zachorowalność na retinopatię. Co więcej, wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań pokazały brak istotnych różnic parametrów mikrokrążenia skórno pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą A cukrzycy. Takie samo porównanie dla podgrupy B wykazało istotnie mniejszy poziom istotności niż dla całej grupy cukrzycowej.

Pacjenci z podgrupy A wykazywali znamienne lepszą reaktywność naczyń skórnych (porównywalną z grupą kontrolną) w porównaniu z podgrupą B przy jednocześnie częstszej obecności retinopatii w tej podgrupie chorych.

Wyniki moich badań są rozbieżne z uzyskanymi przez Nguyen i wsp. [212], którzy wykazali dla grupy mieszanej cukrzycy typu 1. i 2., że występowanie retinopatii cukrzycowej jest związane z redukcją przepływu skórnego w odpowiedzi na jonoforę z nitroprusydkiem sodu sugerującą dysfunkcję śródbłonna. Jednakże, gdy analizowano grupy chorych na cukrzycę typu 1. i 2. oddzielnie, dla typu 1. nie wykazano istotnych zależności pomiędzy zmianą przepływu w odpowiedzi na jonoforę z nitroprusydkiem sodu a występowaniem retinopatii. Badacze ci posługiwali się laserowym przepływomierzem dopplerowskim do oceny przepływu skórnego. Badana przez nich grupa była dużo starsza od tej, którą badałam ($56,5 \pm 11,6$ vs $39,8 \pm 6,3$ lat), natomiast czas trwania cukrzycy był nieco krótszy od tej w badanej przeze mnie populacji ($16,2 \pm 10,5$ vs $20 \pm 6,7$ lat). Oczywiście są to dane zbiorcze grupy mieszanej, nie przedstawili oni oddzielnych danych wieku i czasu trwania cukrzycy dla grupy z typem 1. cukrzycy. Tak więc, z uwagi na te wyżej wymienione różnice i zastrzeżenia co do grupy badanej przez Nguyen i wsp. nasze wnioski nie mogą być konfrontowane [212].

Zależność pomiędzy występowaniem retinopatii a zachorowaniem przed okresem dojrzewania jest dobrze poznana. Donaghue i wsp. [72] raportowali, że czas trwania cukrzycy przed ukończeniem okresu dojrzewania ma istotny wpływ na występowanie retinopatii u dorosłych chorych. Ten wniosek jest zgodny z wynikami moich badań, które wykazały istotnie większą częstość retinopatii w podgrupie chorych z typem 1. cukrzycy z wczesnym początkiem choroby (podgrupa A).

Przeprowadzone analizy wykazały, że zależność pomiędzy reaktywnością mikrokrążenia skórnego i obecnością retinopatii nie jest opisywana poprzez takie parametry jak wiek, czas trwania choroby, wyrównanie metaboliczne, stosowane leczenie czy współistnienie.

Forst i wsp. [84] w badaniach z użyciem m.in. wideofotometrycznej kapilaroskopii nie wykazali istotnych zaburzeń w mikrokrążeniu wałów paznokciowych u chorych z neuropatią. Kuryliszyn-Moskal i wsp. [162, 163] wykazali, że pacjenci z mikroangiopatią cukrzycową z typem 1. cukrzycy mają więcej punktów w skali stworzonej przez autorów, gdzie „score” 3 oznacza zmiany najbardziej zaawansowane w obrazie kapilaroskopowym. Na podstawie swoich badań badacze ci sugerują, że nieprawidłowości w budowie kapilar odzwierciedlają stopień zmian w mikrokrążeniu i są związane z zajęciem narządów wewnętrznych przez proces chorobowy. Również Barchetta i wsp. [15] wykazali dodatnią korelację pomiędzy skalą zaawansowania zmian jakościowych w obrazie wideokapilaroskopowym a występowaniem retinopatii w grupie chorych na cukrzycę typu 1. Gasser i wsp. [92] analizując wpływ czasu trwania cukrzycy, retinopatii, poziomu glikemii na czczo i wartości Hb1c wykazali, iż różnice w średnicy i gęstości kapilar pomiędzy grupą chorych na cukrzycę i grupą kontrolną były związane jedynie z występowaniem retinopatii. Nie wykazali znaczenia wpływu wyrównania metabolicznego cukrzycy na parametry kapilar.

Badania u 18 chorych na cukrzycę typu 1. w wieku ok. 15 lat wykazały, że obecność autonomicznej neuropatii wpływa istotnie negatywnie na maksymalny przepływ kapilarny w teście PORH w porównaniu z pacjentami bez neuropatii [328].

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazałam ujemną korelację pomiędzy wielkością $B_coverage$ i dodatnią pomiędzy $B_distance$ (przed L-argininą) a częstością

lekkich hipoglikemii. Uzasadnieniem tej zależności może być znany fakt, że ostra hipoglikemia wywołuje efekty prozapalne, agregację płytek krwi, ma działanie antyfibrynolityczne i prozakrzepowe. Nawracające epizody hipoglikemii mogą wywoływać zmiany w hemostazie i lepkości krwi prowadząc w ten sposób do zmniejszenia perfuzji u chorych z mikroangiopatią cukrzycową [95, 98, 342]. Wykazano ponadto, że pacjenci z typem 1. cukrzycy z powtarzającymi się epizodami hipoglikemii charakteryzują się niższym FMD oraz wyższym IMT [95].

Mikrokrążenie skórne a wybrane czynniki ryzyka

W badanej przeze mnie grupie chorych na cukrzycę nie wykazałam istotnej korelacji pomiędzy parametrami mikrokrążenia skórniego a stopniem wyrównania cukrzycy opisywanym poprzez stężenie hemoglobiny glikowanej. Parametry mikrokrążenia skórniego w warunkach podstawowych ($B_coverage$, $B_distance$) nie korelowały z poziomem cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL i LDL. Wykazałam jednakże ujemną korelację pomiędzy $\Delta_distance$ a poziomem frakcji LDL cholesterolu. W grupie kontrolnej zaś, żaden z parametrów mikrokrążenia skórniego nie korelował istotnie ze stężeniem frakcji cholesterolu i trójglicerydów.

W badanej grupie wnioskowanie o roli hiperlipidemii musi być prowadzone z uwzględnieniem faktu, że występowała ona u 42% osób grupy kontrolnej, co stanowi mniej niż szacowana częstość w populacji polskiej, która wynosiła 67% i 64% odpowiednio dla mężczyzn i kobiet [222]. Ta różnica w częstości występowania hiperlipidemii wynika z liczebności oraz z różnic wiekowych badanych populacji w badaniu WOBASZ oraz w mojej pracy [222].

W moich badaniach grupa chorych na cukrzycę charakteryzowała się istotnie niższym poziomem cholesterolu całkowitego i trójglicerydów. Ta istotna różnica może wynikać z faktu przyjmowania statyn w grupie chorych na cukrzycę.

Kwas moczowy jest uważany obecnie za niezależny czynnik ryzyka chorób układu krążenia. W moich badaniach, podobnie jak w próbach Matheus'a i wsp. [189], jego stężenie było istotnie niższe w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną. Możliwe jest wytłumaczenie tego paradoksu proponowane przez Pitocco i wsp. [230], iż zmniejszenie stężenia kwasu moczowego może być związane ze wzrostem stresu oksydacyjnego spowodowanego najpewniej bezpośrednio nadprodukcją NO.

W moich badaniach (dane nieprezentowane) zarówno w grupie chorych na cukrzycę jak i kontrolnej występowała zależna od płci istotna różnica w stężeniu kwasu moczowego. Była ona wywołana wyłącznie poprzez różnice pomiędzy mężczyznami, ponieważ stężenie kwasu moczowego nie różniło się istotnie pomiędzy grupą kobiet z cukrzycą i z grupy kontrolnej, co potwierdzają wyniki innych badaczy [352].

W moich badaniach w grupie chorych z 1. typem cukrzycy stężenie kwasu moczowego korelowało dodatnio z PWV ($p=0,045$). Zależności tej nie wykazałam dla grupy kontrolnej.

Analiza zależności pomiędzy parametrami charakteryzującymi makrokrążenie i mikrokrążenie skórne pozwoliła jedynie na wykazanie ujemnej korelacji pomiędzy PWV a $B_distance$ ($p=0,049$) w grupie kontrolnej. Wydaje się, że informacje te należy traktować jako wstępne, wymagające dalszych badań opartych o protokół nakierowany na badanie tych zależności.

Przeprowadzając analizy uzyskanych wyników badań biochemicznych stwierdziłam istotnie wyższe stężenie CRP w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną. Jest to zgodne z wynikami dostępnych prac, w których autorzy raportują podwyższone stężenie CRP w cukrzycy [256, 299]. Trzeba podkreślić, że choć mediana CRP dla grupy badanych przeze mnie chorych na cukrzycę wynosiła 1,6 to zakres oznaczeń wahał się od 0,3 do 41,1. Ponieważ w badaniu przedmiotowym jak i podmiotowym u żadnej z osób nie stwierdzono cech infekcji, w związku z tym osoby te nie zostały wykluczone z badania. Badane grupy nie różniły się natomiast poziomem fibrynogenu. W piśmiennictwie przeważa jednak opinia o zwiększonym poziomie fibrynogenu u chorych na cukrzycę typu 1 [280, 299].

W badanej przeze mnie grupie chorych na cukrzycę jak i grupie kontrolnej stężenie CRP, jak i fibrynogenu nie korelowało ze wskaźnikami charakteryzującymi mikrokrażenie skórne. Stężenie CRP i fibrynogenu nie korelowało również z występowaniem mikroangiopatii klasycznych tj.: retinopatii, neuropatii i nefropatii.

Analiza porównawcza podgrup chorych na cukrzycę z mikroangiopatią skórną i bez tego powikłania wykazała, że różniły się one istotnie poziomem fibrynogenu. Wyższe stężenie fibrynogenu stwierdziłam u chorych z mikroangiopatią skórną. Stężenie fibrynogenu jest głównym wyznacznikiem lepkości osocza, która jest jednym z najsilniejszych predyktorów niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych m.in. w cukrzycy [177]. Zwiększona lepkość osocza poprzez zwiększenie sił ścinania aktywuje komórki śródbłonna [177]. Wysokie stężenie fibrynogenu może mieć zatem istotne niekorzystne konsekwencje dla perfuzji i dotlenienia tkanek [336]. Wyższy poziom fibrynogenu może być odpowiedzialny za nieprawidłową reaktywność mikrokrażenia u chorych z mikroangiopatią skórną w przebiegu cukrzycy. Według zaproponowanej przeze mnie definicji, mikroangiopatię skórną wykazano także w grupie kontrolnej, jednakże tutaj nie wykazano różnic stężenia fibrynogenu.

Związek pomiędzy CRP a progresją retinopatii [176], obwodowej neuropatii [73] czy nefropatii cukrzycowej [269] wykazano w badaniach kobiet na cukrzycę typu 1. W badaniu belgijskim wykazano, że CRP może być wskaźnikiem ryzyka wystąpienia powikłań mikroangiopatycznych [52]. Badania przeprowadzone wśród chorych z chorobą wieńcową wykazały, że istotnie podwyższone stężenie CRP było związane zarówno z zależną jak i niezależną od śródbłonna dysfunkcją mikrokrażenia wieńcowego [303, 313]. Interesujący jest jednakże fakt, że nie wykazano istotnej roli CRP w badaniach nad patogenezą choroby małych naczyń OUN [245, 261], chociaż ostatnie badania Kozery wykazały jednak ujemną korelację pomiędzy reaktywnością naczyń mózgowych w teście z L-argininą a stężeniem CRP [159].

W badanej przeze mnie grupie kontrolnej stężenie CRP było dodatnio skorelowane z PWV ($r=0,53$; $p=0,01$). Wynik ten jest zgodny z prezentowanymi w piśmiennictwie doniesieniami z badań przeprowadzonych u zdrowych ochotników [347] oraz w grupie z chorobą wieńcową [283] i nadciśnieniem tętniczym [180]. Wyniki moich badań wykazały ponadto, że w tejże grupie kontrolnej stężenie fibrynogenu było dodatnio skorelowane z PWV ($r=0,55$; $p=0,01$), jak również z IMT ($r=0,49$; $p=0,02$). Również inni autorzy wykazali dodatnią zależność pomiędzy stężeniem fibrynogenu a IMT u osób zdrowych [102, 343]. W opozycji są doniesienia innych autorów, którzy nie stwierdzili zależności pomiędzy stężeniem fibrynogenu a PWV w grupie zdrowych mężczyzn [220] i kobiet [298].

Analizy, które przeprowadziłam w grupie osób na cukrzycę nie wykazały istotności statystycznej dla zależności przedstawionych uprzednio dla grupy kontrolnej. Wartości współczynnika korelacji wynosiły odpowiednio dla CRP z PWV ($r=0,19$; $p=0,22$), dla fibrynogenu z PWV ($r=-0,12$; $p=0,46$) oraz dla fibrynogenu z IMT ($r=0,19$, $p=0,20$). Podobny rezultat uzyskali Klein i wsp. [156] w badaniu DCCT/EDIC, wykazując brak korelacji fibrynogenu z IMT. Merinn i wsp. [193] badając chorych na cukrzycę typu 1. wykazali istotną zależność pomiędzy stężeniem fibrynogenu i IMT. Jednakże godnym podkreślenia jest fakt, że inne analizy badania DCCT/EDIC wykazały, że fibrynogen jest najlepszym predyktorem zwiększenia IMT [174].

Cecelja i Chowienzyk [36] stwierdzili, że w 52% badań PWV było istotnie większe w cukrzycy niż w odpowiednich grupach kontrolnych. Autorzy tego przeglądu stwierdzili ponadto, że wartość prognostyczna PWV może odnosić się do procesu starzenia naczyń niezwiązanego z klasycznymi czynnikami ryzyka innymi niż nadciśnienie tętnicze [36].

Przeprowadzone przeze mnie analizy w grupie chorych na cukrzycę wykazały istotną korelację stężenia fibrynogenu ze stężeniem angiogeniny w surowicy ($r=0,49$; $p=0,001$). W piśmiennictwie nie przedstawiono jak dotąd podobnych analiz. Działanie prozapalne fibrynogenu i wzmożona neoangiogeneza doprowadzają w efekcie do usztywnienia naczyń.

Palenie tytoniu

Związek pomiędzy paleniem tytoniu a występowaniem powikłań mikroangiopatycznych u chorych na cukrzycę typu 1. był analizowany dodatkowo przy badaniu innych zagadnień. W kilku pracach wykazano, iż palenie tytoniu zwiększa ryzyko występowania mikroangiopatii: retinopatii [41, 42, 144, 200, 201, 201, 277], nefropatii [41, 42, 144, 201, 213, 247, 255, 277] czy neuropatii [48, 188, 195]. W badaniu EURODIAB IDDM Complications Study wykazano, że o ile we wczesnym okresie cukrzycy typu 1. (do 5 lat) palenie tytoniu oraz wywiad rodzinny w kierunku nadciśnienia tętniczego są głównymi czynnikami ryzyka rozwoju mikroangiopatii, to po dłuższym czasie trwania cukrzycy (powyżej 14 lat) dodatkowe czynniki, takie jak: gorsza kontrola glikemii, podwyższone ciśnienie tętnicze czy zaburzenia lipidowe, mają swój udział w dysfunkcji śródbłonna [144].

Wpływ palenia na występowanie retinopatii u chorych na cukrzycę typu 1. nie jest tak jednoznaczny jak w przypadku doniesień piśmiennictwa dotyczących neuropatii czy nefropatii. Badanie EURODIAB IDDM wykazało, iż istotnie palenie tytoniu jest czynnikiem ryzyka wystąpienia i progresji retinopatii cukrzycowej, jednak inne doniesienia nie traktują palenia, jako istotnego czynnika [234]. Część badań nie wykazała wpływu palenia tytoniu na występowanie retinopatii [198], neuropatii, nefropatii czy reaktywności mikrokrążenia skórno [91].

W badaniach z zastosowaniem laserowego przepływomierza dopplerowskiego wykazano, że przewlekłe palenie tytoniu wywołuje zaburzenia reaktywności naczyń skórných zależne i niezależne od śródbłonna [116, 226].

W moich badaniach w grupie chorych na cukrzycę nie wykazałam zależności pomiędzy wpływem przewlekłego palenia tytoniu na występowanie retinopatii, neuropatii, mikroalbuminurii czy jawnej nefropatii oraz mikroangiopatii skórnej. W grupie kontrol-

nej nie wykazałam również wpływu palenia tytoniu ani na parametry podstawowe jak również na reaktywność naczyń skórnych.

Podgrupy chorych na cukrzycę typu 1. wydzielone ze względu na fakt palenia tytoniu różniły się istotnie stężeniem angiogeniny. Stężenie angiogeniny było istotnie wyższe w grupie palących chorych na cukrzycę w porównaniu z niepalącymi. Należy jednak podkreślić, że w jedynej pracy, która porusza wpływ palenia tytoniu na stężenie angiogeniny nie wykazano istotnej zależności pomiędzy nałogiem a stężeniem angiogeniny [19].

Palenie tytoniu jest modyfikowalnym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy. Narażenie na dym tytoniowy uruchamia szereg mechanizmów predysponujących do rozwoju miażdżycy, w tym zakrzepicy, insulinooporności i zaburzeń lipidowych, zapalenia naczyń i angiogenezy naczyń [20, 113, 115]. Działanie nikotyny odbywa się poprzez receptory cholinergiczne nACh poprzez wiązanie się z receptorem zaburza ważne procesy biologiczne takie jak m.in. regulacja proliferacji komórek, odporność, apoptoza, migracja oraz angiogeneza [35]. Jest możliwe, że zaburzona angiogeneza jest częściowo stymulowana pośrednio poprzez zwiększone stężenie angiogeniny.

Nie wykazałam natomiast istotnych różnic pomiędzy podgrupami palaczy i niepalących chorych z typem 1. cukrzycy dla: HbA1c, ADMA, IMT oraz PWV [240].

W grupie kontrolnej żaden z powyższych parametrów nie różnił się istotnie pomiędzy palaczami i osobami niepalącymi.

Dane z piśmiennictwa wykazują, iż osoby palące od 25 lat mają niższe stężenie ADMA w porównaniu z osobami niepalącymi [76, 354], a z drugiej strony nie wykazano wpływu palenia na stężenie ADMA u chorych z typem 1. cukrzycy [259].

Doniesienia dotyczące wpływu przewlekłego palenia tytoniu na PWV są rozbieżne. W grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym palących obecnie bądź w przeszłości PWV była istotnie wyższa w porównaniu z niepalącymi [136], u zdrowych ochotników nie wykazano zaś istotnego związku pomiędzy paleniem tytoniu a PWV [243].

Dane w piśmiennictwie wyraźnie określają dodatnią zależność pomiędzy IMT a paleniem tytoniu zarówno u osób zdrowych jak i z typem 1. cukrzycy, czy w innych zaburzeniach [82, 112, 232]. Niezgodność w tej kwestii z wynikami uzyskanymi w mojej pracy wynika najpewniej z małej liczebności osób palących: zaledwie 10 chorych na cukrzycę oraz 3 osoby z grupy kontrolnej. Zatem w opinii autorki konieczne jest zaprojektowanie dużego badania jako kontynuacji obecnej pracy skoncentrowanego na ocenie wpływu przewlekłego palenia tytoniu na reaktywność mikrokrażenia skórniego.

