

**ANNALES  
ACADEMIAE MEDICAE  
GEDANENSIS  
TOM LXI  
2011  
SUPPLEMENT 9**



**GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

**Grzegorz Kozera**

**Czynnościowa ocena mikrokrażenia mózgowego  
u pacjentów z cukrzycą typu 1 za pomocą  
przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej  
oraz testu infuzji L-argininy**

*Functional assessment of cerebral microvasculature  
in patients with type 1 diabetes  
with use of transcranial Doppler  
and L-arginine infusion*

Rozprawa habilitacyjna

Katedra Neurologii, Klinika Neurologii Dorosłych  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
Kierownik: dr hab. Walenty M. Nyka, prof. nadzw. GUMed

**GDAŃSK 2011**

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 Skowryra  
Tomasz Bączek, Zdzisław Bereznowski, Anna Grygorowicz, Andrzej Hellmann,  
Jerzy Kuczkowski, Józefa de Laval, Krzysztof Narkiewicz, Michał Obuchowski,  
Zbigniew Kmieć, 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](mailto: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

*Wyrażam głęboką wdzięczność Panu Profesorowi Walentemu Nyce, kierownikowi Katedry Neurologii i Kliniki Neurologii Dorosłych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za przekazanie mi wszechstronnej wiedzy neurologicznej, stworzenie warunków do pracy klinicznej i naukowej, pomoc merytoryczną oraz wielką wyrozumiałość i życzliwość okazywaną podczas pisania niniejszej pracy.*

*Szczególne podziękowania składam Panu Profesorowi Leszkowi Bieniaszewskiemu, kierownikowi Zakładu Fizjologii Klinicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za inspiracje i życzliwe wsparcie naukowe oraz umożliwienie przeprowadzenia badań na terenie Zakładu Fizjologii Klinicznej.*

***Pracę dedykuję mojej żonie i synom.***



## SPIS TREŚCI

Wykaz stosowanych skrótów .....	9
Spis publikacji dorobku autora zawierających cząstkowe wyniki prezentowane w rozprawie habilitacyjnej .....	11
1. Wstęp.....	13
1.1. Mózgowo-naczyniowe powikłania cukrzycy.....	14
1.1.1. Powikłania mikronaczyniowe.....	16
1.1.2. Powikłania makronaczyniowe .....	21
1.2. Metody oceny krążenia mózgowego.....	25
1.2.1. Badanie USG mikrokrążenia mózgowego.....	30
1.2.2. Badanie USG makrokrążenia mózgowego .....	33
1.3. Zaburzenia autoregulacji przepływu mózgowego w cukrzycy .....	35
2. Cele pracy.....	37
3. Materiał i metody .....	38
3.1. Protokół badania .....	39
3.1.1. Badanie podmiotowe i przedmiotowe .....	40
3.1.2. Badania biochemiczne .....	40
3.1.3. Badanie USG zewnątrzczaszkowe oraz pomiar grubości kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa .....	41
3.1.4. Badanie USG przezczaszkowe tętnicy mózgu środkowej .....	43
3.1.5. Badanie reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z zastosowaniem metod prowokacji fizjologicznej .....	44
3.1.6. Badanie reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z zastosowaniem testu infuzji L-argininy .....	46
3.1.7. Ocena prospektywna rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej w badanych grupach.....	46
3.2. Metody oceny statystycznej.....	48
3.3. Charakterystyka badanych grup.....	49
3.3.1. Chorzy na cukrzycę .....	49
3.3.2. Grupa kontrolna .....	52
4. Wyniki.....	53
4.1. Porównanie analizowanych zmiennych w badanych grupach .....	53
4.1.1. Wiek, dane antropometryczne oraz podstawowe parametry czynnościowe układu krążenia .....	53
4.1.2. Częstość występowania chorób współistniejących.....	54
4.1.3. Wyniki badań laboratoryjnych .....	55
4.1.4. Parametry przepływu w tętnicy mózgu środkowej .....	58
4.1.5. Rezerwa wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej oceniana z wykorzystaniem metod prowokacji fizjologicznej .....	60
4.1.6. Rezerwa wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej oceniana z użyciem testu infuzji L-argininy .....	61
4.1.7. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa.....	62
4.2. Ocena zależności pomiędzy wiekiem, parametrami antropometrycznymi oraz współistniejącymi obciążeniami chorobowymi i obrazem klinicznym cukrzycy a wskaźnikiem pulsacyjności i reaktywnością wazomotoryczną MCA .....	63
4.2.1. Chorzy na cukrzycę .....	63
4.2.2. Grupa kontrolna .....	70

4.3. Ocena zależności pomiędzy wynikami badań laboratoryjnych a wskaźnikiem pulsacyjności oraz reaktywnością wazomotoryczną MCA.....	72
4.3.1. Chorzy na cukrzycę .....	72
4.3.2. Grupa kontrolna.....	74
4.4. Ocena wzajemnych zależności pomiędzy wartościami wskaźnika pulsacyjności i parametrami rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej ocenianymi w teście infuzji L-argininy oraz z użyciem technik prowokacji fizjologicznej.....	76
4.4.1. Chorzy na cukrzycę .....	76
4.4.2. Grupa kontrolna.....	76
4.5. Ocena zależności pomiędzy grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa a wskaźnikiem pulsacyjności oraz reaktywnością wazomotoryczną MCA .....	77
4.5.1. Chorzy na cukrzycę .....	77
4.5.2. Grupa kontrolna.....	78
4.6. Ocena prospektywna rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej.....	78
5. Dyskusja .....	80
6. Wnioski: .....	93
7. Piśmiennictwo .....	94
8. Streszczenie .....	122
9. Summary .....	126
10. Aneks.....	129

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

<b>ACEI</b>	<i>angiotensin-converting enzyme inhibitor</i> / inhibitor konwertazy angiotensyny II
<b>ARB</b>	<i>angiotensin receptor blocker</i> / antagonist receptoru angiotensyny II
<b>ATIII</b>	antytrombina III
<b>BH4</b>	<i>tetrahydrobiopterin</i> / tetrahydrobiopteryna
<b>BHI</b>	<i>breath holding index</i> / wskaźnik zatrzymania oddechu
<b>BMI</b>	<i>body mass index</i> / wskaźnik masy ciała
<b>B-Mode</b>	<i>brightness mode</i> / obrazowanie w skali szarości
<b>CBF</b>	<i>cerebral blood flow</i> / przepływ krwi w naczyniach mózgowia
<b>CPP</b>	<i>cerebral perfusion pressure</i> / mózgowe ciśnienie perfuzji
<b>CRP</b>	<i>C-reactive protein</i> / białko C-reaktywne
<b>ESO</b>	European Stroke Organization, Europejska Organizacja Udarowa
<b>eNOS</b>	<i>endothelial nitric oxide synthase</i> , śródbłonkowa syntaza tlenu azotu
<b>Et CO<sub>2</sub></b>	<i>end-tidal CO<sub>2</sub></i> / stężenie CO <sub>2</sub> w powietrzu końcowo-wydechowym
<b>fMRI</b>	<i>functional magnetic resonance imaging</i> / czynnościowy rezonans magnetyczny
<b>FFA</b>	<i>free fatty acids</i> / wolne kwasy tłuszczowe
<b>FMD</b>	<i>flow mediated dilatation</i> / wazodylatacja tętnicy ramiennej
<b>HbA1C</b>	hemoglobina glikowana
<b>IDF</b>	International Diabetes Federation / Międzynarodowa Federacja Cukrzycy
<b>IL-6</b>	interleukina 6
<b>IL-8</b>	interleukina 8
<b>IMC</b>	<i>intima-media complex</i> / kompleks błona wewnętrzna-błona środkowa
<b>IMT</b>	<i>intima-media thickness</i> / grubość kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa
<b>LACI</b>	<i>lacunar infarct</i> / udar lakunarny
<b>LDL</b>	<i>low density lipoproteins</i> / lipoproteiny małej gęstości
<b>MAP</b>	<i>mean arterial pressure</i> / średnie ciśnienie tętnicze krwi
<b>MCA</b>	<i>middle cerebral artery</i> / tętnica mózgu środkowa
<b>MPO</b>	<i>myeloperoxidase</i> / mieloperoksydaza
<b>n</b>	<i>number</i> / liczba
<b>NIRS</b>	<i>near infrared spectroscopy</i> / spektroskopia bliskiej podczerwieni
<b>NO</b>	<i>nitric oxide</i> / tlenek azotu
<b>NTG</b>	nitrogliceryna
<b>OUN</b>	ośrodkowy układ nerwowy
<b>p</b>	poziom istotności statystycznej

---

<b>pCO<sub>2</sub></b>	ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla
<b>PET</b>	<i>positron emission tomography</i> / pozytonowa tomografia emisyjna
<b>PI</b>	<i>pulsatility index</i> / wskaźnik pulsacyjności Goslinga
<b>POCI</b>	<i>posterior circulation infarct</i> / zawał mózgu w obszarze unaczynienia tylnego
<b>PWV</b>	<i>pulse wave velocity</i> / prędkość fali tętna
<b>r</b>	współczynnik korelacji
<b>RI</b>	<i>resistance index</i> / wskaźnik oporności Pourcelota
<b>RR</b>	ciśnienie tętnicze krwi
<b>sARI</b>	<i>static autoregulation index</i> / wskaźnik autoregulacji statycznej
<b>SCI</b>	<i>silent cerebral infarction</i> / „nieme”, bezobjawowe ognisko niedokrwienne mózgu
<b>SD</b>	<i>standard deviation</i> / odchylenie standardowe
<b>sdLDL</b>	<i>small, dense low density lipoproteins</i> / małe, gęste lipoproteiny małej gęstości
<b>SPECT</b>	<i>single photon emission computed tomography</i> / tomografia emisyjna pojedynczego fotonu
<b>TG</b>	<i>triglycerides</i> / trójglicerydy
<b>TIA</b>	<i>transient ischemic attack</i> / przemijający atak niedokrwienny
<b>TCD</b>	<i>transcranial doppler</i> / przezczaszkowa ultrasonografia dopplerowska
<b>TCCD</b>	<i>transcranial color coded duplex</i> / przezczaszkowa ultrasonografia dupleksowa z kolorowym kodowaniem przepływu
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	<i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> / czynnik martwicy nowotworu $\alpha$
<b>VEGF</b>	<i>vascular endothelial growth factor</i> / śródbłonkowy czynnik wzrostu
<b>UCK</b>	Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
<b>V<sub>max</sub></b>	<i>maximal velocity</i> / maksymalna prędkość skurczowa
<b>V<sub>mean</sub></b>	<i>mean velocity</i> / prędkość średnia
<b>V<sub>mean<sub>rest</sub></sub></b>	prędkość średnia w spoczynku
<b>V<sub>mean<sub>max</sub></sub></b>	prędkość średnia maksymalna
<b>V<sub>mean<sub>min.</sub></sub></b>	prędkość średnia minimalna
<b>V<sub>min.</sub></b>	<i>minimal velocity</i> / prędkości minimalna
<b>VMR</b>	<i>vasomotor reactivity</i> / reaktywność wazomotoryczna
<b>VMRr</b>	<i>vasomotor reactivity range</i> / rezerwa wazomotoryczna
<b><math>\Delta</math>VMRr</b>	względna zmiana rezerwy wazomotorycznej
<b>vWF</b>	<i>von Willebrand factor</i> / czynnik von Willebranda
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i> / Światowa Organizacja Zdrowia
<b>XeCT</b>	<i>xenon enhanced computed tomography</i> / tomografia ksenonowa