Niewiele jak dotąd wiadomo o stężeniu angiogeniny w populacji chorych z typem 1. cukrzycy w średnim wieku i zależności pomiędzy jej stężeniem a występowaniem powikłań mikroangiopatycznych innych niż retinopatia.

Analiza statystyczna wyników przeprowadzonych przeze mnie badań nie wykazała istotnych statystycznie różnic w stężeniu angiogeniny pomiędzy grupą chorych na cukrzycę a grupą kontrolną nawet po wykluczeniu chorych z mikroangiopatią, nadciśnieniem tętniczym bądź osób palących.

Analizy, które przeprowadziłam w badanej grupie chorych na cukrzycę pozwoliły na wykazanie istotnie wyższego stężenia angiogeniny u chorych z nefropatią jawną w porównaniu do chorych bez tego powikłania. Podobną zależność wykazał Malamitsi-Puchner i wsp. w grupie młodych chorych na cukrzycę typu 1 [181].

Zależność pomiędzy stężeniem angiogeniny a kontrolą metaboliczną cukrzycy, płcią i wiekiem na cukrzycę tak typu 1. jak i 2. była przedmiotem badań kilku zespołów badaczy. Malamitsi-Puchner i wsp. [181] wykazali wyższe stężenie angiogeniny w grupie

młodych chorych na cukrzycę typu 1. Chiarelli i wsp. wykazali, że stężenie angiogeniny było istotnie wyższe u młodych chorych z typem 1. cukrzycy, nawet u tych w okresie przedszkolnym i przed pokwitaniem. Wyniki tych badań wyraźnie pokazały, że stężenie angiogeniny jest podwyższone zwłaszcza u młodocianych i młodych dorosłych z cukrzycą typu 1. z retinopatią i nefropatią. Stwierdzono, że istotny wzrost stężenia angiogeniny w surowicy dzieci w typem 1. cukrzycy można uważać za jeden ze wskaźników ryzyka rozwoju powikłań mikroangiopatycznych [44]. Odmienne wyniki uzyskał Marek i wsp. [186] wykazując niższe stężenie angiogeniny u chorych w średnim wieku z typem 1. cukrzycy z retinopatią w porównaniu z grupą kontrolną i pacjentami z typem 1. cukrzycy bez retinopatii.

Wyniki moich badań są zgodne z doniesieniami dotyczącymi młodszych populacji, gdzie również nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem angiogeniny a stężeniem hemoglobiny glikowanej [181], czasem trwania cukrzycy [44, 181] czy płcią [181]. Zależność pomiędzy stężeniem angiogeniny i czasem trwania cukrzycy wykazało jedynie jedno badanie dotyczące cukrzycy u dzieci [356].

W badanej przeze mnie grupie stężenie angiogeniny korelowało dodatnio jedynie z *B_distance* w grupie chorych na cukrzycę, co można tłumaczyć tym, że im większe stężenie angiogeniny, tym większa odległość pomiędzy kapilarami. Nie odzwierciedla to jednak powszechnych wyobrażeń o roli angiogeniny w neoangiogenezie. Interpretacja istotności statystycznej korelacji pomiędzy *B_distance* i stężeniem angiogeniny w cukrzycy musi być przeprowadzona z wielką ostrożnością, ponieważ zarówno *B_coverage* nie korelowało ze stężeniem angiogeniny zaś *T_coverage* i *T_distance* nie uległy zmianie w stosunku do wartości *B_coverage* i *B_distance*.

Prezentowane w niniejszej pracy analizy wykazały zarówno w grupie chorych na cukrzycę jak i grupie kontrolnej istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem angiogeniny i stężeniem trójglicerydów, zaś u chorych na cukrzycę pomiędzy stężeniem angiogeniny i dobowego zapotrzebowania na insulinę oraz stężeniem fibrynogenu i frakcji LDL cholesterolu. W grupie kontrolnej zanotowano odwrotną korelację pomiędzy stężeniem angiogeniny i stężeniem frakcji HDL cholesterolu.

Jedynie badania dotyczące roli angiogeniny u chorych z typie 2. cukrzycy przeprowadził Siebert i wsp. [274]. Badania te wykazały niższe stężenie angiogeniny w grupie na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną oraz ujemną korelację pomiędzy stężeniem angiogeniny i hemoglobiny glikowanej [275].

Angiogenina stymuluje angiogenezę, która z kolei poprzez zwiększenie powierzchni przesączania kłębuszkowego, może być odpowiedzialna za progresję nefropatii cukrzycowej [215]. Jak dotąd, nie rozstrzygnięty jest problem czy stężenie angiogeniny może służyć jako jedyny czynnik do podjęcia decyzji o pierwotnej prewencji nefropatii.

Asymetryczna dimetyloarginina jest konkurencyjnym inhibitorem śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS) i jest uznawana jako niezależny marker dysfunkcji śródbłonka [26] i czynnik ryzyka chorób układu krążenia [28, 330]. Nie ma jak dotąd ustalonych wartości referencyjnych stężenia ADMA w cukrzycy typu 1. W przeprowadzonych analizach wykazałam, że badana grupa chorych na cukrzycę typu 1. charakteryzowała się istotnie niższym stężeniem ADMA w porównaniu z grupą kontrolną.

Przegląd piśmiennictwa wskazuje prace, w których wykazano, że w cukrzycy typu 1. stężenie ADMA jest obniżone [122, 185, 231, 271], podwyższone [5] lub porównywalne z grupą kontrolną [108]. Zależność stężenia ADMA od płci wykazali Marcovecchio i wsp. [185]. Wykazali oni wyższe stężenie ADMA u chorych mężczyzn na

cukrzycę typu 1. i początkiem choroby w okresie dzieciństwa. W moim materiale nie stwierdziłam wpływu płci na stężenie ADMA zarówno w grupie chorych na cukrzycę jak i w grupie kontrolnej.

W obrębie badanej przeze mnie populacji chorych na cukrzycę obecność mikroalbuminurii związana była z istotnie wyższym stężeniem ADMA w porównaniu z grupą bez mikroalbuminurii; podobne rezultaty uzyskali Tarnow i wsp. [300].

Marcovecchio i wsp. w grupie młodych chorych (mediana wieku 13,7 lat) na cukrzycę typu 1. wykazali istotnie niższe stężenie ADMA związane z mikroalbuminurią w porównaniu do normoalbuminurii, jednakże po skorygowaniu do poziomu HbA1c ta różnica zniknęła [185]. Badania Głowińskiej-Olszewskiej nie wykazały istotnych różnic w stężeniu ADMA w badaniach oceniających stężenie ADMA u dzieci na cukrzycę typu 1. bez powikłań mikroangiopatycznych w porównaniu z grupą kontrolną [108].

W moich analizach nie stwierdziłam istotnych różnic w stężeniu ADMA w zależności od występowania retinopatii, neuropatii czy nefropatii jawnej. Podobne spostrzeżenie opublikowali Tarnow i wsp. [300] odnośnie retinopatii oraz Yasar i wsp. odnośnie neuropatii cukrzycowej [346]. W kilku innych badaniach potwierdzono istotny wzrost stężenia ADMA u chorych z retinopatią [1] i nefropatią [1, 166, 300]. Nie wykazałam również istotnej różnicy stężenia ADMA w podgrupach chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na obecność lub brak mikroangiopatii skórnej.

W badanej grupie kontrolnej wykazałam istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem ADMA a zmianą $\Delta_distance$ w teście z L-argininą. Parametr $distance$ nie był dotychczas dyskutowany w piśmiennictwie, dlatego brak jest możliwości porównania wniosków uzyskanych przeze mnie z innymi badaczami. Ponieważ większa wartość $\Delta_distance$ sugeruje zjawisko rozrzedzenia kapilar, wydaje się zasadna hipoteza, że zarówno $\Delta_distance$ jak i stężenie ADMA mogą być użytecznymi wykładnikami rozrzedzenia kapilar w łożysku skórnym. Hipoteza ta oczywiście wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach. Analogiczne korelacje w grupie na cukrzycę nie osiągnęły założonej istotności statystycznej.

Podczas analizy w podgrupach chorych wyszczególnionych ze względu na wiek zachorowania wykazałam, iż nie różnią się one pomiędzy sobą istotnie stężeniem ADMA. Stężenie ADMA w moich badaniach nie korelowało również z czasem trwania cukrzycy, wiekiem badanych czy płcią. Tarnow i wsp. wykazali dodatnią korelację stężenia ADMA z wiekiem badanych i brak różnic w stężeniu ADMA zależnych od płci [300]. Natomiast Marcovecchio i wsp. w grupie młodych chorych wykazali, iż stężenie ADMA malało się z wiekiem badanych i był istotnie wyższy u mężczyzn [185].

Wyniki moich analiz jak również Tarnow i wsp. nie wykazały korelacji pomiędzy stężeniem ADMA i HbA1c [300], zaś badania Huemera i wsp. w grupie dzieci na cukrzycę typu 1 wykazały ujemną korelację pomiędzy stężeniem ADMA a stężeniem HbA1c [122].

W moich badaniach w grupie chorych na cukrzycę wykazałam zależności pomiędzy stężeniem ADMA a stężeniem trójglicerydów i częstością lekkich hipoglikemii. Korelację stężeń ADMA i trójglicerydów potwierdzają dane z piśmiennictwa [179, 345]. Przyjmuje się powszechnie, że hiperglikemia nasilając stres oksydacyjny powoduje zwiększenie ADMA. Można zatem wysunąć hipotezę, iż częste hipoglikemie, które są związane z równie często po nich występującymi epizodami hiperglikemii, które przez wymieniony wyżej mechanizm doprowadzają pośrednio do wzrostu stężenia ADMA.

W badanej przeze mnie grupie stężenie ADMA nie korelowało z poziomem frakcji LDL i HDL cholesterolu w odróżnieniu od wyników uzyskanych przez Altinova i wsp. [5]. Ponadto, w odróżnieniu od Böger i wsp. [26], którzy stwierdzili istotnie wyższe stężenie ADMA u młodych osób z hipercholesterolemią, w badanej przeze mnie populacji chorych na cukrzycę oraz grupie kontrolnej nie wykazałam korelacji ADMA i stężenia cholesterolu całkowitego.

Wśród chorych na cukrzycę stężenie ADMA nie różniło się istotnie u osób bez nadciśnienia tętniczego oraz z nadciśnieniem tętniczym ($n=8$). Niereprezentatywność grupy osób na cukrzycę i współistniejącym nadciśnieniem tętniczym nie pozwala na zasadne wnioskowanie o zależności pomiędzy ciśnieniem tętniczym a ADMA. Warto w tym miejscu zaznaczyć, że badanie Sonmez i wsp. [282] wykazało, że stężenie ADMA jest istotnie podwyższone u osób z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu do osób zdrowych. Badając grupę zdrowych mężczyzn w średnim wieku Päivä i wsp. [221] stwierdzili brak zależności pomiędzy stężeniem ADMA a wysokością ciśnienia tętniczego mierzonego konwencjonalnie lub za pomocą ABPM.

Mikrokrążenie skórne a makrokrążenie

Wykazałam, że chorzy na cukrzycę charakteryzują się istotnie grubszym kompleksem błona wewnętrzna-środkowa w porównaniu z grupą kontrolną.

Badając zależność pomiędzy wymienionymi wskaźnikami a płcią w badanych grupach, stwierdziłam, że IMT – zarówno pośród chorych na cukrzycę jak i osób z grupy kontrolnej – była większa u mężczyzn niż u kobiet. z kolei, PWV była większa u mężczyzn niż u kobiet jedynie w grupie kontrolnej. Ze względu na fakt, że w obydwu badanych grupach średni wiek kobiet i mężczyzn nie różnił się w sposób istotny, wcześniej przedstawione wartości IMT, PWV wskazują na fakt większych zmian miażdżycowych związanych z płcią męską.

Wielkość IMT, markera wczesnej miażdżycy [205], w badanej przeze mnie grupie chorych na cukrzycę była istotnie większa w porównaniu do grupy kontrolnej, co jest zgodne z doniesieniami z piśmiennictwa [97, 272]. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa różniła się istotnie pomiędzy podgrupą chorych, którzy zachorowali na cukrzycę po 19 rż. a grupą kontrolną. Grubość kompleksu IM korelowała istotnie z wiekiem metrykalnym ($r=0,58$; $p<0,001$) oraz wiekiem zachorowania ($r=0,35$; $p=0,02$) w grupie na cukrzycę. Mimo znanej zależności pomiędzy IMT a wiekiem metrykalnym [102] moje analizy nie wykazały takiej zależności w grupie kontrolnej. Mimo, iż grupy badane nie różniły się istotnie wiekiem metrykalnym, to jednak grupa chorych na cukrzycę obejmowała osoby od 29 do 55 lat, zaś grupa kontrolna od 26 do 51 lat, być może dlatego dla grupy kontrolnej nie ujawniła się korelacja pomiędzy IMT a wiekiem ($r=0,40$; $p=0,053$).

Również badania Ogawy i wsp. wykazały dodatni związek pomiędzy wiekiem metrykalnym, wiekiem zachorowania na typ 1. cukrzycy a wielkością IMT [216]. Podobnie badania u dzieci potwierdziły istotnie większe IMT zależne od wcześniejszego wieku zachorowania [59]. z kolei Kranz i wsp. [160] nie wykazali korelacji pomiędzy IMT a wiekiem oraz czasem trwania cukrzycy w grupie chorych 15-latków.

Powyższe wyniki wskazują, że badana grupa chorych na cukrzycę nie miała zaawansowanych zmian makroangiopatycznych a jedynie zmienioną strukturę naczyń w porównaniu z grupą kontrolną. W przeciwieństwie do omówionych wyżej wyników,

część badaczy wykazuje prawidłową IMT w grupie chorych na cukrzycę nawet z czasem trwania 9 lat i średnim jej wyrównaniem (HbA1c 7,6%) [123]. Chciałabym tu zaznaczyć, że w pracy tej czas trwania cukrzycy był znacznie krótszy niż charakteryzowane przeze mnie podgrupy chorych na cukrzycę.

U chorych z długim czasem trwania cukrzycy typu 1. (26 lat, zakres 18-59 lat) wykazano dodatnią korelację pomiędzy IMT a aktualnym wiekiem chorych i czasem trwania cukrzycy [69].

W obu analizowanych przeze mnie grupach chorych na cukrzycę i kontrolnej, IMT korelowało z masą ciała oraz BMI. Podobne zależności dla zdrowych [102, 281] i chorych na cukrzycę [69] wykazali również inni autorzy.

Analiza, którą przeprowadziłam w podgrupach wydzielonych ze względu na obecność każdej z klasycznych postaci mikroangiopatii, nie wykazała istotnie różnych wielkości IMT pomiędzy grupami. Podobne wyniki uzyskał Seon i wsp. [264]. Odmienne, Głowińska-Olszewska i wsp. wykazali grubszy kompleks IM u młodych chorych w wieku 15-20 lat na cukrzycę typu 1. z retinopatią [97], zaś badania Araszkiewicz i wsp. w grupie 34-latków z 10-letnim czasem trwania cukrzycy [10] w porównaniu do chorych bez powikłań. Krantz i wsp. wykazali w grupie chorych 15-latków na cukrzycę grubszy kompleks IM u chorych z mikroalbuminurią bądź retinopatią w porównaniu do osób bez tych powikłań [160].

W badanej przeze mnie grupie PWV nie różniło się istotnie pomiędzy chorymi na cukrzycę i grupą kontrolną, podobnie jak u Sweitzer i wsp. [296]. W grupie chorych na cukrzycę PWV korelowało dodatnio z czasem trwania choroby, wielkością wskaźnika albumina/kreatynina oraz stężeniem kwasu moczowego.

Analizy statystyczne wykazały, iż badana przeze mnie grupa chorych na cukrzycę z retinopatią bądź neuropatią charakteryzowała się istotnie wyższym PWV w porównaniu do chorych bez tychże mikroangiopatii. Podobne spostrzeżenie odnośnie związku PWV z obecnością retinopatii przedstawili Yun i wsp. na podstawie badań przeprowadzonych u chorych na cukrzycę typu 2 [349].

Ponadto w moich badaniach w grupie kontrolnej, podobnie jak u Furuki i wsp., IMT korelowała dodatnio ze stężeniem ADMA [87]. W wielu doniesieniach, w wielu stanach patologii potwierdzano dodatnią korelację pomiędzy IMT a stężeniem ADMA [14, 45, 263, 265].

Dotychczasowe badania wykazały, iż IMT ma być testem oceniającym nasilenie zmian miażdżycowych w obserwacji długoterminowej. Według zaleceń Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego IMT oraz PWV są metodami nieinwazyjnymi, właściwymi do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego [183], zaś stężenie ADMA coraz powszechniej uznawane jest za biochemiczny marker funkcji śródbłonna.

Istnieje coraz więcej dowodów na to, że sztywność dużych tętnic jest niezależnym predyktorem umieralności całkowitej i z przyczyn sercowo-naczyniowych, chorobowości i umieralności z powodu choroby niedokrwiennej serca, częstości śmiertelnych udarów mózgu u osób z nadciśnieniem tętniczym, przewlekłą chorobą nerek oraz na cukrzycę.

Wskaźniki opisujące stan układu naczyniowego są przynajmniej na pewnych etapach rozwoju miażdżycy wzajemnie zależne. Opisano znamioną zależność pomiędzy PWV i IMT tętnic szyjnych, co potwierdziły również analizy wykonane przeze mnie zarówno w grupie chorych na cukrzycę jak też w grupie kontrolnej. Sztywność

i pogrubienie naczyń w typie 1. cukrzycy jest uznawane za wczesny marker uszkodzenia naczyń [94].

W badanej przeze mnie populacji chorych i grupy kontrolnej analizowałam zależność pomiędzy parametrami charakteryzującymi mikrokązenie skórne a indeksami opisującymi strukturę naczyń – grubość kompleksu błona wewnętrzna-środkowa (IMT) oraz funkcję naczyń – prędkość rozchodzenia się fali tętna (PWV). W piśmiennictwie nie znalazłam prac analizujących podobne zależności. W grupie chorych na cukrzycę typu 1. nie stwierdziłam istotnej zależności pomiędzy parametrami mikrokązenia skórnego a IMT i PWV.

Analiza podgrup chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na obecność mikroangiopatii skórnej również nie wykazała istotnych różnic w IMT i PWV.

W grupie kontrolnej wykazałam ujemną korelację pomiędzy *distance* (średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami) w warunkach podstawowych – *B_distance* a IMT ($r=-0,48$; $p=0,02$). Zależności takiej nie stwierdziłam u chorych na cukrzycę. Podgrupy chorych z początkiem choroby przed i po 19 rż., nie różniły się istotnie wartościami PWV pomiędzy sobą oraz w porównaniu z grupą kontrolną. Zaś IMT nie różniło się istotnie pomiędzy podgrupami chorych wydzielonymi ze względu na wiek zachorowania. Chorzy na cukrzycę, którzy zachorowali po 19 rż. w porównaniu z grupą kontrolną charakteryzowali się istotnie większą IMT i jednocześnie gorszą reaktywnością naczyń mikrokązenia skórnego wyrażoną poprzez istotnie niższą wartość $\Delta_coverage$ (również wyższa $\Delta_distance$).