**SPIS PUBLIKACJI DOROBKU AUTORA ZAWIERAJĄCYCH  
CZĄSTKOWE WYNIKI PREZENTOWANE W ROZPRAWIE HABI-  
LITACYJNEJ**

1. Kozera G.M., Wolnik B., Kunicka K.B., Szczyrba S., Wojczal J., Schminke U., Nyka W.M., Bieniaszewski L.: Cerebrovascular reactivity, intima-media thickness, and nephropathy presence in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2009, 32, 5, 878-82.
2. Kozera G., Nyka W.M.: Zastosowanie przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej w ocenie autoregulacji przepływu mózgowego. W: Kaźmierski R. (red.): *Podręcznik diagnostyki ultrasonograficznej w neurologii*. Lublin: Czelej, 2011, s. 287-289.
3. Kozera G.M., Dubaniewicz M., Zdrojewski T., Madej-Dmochowska A., Mielczarek M., Wojczal J., Chwojncki K., Świerblewska E., Schminke U., Wyrzykowski B., Nyka W.M.; SOPKARD Study Group.: Cerebral vasomotor reactivity and extent of white matter lesions in middle-aged men with arterial hypertension: a pilot study. *Am. J. Hypertens*. 2010, 23, 11, 1198-203.



## 1. WSTĘP

Choroby naczyniowe ośrodkowego układu nerwowego są jednym z najważniejszych wyzwań stających przed światowym i europejskim systemem opieki zdrowotnej w pierwszej połowie XXI wieku. W opinii ekspertów Światowej Organizacji Udarowej co szósty mieszkaniec Ziemi dozna w swoim życiu udaru mózgu. Szacuje się, że w 2020 roku udar mózgu i choroba wieńcowa będą stanowić najczęstsze powody utraty zdrowia [209]. Już w chwili obecnej udar mózgu jest główną przyczyną niepełnosprawności i trzecią, po zawale serca i chorobach nowotworowych, przyczyną zgonów osób dorosłych. W Polsce każdego roku na udar mózgu zapada przynajmniej 90 tys. osób, spośród których 30% umiera w przeciągu 6 miesięcy od zachorowania a połowa z tych, którzy przeżyli jest trwale niezdolna do samodzielnej egzystencji [123, 209]. W związku z wciąż ograniczoną skutecznością leczenia ostrej fazy udaru niedokrwiennego mózgu, szczególne znaczenie ma profilaktyka udaru mózgu, obejmująca wczesne rozpoznanie i efektywną kontrolę modyfikowalnych czynników ryzyka udaru mózgu [80].

Jednym z nich, szeroko rozpowszechnionym i dotyczącym coraz większej liczby osób, jest cukrzyca [50, 68, 80]. Według szacunków Międzynarodowej Federacji Cukrzyca (IDF – International Diabetes Federation) populacja chorych na cukrzycę w 2007 roku wynosiła 246 milionów a w 2025 roku ma ona sięgać blisko 400 milionów osób. Europa, podobnie jak inne wysoko rozwinięte regiony świata, jest obszarem o najwyższej zachorowalności na cukrzycę. Obecnie około 50 mln mieszkańców „starego ładu” (8,4% populacji) obciążonych jest tą chorobą. W Polsce, już w 2002 roku łączną liczbę chorych na cukrzycę szacowano na co najmniej 1,6 mln osób, przy czym odsetek osób z utajoną cukrzycą oceniano na 30–50% liczby rozpoznanych przypadków [262].

Pacjenci z cukrzycą typu 1 stanowią w przybliżeniu 10% wszystkich chorych na cukrzycę. Ich populacja, szacowana w Polsce na około 150 tysięcy osób, zwiększa się znacząco z każdym rokiem [63, 129, 200]. Wzrost zachorowań na cukrzycę typu 1 w naszym kraju wynosi obecnie 5–8% w skali roku i należy do najwyższych w świecie [200]. Jest on szczególnie dynamiczny w grupie najmłodszych dzieci i tylko w samym województwie pomorskim liczba chorych w tym przedziale wiekowym podwoiła się w ostatnich latach [164]. Skutkiem tego Polska, podobnie jak inne państwa Europy środkowo-wschodniej, uważana uprzednio za kraj o niskim wskaźniku zapadalności na cukrzycę typu 1, w ostatniej dekadzie przesunęła się do grupy państw o średniej zapadalności (17 osób/100 tys. mieszkańców/rok) [200, 262].