Na tej podstawie można wysunąć hipotezę, że reaktywność mikrokązenia skórnego jest zależna od zmian funkcjonalnych w makrokązeniu u chorych na cukrzycę, którzy zachorowali po 19 rż.

Mikrokązenie skórne a ciśnienie tętnicze

Wartości ciśnienia tętniczego nie różniły się istotnie pomiędzy grupą chorych na cukrzycę typu 1. i grupą kontrolną.

Analizy zależności pomiędzy ciśnieniem tętniczym a zmiennymi opisującymi mikrokązenie nie dały identycznych wniosków w badanych grupach. Wykazana przeze mnie w grupie kontrolnej dodatnia korelacja pomiędzy skurczowym ciśnieniem tętniczym ($n=48$) a *R_coverage* charakteryzowała się graniczną istotnością statystyczną ($p=0,048$). W badanej przeze mnie całej grupie chorych na cukrzycę nie wykazałam istotnych korelacji pomiędzy parametrami ciśnienia tętniczego i częstością akcji serca a parametrami charakteryzującymi mikrokązenie skórne.

Badania u chorych z nadciśnieniem tętniczym wykazały, iż gęstość kapilar zarówno w warunkach podstawowych [235], jak i po PORH [267] korelowała ujemnie z wysokością ciśnienia tętniczego. W całej grupie chorych na cukrzycę stwierdziłam jedynie ujemną korelację pomiędzy ciśnieniem tętna i *B_coverage* ($r=-0,31$, $p=0,03$). Charakter tej korelacji i jej siła nie uległy zmianie po wykluczeniu chorych, którzy stosowali inhibitory konwertazy, receptora angiotensyny II czy β -blokery. Ponadto, wykazałam, że chorzy na cukrzycę bez mikroangiopatii skórnej i z mikroangiopatią skórną nie różnią się pomiędzy sobą istotnie wartościami ciśnienia tętniczego. Jednakże zależność podobną do opisywanej w badaniach chorych z nadciśnieniem [235, 267] wykazałam w podgrupie chorych na cukrzycę z początkiem choroby przed 19 rokiem życia jako ujemną korelację pomiędzy skurczowym ciśnieniem tętniczym a *B_coverage*.

Warto zaznaczyć, że podgrupy chorych na cukrzycę wydzielone ze względu na wiek zachorowania nie różniły się istotnie wartością ciśnienia tętniczego czy ciśnienia tętna. Jedynie w grupie, która zachorowała wcześniej i charakteryzowała się lepszą reaktywnością mikrokrażenia skórniego (porównywalną do grupy kontrolnej) wykazałam istotne korelacje pomiędzy $\Delta_coverage$ i $R_coverage$ a wartością ciśnienia skurczowego i rozkurczowego.

Obserwowane w grupie chorych na cukrzycę zjawisko maksymalnej rekrutacji kapilar w warunkach spoczynkowych w porównaniu z grupą kontrolną, czyli $B_coverage$ nie jest zjawiskiem korzystnym. Zaobserwowana ujemna korelacja pomiędzy ciśnieniem tętna a $B_coverage$ potwierdza znany związek pomiędzy znacznym obniżeniem ciśnienia a zaburzeniami w mikrokrażeniu. Jest to zgodne z zaleceniami opracowanymi przez gremia kardiologiczne, które nie zalecają zbyt znacznego obniżania ciśnienia tętniczego u chorych z grupy wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego.

6. WNIOSKI

1. Ocena reaktywności za pomocą testu z L-argininą i kapilaroskopią połączona z analizą ilościową uzyskanych obrazów cechuje się dobrą powtarzalnością.
2. Nieprawidłowa reaktywność kapilar w kapilaroskopowej ocenie zmian *coverage* w teście z L-argininą może być wykładnikiem mikroangiopatii skórnej.
3. Reaktywność mikrokążenia skórniego zależy jedynie od wieku zachorowania a nie jest zależna od wieku, czasu trwania cukrzycy, kontroli metabolicznej, stosowanego leczenia bądź chorób współistniejących.
4. W badanej grupie chorych na cukrzycę typu 1. wykazano występowanie zaburzeń reaktywności naczyń mikrokążenia skórniego.
5. Reaktywność naczyń mikrokążenia skórniego jest mniejsza w cukrzycy typu 1. z początkiem po okresie dojrzewania w porównaniu z chorymi, którzy zachorowali w okresie wcześniejszym.
6. Zmiany reaktywności mikrokążenia skórniego nie wiążą się z występowaniem innych mikroangiopatii.
7. Stężenie ADMA jest znamienne niższe w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu do grupy kontrolnej i nie koreluje z reaktywnością naczyń skórnych.
8. Stężenie angiogeniny nie różni się istotnie w grupie kontrolnej i grupie chorych na cukrzycę. W grupie chorych na cukrzycę stężenie angiogeniny koreluje istotnie ze średnim odstępem pomiędzy kapilarami w warunkach podstawowych (*B_distance*). Obecność jawnej nefropatii cukrzycowej wiąże się z istotnie wyższym stężeniem angiogeniny.
9. Nie stwierdzono związku pomiędzy badanymi parametrami mikrokążenia skórniego i wykładnikami funkcji i struktury makrokążenia.

7. PIŚMIENNICTWO

1. Abhary S., Kasmeridis N., Burdon K.P., Kuot A., Whiting M.J., Yew W.P., Petrovsky N., Craig J.E. Diabetic retinopathy is associated with elevated serum asymmetric and symmetric dimethyloarginines. *Diabetes Care* 2009, 32, 1, 2084-2086.
2. Abi-Chahin T.C., Hausen.Mde.A. Microvascular reactivity in type 1 diabetics. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2009, 53, 6, 741-746.
3. Achan V., Broadhead M., Malaki M., Whitley G., Leiper J., MacAllister R., Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003, 23, 8, 1455-1459.
4. Akasaka T., Yoshida K., Hozumi T., Takagi T., Kaji S., Kawamoto T., Morioka S., Yoshikawa J. Retinopathy identifies marked restriction of coronary flow reserve in patients with diabetes mellitus. *J.Am.Coll.Cardiol.* 1997, 30, 4, 935-941.
5. Altinova A.E., Arslan M., Sepici-Dincel A., Akturk M., Altan N., Toruner F.B. Uncomplicated type 1 diabetes is associated with increased asymmetric dimethylarginine concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007, 92, 5, 1881-1885.
6. Altomonte L., Zoli A., Galossi A., Mirone L., Tulli A., Martone F.R., Morini P., Laraia P., Magaro M. Microvascular capillaroscopic abnormalities in rheumatoid arthritis patients. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1995, 13, 1, 83-86.
7. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010, 33, Suppl. 1, S62-S69.
8. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010. *Diabetes Care* 2010, 33, Suppl. 1, S11-S61.
9. Antonios T.F.T., Kaski J.C., Hasan K.M., Brown S.J., Singer D.R.J. Rarefaction of skin capillaries in patients with anginal chest pain and normal coronary arteriograms. *Eur. Heart J.* 2001, 22, 13, 1144-1148.
10. Araszkievicz A., Rogowicz-Frontczak A., Zozulinska-Ziolkiewicz D., Pilacinski S., Wykretowicz A., Wierusz-Wysocka B. Presence of retinopathy in type 1 diabetic patients is associated with subclinical macroangiopathy. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2011, 71, 7, 563-568.
11. Aslanidis S., Pyrpasopoulou A., Doumas M., Triantafyllou A., Chatzimichailidou S., Zamboulis C. Association of capillaroscopic

- microhaemorrhages with clinical and immunological antiphospholipid syndrome. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2011, 29, 2, 307-309.
12. Asmar R.G., Benetos A., London G., Hugue Ch., Weiss Y., Topouchian J., Laloux B., Safar M. Aortic distensibility in normotensive, untreated and treated hypertensive patients. *Blood Pressure* 1995, 4, 1, 48-54.
 13. Asmar R.G., Benetos A., Topouchian J., Laurent P., Pannier B., Brisac A.-M., Target R., Levy B.I. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension* 1995, 26, 3, 485-490.
 14. Bai Y., Sun L., Du L., Zhang T., Xin W., Lan X., Du G. Association of circulating levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with carotid intima-media thickness: Evidence from 6168 participants. *Ageing Res Rev.* In press.
 15. Barchetta I., Riccieri V., Vasile M., Stefanantoni K., Comberlati P., Taverniti L., Cavallo M.G. High prevalence of capillary abnormalities in patients with diabetes and association with retinopathy. *Diabet. Med.* 2011, 28, 9, 1039-1044.
 16. Baudouin S.V., Bath P., Martin J.F., Du Bois R., Evans T.W. L-Arginine infusion has no effect on systemic haemodynamics in normal volunteers, or systemic and pulmonary haemodynamics in patients with elevated pulmonary vascular resistance. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1993, 36, 1, 45-49.
 17. Bednarz B., Wolk R., Chamiec T., Herbaczynska-Cedro K., Winek D., Ceremuzynski L. Effects of oral L-arginine supplementation on exercise-induced QT dispersion and exercise tolerance in stable angina pectoris. *Int. J. Cardiol.* 2000, 75, 2-3, 205-210.
 18. Benjamin N., Calver N., Collier J., Robinson B., Vallance P., Webb D. Measuring forearm blood flow and interpreting the responses to drugs and mediators. *Hypertension* 1995, 25, 918-923.
 19. Bennett P.C., Gill P.S., Silverman S., Blann A.D., Balakrishnan B., Lip G.Y. Ethnic/racial differences in circulating markers of angiogenesis and their association with cardiovascular risk factors and cardiovascular disease. *Int. J. Cardiol.* In press.
 20. Benowitz N.L. Cigarette smoking and cardiovascular disease: Pathophysiology and implications for treatment. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2003, 46, 1, 91-111.
 21. Bicknell R., Vallee B.L. Angiogenin stimulates endothelial cell prostacyclin secretion by activation of phospholipase A2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1989, 86, 5, 1573-1577.

-
22. Blum A., Hathaway L., Mincemoyer R., Schenke W.H., Kirby M., Csako G., Waclawiw M.A., Panza J.A., Cannon III R.O. Oral L-arginine in patients with coronary artery disease on medical management. *Circulation* 2000, 101, 18, 2160-2164.
 23. Bode-Böger S.M., Böger R.H., Alfke H., Heinzel D., Tsikas D., Creutzig A., Alexander K., Froelich J.C. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia: A randomized, controlled study. *Circulation* 1996, 93, 1, 85-90.
 24. Bode-Böger S.M., Böger R.H., Löffler M., Tsikas D., Brabant G., Froelich J.C. L-arginine stimulates NO-dependent vasodilation in healthy humans-effect of somatostatin pretreatment. *J. Investig. Med.* 1999, 47, 1, 43-50.
 25. Bode-Böger S.M., Böger R.H., Galland A., Tsikas D., Frolich J.C. L-arginine-induced vasodilation in healthy humans: Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998, 46, 5, 489-497.
 26. Böger R.H., Bode-Böger S.M., Szuba A., Tsao P.S., Chan J.R., Tangphao O., Blaschke T.F., Cooke J.P. Asymmetric dimethylarginine ADMA.: A novel risk factor for endothelial dysfunction: Its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998, 98, 18, 1842-1847.
 27. Böger R.H. The pharmacodynamics of L-arginine. *J. Nutr.* 2007, 137, 6, 1650S-1655S.
 28. Böger R.H., Zoccali C. ADMA: A novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atheroscler.* 2003, 4(4), 23-28.
 29. Bonacci E., Santacroce N.D., Amico N., Mattace R. Nail-fold capillaroscopy in the study of microcirculation in elderly hypertensive patients. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1996, 22, Suppl 1, 79-83.
 30. Braverman I.M. The cutaneous microcirculation. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2000, 5, 1, 3-9.
 31. Brown G.E., O'Leary P.A. Skin capillaries in scleroderma. *Arch. Intern. Med.* 1925, 36, 1, 73-88.
 32. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001, 414, 6865, 813-820.
 33. Burke A.P., Kolodgie F.D., Zieske A., Fowler D.R., Weber D.K., Varghese P.J., Farb A., Virmani R. Morphologic findings of coronary atherosclerotic plaques in diabetics: A postmortem study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 24, 7, 1266-1271.

34. Caballero A.E. Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. *Obes. Res.* 2003, 11, 11, 1278-1289.
35. Cardinale A., Nastrucci C., Cesario A., Russo P. Nicotine: Specific role in angiogenesis, proliferation and apoptosis. *Crit. Rev. Toxicol.* 2012, 42, 1, 68-89.
36. Cecelja M., Chowienczyk P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review. *Hypertension* 2009, 54, 6, 1328-1336.
37. Ceremużyński L., Chamiec T., Herbaczyńska-Cedro K. Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 1997, 80, 3, 331-333.
38. Chandran G., Smith M., Ahern M.J., Roberts-Thomson P.J. A study of scleroderma in South Australia: Prevalence, subset characteristics and nailfold capillaroscopy. *Aust. T. N. Z. J. Med.* 1995, 25, 6, 688-694.
39. Chang C.H., Tsai R.K., Wu W.C., Kuo S.L., Yu H.S. Use of dynamic capillaroscopy for studying cutaneous microcirculation in patients with diabetes mellitus. *Microvasc. Res.* 1997, 53, 2, 121-127.
40. Charles M., Soedamah-Muthu S.S., Tesfaye S., Fuller J.H., Arezzo J.C., Chaturvedi N., Witte D.R., EURODIAB Prospective Complications Study Investigators. Low peripheral nerve conduction velocities and amplitudes are strongly related to diabetic microvascular complications in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care* 2010, 33, 12, 2648-2653.
41. Chase H.P., Garg S.K., Marshall G., Berg C.L., Harris S., Jackson W.E., Hamman R.E. Cigarette smoking increases the risk of albuminuria among subjects with type 1 diabetes. *J. Am. Med. Assoc.* 1991, 265, 5, 614-617.
42. Chaturvedi N., Stephenson J.M., Fuller J.H., Karamanos B., Tountas C., Kofinis A., Petrou K., Katsilambros N., Giorgino R., Cignarelli M., De Cicco M.L., Ramunni I., Ionescu-Tirgoviste C., Iosif C.M., Pitei D., Buligescu S., Tamas G., Kerenyi Z., Ahmed A.M. The relationship between smoking and microvascular complications in the EURODIAB IDDM complications study. *Diabetes Care* 1995, 18, 6, 785-792.
43. Chauhan A., More R.S., Mullins P.A., Taylor G., Petch M.C., Schofield P.M. Aging-associated endothelial dysfunction in humans is reversed by L-arginine. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996, 28, 7, 1796-1804.
44. Chiarelli F., Pomilio M., Mohn A., Tumini S., Verrotti A., Mezzetti A., Cipollone F., Wasniewska M., Morgese G., Spagnoli A. Serum angiogenin concentrations in young patients with diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Invest.* 2002, 32, 2, 110-114.

-
45. Chirinos J.A., David R., Bralley J.A., Zea-Diaz H., Munoz-Atahualpa E., Corrales-Medina F., Cuba-Bustinza C., Chirinos-Pacheco J., Medina-Lezama J. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors, arterial hemodynamics, and subclinical vascular disease: The PREVENCIÓN study. *Hypertension* 2008, 52, 6, 1051-1059.
 46. Chousos I., Perrea D., Kyriaki D., Liatis S., Katsilambros N., Makrilakis K. Acute hyperhomocysteinaemia blunts endothelial dependent and endothelial independent vasodilatation in diabetic patients. *Diab. Vasc. Dis. Res.* 2010, 7, 3, 186-194.
 47. Chowdhary S., Nuttall S.L., Coote J.H., Townend J.N. L-arginine augments cardiac vagal control in healthy human subjects. *Hypertension* 2002, 39, 1, 51-56.
 48. Christen W.G., Manson J.E., Bubes V., Glynn R.J. Risk factors for progression of distal symmetric polyneuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Am. J. Epidemiol.* 1999, 150, 11, 1142-1151.
 49. Chudzik W., Kaczorowska B., Przybyła M., Chudzik B., Gałka M. Diabetic neuropathy. *Pol. Merkur. Lekarski* 2007, 22, 127, 66-69.
 50. Cines D.B., Pollak E.S., Buck C.A., Loscalzo J., Zimmerman G.A., McEver R.P., Pober J.S., Wick T.M., Konkle B.A., Schwartz B.S., Barnathan E.S., McCrae K.R., Hug B.A., Schmidt A.M., Stern D.M. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998, 91, 10, 3527-3561.
 51. Conrad M.C. Large and small artery occlusion in diabetics and nondiabetics with severe vascular disease. *Circulation* 1967, 36, 83-91.
 52. Coulon J., Willems D., Dorchy H. Increase in C-reactive protein plasma levels during diabetes in infants and young adults. *Presse. Med.* 2005, 34, 2 I, 89-93.
 53. Criqui M.H. Peripheral arterial disease - Epidemiological aspects. *Vasc.Med.* 2001, 6, Suppl. 3, 3-7.
 54. Cutolo M. *Atlas of Capillaroscopy in Rheumatic Diseases*. 2010.
 55. Cutolo M., Ferrone C., Pizzorni C., Soldano S., Serio B., Sulli A. Peripheral blood perfusion correlates with microvascular abnormalities in systemic sclerosis: A laser-Doppler and nailfold videocapillaroscopy study. *J. Rheumatol.* 2010, 37, 6, 1174-1180.
 56. Cutolo M., Grassi W., Matucci Cerinic M. Raynaud's phenomenon and the role of capillaroscopy. *Arthritis Rheum.* 2003, 48, 11, 3023-3030.

-
57. Cutolo M., Pizzorni C., Sulli A. Capillaroscopy. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2005, 19, 3, 437-452.
 58. Cutolo M., Sulli A., Pizzorni C., Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 2000, 27, 1, 155-160.
 59. Dalla Pozza R., Bechtold S., Bonfig W., Putzker S., Kozlik-Feldmann R., Netz H., Schwarz H.P. Age of onset of type 1 diabetes in children and carotid intima medial thickness. *J.Clin.Endocrinol. Metab.* 2007, 92, 6, 2053-2057.
 60. Dankowski R., Wierchowicki M., Naskret D., Michalski M., Kandziora M., Biegalski W., Poprawski K. Association between retinopathy, microalbuminuria and coronary perfusion in young patients with type 1 diabetes mellitus. *Kardiol. Pol.* 2008, 66, 3, 262-268.
 61. de Jongh R.T., Clark A.D.H., IJzerman R.G., Serné E.H., De Vries G., Stehouwer C.D.A. Physiological hyperinsulinaemia increases intramuscular microvascular reactive hyperaemia and vasomotion in healthy volunteers. *Diabetologia* 2004, 47, 6, 978-986.
 62. de Jongh R.T., Serné E.H., IJzerman R.G., De Vries G., Stehouwer C.D. Free fatty acid levels modulate microvascular function: relevance for obesity-associated insulin resistance, hypertension, and microangiopathy. *Diabetes* 2004, 53, 11, 2873-2882.
 63. Del Medico P. How to obtain good capillaroscopic pictures. 3rd Eular Course. *Capillaroscopy and Rheumatic Diseases. Syllabus Book.* 2008.
 64. DeLano F.A., Schmid-Schönbein G.W., Skalak T.C., Zweifach B.W. Penetration of the systemic blood pressure into the microvasculature of rat skeletal muscle. *Microvasc. Res.* 1991, 41, 1, 92-110.
 65. Delles C., Schneider M.P., Oehmer S., Fleischmann E.H., Schmieder R.E. L-arginine-induced vasodilation of the renal vasculature is not altered in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003, 26, 6, 1836-1840.
 66. Di Mario U., Pugliese G. 15th Golgi lecture: From hyperglycaemia to the dysregulation of vascular remodelling in diabetes. *Diabetologia* 2001, 44, 6, 674-692.
 67. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of pregnancy on microvascular complications in the diabetes control and complications trial the diabetes control and complications trial research group. *Diabetes Care* 2000, 23, 8, 1084-1091.

-
68. Dinç A., Melikoglu M., Korkmaz C., Fresko I., Ozdogan H., Yazici H. Nailfold capillary abnormalities in patients with familial Mediterranean fever. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2001, 19, 5Suppl 24, S42-S44.
 69. Distiller L.A., Joffe B.I., Melville V., Welman T., Distiller G.B. Carotid artery intima-media complex thickening in patients with relatively long-surviving type 1 diabetes mellitus. *J. Diabetes Complications* 2006, 20, 5, 280-284.
 70. Dogra G., Rich L., Stanton K., Watts G.F. Endothelium-dependent and independent vasodilation studied at normoglycaemia in Type 1 diabetes mellitus with and without microalbuminuria. *Diabetologia* 2001, 44, 5, 593-601.
 71. Donaghue K.C., Fairchild J.M., Craig M.E., Chan A.K., Hing S., Cutler L.R., Howard N.J., Silink M. Do all prepubertal years of diabetes duration contribute equally to diabetes complications? *Diabetes Care* 2003, 26, 4, 1224-1229.
 72. Donaghue K.C., Fung A.T.W., Hing S., Fairchild J., King J., Chan A., Howard N.J., Silink M. The effect of prepubertal diabetes duration on diabetes: Microvascular complications in early and late adolescence. *Diabetes Care* 1997, 20, 1, 77-80.
 73. Doupis J., Lyons T.E., Wu S., Gnardellis C., Dinh T., Veves A. Microvascular reactivity and inflammatory cytokines in painful and painless peripheral diabetic neuropathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009, 94, 6, 2157-2163.
 74. Dudek D., Legutko J., Heba G., Bartus S., Partyka L., Huk I., Dembinska-Kiec A., Kaluza G.L., Dubiel J.S. L-arginine supplementation does not inhibit neointimal formation after coronary stenting in human beings: An intravascular ultrasound study. *Am. Heart J.* 2004, 147, 4, 668.
 75. Dyck P.J. Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: Assessed in diabetics. *Muscle Nerve* 1988, 11, 1, 21-32.
 76. Eid H.M.A., Arnesen H., Hjerkin E.M., Lyberg T., Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism*. 2004, 53, 12, 1574-1579.
 77. Elliott T.G., Cockcroft J.R., Groop P.H., Viberti G.C., Ritter J.M. Inhibition of nitric oxide synthesis in forearm vasculature of insulin-dependent diabetic patients: Blunted vasoconstriction in patients with microalbuminuria. *Clin.Sci.* 1993, 85, 6, 687-693.
 78. Expert Panel on Detection E.a.T.o.H.B.C.i.A. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program NCEP. Expert

-
- Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults Adult Treatment Panel III.. JAMA 2001, 285, 19, 2486-2497.
79. Fahrig C., Breiting L., Heidrich H. Vital capillary microscopic findings in the nailfold of patients with diabetes mellitus. *Vasa*. 2000, 29, 4, 258-263.
 80. Fahrig C., Heidrich H., Voigt B., Wnuk G. Capillary microscopy of the nailfold in healthy subjects. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1995, 15, 6, 287-292.
 81. Fedele D., Comi G., Coscelli C., Cucinotta D., Feldman E.L., Ghirlanda G., Greene D.A., Negrin P., Santeusano F. A multicenter study on the prevalence of diabetic neuropathy in Italy. *Diabetes Care* 1997, 20, 5, 836-843.
 82. Fitch K.V., Stavrou E., Looby S.E., Hemphill L., Jaff M.R., Grinspoon S.K. Associations of cardiovascular risk factors with two surrogate markers of subclinical Atheroscler.: Endothelial function and carotid intima media thickness. *Atheroscler.* 2011, 217, 2, 437-440.
 83. Fong D.S., Aiello L.P., Ferris III F.L., Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2004, 27, 10, 2540-2553.
 84. Forst T., Pfutzner A., Kunt T., Pohlmann T., Schenk U., Bauersachs R., Kustner E., Beyer J. Skin microcirculation in patients with Type i diabetes with and without neuropathy after neurovascular stimulation. *Clin. Sci.* 1998, 94, 3, 255-261.
 85. Fowkes F.G.R., Housley E., Riemersma R.A., Macintyre C.C.A., Cawood E.H.H., Prescott R.J., Ruckley C.V. Smoking, lipids, glucose intolerance, and blood pressure as risk factors for peripheral Atheroscler. compared with ischemic heart disease in the Edinburgh Artery Study. *Am. J. Epidemiol.* 1992, 135, 4, 331-340.
 86. Frödin T., Bengtsson A., Skogh M. Nail fold capillaroscopy findings in patients with primary fibromyalgia. *Clin. Rheumatol.* 1988, 7, 3, 384-388.
 87. Furuki K., Adachi H., Enomoto M., Otsuka M., Fukami A., Kumagai S.I., Matsuoka H., Nanjo Y., Kakuma T., Imaizumi T. Plasma level of asymmetric dimethylarginine ADMA. as a predictor of carotid intima-media thickness progression: Six-year prospective study using carotid ultrasonography. *Hypertens. Res.* 2008, 31, 6, 1185-1189.
 88. Gallucci F., Russo R., Buono R., Acampora R., Madrid E., Uomo G. Indications and results of videocapillaroscopy in clinical practice. *Adv. Med. Sci.* 2008, 53, 2, 149-157.
 89. Garg J.P., Bakris G.L. Microalbuminuria: Marker of vascular dysfunction, risk factor for cardiovascular disease. *Vasc.Med.* 2002, 7, 1, 35-43.\

-
90. Garhofer G., Resch H., Lung S., Weigert G., Schmetterer L. Intravenous administration of L-arginine increases retinal and choroidal blood flow. *Am. J. Ophthalmol.* 2005, 140, 1, 69-76.
 91. Gasser P. Video-nailfold-microscopy and local cold test: Morphological and hemodynamic correlates in 124 healthy subjects. *Vasa.* 1991, 20, 3, 244-251.
 92. Gasser P., Berger W. Nailfold videomicroscopy and local cold test in type I diabetics. *Angiology* 1992, 43, 5, 395-400.
 93. Gasser P., Buhler F.R. Nailfold microcirculation in normotensive and essential hypertensive subjects, as assessed by video-microscopy. *J. Hypertens.* 1992, 10, 1, 83-86.
 94. Giannattasio C., Failla M., Piperno A., Grappiolo A., Gamba P., Paleari F., Mancina G. Early impairment of large artery structure and function in Type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999, 42, 8, 987-994.
 95. Giménez M., Gilabert R., Alonso A., Casamitjana R., Pare C., Conget I. Repeated episodes of hypoglycemia as a potential aggravating factor for preclinical Atheroscler. in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2011, 34, 1, 198-203.
 96. Giugliano D., Marfella R., Verrazzo G., Acampora R., Coppola L., Cozzolino D., D'Onofrio F. The vascular effects of L-arginine in humans: The role of endogenous insulin. *J. Clin. Invest.* 1997, 99, 3, 433-438.
 97. Glowinska-Olszewska B., Urban M., Urban B., Tołwińska J., Szadkowska A. The association of early atherosclerosis and retinopathy in adolescents with type 1 diabetes: Preliminary report. *Acta Diabetol.* 2007, 44, 3, 131-137.
 98. Gogitidze Joy N., Hedrington M.S., Briscoe V.J., Tate D.B., Ertl A.C., Davis S.N. Effects of acute hypoglycemia on inflammatory and pro-atherothrombotic biomarkers in individuals with type 1 diabetes and healthy individuals. *Diabetes Care* 2010, 33, 7, 1529-1535.
 99. Grassi W., Angelis R. Capillaroscopy: Questions and answers. *Clin. Rheumatol.* 2007, 26, 12, 2009-2016.
 100. Grassi W., Core P., Carlino G., Cervini C. Nailfold capillary permeability in psoriatic arthritis. *Scand. J. Rheumatol.* 1992, 21, 5, 226-230.
 101. Grassi W., Del Medico P. Atlas of capillaroscopy. EDRA ed. Milano Italy: 2004.
 102. Grebe M.T., Luu B., Sedding D., Heidt M.C., Kemkes-Matthes B., Schaefer C.A., Tillmanns H.H., Gunduz D. Fibrinogen promotes early atherosclerotic changes of the carotid artery in young, healthy adults. *J. Atheroscler. Thromb.* 2010, 17, 10, 1003-1008.

-
103. Greene D., Brown M.J., Pfeifer M., Cleary P.A., Gilbert P.R., Nielsen V.K., Rand L., Nathan D.M. Factors in development of diabetic neuropathy. Base-line analysis of neuropathy in feasibility phase of Diabetes Control and Complications Trial DCCT.. *Diabetes* 1988, 37, 4, 476-481.
 104. Greene D.A., Martin C., Feldman E.L., Stevens M.J., Cleary P., for the EDIC Study Group, . Neuropathy assessment by the Michigan Neuropathy Screening Instrument. *Diabetes* 1998, 47 Suppl. 1., A51.
 105. Gryglewska B. Znaczenie mikrokrazenia w nadciśnieniu tętniczym i możliwości jego oceny na podstawie badania mikrounaczynienia skórno. The role of microcirculation in hypertension and its assessment based on skin microvasculature function testing. *Nadciśnienie Tętnicze* 2010, 14, 5, 395-410.
 106. Guerci B., Bohme P., Kearney-Schwartz A., Zannad F., Drouin P. Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Part 2: altered endothelial function and the effects of treatments in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 2001, 27, 4, 425-434.
 107. Guyton AC, Hall JE. The Microcirculation and the Lymphatic System: Capillary Fluid Exchange, Interstitial Fluid, and Lymph Flow. In: Elsevier Inc., editor. *Textbook of medical physiology*. Philadelphia: 2006: 181-194.
 108. Głowińska-Olszewska B., Luczyński W., Jabłońska J., Otocka A., Florys B., Bossowski A. Asymmetric dimethylarginine ADMA. in children with diabetes type 1. *Endokrynol. Diabetol. Chor.Przemiany Materii Wieku Rozw.* 2010, 16, 3, 137-141.
 109. Halfoun V.L.R.C., Pires M.L.E., Fernandes T.J., Victor F., Rodrigues K.K., Tavares R. Videocapillaroscopy and Diabetes mellitus: Area of transverse segment in nailfold capillar loops reflects vascular reactivity. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2003, 61, 3, 155-160.
 110. Harper F.E., Maricq H.R., Turner R.E. A prospective study of Raynaud phenomenon and early connective tissue disease. A five-year report. *Am. J. Med.* 1982, 72, 6, 883-888.
 111. Hasslacher C., Ritz E., Wahl P., Michael C. Similar risks of nephropathy in patients with type I or type II diabetes mellitus. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1989, 4, 10, 859-863.
 112. Hayase T., Ayaori M., Sato H., Tanaka N., Ohashi K., Uto-Kondo H., Ikewaki K., Ohsuzu F. Impact of low- and high-density lipoprotein cholesterol levels on carotid intima-media thickness differs by smoking status in middle-aged men. *J. Atheroscler. Thromb.* 2012, 19, 7, 664-672.

-
113. Heeschen C., Jang J.J., Weis M., Pathak A., Kaji S., Hu R.S., Tsao P.S., Johnson F.L., Cooke J.P. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and Atherosclerosis. *Nat.Med.* 2001, 7, 7, 833-839.
 114. Heilman K., Zilmer M., Zilmer K., Kool P., Tillmann V. Elevated plasma adiponectin and decreased plasma homocysteine and asymmetric dimethylarginine in children with type 1 diabetes. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2009, 69, 1, 85-91.
 115. Heiss C., Amabile N., Lee A.C., Real W.M., Schick S.F., Lao D., Wong M.L., Jahn S., Angeli F.S., Minasi P., Springer M.L., Hammond S.K., Glantz S.A., Grossman W., Balmes J.R., Yeghiazarians Y. Brief Secondhand Smoke Exposure Depresses Endothelial Progenitor Cells Activity and Endothelial Function. Sustained Vascular Injury and Blunted Nitric Oxide Production. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2008, 51, 18, 1760-1771.
 116. Henriksson P., Diczfalussy U., Freyschuss A. Microvascular Reactivity in Response to Smoking and Oral Antioxidants in Humans. *Microcirculation* 2012, 19, 1, 86-93.
 117. Hern S., Mortimer P.S. Visualization of dermal blood vessels - Capillaroscopy. *Clin. Exp. Dermatol.* 1999, 24, 6, 473-478.
 118. Herrick A. Diagnosis and management of scleroderma peripheral vascular disease. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2008, 34, 1, 89-114.
 119. Hirsch I.B., Brownlee M. Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycemic control? *J. Diabetes Complications* 2005, 19, 3, 178-181.
 120. Hofstee H.M.A., Serné E.H., Roberts C., Hesselstrand R., Scheja A., Moore T.L., Wildt M., Manning J.B., Noordegraaf A.V., Voskuyl A.E., Herrick A.L. A multicentre study on the reliability of qualitative and quantitative nail-fold videocapillaroscopy assessment. *Rheumatology UK.* 2012, 51, 4, 749-755.
 121. Hudson M., Masetto A., Steele R., Arthurs E., Baron M. Reliability of widefield capillary microscopy to measure nailfold capillary density in systemic sclerosis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2010, 28, 5 Suppl. 62, S36-S4
 122. Huemer M., Simma B., Mayr D., Muhl A., Rami B., Schober E., Ulmer H., Zanier U., Bodamer O.A. Low levels of asymmetric dimethylarginine in children with diabetes mellitus type 1 compared with healthy children. *J. Pediatr.* 2011, 158, 4, 602-606.
 123. Hurks R., Eisinger M.J., Goovaerts I., van Gaal L., Vrints C., Weyler J., Hendriks J., van Schil P., Lauwers P. Early Endothelial Dysfunction in Young Type 1 Diabetics. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2009, 37, 5, 611-615.

-
124. Huvers F.C., De Leeuw P.W., Houben A.J.H.M., De Haan C.H.A., Hamulyak K., Schouten H., Wolffenbuttel B.H.R., Schaper N.C. Endothelium-dependent vasodilatation, plasma markers of endothelial function, and adrenergic vasoconstrictor responses in type 1 diabetes under near-normoglycemic conditions. *Diabetes* 1999, 48, 6, 1300-1307.
 125. Hwang S.J., Ballantyne C.M., Sharrett A.R., Smith L.C., Davis C.E., Gotto J., Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: The Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997, 96, 12, 4219-4225.
 126. Iaremko M. Identyfikacja i ocena gęstości naczyń włosowatych na podstawie obrazów mikroskopowych. Politechnika Gdańska. Wydział Fizyki Stosowanej., 2011.
 127. Idzior-Waluś B, Waluś-Miarka M. Epidemiologia i ogólna patogeneza przewlekłych powikłań cukrzycy. Ogólna patogeneza przewlekłych powikłań cukrzycy. W: Sieradzki J.(red.). *Cukrzyca*. T.1. Gdańsk: Via Medica, 2007: 673-688.
 128. IJzerman R.G., de Jongh R.T., Beijk M.A., van Weissenbruch M.M., Delemarre-van de Waal H.A., Serné E.H., Stehouwer C.D. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur. J. Clin. Invest.* 2003, 33, 7, 536-542.
 129. Ikram M.K., De Jong F.J., Bos M.J., Vingerling J.R., Hofman A., Koudstaal P.J., De Jong P.T.V.M., Breteler M.M.B. Retinal vessel diameters and risk of stroke: The Rotterdam Study. *Neurology* 2006, 66, 9, 1339-1343.
 130. Indiveri F. Clinical evaluation of systemic sclerosis: A comprehensive panel of diagnostic tests to assess skin, microvascular and visceral involvement. *Ann. Ital. Med. Int.* 1999, 14, 2, 79-85.
 131. Ingegnoli F., Boracchi P., Gualtierotti R., Biganzoli E.M., Zeni S., Lubatti C., Fantini F. Improving outcome prediction of systemic sclerosis from isolated Raynaud's phenomenon: role of autoantibodies and nail-fold capillaroscopy. *Rheumatology UK*. 2010, 49, 4, 797-805.
 132. Ingegnoli F., Boracchi P., Gualtierotti R., Lubatti C., Meani L., Zahalkova L., Zeni S., Fantini F. Prognostic model based on nailfold capillaroscopy for identifying Raynaud's phenomenon patients at high risk for the development of a scleroderma spectrum disorder: PRINCE Prognostic Index for Nailfold Capillaroscopic Examination. *Arthritis Rheum.* 2008, 58, 7, 2174-2182.
 133. Institute for Clinical Systems Improvement. *Lipid Management in Adults Twelfth Edition/November 2011*. www.icsi.org/guidelines. 2011.

-
134. Irving R.J., Walker B.R., Noon J.P., Watt G.C.M., Webb D.J., Shore A.C. Microvascular correlates of blood pressure, plasma glucose, and insulin resistance in health. *Cardiovasc. Res.* 2002, 53, 1, 271-276.
 135. Jansson J.H., Nilsson T.K., Johnson O. Von Willebrand factor in plasma: A novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death. *Br. Heart J.* 1991, 66, 5, 351-355.
 136. Jatoi N.A., Jerrard-Dunne P., Feely J., Mahmud A. Impact of smoking and smoking cessation on arterial stiffness and aortic wave reflection in hypertension. *Hypertension* 2007, 49, 5, 981-985.
 137. Jensen T., Bjerre-Knudsen J., Feldt-Rasmussen B., Deckert T. Features of endothelial dysfunction in early diabetic nephropathy. *Lancet* 1989, 1, 8636, 461-463.
 138. Johnstone M.T., Creager S.J., Scales K.M., Cusco J.A., Lee B.K., Creager M.A. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993, 88, 6, 2510-2516.
 139. Jörneskog G., Brismar K., Fagrell B. Skin capillary circulation is more impaired in the toes of diabetic than non-diabetic patients with peripheral vascular disease. *Diabet. Med.* 1995, 12, 1, 36-41.
 140. Jörneskog G., Brismar K., Fagrell B. Skin capillary circulation severely impaired in toes of patients with IDDM, with and without late diabetic complications. *Diabetologia* 1995, 38, 4, 474-480.
 141. Jörneskog G., Brismar K., Fagrell B. Pronounced skin capillary ischemia in the feet of diabetic patients with bad metabolic control. *Diabetologia* 1998, 41, 4, 410-415.
 142. Jouanny P., Schmidt C., Wahl D., De Korwin J.D., Schmitt J. Nailfold capillaroscopy in Crohn's disease. *Rev. Med. Interne* 1991, 12, 5, 377-379.
 143. Kairaitis L.K., Wang Y., Gassmann M., Tay Y.C., Harris D.C.H. HIF-1 α expression follows microvascular loss in advanced murine adriamycin nephrosis. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2005, 288, 1, F198-F206.
 144. Karamanos B., Porta M., Songini M., Metelko Z., Kerenyi Z., Tamas G., Rottiers R., Stevens L.K., Fuller J.H. Different risk factors of microangiopathy in patients with Type 1 diabetes mellitus of short versus long duration. The EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 2000, 43, 3, 348-355.
 145. Kaufmann P.A., Camici P.G. Myocardial blood flow measurement by PET: Technical aspects and clinical applications. *J. Nucl. Med.* 2005, 46, 1, 75-88.