Konsekwencją znacznego rozpowszechniania dżumy XXI wieku, jak często określa się cukrzycę, jest jej niekorzystny wpływ na epidemiologię chorób naczyniowych mózgu, potęgowany przez istotne etiopatogenetyczne, kliniczne i rokownicze odrębności udaru mózgu u pacjentów z cukrzycą. Dlatego lepsze poznanie i zrozumienie patomechanizmów rozwoju zaburzeń krążenia mózgowego w tej grupie chorych może być jednym z kluczowych elementów służących zmianie niekorzystnej sytuacji epidemiologicznej tym w zakresie. Poprawa profilaktyki udaru mózgu ma szczególne znaczenie zdrowotne i społeczne u osób z cukrzycą typu 1 z racji wczesnego wieku zachorowania (choroba dotyka głównie dzieci i młodych dorosłych w wieku „produkcyjnym”). Zatem skuteczne zapobieganie powikłaniom naczyniowych w tej grupie pacjentów przynieść może istotnie zmniejszenie społecznych kosztów choroby.

### 1.1. Mózgowo-naczyniowe powikłania cukrzycy

Cukrzyca jest jednym z najważniejszych modyfikowalnych czynników ryzyka chorób naczyniowych ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [5, 106]. Rozpowszechnienie cukrzycy wśród osób dotkniętych udarem mózgu w Europie i Stanach Zjednoczonych waha się od 15–33% [80, 108, 154]. W Polsce cukrzycę stwierdza się średnio u 25% pacjentów oddziałów udarowych a 12,5% zgonów chorych na cukrzycę jest następstwem ostrych incydentów mózgowo-naczyniowych [101, 121, 123, 170]. Rzeczywisty odsetek pacjentów z udarem obciążonych cukrzycą może być jeszcze większy, bowiem rozpoznawalność cukrzycy w ostrej fazie udaru jest niepełna [40, 41].

Zaburzenia krążenia mózgowego należą do tzw. „późnych powikłań cukrzycy”. Do ich wystąpienia prowadzi zarówno uszkodzenie małych naczyń mózgowia (mikroangiopatia cukrzycowa) jak i patologia dużych naczyń zewnątrz- i wewnątrzczaszkowych (makroangiopatia cukrzycowa) [65, 148, 234]. Mikroangiopatia mózgowia objawia się najczęściej obecnością udarów lakunarnych, czyli objawowych ognisk niedokrwienych o średnicy poniżej 15 mm zlokalizowanych zazwyczaj w strukturach podkorowych wykrywanych technikami neuroobrazowania [196]. Makroangiopatia naczyń mózgowych jest przyczyną występowania rozległych obszarów niedokrwienia w zlokalizowanych w dorzeczu objętego patologią naczynia – tzw. udarów terytorialnych, rzadziej tzw. udarów hemodynamicznych – w obszarze tzw. „działu dorzeczy” (*watershed infarcts*) [119].

W obydwu przypadkach mechanizmem o kluczowym znaczeniu w rozwoju powikłań naczyniowych jest przewlekła hiperglikemia prowadząca do uruchomienia patologicznych szlaków metabolizmu glukozy, dysfunkcji śródbłonna oraz przyspieszonego rozwoju miażdżycy i w konsekwencji wystąpienia zaburzeń hemodynamicznych oraz powstania wtórnych uszkodzeń tkankowych. Powstawaniu oraz progresji powikłań neurologicznych cukrzycy sprzyja również szczególna podatność neuronów na negatywny wpływ hiperglikemii, bowiem wychwyt glukozy przez komórki układu nerwowego jest niezależny od insuliny i wewnątrzkomórkowe stężenie glukozy zależy przede wszystkim od stopnia nasilenia hiperglikemii [99, 270].

Ryzyko względne wystąpienia pierwszego w życiu udaru mózgu u osób z cukrzycą wynosi 1,8–6 i jest wyższe w przypadku współistnienia pozostałych składowych zespołu metabolicznego: nadciśnienia tętniczego, zaburzeń lipidowych i otyłości oraz innych modyfikowalnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego [50, 80, 141]. Obecność cukrzycy 3-krotnie podwyższa ryzyko udaru mózgu u mężczyzn oraz aż 5-krotnie u kobiet, co niweluje protekcyjny wpływ płci żeńskiej na naczynia mózgowie [106, 141]. Cukrzyca zwiększa również prawdopodobieństwo wystąpienia udarów nawrotowych i co najmniej 9% ponownych incydentów mózgowo-naczyniowych dotyka pacjentów z cukrzycą [87, 94, 181, 212]. Podobnie, częstotliwość oraz nawrotowość przemijających ataków niedokrwienych (TIA – *transient ischemic attack*) są większe u osób obciążonych cukrzycą a powtórne zachorowanie, częściej niż u osób bez cukrzycy, przebiega pod postacią dokonanego udaru niedokrwienego [19, 30, 93, 137, 175, 212]. Ponadto, do wystąpienia udaru mózgu u chorych na cukrzycę może dochodzić w młodszym wieku niż w populacji ogólnej [102, 212].