-
146. Kawagishi T., Matsuyoshi M., Emoto M., Taniwaki H., Kanda H., Okuno Y., Inaba M., Ishimura E., Nishizawa Y., Morii H. Impaired endothelium-dependent vascular responses of retinal and intrarenal arteries in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999, 19, 10, 2509-2516.
 147. Kawano H., Motoyama T., Hirai N., Kugiyama K., Yasue H., Ogawa H. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: Possible role of oxidative stress. *Atheroscler.* 2002, 161, 2, 375-380.
 148. Kawashima S. The two faces of endothelial nitric oxide synthase in the pathophysiology of Atheroscler. *Endothelium* 2004, 11, 2, 99-107.
 149. Kawata T., Daimon M., Hasegawa R., Teramoto K., Toyoda T., Sekine T., Yamamoto K., Uchida D., Himi T., Yoshida K., Komuro I. Effect on coronary flow velocity reserve in patients with type 2 diabetes mellitus: Comparison between angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin II type 1 receptor antagonist. *Am. Heart J.* 2006, 151, 4, 798.
 150. Kim H.S., Park M.K., Kim H.Y., Park S.H. Capillary dimension measured by computer-based digitalized image correlated with plasma endothelin-1 levels in patients with systemic sclerosis. *Clin. Rheumatol.* 2010, 29, 3, 247-254.
 151. Kim W.Y., Astrup A.S., Stuber M., Tarnow L., Falk E., Botnar R.M., Simonsen C., Pietraszek L., Hansen P.R., Manning W.J., Andersen N.T., Parving H.H. Subclinical coronary and aortic Atheroscler. detected by magnetic resonance imaging in type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy. *Circulation* 2007, 115, 2, 228-235.
 152. Kirma C., Akcakoyun M., Esen A.M., Barutcu I., Karakaya O., Saglam M., Kargin R., Turkmen M., Boztosun B., Izgi A., Sonmez K. Relationship between endothelial function and coronary risk factors with stable coronary artery disease. *Circ. J.* 2007, 71, 5, 698-702.
 153. Klausen K., Borch-Johnsen K., Feldt-Rasmussen B., Jensen G., Clausen P., Scharling H., Appleyard M., Jensen J.S. Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension, and diabetes. *Circulation* 2004, 110, 1, 32-35.
 154. Klein R., Klein B.E.K., Moss S.E., Cruickshanks K.J. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: XIV. Ten-year incidence and progression of diabetic retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* 1994, 112, 9, 1217-1228.

-
155. Klein R., Klein B.E.K., Moss S.E., Cruickshanks K.J., Brazy P.C. The 10-year incidence of renal insufficiency in people with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999, 22, 5, 743-751.
 156. Klein R.L., Hunter S.J., Jenkins A.J., Zheng D., Semler A.J., Clore J., Garvey W.T. Fibrinogen is a marker for nephropathy and peripheral vascular disease in type 1 diabetes: Studies of plasma fibrinogen and fibrinogen gene polymorphism in the DCCT/EDIC cohort. *Diabetes Care* 2003, 26, 5, 1439-1448.
 157. Knotzer H., Hasibeder W.R. Microcirculatory function monitoring at the bedside - A view from the intensive care. *Physiol. Meas.* 2007, 28, 9, R65-R86.
 158. Kontos H.A., Mauck J., Patterson J. Mechanism of reactive hyperemia in limbs of anesthetized dogs. *Am. J. Physiol.* 1965, 209, 6, 1106-1114.
 159. Kozera G. Czynnościowa ocena mikrokrazenia mózgowego u pacjentów na cukrzycę typu 1 za pomocą przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej oraz testu infuzji L-argininy : rozprawa habilitacyjna. *Ann. Acad. Med. Gedan.* 2011, 41, 9, 1-129.
 160. Krantz J.S., Mack W.J., Hodis H.N., Liu C.R., Liu C.H., Kaufman F.R. Early onset of subclinical Atheroscler. in young persons with type 1 diabetes. *J. Pediatr.* 2004, 145, 4, 452-457.
 161. Krolewski A.S., Laffel L.M.B., Krolewski M., Quinn M., Warram J.H. Glycosylated hemoglobin and the risk of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1995, 332, 19, 1251-1255.
 162. Kuryliszyn-Moskal A., Ciołkiewicz M., Dubicki A. Morphological alterations in nailfold capillaroscopy and the clinical picture of vascular involvement in autoimmune diseases: systemic lupus erythematosus and type 1 diabetes. *Ann. Acad. Med. Stetin.* 2010, 56, suppl 1, 73-79.
 163. Kuryliszyn-Moskal A., Dubicki A., Zarzycki W., Zonnenberg A., Górską M. Microvascular abnormalities in capillaroscopy correlate with higher serum IL-18 and sE-selectin levels in patients with type 1 diabetes complicated by microangiopathy. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2011, 49, 1, 104-110
 164. Kuryliszyn-Moskal A., Zarzycki W., Dubicki A., Zonnenberg A., Górską M. A study on microvascular abnormalities in capillaroscopy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna* 2006, 6, 2, 98-103.
 165. Laing S.P., Swerdlow A.J., Slater S.D., Burden A.C., Morris A., Waugh N.R., Gatling W., Bingley P.J., Patterson C.C. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia* 2003, 46, 760-765.

-
166. Lajer M., Tarnow L., Jorsal A., Teerlink T., Parving H.H., Rossing P. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2008, 31, 4, 747-752.
 167. Landis J.R., Koch G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977, 33, 1, 159-174.
 168. Lee P., Leung F.Y.K., Alderdice C., Armstrong S.K. Nailfold capillary microscopy in the connective tissue disease: A semiquantitative assessment. *J. Rheumatol.* 1983, 10, 6, 930-938.
 169. Leske M.C., Wu S.Y., Hennis A., Hyman L., Nemesure B., Yang L., Schachat A.P. Hyperglycemia, blood pressure, and the 9-year incidence of diabetic retinopathy: The Barbados Eye Studies. *Ophthalmology* 2005, 112, 5, 799-805.
 170. Levy B.I., Ambrosio G., Pries A.R., Struijker-Boudier H.A.J. Microcirculation in Hypertension: A New Target for Treatment? *Circulation* 2001, 104, 6, 735-740.
 171. Levy B.I., Schiffrin E.L., Mourad J.J., Agostini D., Vicaud E., Safar M.E., Struijker-Boudier H.A.J. Impaired Tissue Perfusion: A Pathology Common to Hypertension, Obesity, and Diabetes Mellitus. *Circulation* 2008, 118, 9, 968-976.
 172. Li L., Mac-Mary S., Sainthillier J.M., Nouveau S., De Lacharriere O., Humbert P. Age-related changes of the cutaneous microcirculation in vivo. *Gerontology* 2006, 52, 3, 142-153.
 173. Lombard W.P. The blood pressure in the arterioles, capillaries, and small veins of the human skin. *Am. J. Physiol.* 1912, 29, 3, 335-362.
 174. Lopes-Virella M.F., Carter R.E., Gilbert G.E., Klein R.L., Jaffa M., Jenkins A.J., Lyons T.J., Garvey W.T., Virella G., Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications Cohort Study Group. Risk factors related to inflammation and endothelial dysfunction in the DCCT/EDIC cohort and their relationship with nephropathy and macrovascular complications. *Diabetes Care* 2008, 31, 10, 2006-2012.
 175. Lorenzo S., Minson C.T. Human cutaneous reactive hyperaemia: Role of BKCa channels and sensory nerves. *J. Physiol.* 2007, 585, 1, 295-303.
 176. Loukovaara S., Immonen I., Koistinen R., Hiilesmaa V., Kaaja R. Inflammatory markers and retinopathy in pregnancies complicated with type 1 diabetes. *Eye* 2005, 19, 4, 422-430.

-
177. Lowe G.D., Lee A.J., Rumley A., Price J.F., Fowkes F.G. Blood viscosity and risk of cardiovascular events: the Edinburgh Artery Study. *Br. J. Haematol.* 1997, 96, 1, 168-173.
 178. Lu T.M., Chung M.Y., Lin C.C., Hsu C.P., Lin S.J. Asymmetric dimethylarginine and clinical outcomes in chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011, 6, 7, 1566-1572.
 179. Lundman P., Eriksson M.J., Stuhlinger M., Cooke J.P., Hamsten A., Tornvall P. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2001, 38, 1, 111-116.
 180. Mahmud A., Feely J. Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension. *Hypertension* 2005, 46, 1118-1122.
 181. Malamitsi-Puchner A., Sarandakou A., Dafogianni C., Tziotis J., Bartsocas C.S. Serum angiogenin levels in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Pediatr. Res.* 1998, 43, 6, 798-800.
 182. Malone J.I., Morrison A.D., Pavan P.R., Cuthbertson D.D. Prevalence and significance of retinopathy in subjects with type 1 diabetes of less than 5 years' duration screened for the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2001, 24, 3, 522-526.
 183. Mancia G., De Backer G., Dominiczak A., Cifkova R., Fagard R., Germano G., Grassi G., Heagerty A.M., Kjeldsen S.E., Laurent S., Narkiewicz K., Ruilope L., Rynkiewicz A., Schmieder R.E., Boudier H.A.J.S., Zanchetti A. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J. Hypertens.* 2007, 25, 9, 1751-1762.
 184. Marasini B., Pipia C., DeValle G., Crosignani A., Petroni L., Cugno M., Zeni S., Bruno S., Bassani C. Vascular impairment in patients with primary biliary cirrhosis. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1995, 15, 2, 75-79.
 185. Marcovecchio M.L., Widmer B., Turner C., Dunger D.B., Dalton R.N. Asymmetric dimethylarginine in young people with Type1 diabetes: A paradoxical association with HbA1c. *Diabet. Med.* 2011, 28, 6, 685-691.
 186. Marek N., Raczyńska K., Siebert J., Myśliwiec M., Zorena K., Myśliwska J., Reiwer-Gostomska M., Trzonkowski P. Decreased angiogenin concentration in vitreous and serum in proliferative diabetic retinopathy. *Microvasc. Res.* 2011, 82, 1, 1-5.
 187. Martina B., Surber C., Jakobi C., Sponagel L., Gasser P. Effect of monoxidine and cilazapril on microcirculation as assessed by finger nailfold

- capillaroscopy in mild-to-moderate hypertension. *Angiology* 1998, 49, 11, 897-901.
188. Maser R.E., Steenkiste A.R., Dorman J.S., Nielsen V.K., Bass E.B., Manjoo Q., Drash A.L., Becker D.J., Kuller L.H., Greene D.A., Orchard T.J. Epidemiological correlates of diabetic neuropathy. Report from Pittsburgh epidemiology of diabetes complications study. *Diabetes* 1989, 38, 11, 1456-1461.
189. Matheus A.S.D.M., Tibirica E., Da Silva P.B., De Fatima Bevilacqua da Matta, Gomes M.B. Uric acid levels are associated with microvascular endothelial dysfunction in patients with Type 1 diabetes. *Diabet. Med.* 2011, 28, 10, 1188-1193.
190. Mathiassen O.N., Buus N.H., Sihm I., Thybo N.K., Morn B., Schroeder A.P., Thygesen K., Aalkjaer C., Lederballe O., Mulvany M.J., Christensen K.L. Small artery structure is an independent predictor of cardiovascular events in essential hypertension. *J. Hypertens.* 2007, 25, 5, 1021-1026.
191. McGill N.W., Gow P.J. Nailfold capillaroscopy: A blinded study of its discriminatory value in scleroderma, systemic lupus erythematosus, and rheumatoid arthritis. *Aust. N. Z. J. Med.* 1986, 16, 4, 457-460.
192. Merlen J.F. Capillaroscopy at the nail bed in functioning people aged 70 and over. *Int. Angiol.* 1985, 4, 3, 285-288.
193. Merrin P.K., Renton S., Fisher C., Henderson A., Richmond W., Nicholaides A., Elkeles R.S. Serum lipids and apolipoproteins and their relationship with macrovascular disease in type 1 diabetes. *Diabet. Med.* 1994, 11, 4, 402-406.
194. Meyer M.F., Pfohl M., Schatz H. Assessment of microcirculatory alterations in diabetic patients by means of capillaroscopy and laser Doppler anemometry. *Med. Klin.* 2001, 96, 2, 71-77.
195. Mitchell B.D., Hawthorne V.M., Vinik A.I. Cigarette smoking and neuropathy in diabetic patients. *Diabetes Care* 1990, 13, 4, 434-437.
196. Moens A.L., Goovaerts I., Claeys M.J., Vrints C.J. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest* 2005, 127, 2254-2263.
197. Molitch M.E., Steffes M., Sun W., Rutledge B., Cleary P., de Boer I.H., Zinman B., Lachin J., and for the EDIC Study Group. Development and progression of renal insufficiency with and without albuminuria in adults with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial and the epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* 2010, 33, 7, 1536-1543.

-
198. Moss S.E., Klein R., Klein B.E.K. Cigarette smoking and ten-year progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1996, 103, 9, 1438-1442.
 199. Movasat A., Shahram F., Carreira P.E., Nadji A., Akhlaghi M., Naderi N., Davatchi F. Nailfold capillaroscopy in Behçet's disease, analysis of 128 patients. *Clin. Rheumatol.* 2009, 28, 5, 603-605.
 200. Muhlhauser I., Bender R., Bott U., Jorgens V., Grusser M., Wagener W., Overmann H., Berger M. Cigarette smoking and progression of retinopathy and nephropathy in type 1 diabetes. *Diabet. Med.* 1996, 13, 6, 536-543.
 201. Muhlhauser I., Sawicki P., Berger M. Cigarette-smoking as a risk factor for macroproteinuria and proliferative retinopathy in Type 1 insulin-dependent diabetes. *Diabetologia* 1986, 29, 8, 500-502.
 202. Mullen M.J., Wright D., Donald A.E., Thorne S., Thomson H., Deanfield J.E. Atorvastatin but not L-arginine improves endothelial function in type 1 diabetes mellitus: A double-blind study. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2000, 36, 2, 410-416.
 203. Mulvany M.J., Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiol. Rev.* 1990, 70, 4, 921-961.
 204. Mulvany M.J., Baumbach G.L., Aalkjaer C., Heagerty A.M., Korsgaard N., Schiffrin E.L., Heistad D.D. Vascular remodeling. *Hypertension* 1996, 28, 3, 505-506.
 205. Nagai Y., Kitagawa K., Yamagami H., Kondo K., Hougaku H., Hori M., Matsumoto M. Carotid artery intima-media thickness and plaque score for the risk assessment of stroke subtypes. *Ultrasound. Med. Biol.* 2002, 28, 10, 1239-1243.
 206. Nagai Y., Matsumoto M., Metter E.J. The carotid artery as a noninvasive window for cardiovascular risk in apparently healthy individuals. *Ultrasound. Med. Biol.* 2002, 28, 10, 1231-1238.
 207. Nakaki T., Hishikawa K., Suzuki H., Saruta T., Kato R. L-arginine-induced hypotension. *Lancet* 1990, 336, 8716, 696.
 208. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: A final common pathway to end-stage renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006, 17, 1, 17-25.
 209. National Cholesterol Education Program NCEP. Expert Panel on Detection E.a.T.o.H.B.C.i.A.A.T.P.I. Third Report of the National Cholesterol Education Program NCEP. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults Adult Treatment Panel III. final report. *Circulation* 2002, 106, 25, 3143-3421.

-
210. Nazzaro P., Schirosi G., Clemente R., Battista L., Serio G., Boniello E., Carratu P.L., Lacedonia D., Federico F., Resta O. Severe obstructive sleep apnoea exacerbates the microvascular impairment in very mild hypertensives. *Eur. J. Clin. Invest.* 2008, 38, 10, 766-773.
 211. Neubauer-Geryk J. Pletyzmograficzna ocena przepływu krwi przez kończynę górną zdrowych mężczyzn w zależności od wybranych czynników antropometrycznych. Akademia Medyczna w Gdańsku, 2001.
 212. Nguyen T.T., Shaw J.E., Robinson C., Kawasaki R., Wang J.J., Kreis A.J., Wong T.Y. Diabetic retinopathy is related to both endothelium-dependent and -independent responses of skin microvascular flow. *Diabetes Care* 2011, 34, 6, 1389-1393.
 213. Nilsson P.M., Gudbjornsdottir S., Eliasson B., Cederholm J. Smoking is associated with increased HbA1c values and microalbuminuria in patients with diabetes - Data from the National Diabetes Register in Sweden. *Diabetes Metab.* 2004, 30, (3), 261-268.
 214. Nishino M., Hoshida S., Egami Y., Kondo I., Shutta R., Yamaguchi H., Tanaka K., Tanouchi J., Hori M., Yamada Y. Coronary flow reserve by contrast enhanced transesophageal coronary sinus Doppler measurements can evaluate diabetic microvascular dysfunction. *Circ. J.* 2006, 70, 11, 1415-1420.
 215. Nyengaard J.R., Rasch R. The impact of experimental diabetes mellitus in rats on glomerular capillary number and sizes. *Diabetologia* 1993, 36, 3, 189-194.
 216. Ogawa Y., Uchigata Y., Iwamoto Y. Progression factors of carotid intima-media thickness and plaque in patients with long-term, early-onset type 1 diabetes mellitus in Japan: simultaneous comparison with diabetic retinopathy. *J. Atheroscler. Thromb.* 2009, 16, 6, 821-828.
 217. Olsen B.S., Sjolie A.K., Hougaard P., Johannesen J., Marinelli K., Jacobsen B.B., Mortensen H.B. The significance of the prepubertal diabetes duration for the development of retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes. *J. Diabetes Complications* 2004, 18, 3, 160-164.
 218. Orchard C.H., Cingolani H.E. Acidosis and arrhythmias in cardiac muscle. *Cardiovasc. Res.* 1994, 28, 9, 1312-1319.
 219. Orchard T.J., Dorman J.S., Maser R.E., Becker D.J., Drash A.L., Ellis D., LaPorte R.E., Kuller L.H. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration Pittsburgh of Diabetes Complications Study II. *Diabetes* 1990, 39, 1116-1124.

-
220. Paisley A.N., Banerjee M., Rezai M., Schofield R.E., Balakrishnannair S., Herbert A., Lawrance J.A.L., Trainer P.J., Cruickshank J.K. Changes in arterial stiffness but not carotid intimal thickness in acromegaly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011, 96, 5, 1486-1492.
221. Paiva H., Laakso J., Kahonen M., Turjanmaa V., Koobi T., Majahalme S., Lehtimäki T., Ruokonen I., Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine and hemodynamic regulation in middle-aged men. *Metabolism* 2006, 55, 6, 771-777.
222. Pajak A., Wiercińska E., Polakowska M., Kozakiewicz K., Kaczmarczyk-Chałas K., Tykarski A., Gazdzik D., Zdrojewski T.: Prevalence of dyslipidemia in men and women between the ages of 20-74 in Poland. Results of the WOBASZ program. *Kardiologia Polska* 2005, 63, 6 Suppl 4, S620-S625.
223. Patterson G.C. The role of intravascular pressure in the causation of reactive hyperaemia in the human forearm. *Clin. Sci.(Lond)*. 1956, 15, 1, 17-25.
224. Pazos-Moura C.C., Moura E.G., Bouskela E., Torres-Filho I.P., Breitenbach M.M. Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus: morphological abnormalities and relationship with microangiopathy. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1987, 20, 6, 777-780
225. Pazos-Moura C.C., Moura E.G., Breitenbach M.M.D., Bouskela E. Nailfold capillaroscopy in hypothyroidism and hyperthyroidism: Blood flow velocity during rest and postocclusive reactive hyperemia. *Angiology* 1998, 49, 6, 471-476.
226. Pellaton C., Kubli S., Feihl F., Waeber B. Blunted vasodilatory responses in the cutaneous microcirculation of cigarette smokers. *Am. Heart J.* 2002, 144, 2, 269-274.
227. Perko D., Pretnar-Oblak J., Sabovic M., Zvan B., Zaletel M. Cerebrovascular reactivity to l-arginine in the anterior and posterior cerebral circulation in migraine patients. *Acta Neurol. Scand.* 2011, 124, 4, 269-274.
228. Perticone F., Sciacqua A., Maio R., Perticone M., Galiano Leone G., Bruni R., Di Cello S., Pascale A., Talarico G., Greco L., Andreozzi F., Sesti G. Endothelial dysfunction, ADMA and insulin resistance in essential hypertension. *Int. J. Cardiol.* 2010, 142, 3, 236-241.
229. Perticone F., Sciacqua A., Maio R., Perticone M., Maas R., Boger R.H., Tripepi G., Sesti G., Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine, L-arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2005, 46, 3, 518-523.
230. Pitocco D., Di Stasio E., Romitelli F., Zaccardi F., Tavazzi B., Manto A., Caputo S., Musella T., Zuppi C., Santini S.A., Ghirlanda G. Hypouricemia linked to an overproduction of nitric oxide is an early marker of oxidative

- stress in female subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2008, 24, 4, 318-323.
231. Pitocco D., Zaccardi F., Di Stasio E., Romitelli F., Martini F., Scaglione G.L., Speranza D., Santini S., Zuppi C., Ghirlanda G. Role of asymmetric-dimethyl-L-arginine ADMA, and nitrite/nitrate NO_x in the pathogenesis of oxidative stress in female subjects with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2009, 86, 3, 173-176.
232. Polak J.F., Backlund J.Y.C., Cleary P.A., Harrington A.P., O'Leary D.H., Lachin J.M., Nathan D.M. Progression of carotid artery intima-media thickness during 12 years in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications DCCT/EDIC study. *Diabetes* 2011, 60, 2, 607-613.
233. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę. *Diabetologia praktyczna* 2011, 12, A1-A46.
234. Porta M., Bandello F. Diabetic retinopathy: A clinical update. *Diabetologia* 2002, 45, 12, 1617-1634.
235. Prasad A., Dunnill G.S., Mortimer P.S., MacGregor G.A. Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension. *J. Hypertens.* 1995, 13, 2, 265-268.
236. Pretnar-Oblak J., Sabovic M., Vidmar G., Zaletel M. Evaluation of L-Arginine Reactivity in Comparison with Flow-Mediated Dilatation and Intima-Media Thickness. *Ultrasound Med. Biol.* 2007, 33, 10, 1546-1551.
237. Pretnar-Oblak J., Sabovic M., Zaletel M. Associations between systemic and cerebral endothelial impairment determined by cerebrovascular reactivity to L-arginine. *Endothelium* 2007, 14, 2, 73-80.
238. Pretnar-Oblak J., Sebestjen M., Sabovic M. Statin treatment improves cerebral more than systemic endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2008, 21, 6, 674-678.
239. Prior J.O., Quinones M.J., Hernandez-Pampaloni M., Facta A.D., Schindler T.H., Sayre J.W., Hsueh W.A., Schelbert H.R. Coronary circulatory dysfunction in insulin resistance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2005, 111, 18, 2291-2298.
240. Puranik R., Celermajer D.S. Smoking and endothelial function. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2003, 45, 6, 443-458.

-
241. Quattrini C., Harris N.D., Malik R.A., Tesfaye S. Impaired skin microvascular reactivity in painful diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 2007, 30, 3, 655-659.
242. Rector T.S., Bank A.J., Mullen K.A., Tschumperlin L.K., Sih R., Pillai K., Kubo S.H. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Supplemental Oral L-Arginine in Patients with Heart Failure. *Circulation* 1996, 93, 12, 2135-2141.
243. Rehill N., Beck C.R., Yeo K.R., Yeo W.W. The effect of chronic tobacco smoking on arterial stiffness. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2006, 61, 6, 767-773.
244. Reichard P., Nilsson B.Y., Rosenqvist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993, 329, 5, 304-309.
245. Reitz C., Berger K., De Maat M.P.M., Stoll M., Friedrichs F., Kardys I., Witteman J.C.M., Breteler M.M.B. CRP gene haplotypes, serum CRP, and cerebral small-vessel disease: The Rotterdam Scan Study and the MEMO Study. *Stroke* 2007, 38, 8, 2356-2359.
246. Riccieri V., Germano V., Alessandri C., Vasile M., Ceccarelli F., Sciarra I., Di Franco M., Spadaro A., Valesini G. More severe nailfold capillaroscopy findings and anti-endothelial cell antibodies. Are they useful tools for prognostic use in systemic sclerosis? *Clin. Exp. Rheumatol.* 2008, 26, 6, 992-997.
247. Ritz E., Ogata H., Orth S.R. Smoking: A factor promoting onset and progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Metab.* 2000, 26, Suppl. 4, 54-63.
248. Rizzoni D., Palombo C., Porteri E., Muiesan M.L., Kozáková M., La Canna G., Nardi M., Guelfi D., Salvetti M., Morizzo C., Vittone F., Agabiti Rosei E. Relationships between coronary flow vasodilator capacity and small artery remodelling in hypertensive patients. *J. Hypertens.* 2003, 21, 3, 625-631.
249. Rizzoni D., Porteri E., Boari G.E., De Ciuceis C., Sleiman I., Muiesan M.L., Miclini M., Agabiti-Rosei E. Prognostic significance of small-artery structure in hypertension. *Circulation* 2003, 108, 18, 2230-2235.
250. Rozboril M.B., Maricq H.R., Rodnan G.P., Jablonska S., Bole G.G. Capillary microscopy in eosinophilic fasciitis. A comparison with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1983, 26, 5, 617-622.
251. Rubanyi G.M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc. Pharmacol.* 1993, 22, Suppl. 4, S1-S14.
252. Safar M.E., Lacolley P. Disturbance of macro- and microcirculation: relations with pulse pressure and cardiac organ damage. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol* 2007 Jul; 2007, 293, 1, H1-H7.

-
253. Sato L.T., Kayser C., Andrade L.E. Nailfold capillaroscopy abnormalities correlate with cutaneous and visceral involvement in systemic sclerosis patients. *Acta Reumatol. Port.* 2009, 34, 2A, 219-227.
 254. Savoia C., Schiffrin E.L. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: Molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Clin Sci* 2007, 112, 7-8, 375-384.
 255. Sawicki P.T., Didjurgeit U., Muhlhauser I., Bender R., Heinemann L., Berger M. Smoking is associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1994, 17, 2, 126-131.
 256. Schalkwijk C.G., Poland D.C.W., Van Dijk W., Kok A., Emeis J.J., Drager A.M., Doni A., Van Hinsbergh V.W.M., Stehouwer C.D.A. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in Type 1 diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: Evidence for chronic inflammation. *Diabetologia* 1999, 42, 3, 351-357.
 257. Schalkwijk C.G., Stehouwer C.D. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin. Sci.(Lond).* 2005, 109, 2, 143-159.
 258. Schiavon F., Maffei P., Martini C., De Carlo E., Fais C., Todesco S., Siculo N. Morphologic study of microcirculation in acromegaly by capillaroscopy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84, 9, 3151-3155.
 259. Schiel R., Franke S., Busch M., Muller A., Fleck C., Muller U.A., Braun A., Stein G. Effect of smoking on risk factors for cardiovascular disease in patients with diabetes mellitus and renal insufficiency. *Eur. J. Med. Res.* 2003, 8, 7, 283-291.
 260. Schmidt A.M., Crandall J., Hori O., Cao R., Lakatta E. Elevated plasma levels of vascular cell adhesion molecule-1 VCAM-1. in diabetic patients with microalbuminuria: A marker of vascular dysfunction and progressive vascular disease. *Br. J. Haematol.* 1996, 92, 3, 747-750.
 261. Schmidt R., Schmidt H., Pichler M., Enzinger C., Petrovic K., Niederkorn K., Horner S., Ropele S., Watzinger N., Schumacher M., Berghold A., Kostner G.M., Fazekas F. C-reactive protein, carotid Atherosclerosis, and cerebral small-vessel disease: Results of the austrian stroke prevention study. *Stroke* 2006, 37, 12, 2910-2916.
 262. Schumann L., Korten G., Holdt B., Holtz M. Microcirculation of the finger-nail fold in CAPD patients: Preliminary observations. *Perit. Dial. Int.* 1996, 16, 4, 412-416.
 263. Sen N., Poyraz F., Tavit Y., Yazici H.U., Turfan M., Hizal F., Topal S., Erdamar H., Cakir E., Yalcin R., Cengel A. Carotid intima-media thickness

- in patients with cardiac syndrome X and its association with high circulating levels of asymmetric dimethylarginine. *Atheroscler.* 2009, 204, 2, e82-e85.
264. Seon M.J., Chung I.N., Sei W.Y., Eun J.B., Choong H.S., Hae R.C., You Y.K., Yong S.Y. Endothelial dysfunction and microvascular complications in type 1 diabetes mellitus. *J. Korean Med. Sci.* 2008, 23, 1, 77-82.
265. Serg M., Kampus P., Kals J., Zagura M., Muda P., Tuomainen T.P., Zilmer K., Salum E., Zilmer M., Eha J. Association between asymmetric dimethylarginine and indices of vascular function in patients with essential hypertension. *Blood Pressure* 2011, 20, 2, 111-116.
266. Serné E.H., Gans R.O., ter Maaten J.C., Tangelder G.J., Donker A.J., Stehouwer C.D. Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction. *Hypertension* 2001, 38, 2, 238-242.
267. Serné E.H., Gans R.O.B., ter Maaten J.C., Ter Wee P.M., Donker A.J.M., Stehouwer C.D.A. Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin's metabolic and vascular actions. *Cardiovasc. Res.* 2001, 49, 1, 161-168.
268. Serné E.H., IJzerman R.G., Gans R.O., Nijveldt R., De Vries G., Evertz R., Donker A.J., Stehouwer C.D. Direct evidence for insulin-induced capillary recruitment in skin of healthy subjects during physiological hyperinsulinemia. *Diabetes* 2002, 51, 5, 1515-1522.
269. Shelbaya S., Amer H., Seddik S., Allah A.A., Sabry I.M., Mohamed T., El Mosely M. Study of the role of interleukin-6 and highly sensitive C-reactive protein in diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2012, 16, 2, 176-182.
270. Shoelson S.E., Herrero L., Naaz A. Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance. *Gastroenterology* 2007, 132, 6, 2169-2180.
271. Sibal L., Agarwal S.C., Schwedhelm E., Luneburg N., Böger R.H., Home P.D. A study of endothelial function and circulating asymmetric dimethylarginine levels in people with Type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Cardiovasc. Diabetol.* 2009, 8:27
272. Sibal L., Aldibbiat A., Agarwal S.C., Mitchell G., Oates C., Razvi S., Weaver J.U., Shaw J.A., Home P.D. Circulating endothelial progenitor cells, endothelial function, carotid intima-media thickness and circulating markers of endothelial dysfunction in people with type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Diabetologia* 2009, 52, 8, 1464-1473.
273. Siebert J., Reiwer-Gostomska M. Angiogenin--new important parameter in the assessment of ischaemic heart disease? *Kardiol. Pol.* 2006, 64, 8, 899-900.

-
274. Siebert J., Reiwer-Gostomska M., Babińska Z., Myśliwska J., Myśliwski A., Skopińska-Różeńska E., Sommer E., Skopiński P. Low serum angiogenin concentrations in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007, 30, 12, 3086-3087.
275. Siebert J., Reiwer-Gostomska M., Mysliwska J., Marek N., Raczynska K., Glasner L. Glycemic control influences serum angiogenin concentrations in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010, 33, 8, 1829-1830.
276. Silva J.A., Escobar A., Collins T.J., Ramee S.R., White C.J. Unstable angina: a comparison of angioscopic findings between diabetic and nondiabetic patients. *Circulation* 1995, 192, 1731-1736.
277. Sinha R.N. A six-year follow-up study of smoking habits and microvascular complications in young adults with type 1 diabetes. *Postgrad. Med. J.* 1997, 73, 859, 293-294.
278. Smith V., Pizzorni C., De Keyser F., Decuman S., Van Praet J.T., Deschepper E., Sulli A., Cutolo M. Reliability of the qualitative and semiquantitative nailfold videocapillaroscopy assessment in a systemic sclerosis cohort: A two-centre study. *Ann. Rheum. Dis.* 2010, 69, 6, 1092-1096.
279. Smulders R.A., Stehouwer C.D.A., Olthof C.G., Van Kamp G.J., Teerlink T., De Vries P.M.J.M., Donker A.J.M. Plasma endothelin levels and vascular effects of intravenous L-arginine infusion in subjects with uncomplicated insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin. Sci.* 1994, 87, 1, 37-43.
280. Snell-Bergeon J.K., West N.A., Mayer-Davis E.J., Liese A.D., Marcovina S.M., D'Agostino R.B.Jr., Dabelea D.J. Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study. *Clin. Endocrinol. Metab.* 2010, 95, 6, 2868-2876.
281. Song Y.M., Lee K., Sung J., Kim Y.S., Lee J.Y. Sex-specific relationships between adiposity and anthropometric measures and carotid intima-media thickness in Koreans: The Healthy Twin Study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2012, 66, 1, 39-46.
282. Sonmez A., Celebi G., Erdem G., Tapan S., Genc H., Tasci I., Ercin C.N., Dogru T., Kilic S., Uckaya G., Yilmaz M.I., Erbil M.K., Kutlu M. Plasma apelin and ADMA Levels in patients with essential hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2010, 32, 3, 179-183.
283. Srirattana P., Boonyasirinant T. Correlation between high sensitive C-reactive protein and aortic stiffness using magnetic resonance imaging in patients with known/suspected coronary artery disease. *J. Med. Assoc. Thai.* 2012, 95 Suppl 2, S105-S110.

-
284. Stehouwer C.D.A., Donker A.J.M. Urinary albumin excretion and cardiovascular disease risk in diabetes mellitus: Is endothelial dysfunction the missing link? *J. Nephrol.* 1993, 6, 2, 72-92.
 285. Stehouwer C.D.A., Lambert J., Donker A.J.M., Van Hinsbergh V.W.M. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovasc. Res.* 1997, 34, 1, 55-68.
 286. Stehouwer C.D.A., Schaper N.C. The pathogenesis of vascular complications of diabetes mellitus: One voice or many? *Eur. J. Clin. Invest.* 1996, 26, 7, 535-543.
 287. Stehouwer C.D.A., Smulders Y.M. Microalbuminuria and risk for cardiovascular disease: Analysis of potential mechanisms. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006, 17, 8, 2106-2111.
 288. Stehouwer C.D.A., Stroes E.S.G., Hackeng W.H.L., Mulder P.G.H., Den Ottolander G.J.H. Von Willebrand factor and development of diabetic nephropathy in IDDM. *Diabetes* 1991, 40, 8, 971-976.
 289. Stehouwer C.D.A., Zellenrath P., Polak B.C.P., Baarsma G.S., Nauta J.J.P., Donker A.J.M., Den Ottolander G.J.H. von Willebrand factor and early diabetic retinopathy: No evidence for a relationship in patients with Type 1 insulin-dependent diabetes mellitus and normal urinary albumin excretion. *Diabetologia* 1992, 35, 6, 555-559.
 290. Stein C.M., Nelson R., Deegan R., He H., Wood M., Wood A.J.J. Forearm beta adrenergic receptor-mediated vasodilation is impaired, without alteration of forearm norepinephrine spillover, in borderline hypertension. *J. Clin. Invest.* 1995, 96, 579-585.
 291. Stühlinger M., Abbasi F., Chu J.W., Lamendola C., McLaughlin T.L., Cooke J.P., Reaven G.M., Tsao P.S. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *J. Am. Med. Assoc.* 2002, 287, 11, 1420-1426.
 292. Subramanian V., Crabtree B., Acharya K.R. Human angiogenin is a neuroprotective factor and amyotrophic lateral sclerosis associated angiogenin variants affect neurite extension/ pathfinding and survival of motor neurons. *Hum. Mol. Genet.* 2008, 17, 1, 130-149.
 293. Sulli A., Soldano S., Pizzorni C., Montagna P., Secchi M.E., Villaggio B., Serio B., Brizzolara R., Cutolo M. Raynaud's phenomenon and plasma endothelin: correlations with capillaroscopic patterns in systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 2009, 36, 6, 1235-1239.