Odpowiednia terapia pacjentów z cukrzycą może prowadzić do ograniczenia powikłań sercowo-naczyniowych, w tym również zmniejszenia częstości występowania udaru

mózgu. Skuteczna terapia nadciśnienia tętniczego znacząco redukuje prawdopodobieństwo wystąpienia udaru mózgu w tej grupie chorych, a szczególnie korzystny efekt przynosi stosowanie antagonistów receptora angiotensyny II (ARB – *angiotensin receptor blocker*) lub inhibitorów konwertazy angiotensyny II (ACEI – *angiotensin-converting enzyme inhibitor*) [56, 89, 97, 186, 212, 259, 263]. Podobny, korzystny wpływ na profilaktykę incydentów mózgowo-naczyniowych u chorych z cukrzycą ma leczenie hipolipemizujące z użyciem statyn. Ich stosowanie zmniejsza liczbę udarów w populacji chorych na cukrzycę o 15–48%, jak również minimalizuje stopień dysfunkcji poudarowej [43, 44, 55, 212, 220].

Dotychczas nie wykazano jednoznacznie korzystnego wpływu ścisłej kontroli glikemii na redukcję liczby incydentów mózgowo-naczyniowych u chorych na cukrzycę [60, 250]. Dobre wyrównanie cukrzycy zmniejsza wprawdzie ryzyko występowania powikłań mikronaczyniowych ale zależność ta nie przekłada się na częstość występowania udaru mózgu [27, 138, 171, 245]. Tłumaczyć to można współistnieniem objawów makro- i mikroangiopatii mózgowej u tych pacjentów, bowiem rozwój patologii tętnic dużego i średniego kalibru, stanowiącej najczęstszą przyczynę ostrych incydentów mózgowo-naczyniowych w przebiegu cukrzycy, jest w mniejszym stopniu zależny od przewlekłego wyrównania glikemii w okresie poprzedzającym zachorowanie na udar mózgu [242, 245].

W piśmiennictwie brak jest również jednoznacznych danych na temat korzyści płynących z profilaktycznego stosowania kwasu acetylosalicylowego u pacjentów z cukrzycą. Dostępne doniesienia literaturowe wskazują na możliwą niższą skuteczność tej formy prewencji incydentów sercowo-naczyniowych u chorych na cukrzycę w porównaniu do osób bez cukrzycy i jednocześnie sugerują konieczność stosowania wyższych dawek kwasu acetylosalicylowego [69, 169].

Cukrzyca może wpływać niekorzystnie na rokowanie w udarze mózgu [103, 174, 205, 249]. Śmiertelność pacjentów z cukrzycą w fazie ostrej udaru jest o 6–11% wyższa, a w okresie pierwszego roku od zachorowania dwukrotnie wyższa w porównaniu do ogółu chorych [102, 103, 212]. Stopień niepełnosprawności poudarowej u pacjentów z udarem mózgu obciążonych cukrzycą jest także większy w porównaniu do pacjentów po udarze mózgu nie obciążonych cukrzycą [154]. Cukrzyca jest również czynnikiem sprzyjającym częstszemu występowaniu otepienia poudarowego [145].

Niektórzy autorzy negują jednak znaczenie cukrzycy, jako negatywnego czynnika rokowniczego w przebiegu udaru mózgu. Wskazują oni, że częstsze występowanie udarów o charakterze lakunarnym u chorych na cukrzycę, w porównaniu do populacji ogólnej, jest czynnikiem redukującym zarówno śmiertelność, jak stopień niepełnosprawności poudarowej [108, 237].

Podwyższony poziom glikemii (>200 mg/dl) stwierdzany u około 1/3 chorych, niezależnie od rozpoznania cukrzycy w ostrej fazie udaru, jest również niekorzystnym czynnikiem rokowniczym [20, 33, 178]. Podobnie, nieefektywna kontrola poziomu glukozy przed zachorowaniem zwiększa wczesną śmiertelność w przebiegu udaru mózgu [231]. Obecność hiperglikemii wpływa również negatywnie na skuteczność leczenia trombolitycznego udaru mózgu, którego celem jest rekanalizacja naczynia mózgowego i reperfuzja tkanki mózgowej. Znaczna kwasica metaboliczna, spowodowana hiperglikemią stwierdzana w strefie częściowego niedokrwienia (tzw. „penumbry”) powoduje progresję martwicy i ostateczne poszerzenie objętości ostatecznie dokonanego

udaru. Proces ten, jak również mniejsza wydolność krążenia obocznego i upośledzenie mechanizmów autoregulacji przepływu mózgowego obserwowane w cukrzycy, skutkuje obniżeniem efektywności terapii fibrynolitycznej udaru niedokrwienego mózgu z użyciem rekombinowanego tkankowego aktywatora plazminogenu [13, 34, 264]. Uszkodzenie bariery krew-mózg wywołane hiperglikemią może także powodować częstsze występowanie powikłań krwotocznych w przebiegu leczenia trombolitycznego [34]. Między innymi, dlatego aktualne wytyczne Europejskiej Organizacji Udarowej (ESO – European Stroke Organization) nie zalecają tej formy terapii w przypadku wystąpienia udaru nawrotowego u chorych z cukrzycą [68]. Ograniczeniem możliwości stosowania „trombolizy mózgowej” jest również fakt, że osoby chorujące na cukrzycę, częściej niż pacjenci bez cukrzycy odraczają wezwanie pomocy medycznej po wystąpieniu objawów udaru, co powoduje przekroczenie wąskiego „okna czasowego” tej procedury. Zjawisko to może być tłumaczone mylnym interpretowaniem objawów udaru mózgu, jako objawów hipoglikemii przez pacjentów z cukrzycą [120].