-
294. Sundell J., Luotolahti M. Association between insulin resistance and reduced coronary vasoreactivity in healthy subjects. *Can. J. Cardiol.* 2004, 20, 7, 691-695.
 295. Surdacki A., Nowicki M., Sandmann J., Tsikas D., Boeger R.H., Bode-Boeger S.M., Kruszelnicka-Kwiatkowska O., Kokot F., Dubiel J.S., Froelich J.C. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1999, 33, 4, 652-658.
 296. Sweitzer N.K., Shenoy M., Stein J.H., Keles S., Palta M., LeCaire T., Mitchell G.F. Increases in central aortic impedance precede alterations in arterial stiffness measures in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2007, 30, 11, 2886-2891.
 297. Tapp R.J., Shaw J.E., Harper C.A., de Courten M.P., Balkau B., McCarty D.J., Taylor H.R., Welborn T.A., Zimmet P.Z., AusDiab Study Group. The prevalence of and factors associated with diabetic retinopathy in the Australian population. *Diabetes Care* 2003, 26, 6, 1731-1737.
 298. Taquet A., Bonithon-Kopp C., Simon A., Levenson J., Scarabin Y., Malmejac A., Ducimetiere P., Guize L. Relations of cardiovascular risk factors to aortic pulse wave velocity in asymptomatic middle-aged women. *Eur. J. Epidemiol.* 1993, 9, 3, 298-306.
 299. Targher G., Bertolini L., Zoppini G., Zenari L., Falezza G. Increased plasma markers of inflammation and endothelial dysfunction and their association with microvascular complications in Type 1 diabetic patients without clinically manifest macroangiopathy. *Diabet. Med.* 2005, 22, 8, 999-1004.
 300. Tarnow L., Hovind P., Teerlink T., Stehouwer C.D.A., Parving H.H. Elevated Plasma Asymmetric Dimethylarginine As A Marker of Cardiovascular Morbidity in Early Diabetic Nephropathy in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2004, 27, 3, 765-769.
 301. Tektonidou M., Kaskani E., Skopouli F.N., Moutsopoulos H.M. Microvascular abnormalities in Sjogren's syndrome: Nailfold capillaroscopy. *Rheumatology UK.* 1999, 38, 9, 826-830.
 302. Tendera M., Boyans V., Bartelink M.L., Baumgartner I., Clement D., Collet J.P., Cremonesi A., De Carlo M., Erbel R., Fowkes F.G., Heras M., Kownator S., Minar E., Ostergren J., Poldermans D., Rimbau V., Roffi M., Sievert H., van Sambeek M., Zeller T., ESC Committee for Practice Guidelines. European Cardiac Society Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases. *Eur. Heart J.* 2011, 32, 2851-2906.
 303. Teragawa H., Fukuda Y., Matsuda K., Ueda K., Higashi Y., Oshima T., Yoshizumi M., Chayama K. Relation between C reactive protein concentra-

- tions and coronary microvascular endothelial function. *Heart* 2004, 90, 7, 750-754.
304. Tesfaye S., Chaturvedi N., Eaton S.E., Ward J.D., Manes C., Ionescu-Tirgoviste C., Witte D.R., Fuller J.H., EURODIAB Prospective Complications Study Group. Vascular risk factors and diabetes neuropathy. *N. Eng. J. Med.* 2005, 352, 4, 341-350.
305. Tesfaye S., Stevens L.K., Stephenson J.M., Fuller J.H., Plater M., Ionescu-Tirgoviste C., Nuber A., Pozza G., Ward J.D. Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycaemic control and potential risk factors: The EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 1996, 39, 11, 1377-1384.
306. The Diabetes Control and Complications DCCT. Research Group. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney Int.* 1995, 47, 6, 1703-1720.
307. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 1993, 329, 977-986.
308. The World Health Organization website.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en>. 2011.
309. The Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Effect of intensive therapy on the microvascular complications of type 1 diabetes mellitus. *JAMA* 2002, 287, 2563-2569.
310. Thorne S., Mullen M.J., Clarkson P., Donald A.E., Deanfield J.E. Early endothelial dysfunction in adults at risk from Atherosclerosis: Different responses to L-arginine. *J.Am.Coll.Cardiol.* 1998, 32, 1, 110-116.
311. Tibiriça E., Rodrigues E., Cobas R.A., Gomes M.B. Endothelial function in patients with type 1 diabetes evaluated by skin capillary recruitment. *Microvasc. Res.* 2007, 73, 2, 107-112.
312. Tibirica E., Rodrigues E., Cobas R.A., Gomes M.B. Increased functional and structural skin capillary density in type 1 diabetes patients with vascular complications. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2009, 1, 1, 24.
313. Tomai F., Ribichini F., Ghini A.S., Ferrero V., Ando G., Vassanelli C., Romeo F., Crea F., Chiariello L. Elevated C-reactive protein levels and coronary microvascular dysfunction in patients with coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 2005, 26, 20, 2099-2105.

-
314. Tooke J.E. Microvascular haemodynamics in diabetes mellitus. *Clin.Sci. (Lond)*. 1986, 70, 119-125.
 315. Tooke J.E., Lins P.E., Ostergren J., Adamson U., Fagrell B. The effects of intravenous insulin infusion on skin microcirculatory flow in Type 1 diabetes. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1985, 4, 1, 69-83.
 316. Tooke J.E., Lins P.E., Ostergren J., Fagrell B. Skin microvascular autoregulatory responses in type 1 diabetes: the influence of duration and control. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1985, 4, 3, 249-256.
 317. Torffvit O., Lovestam-Adrian M., Agardh E., Agardh C.D. Nephropathy, but not retinopathy, is associated with the development of heart disease in Type 1 diabetes: A 12-year observation study of 462 patients. *Diabet. Med.* 2005, 22, 6, 723-729.
 318. Touboul P.J., Hennerici M.G., Meairs S., Adams H., Amarenco P., Bornstein N., Csiba L., Desvarieux M., Ebrahim S., Fatar M., Hernandez Hernandez R., Jaff M., Kownator S., Prati P., Rundek T., Sitzer M., Schminke U., Tardif J.C., Taylor A., Vicaute E., Woo K.S., Zannad F., Zureik M. Mannheim carotid intima-media thickness consensus 2004-2006.: An update on behalf of the advisory board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc. Dis.* 2007, 23, 1, 75-80.
 319. Touboul P.J., Hennerici M.G., Meairs S., Adams H., Amarenco P., Desvarieux M., Ebrahim S., Fatar M., Hernandez Hernandez R., Kownator S., Prati P., Rundek T., Taylor A., Bornstein N., Csiba L., Vicaute E., Woo K.S., Zannad F. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc. Dis.* 2004, 18, 4, 346-349.
 320. Trapp R.G., Soler N.G., Spencer-Green G. Nailfold capillaroscopy in type 1 diabetics with vasculopathy and limited joint mobility. *J. Rheumatol.* 1986, 13, 5, 917-920.
 321. Tripepi G., Raso F.M., Sijbrands E., Seck M.S., Maas R., Boger R., Witteman J., Rapisarda F., Malatino L., Mallamaci F., Zoccali C. Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in ESRD patients. *Clin J. Am. Soc. Nephrol.* 2011, 6, 7, 1714-1721.
 322. Tritto I., Ambrosio G. Spotlight on microcirculation: an update. *Cardiovasc. Res.* 1999, 42, 3, 600-606.
 323. Trouillon R., Kang D.K., Park H., Chang S.I., Ohare D. Angiogenin induces nitric oxide synthesis in endothelial cells through PI-3 and akt kinases. *Biochemistry* 2010, 49, 15, 3282-3288.

-
324. Trzebski A. Fizjologia krążenia krwi. W: Traczyk W.Z, Trzebski A, (red.). Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2001: 539-546.
325. Tschesche H., Kopp C., Horl W.H., Hempelmann U. Inhibition of degranulation of polymorphonuclear leukocytes by angiogenin and its tryptic fragment. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 48, 30274-30280.
326. Turner J., Belch J.J.F., Khan F. Current Concepts in Assessment of Microvascular Endothelial Function Using Laser Doppler Imaging and Iontophoresis. *Trends Cardiovasc.Med.* 2008, 18, 4, 109-116.
327. United Kingdom Prospective Diabetes Study. United Kingdom Prospective Diabetes Study UKPDS.13: Relative efficacy of randomly allocated diet, sulphonylurea, insulin, or metformin in patients with newly diagnosed non-insulin dependent diabetes followed for three years. *BMJ* 1995, 310, 6972, 83-88.
328. Urban M., Peczyńska J., Kowalewski M., Głowińska-Olszewska B. Does autonomic diabetic neuropathy influence microcirculation reactivity in adolescents with diabetes type 1? *Endokrynol. Diabetol. Chor.Przemiany Materii Wieku Rozw.* 2007, 13, 1, 23-26.
329. Vaiopoulos G., Pangratis N., Samarkos M., Hatzinicolaou P., Mavropoulos S., Tzonou A., Kaklamanis P. Nailfold capillary abnormalities in Behcet's disease. *J. Rheumatol.* 1995, 22, 6, 1108-1111.
330. Valkonen V.P., Paiva H., Salonen J.T., Lakka T.A., Lehtimäki T., Laakso J., Laaksonen R. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001, 358, 9299, 2127-2128.
331. Vallance P., Leone A., Calver A., Collier J., Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992, 339, 8793, 572-575.
332. Van Ittersum F.J., Spek J.J., Praet I.J.A., Lambert J., IJzerman R.G., Fischer H.R.A., Nikkels R.E., Van Bortel L.M.A.B., Donker A.J.M., Stehouwer C.D.A. Ambulatory blood pressures and autonomic nervous function in normoalbuminuric type 1 diabetic patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998, 13, 2, 326-332.
333. Verhave J.C., Gansevoort R.T., Hillege H.L., Bakker S.J., De Zeeuw D., de Jong P.E. An elevated urinary albumin excretion predicts de novo development of renal function impairment in the general population. *Kidney Int. Suppl.* 2004, 92, S18-S21.
334. Vervoort G., Lutterman J.A., Smits P., Berden J.H., Wetzels J.F. Transcapillary escape rate of albumin is increased and related to haemody-

-
- namic changes in normo-albuminuric type 1 diabetic patients. *J. Hypertens.* 1999, 17, 12 Suppl., 1911-1916.
335. Vervoort G., Wetzels J.F., Lutterman J.A., Van Doorn L.G., Berden J.H., Smits P. Elevated skeletal muscle blood flow in noncomplicated type 1 diabetes mellitus: Role of nitric oxide and sympathetic tone. *Hypertension* 1999, 34, 5, 1080-1085.
 336. Vicaute E. Opposite effects of red blood cell aggregation on resistance to blood flow. *J. Cardiovasc. Surg. Torino.* 1995, 36, 4, 361-368.
 337. Vigorita V.J., Moore G.W., Hutchins G.M. Absence of correlation between coronary arterial atherosclerosis and severity or duration of diabetes mellitus of adult onset. *Am. J. Cardiol.* 1980, 46, 535-542.
 338. Walker H.A., McGing E., Fisher I., Boger R.H., Bode-Boeger S.M., Jackson G., Ritter J.M., Chowienzyk P.J. Endothelium-dependent vasodilation is independent of the plasma L-arginine/ADMA ratio in men with stable angina: Lack of effect of oral L-arginine on endothelial function, oxidative stress and exercise performance. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2001, 38, 2, 499-505.
 339. Wallace A.W., Ratcliffe M.B., Galindez D., Kong J.S. L-arginine infusion dilates coronary vasculature in patients undergoing coronary bypass surgery. *Anesthesiology* 1999, 90, 6, 1577-1586.
 340. Waller B.F., Palumbo P.J., Lie J.T., Roberts W.C. Status of the coronary arteries at necropsy in diabetes mellitus with onset after age 30 years: analysis of 229 diabetic patients with and without clinical evidence of coronary heart disease and comparison to 183 control subjects. *Am. J. Med.* 1980, 69, 498-506.
 341. Wilkinson C.P., Ferris III F.L., Klein R.E., Lee P.P., Agardh C.D., Davis M., Dills D., Kampik A., Pararajasegaram R., Verdager J.T., Lum F. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003, 110, 9, 1677-1682.
 342. Wright R.J., Newby D.E., Stirling D., Ludlam C.A., Macdonald I.A., Frier B.M. Effects of acute insulin-induced hypoglycemia on indices of inflammation: Putative mechanism for aggravating vascular disease in diabetes. *Diabetes Care* 2010, 33, 7, 1591-1597.
 343. Wu K.K., Folsom A.R., Heiss G., Davis C.E., Conlan M.G., Barnes R. Association of coagulation factors and inhibitors with carotid artery Atheroscler.: Early results of the Atheroscler. Risk in Communities ARIC. Study. *Ann. Epidemiol.* 1992, 2, 4, 471-480.

-
344. Yang Q., Kaji R., Takagi T., Kohara N., Murase N., Yamada Y., Seino Y., Bostock H. Abnormal axonal inward rectifier in streptozocin-induced experimental diabetic neuropathy. *Brain* 2001, 124, 6, 1149-1155.
345. Yang T.L., Chen M.F., Xia X., Luo B.L., Li Y.J. Effect of fenofibrate on the level of asymmetric dimethylarginine in individuals with hypertriglyceridemia. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2006, 62, 3, 179-184.
346. Yasar H., Senol M.G., Kendirli T., Onem Y., Ozdag F., Saracoglu M. Serum asymmetric dimethylarginine levels in diabetic patients with neuropathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2011, 92, 2, 223-227.
347. Yasmin, McEniery C.M., Wallace S., Mackenzie I.S., Cockcroft J.R., Wilkinson I.B. C-Reactive Protein Is Associated with Arterial Stiffness in Apparently Healthy Individuals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 24, 5, 969-974.
348. Yazici D., Gogas Yavuz D., Unsalan S., Toprak A., Yuksel M., Deyneli O., Aydin H., Tezcan H., Rollas S., Akalin S. Temporal effects of low-dose ACE inhibition on endothelial function in Type 1 diabetic patients. *J. Endocrinol. Invest.* 2007, 30, 9, 726-733.
349. Yun Y.W., Shin M.H., Lee Y.H., Rhee J.A., Choi J.S. Arterial stiffness is associated with diabetic retinopathy in Korean type 2 diabetic patients. *J. Prev. Med. Public Health* 2011, 44, 6, 260-266.
350. Zaric D., Worm A.M., Stahl D., Clemmensen O.J. Capillary microscopy of the nailfold in psoriatic and rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.* 1981, 10, 3, 249-252.
351. Zatz R., Brenner B.M. Pathogenesis of diabetes microangiopathy. The haemodynamics view. *Am. J. Med.* 1986, 80, 443-453.
352. Zazgornik J., Biesenbach G., Janko O., Grafinger P., Kaiser W., Stuby U., Hubmann U.R. Serum uric acid levels in type-1 and type-2 diabetic patients. *Wien. Med. Wochenschr.* 1996, 146, 5, 102-104.
353. Zhang L., Krzentowski G., Albert A., Lefebvre P.J. Risk of developing retinopathy in diabetes control and complications trial type 1 diabetic patients with good or poor metabolic control. *Diabetes Care* 2001, 24, 7, 1275-1279.
354. Zhang W.Z., Venardos K., Chin-Dusting J., Kaye D.M. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability: Role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension* 2006, 48, 2, 278-285.
355. Zoccali C., Bode-Boger S.M., Mallamaci F., Benedetto F.A., Tripepi G., Malatino L.S., Cataliotti A., Bellanuova I., Fermo I., Frolich J.C., Boger R.H. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality

- in patients with end-stage renal disease: A prospective study. *Lancet* 2001, 358, 9299, 2113-2117.
356. Zorena K., Myśliwska J., Myśliwiec M., Balcerska A. Analysis of levels of angiogenin in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus in relation to the duration of the disease. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2008, 14, 3-4, 98-100.
357. Zozulińska D, Wierusz-Wysocka B. Ogólna patogeneza zmian tętnic w cukrzycy. W: Sieradzki J.(red.). *Cukrzyca*. T.1. Gdansk: Via Medica, 2007: 883-896.

8. STRESZCZENIE

Cukrzyca jest ogólnowsiatowym problemem, który dotyczy każdej grupy wiekowej. Według opublikowanego w roku 2011 raportu Światowej Organizacji Zdrowia szacuje się, że obecnie na świecie na cukrzycę choruje około 346 milionów ludzi. Cukrzyca typu 1. dotyczy około 10% całej populacji chorych na cukrzycę. Mimo milowych kroków w prewencji i leczeniu powikłań cukrzycowych opartych o interdyscyplinarną opiekę nad chorym na cukrzycę, jej przewlekłe powikłania pod postacią mikroangiopatii i makroangiopatii stanowią główne przyczyny inwalidztwa oraz pogorszenia jakości życia. Według obecnych koncepcji patofizjologicznych genezy powikłań narządowych występujących w przebiegu cukrzycy należy upatrywać w zaburzeniach mikrokrążenia. Koncepcje te uznają dysfunkcję śródbłonna za wiodącą przyczynę powikłań mikro- i makroangiopatycznych w cukrzycy.

Wielu badaczy analizowało funkcję śródbłonna z wykorzystaniem technik pomiarowych odnoszących się zarówno do morfologii, jak i mechanicznej funkcji ściany naczynia. Badania te wykazały, że kapilaroskopia mikrokrążenia skórniego może być z powodzeniem stosowana do oceny funkcji śródbłonna. Dotychczasowa ocena reaktywności naczyń skórnych u chorych z typem 1. cukrzycy z użyciem kapilaroskopii przeprowadzana była z wykorzystaniem testu PORH, testów farmakologicznych czy okluzji żyłnej zarówno na kończynach górnych jak i dolnych, czy miejscowego ochłodzenia.

Infuzja L-argininy - będącej substratem dla syntazy tlenu azotu (NOS) - jest selektywnym bodźcem wazodylatacyjnym naczyń mikrokrążenia skórniego. Mimo że infuzja L-argininy u chorych na cukrzycę typu 1. jest uznana za bezpieczną i skuteczną metodę badania reaktywności naczynioruchowej krążenia siatkówki i małych naczyń mózgu, nie była ona jak dotąd wykorzystana do badań nad reaktywnością mikrokrążenia skórniego i jego zależności z występowaniem powikłań mikro- i makroangiopatycznych w cukrzycy typu 1. W związku z tym, w niniejszej pracy za cel główny postawiono zbadanie zależności pomiędzy reaktywnością mikrokrążenia u chorych na cukrzycę typu 1. ocenianego za pomocą kapilaroskopii i testu infuzji L-argininy a występowaniem tychże powikłań. Analizie poddano również zależność pomiędzy zmiennymi opisującymi stan mikrokrążenia ocenianym przy użyciu kapilaroskopii a czasem trwania, stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy oraz wybranymi markerami biochemicznymi.

W trakcie realizacji celu głównego porównano wartości parametrów charakteryzujących mikrokrążenie skórne w grupie chorych na cukrzycę typu 1. i grupie kontrolnej. Dodatkowo zbadano zależność pomiędzy uzyskaną charakterystyką mikrokrążenia skórniego a zmiennymi opisującymi strukturę i funkcję innych naczyń krążenia obwodowego zarówno u chorych na cukrzycę typu 1. jak i w grupie osób zdrowych.

Badanie przeprowadzono w Zakładzie Fizjologii Klinicznej GUMed. Badaniami zostało objętych 48 osób na cukrzycę typu 1. (21 kobiet i 27 mężczyzn) w wieku od 29,9 do 55,6 lat (mediana 37,9 lat) oraz 24 dorosłych subiektywnie zdrowych ochotników (13 kobiet i 11 mężczyzn) w wieku od 22,6 do 51,3 lat (mediana 38,3 lat). Dobór grup oraz protokół badania zostały zaakceptowane przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy GUMed (decyzje NKEBN/335/2008 z 23 XII 2009 r. oraz NKEBN/335-60/2009 z dnia 2 III 2009 r.). Protokół obejmował: badania biochemiczne krwi, badanie podmiotowe i przedmiotowe, w tym neurologiczne, badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych i kręgowych w odcinku zewnątrzczaszkowym z pomiarem IMT, pomiar prędkości rozchodzenia się fali tętna, kapilaroskopię naczyń wałów pa-

znokciowych przed i po teście infuzji L-argininy. Badane grupy były porównywalne co do proporcji płci i wieku, nie stwierdzono u nich także istotnych statystycznie różnic odnośnie częstości występowania nadwagi i otyłości, jak i częstości stosowania doustnych preparatów antykoncepcyjnych lub raportowania regularnej aktywności fizycznej i palenia tytoniu.

W grupie chorych na cukrzycę stwierdzono znamienne wyższe stężenia CRP i HbA1C w surowicy krwi w porównaniu do osób bez cukrzycy. Nie zaobserwowano znamienych różnic w wartościach hematokrytu i stężeń albuminy w surowicy krwi, hemoglobiny, kreatyniny, fibrynogenu oraz angiogeniny pomiędzy obiema grupami. Również średnie wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami. Stężenie kwasu moczowego, poziomu ADMA, stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL w grupie badanych chorych były istotnie niższe niż w grupie kontrolnej. Hiperlipidemia była rozpoznawana istotnie częściej w grupie kontrolnej w porównaniu z grupą chorych na cukrzycę.