### 1.1.1. *Powikłania mikronaczyniowe*

Mianem mikroangiopatii cukrzycowej określa się powikłania cukrzycy wywołane uszkodzeniem naczyń o średnicy poniżej 100  $\mu\text{m}$  (mikroarterioli oraz naczyń przed- i poza-włosowatych). Naczynia te, początkowo o trójwarstwowej (śródbłonek, warstwa mięśniowa i przydanka), a w dalszym przebiegu o dwuwarstwowej (śródbłonek i mniej obfita warstwa mięśniowa) budowie mają decydujące znaczenie w regulacji obwodowego ciśnienia krwi i zapewniają prawidłową perfuzję tkankową.

Występowanie przewlekłych powikłań mikronaczyniowych jest unikalną cechą odróżniającą chorych z cukrzycą od innych populacji i jednocześnie stanowi jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności w tej grupie chorych. Dysfunkcja mikrokrążenia w cukrzycy objawia się w pierwszej kolejności obecnością zaburzeń układowych: retinopatii wywołanej patologią naczyń siatkówki (50–90% chorych), nefropatii cukrzycowej wynikającej z uszkodzenia kłębuszków nerkowych (50–60% chorych) oraz neuropatii cukrzycowej (przynajmniej 60% chorych), do której powstania przyczynia się uszkodzenie naczyń odżywczych nerwów (*vasa nervorum*) [130]. Częstość występowania powikłań mikroangiopatycznych w obrębie OUN w przebiegu cukrzycy wynosi, w zależności od opinii poszczególnych badaczy, od 18 nawet do 83% [255].

U podłoża rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej leży szereg patomechanizmów wywołanych przewlekłą hiperglikemią. Obejmują one zjawiska biochemiczne, hemodynamiczne oraz morfologiczne. Do najczęściej wymienianych procesów biochemicznych wywołanych zwiększonym stężeniem glukozy w przestrzeni zewnątrz- i wewnątrzkomórkowej należą:

- wzmożony stres oksydacyjny i nadprodukcja wolnych rodników przez mitochondria,
- uruchomienie alternatywnych szlaków metabolizmu glukozy (szlaku polioloowego i heksozaminowego),
- aktywacja kinazy białkowej C,
- nieenzymatyczna glikacja białek [99, 270].

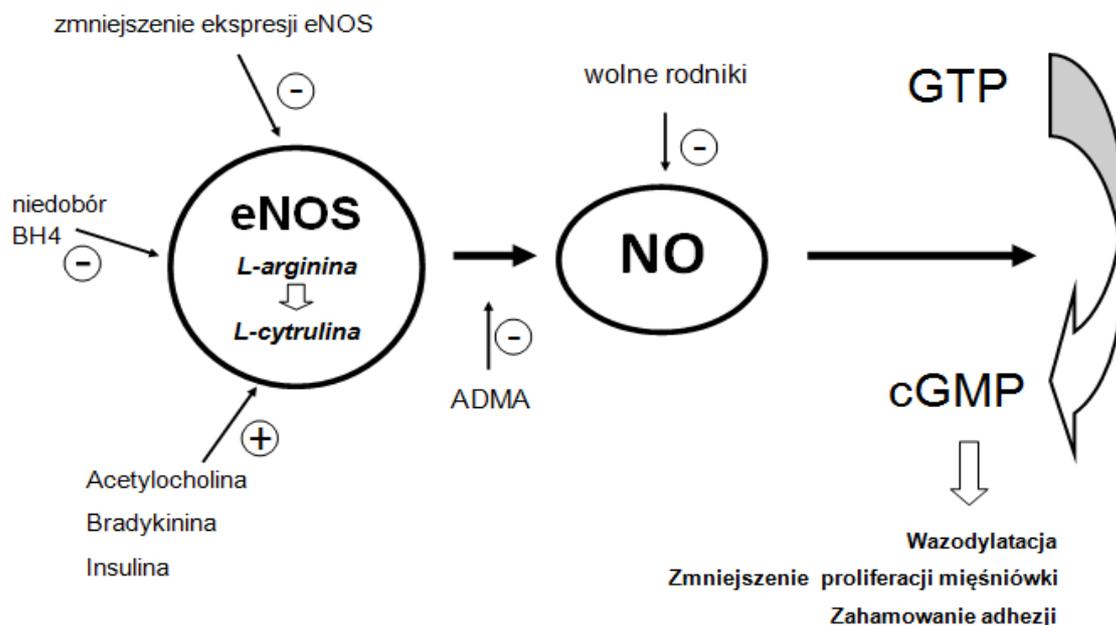
Uruchomienie powyższych procesów patologicznych skutkuje uszkodzeniem i dysfunkcją komórek, prowadzącymi do wystąpienia niekorzystnych zmian struktural-

nych i czynnościowych w obrębie naczyń mikrokrążenia. Przebudowa struktury naczynia jest wynikiem rozplemienia i zwyrodnienia komórek śródbłonka, zgrubienia błony podstawnej, tworzenia mikrotętniaków oraz zwiększenie objętości macierzy pozakomórkowej. Zaburzenia czynnościowe naczyń mikrokrążenia obejmują [99]:

- upośledzenie funkcji rozkurczowej spowodowane zmniejszoną biodostępnością tlenku azotu (NO – *nitric oxide*),
- zwiększenie aktywności proskurczowej wywołane wzrostem syntezy endoteliny I i angiotensyny II,
- wzrost przepuszczalności ściany naczynia w skutek działania śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF – *vascular endothelial growth factor*) [99].

Niekorzystny wpływ na czynność naczyń mikrokrążenia ma również insulinooporność występująca w typie 2 cukrzycy, która także powoduje zmniejszenie biodostępności NO i upośledzeniu wazodylatacji [235]. Dodatkowo, występowanie jak i progresję mikroangiopatii cukrzycowej nasila współistnienie klasycznych naczyniowych czynników ryzyka: nadciśnienia tętniczego, hiperlipidemii oraz palenia tytoniu [99, 130]. Kumulacja powyższych zjawisk i czynników prowadzi do postępującego zwężenia światła oraz zmniejszenia elastyczności naczynia i w konsekwencji upośledzenie perfuzji tkankowej oraz obecności wtórnej, patologicznej rewaskularyzacji.

Istotne znaczenie w rozwoju patologii mikrokrążenia mają również tzw. nowe czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego: asymetryczna dimetyloarginina (ADMA – *asymmetric dimethylarginine*), angiogenina oraz homocysteina [99, 228]. ADMA jest endogennym inhibitorem kompetycyjnym śródbłonkowej syntazy tlenku azotu (eNOS – *endothelial nitric oxide synthase*) – enzymu odpowiedzialnego za przemianę L-argininy do L-cytruliny, w trakcie której powstaje NO (ryc. 1) [99, 167]. Wzrost stężenia ADMA w surowicy, jak również zmniejszona w skutek przewlekłej hiperglikemii ekspresja eNOS i niedobór jej kofaktora – tetrahydrobiopteryny (BH4) powodują spadek syntezy NO i wtórne upośledzenie funkcji wazodylatacyjnej oraz antyagregacyjnej endotelium [4, 17]. Angiogenina zwiększa aktywność komórek śródbłonka naczyń oraz nasila ich proliferację i migrację na wczesnych etapach angiogenezy [222]. Mniejsze stężenia tej proangiogennej cytokiny w surowicy krwi osób chorujących na cukrzycę może być czynnikiem odpowiedzialnym za gorszą wydolność angiogenezy u chorych z wieloletnią cukrzycą [151, 223, 224]. Stosunkowo najmniej wiadomo na temat wpływu hiperhomocysteinemii na rozwój patologii mikrokrążenia, ale ten uznany czynnik rozwoju miażdżycy jest również wymieniany wśród potencjalnych przyczyn uszkodzenia małych naczyń w przebiegu cukrzycy [99, 270].



Rycina 1. Procesy regulujące biodostępność NO u chorych na cukrzycę (zmodyfikowane na podstawie Idzior-Waluś i wsp.) [99]

Figure 1. Mechanism of bioavailability of NO in patients with diabetes (modified from Idzior-Waluś et al.) [99]

### Specyfika choroby małych naczyń mózgowia w przebiegu cukrzycy

Dysfunkcja mikrokrążenia mózgowego może prowadzić do globalnego oraz lokalnego obniżenia perfuzji mózgowej (CBF – *cerebral blood flow*) oraz upośledzenia mechanizmów autoregulacji mózgowej stabilizujących CBF. Zjawiska te prowadzą do wystąpienia zarówno zmian funkcjonalnych jak i organicznych w obrębie OUN u chorych na cukrzycę.

Spektrum zmian morfologicznych wywołanych tzw. „chorobą małych naczyń” mózgowia (*small vessel disease*) obejmuje objawowe i bezobjawowe ogniska lakunarne, rozlane zwyrodnienie istoty białej (leukoarajozę) oraz mikrokrwotoki – drobne ogniska wynaczynienia krwi stwierdzane zazwyczaj w badaniu rezonansu magnetycznego (MRI – *magnetic resonance imaging*) [196].

Klasycznym i zarazem najlepiej poznanym objawem klinicznym choroby małych naczyń w przebiegu cukrzycy jest udar lakunarny (LACI – *lacunar infarct*). Ta postać udaru niedokrwiennego mózgu rozpoznawana jest znamienne częściej u pacjentów z cukrzycą niż u pacjentów nieobciążonych cukrzycą [108, 114, 131, 184, 251]. Obecność cukrzycy jest również czynnikiem silnie determinującym wzrost ogólnej liczby lakun oraz ich wieloogniskową lokalizację w obrębie mózgowia [117]. W związku z faktem, że udary lakunarne umiejscowione są zazwyczaj w strukturach podkorowych, objawy udaru u chorych na cukrzycę, częściej niż u innych pacjentów, przyjmują postać izolowanych zaburzeń ruchowych oraz zespołu rzekomoopuszkowego [154]. Część badaczy wskazuje również na częstsze, niż w populacji ogólnej podnamiotowe umiej-

scowienie ognisk niedokrwiennych, wywołane zaburzeniami przepływu krwi w „tylnym” obszarze unaczynienia (POCI – *posterior circulation infarct*) [159, 236].

Analogicznie, cukrzyca sprzyja również częstszemu występowaniu niemych klinicznie ognisk niedokrwiennych mózgowia (SCI – *silent cerebral infarct*) oraz leukoariozy [64, 193]. Ich obecność, stwierdzana w obrazach jądrowego rezonansu magnetycznego mózgowia, może być powiązana z nasileniem układowych powikłań mikroangiopatycznych: nefro- i retinopatii cukrzycowej [31, 166].