Całkowita powierzchnia badanych kapilar - *coverage*- w warunkach podstawowych, czyli przed infuzją L-argininy była istotnie większa w grupie chorych na cukrzycę typu 1. w porównaniu z grupą kontrolną, odpowiednio (20 (14–30) % vs 18,1 (13–24) % ($p=0,02$). Różnica *coverage* pomiędzy grupami zmniejszyła się i była nieistotna statystycznie po infuzji L-argininy ($p=0,30$). Wykazano znamienne statystycznie różnicę pomiędzy grupą chorych na cukrzycę a grupą kontrolną dla *R_coverage* odpowiednio (0,2 (-20–60) % vs 10 (-20–70) %; $p=0,04$).

Zmiana *coverage* ($\Delta_coverage$) w teście infuzji L-argininy była istotnie różna od zera dla grupy kontrolnej (warunki podstawowe: 18,1(13–24), po infuzji 19,9(15–24), $p=0,02$), natomiast nie różniła się od zera dla grupy chorych z typem 1. cukrzycy ($p=0,77$).

Odległość pomiędzy kapilarami w warunkach podstawowych (*B_distance*) była istotnie statystycznie niższa w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu do grupy kontrolnej (221 (153–311) μm vs 240 (185–356) μm ($p=0,02$)), nie różniła się jednak po infuzji L-argininy ($p=0,27$). $\Delta_distance$ nie różnił się pomiędzy badanymi grupami ($p=0,059$). Analizy wykazały, iż w grupie kontrolnej wielkość *distance* w warunkach podstawowych była większa u kobiet w porównaniu z mężczyznami (260 μm vs 235 μm , $p=0,04$). Takich różnic nie stwierdzono w grupie chorych na cukrzycę. Po infuzji L-argininy, nie występowały zależne od płci różnice w parametrach charakteryzujących mikrokążenie wału paznokciowego.

W grupie kontrolnej parametry charakteryzujące mikrokążenie skórne nie korelowały istotnie z frakcjami lipidogramu, HbA1c i wiekiem. W grupie chorych na cukrzycę parametry charakteryzujące mikrokążenie skórne (*B_distance*, $\Delta_coverage$, *R_coverage*) korelowały ujemnie z wiekiem zachorowania, zaś $\Delta_distance$ i *R_distance* korelowały dodatnio z wiekiem zachorowania. Czas trwania cukrzycy nie korelował istotnie z żadnym parametrem opisującym mikrokążenie skórne. Ilość lekkich hipoglikemii korelowała dodatnio z *B_distance* zaś ujemnie z *B_coverage*. Ponadto wykazano istotną ujemną korelację pomiędzy $\Delta_distance$ i *R_distance* a stężeniem cholesterolu frakcji LDL.

Analiza IMT wykazała istotnie grubszy kompleks błona wewnętrzna-środkowa w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną. Wartość PWV nie różniła się istotnie w badanych grupach. Parametry mikrokążenia skórnego nie korelowały

istotnie z IMT i PWV w grupie chorych na cukrzycę, zaś w grupie kontrolnej stwierdzono jedynie ujemną korelację pomiędzy *B_distance* i IMT.

W grupie chorych na cukrzycę u osób z mikroangiopatią skórną stwierdzono istotnie wyższe stężenie fibrynogenu w porównaniu z osobami bez tej mikroangiopatii. Poziom kwasu moczowego i CRP nie różnił się istotnie u chorych na cukrzycę z i bez mikroangiopatii skórnej. Stężenie ADMA był znacząco niższe w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu do grupy kontrolnej i nie korelowało ze stanem mikrokrążenia skórnego opisywanym przez parametry *coverage* i *distance* w badanej grupie chorych na cukrzycę typu 1. Stwierdzono natomiast istotną statystycznie zależność pomiędzy stężeniem ADMA a parametrami $\Delta_distance$ i $R_distance$ w grupie kontrolnej.

Stężenie angiogeniny nie różniło się istotnie w badanych grupach: chorych na cukrzycę i grupą kontrolną. Stężenie angiogeniny korelowało jedynie istotnie z *B_distance* w badanej grupie chorych na cukrzycę. Obecność jawnej nefropatii cukrzycowej wiązała się z istotnie wyższym stężeniem angiogeniny.

Stężenie kwasu moczowego i CRP różniło się istotnie pomiędzy badaną grupą chorych na cukrzycę typu 1 i grupą kontrolną. Jedynie w grupie kontrolnej stężenie kwasu moczowego korelowało ujemnie z *B_distance*.

W grupie chorych na cukrzycę, jak również w grupie kontrolnej nie wykazano wpływu palenia tytoniu na reaktywność naczyń skórnych, zaś w grupie chorych na cukrzycę nie wykazano również zależności pomiędzy nałogiem palenia tytoniu na występowanie retinopatii, neuropatii, mikroalbuminurii czy jawnej nefropatii.

Analiza podgrup chorych na cukrzycę wydzielonych ze względu na medianę wieku zachorowania (19 lat) wykazała, że retinopatia istotnie częściej była stwierdzana w podgrupie z wcześniejszym początkiem cukrzycy ($p=0,02$) w porównaniu do chorych, którzy zachorowali po 19 rż. W podgrupach tych wykazano natomiast istotnie wyższą wartość $\Delta_coverage$ i istotnie niższą statystycznie wartość $\Delta_distance$ u chorych z początkiem choroby przed 19 rż. w porównaniu do chorych, którzy zachorowali po 19 rż. Reaktywność mikrokrążenia skórnego opisywana poprzez $\Delta_coverage$ i $\Delta_distance$ nie różniła się pomiędzy grupą chorych z wcześniejszym początkiem choroby i grupą kontrolną. Parametry te różniły się istotnie statystycznie pomiędzy grupą chorych z późniejszym początkiem choroby i grupą kontrolną. Zależna od infuzji L-argininy zmiana zmiennej opisującej odległość pomiędzy kapilarami – *distance* była istotnie różna od zera w podgrupie chorych z późniejszym początkiem choroby ($p=0,01$). W analogicznym porównaniu dla *coverage* nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian. Wyniki moich badań wskazują na to, że w ocenianych grupach chorych reaktywność mikrokrążenia skórnego nie jest zależna od wieku, czasu trwania cukrzycy, kontroli metabolicznej, stosowanego leczenia bądź chorób współistniejących a jedynie od wieku zachorowania.

Uzyskane wyniki świadczą o tym, że ocena reaktywności za pomocą testu z L-argininą i kapilaroskopią połączona z analizą ilościową uzyskanych obrazów cechuje się dobrą powtarzalnością. W badanej grupie chorych na cukrzycę typu 1. stwierdziłam występowanie zaburzeń reaktywności naczyń mikrokrążenia skórnego. Reaktywność naczyń mikrokrążenia skórnego jest mniejsza w cukrzycy typu 1. z początkiem po okresie dojrzewania w porównaniu z chorymi, którzy zachorowali w okresie wcześniejszym. Zmiany reaktywności mikrokrążenia skórnego nie wiązały się z występowaniem innych mikroangiopatii. Nieprawidłowa reaktywność kapilar w kapilaroskopowej ocenie zmian *coverage* w teście z L-argininą może być wykładnikiem mikroangiopatii skórnej.

Ponadto wykazałam, że stężenie ADMA jest istotnie niższe w grupie chorych na cukrzycę w porównaniu do grupy kontrolnej i nie koreluje z reaktywnością naczyń skórných. Stężenie angiogeniny nie różniło się istotnie w grupie kontrolnej i chorych na cukrzycę. W badanej grupie chorych na cukrzycę stężenie angiogeniny korelowało istotnie ze średnim odstępem pomiędzy kapilarami w warunkach podstawowych (*B_distance*). Obecność jawnej nefropatii cukrzycowej wiązała się z istotnie wyższym stężeniem angiogeniny. W badanej grupie chorych nie stwierdziłam zależności pomiędzy badanymi parametrami mikrokążenia skórnego i wykładnikami funkcji i struktury makrokążenia.

9. SUMMARY

Diabetes is a global problem that affects every age group. The World Health Organization in 2011 estimated that globally diabetes affects about 346 million people. Type 1 diabetes affects about 10% of the total. Despite milestone steps in the prevention and treatment of diabetic complications, based on the interdisciplinary care of patients with diabetes, its chronic microvascular and macrovascular complications are the main cause of disability and reduced quality of life. According to the current pathophysiological concepts, organ damage occurring in the course of diabetes originates from disorders of microcirculation, primarily from endothelial dysfunction.

Many researchers have investigated endothelial function with the use of techniques related to both the morphology and the mechanical function of the vessel wall. Those studies show that capillaroscopy can be successfully used for assessment of endothelial function. So far, skin microcirculation reactivity in patients with type 1 diabetes has been assessed using capillaroscopy and the post occlusive reactive hyperaemia (PORH) test, pharmacological tests, venous occlusion in both the upper and lower limbs or local cooling.

Infusion of L-arginine, which is a substrate for nitric oxide synthase (NOS), is a selective vasodilator stimulus of skin microcirculation. Although the infusion in patients with type 1 diabetes is considered to be a safe and effective method for testing vasomotor reactivity of retinal circulation and small vessels of the brain, it was not used before to determine the reactivity of skin microcirculation and its relationship with occurrence of micro- and macrovascular complications in type 1 diabetes. Therefore, the main objective of this research was to evaluate the relationship between skin microcirculation reactivity (assessed by capillaroscopy and the L-arginine infusion test) and the incidence of vascular complications in patients with type 1 diabetes. The relationship between variables describing the state of microcirculation assessed by capillaroscopy and duration of the disease, the degree of metabolic control of diabetes and certain biochemical markers were investigated.

In the main part of this study, parameters characterizing skin microcirculation in patients with type 1 diabetes and the control group were compared. Additionally, relationships between characteristics of skin microcirculation and variables describing the structure and function of other vessels in peripheral circulation were examined in both groups. The analyses were conducted at the Department of Clinical Physiology, Medical University of Gdańsk. The study included 48 people diagnosed with type 1 diabetes (21 women and 27 men) aged 29.9 to 55.6 years (median of 37.9) and 24 subjectively healthy volunteers (13 women and 11 men) aged 22.6 to 51.3 years (median of 38.3 years). Selection of the groups and the protocol were approved by the Independent Bioethical Committee for Scientific Research at the Medical University of Gdańsk (decisions NKEBN/335/2008 of 23 December 2009 and NKEBN/335-60/2009 of 2 March 2009). The study protocol included: blood chemistry, physical examination, neurological examination, ultrasound examination of carotid and vertebral arteries in the extracranial segment with intima-media thickness (IMT) measurement, determination of pulse wave velocity (PWV) and nailfold capillaroscopy before and after L-arginine infusion. Both groups were comparable for age and sex ratio, and there were no statistically significant differences in prevalence of overweight and obesity, as well as the frequency of use of oral contraceptives or reporting regular physical activity and smoking.

C-reactive protein (CRP) and glycated haemoglobin (HbA1c) concentrations were significantly higher in the diabetes group compared to the control group, whereas there were no significant differences in mean values of haematocrit and serum albumin, haemoglobin, creatinine, fibrinogen and angiogenin concentrations in study groups. In addition, the mean systolic blood pressure and diastolic blood pressure did not differ significantly between the two groups. Uric acid, asymmetric dimethylarginine (ADMA), total cholesterol and LDL concentrations as well as frequency of hyperlipidaemia were significantly lower in the diabetic patients than in the control group.

Total area ($B_coverage$) of examined capillaries in basal conditions before L-arginine infusion was significantly higher in patients with type 1 diabetes compared to the control group: median of 20 (range 14-30) % vs 18.1 (13-24) %, respectively ($p = 0.02$). However, after L-arginine infusion the difference between the groups decreased and was not significant ($p = 0.30$). A statistically significant difference between patients and the control group was demonstrated for $coverage$ ratio ($\Delta_coverage/B_coverage$): 0.2 (-20-60) % vs 10 (-20-70) %, respectively ($p = 0.04$). Change in $coverage$ values due to L-arginine infusion ($\Delta_coverage$) was not different from zero in the diabetes group ($p=0.77$), but it was significantly different from zero for the control group, as it increased from 18.1 (13-24) % to 19.9 (15-24) % ($p = 0.02$).

The distance between capillaries in basal conditions ($B_distance$) was significantly lower in patients with diabetes compared with the control group: 221 (153-311) μm vs 240 (185-356) μm ($p = 0.02$); however, it did not differ after L-arginine infusion ($p = 0.27$). The change in distance ($\Delta_distance$) did not differ between the two groups ($p = 0.059$). The analysis showed that in the control group the distance in basal conditions was greater in women than in men (260 μm vs. 235 μm , $p = 0.04$). Such differences were not observed in patients with diabetes. After L-arginine infusion, there were no gender-dependent differences in nailfold microcirculation parameters.

In the control group, skin microcirculation parameters did not correlate significantly with lipid fractions, HbA1c and age. In the diabetic group, three parameters ($B_distance$, $\Delta_coverage$ and $coverage$ ratio) correlated negatively with age at onset, but $\Delta_distance$ and distance ratio ($\Delta_distance/B_distance$) correlated positively with age at onset. Duration of diabetes did not correlate significantly with any skin microcirculation parameter. Frequency of mild hypoglycaemias correlated positively with $B_distance$ and negatively with $B_coverage$. In addition, $\Delta_distance$ and distance ratio were negatively correlated with LDL cholesterol levels.

IMT was significantly higher in diabetic patients than in control subjects. PWV did not differ significantly between groups. Skin microcirculation parameters did not correlate significantly with IMT and PWV in patients with diabetes, while the control group showed only a negative correlation between $B_distance$ and IMT.

In diabetic patients with skin microangiopathy, fibrinogen concentration was significantly higher than in those without the microangiopathy. Uric acid and CRP concentration did not differ between diabetic patients with and without skin microangiopathy. ADMA concentration was significantly lower in patients with diabetes compared with the control group, and did not correlate with skin microcirculation described by $coverage$ and distance parameters in the group of patients with type 1 diabetes, and significantly correlated with $\Delta_distance$ and distance ratio in the control group.

Angiogenin concentration did not differ significantly between the group of patients with diabetes and the control group. Angiogenin concentration correlated significantly

with $B_distance$ only in patients with diabetes. The presence of overt diabetic nephropathy is associated with significantly higher angiogenin concentration.

Uric acid levels and CRP levels significantly differed between the group of patients with type 1 diabetes and healthy control subjects. Only in the control group, uric acid concentration correlated negatively with $B_distance$.

In patients with diabetes, as well as in the control group, no effect of smoking on skin microvascular reactivity was shown. There was no correlation between smoking habit and retinopathy, neuropathy, microalbuminuria or overt nephropathy.

Subgroup analysis of patients with diabetes divided on the basis of the median age of onset (19 years) showed that significantly more retinopathy was recorded in the subgroup with onset before 19 years of age ($p = 0.02$). Results of the analysis also show significantly higher $\Delta_coverage$ and significantly lower $\Delta_distance$ in patients with onset before 19 years of age compared to patients with later onset.

Skin microcirculation reactivity described by $\Delta_coverage$ and $\Delta_distance$ did not differ between the group of patients with the earlier onset of the disease and the control group but differed significantly between the group of patients with later onset of the disease and the control group. The infusion-dependent changes in $distance$ between capillaries were significantly different from zero for the subgroup of patients with later onset of the disease ($p = 0.01$). In a similar comparison for $coverage$, there was no statistically significant change. These results indicate that skin microcirculation reactivity is not dependent on age, duration of diabetes, metabolic control, therapy or comorbidities but only on the age of onset.

The obtained results indicate that the assessment of reactivity by means of L-arginine infusion and capillaroscopy combined with quantitative analysis of the images are characterized by good repeatability. In the group of patients with type 1 diabetes, disturbances in skin microvascular reactivity are found. Skin microvascular reactivity is lower in type 1 diabetes with onset after puberty compared to patients with earlier onset. Skin microvascular reactivity changes are not associated with the presence of other microvascular complications. Impaired skin capillaries reactivity, expressed by decreased response of coverage to L-arginine infusion assessed with capillaroscopy may reflect skin microangiopathy.

In addition, ADMA concentration is significantly lower in patients with diabetes compared with the control group and does not correlate with skin vessel reactivity. Angiogenin concentration does not significantly differ between the control group and patients with diabetes. In diabetic patients, angiogenin concentration is significantly correlated with the average distance between capillaries in basal conditions ($B_distance$). The presence of overt diabetic nephropathy is associated with significantly higher angiogenin concentration. In the diabetic group, no relationship is found between the skin microcirculation parameters and parameters describing macrocirculation function and structure.

10. ANEKS

Formularz wywiadu

Imię i nazwisko: _____ Wiek: _____ Data: _____
 Data urodzenia: _____ Telefon: _____

FORMULARZ OBCIĄŻEŃ

1. Od ilu lat choruje Pani/Pan na cukrzycę? _____ rozpoznana (rok mm) _____
 2. W jakim wieku zachorowanie? _____
 3. Ostatni wynik poziomu HbA_{1c} _____ (rok mm dd) _____
 4. Jednostki insuliny na dobę (łącznie) _____
 5. Obecne powikłania cukrzycy:
 - a. Retinopatia ☐ Tak ☐ Nie rozpoznana (rok mm) _____
 - b. Nefropatia ☐ Tak ☐ Nie rozpoznana (rok mm) _____
 - kreatynina _____ (rok mm dd) _____ (rok mm dd) _____ (rok mm dd) _____
 - białkomocz /dobę _____ (rok mm dd) _____ (rok mm dd) _____ (rok mm dd) _____
 - Stopa cukrzycowa ☐ Tak ☐ Nie rozpoznana (rok mm) _____
 - c. Neuropatia ☐ Tak ☐ Nie rozpoznana (rok mm) _____
 - CRP (rok mm dd) _____ kw. moczowy (rok mm dd) _____ HCS (rok mm dd) _____
 6. Dodatkowe obciążenia:
 - a. Nadciśnienie tętnicze ☐ Tak ☐ Nie rozpoznane (rok mm) _____
 - b. Choroby serca ☐ Tak ☐ Nie _____
 - c. Palenie tytoniu ☐ Tak paczkołata _____ ☐ Nie (od kiedy) _____
 - d. Alkohol ☐ Tak ☐ Nie _____
 - e. Hiperlipidemia ☐ Tak ☐ Nie rozpoznana (rok mm) _____
 - Chol. całkow. (rok mm dd) _____ LDL _____ TG _____ HDL _____
 - CRP (rok mm dd) _____ kw. moczowy (rok mm dd) _____ HCS (rok mm dd) _____
 - f. Leki horm. /antykontracepcja ☐ Tak ☐ Nie Ciąża ☐ Tak ☐ Nie _____
 7. Ilość incydentów hipoglikemii _____
 - ciężka (w ostatnim roku) _____
 - lekka (w ostatnim mies.) _____
 8. Regularna aktywność fizyczna ☐ Tak ☐ Nie _____
 9. Przyjmowanie dodatk. leków ☐ Tak ☐ Nie _____
- _____
- _____
10. Wzrost: _____ Masa ciała: _____ BMI: _____ Obwód pasa: _____
11. Alergie: _____ Podpis: _____