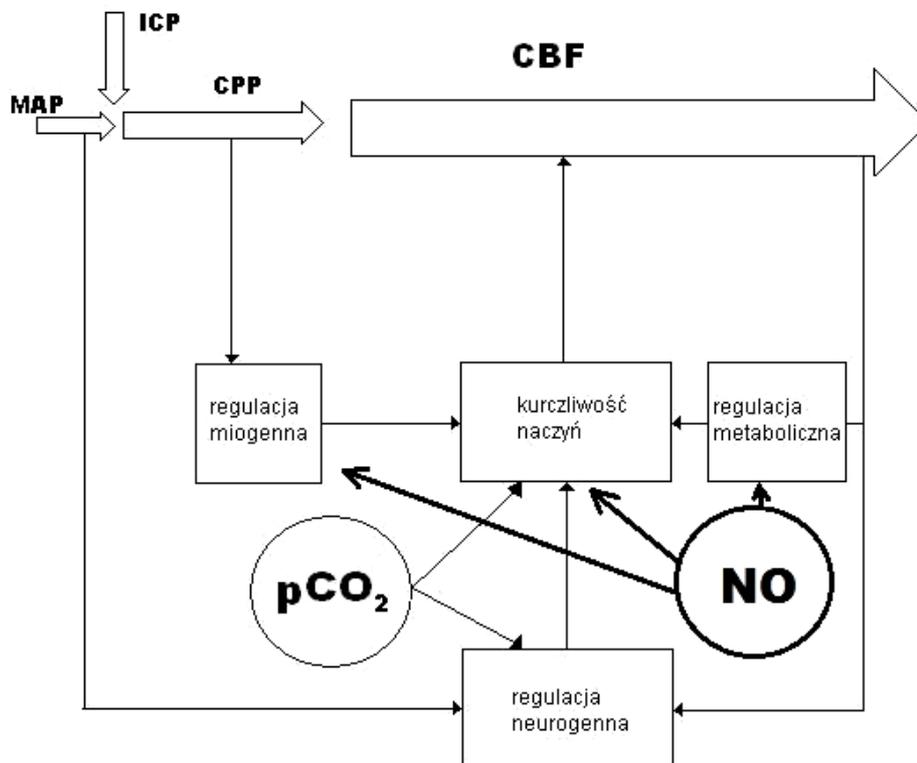
Do innych, rzadziej opisywanych wykładników morfologicznych mikroangiopatii mózgowej w występujących w przebiegu cukrzycy należy obecność mikrokrwotoków mózgowych [71, 187, 195]. Wyniki ostatnio publikowanych badań z zastosowaniem nowoczesnych sekwencji MRI wskazują także, że u pacjentów z cukrzycą dochodzi dodatkowo do intensywniejszego niż u osób bez cukrzycy zaniku struktur mózgowia, co również może być skutkiem przewlekłej dysfunkcji mikrokrążenia [57, 244, 252].

Wyniki badań mających na celu ocenę czynnościową mikrokrążenia mózgowego u chorych z cukrzycą także wspierają hipotezę, że do rozwoju zmian morfologicznych w obrębie OUN prowadzi upośledzenie funkcji mikrokrążenia. Badania prowadzone z użyciem różnorodnych metod neuroobrazowania, takich jak tomografia emisyjna pojedynczego fotonu (SPECT – *single photon emission computed tomography*); funkcjonalny rezonans magnetyczny (fMRI – *functional magnetic resonance imaging*) oraz przezczaszkowa ultrasonografia dopplerowska (TCD – *transcranial doppler*) wskazują, że w przebiegu cukrzycy już na wczesnym etapie rozwoju mikroangiopatii mózgowej dochodzi do istotnego upośledzenia mechanizmów autoregulacji przepływu mózgowego, ściśle związanych z zaburzoną czynnością naczyń mikrokrążenia [107, 126, 260].

Mianem autoregulacji przepływu mózgowego (*cerebral autoregulation*) określa się zdolność organizmu do utrzymywania stabilnych wartości perfuzji mózgowiej niezależnie od zmiany parametrów jej składowych [122]. Za utrzymanie stabilnych wartości CBF odpowiadają następujące procesy:

- regulacja metaboliczna polegająca na dostosowaniu parametrów przepływu krwi w mózgu do zmian stężenia metabolitów (tlenu, dwutlenku węgla i tlenu azotu),
- regulacja biogenna będąca reakcją komórek mięśniówki gładkiej naczyń mózgu na zmiany ciśnienia transmuralnego,
- regulacja neurogenna wynikająca z kontroli kurczliwości mięśniówki gładkiej naczyń mózgu przez ośrodki autonomiczne pnia mózgu [1, 2].

Prawidłowe funkcjonowanie autoregulacji przepływu mózgowego możliwe jest przy współdziałaniu wszystkich wymienionych mechanizmów (ryc. 2). Siła ich wzajemnego oddziaływania zależna jest od zapotrzebowania metabolicznego mózgowia (poziomu jego aktywacji i rodzaju mechanizmów aktywujących), parametrów biochemicznych krwi, mózgowego ciśnienia perfuzji (zależnego od średniego ciśnienia tętniczego krwi) oraz zakresu kurczliwości naczyń mózgowych, uzależnionego w znacznym stopniu od czynności śródbłonna naczyniowego i biodostępności tlenu azotu [1, 2, 122].



Rycina 2. Mechanizmy regulacji przepływu mózgowego – wg Asslid R. [2]

Figure 2. Mechanism of cerebral autoregulation – based on Asslid R. [2]

ICP (intracranial pressure – ciśnienie wewnątrzczaszkowe); CPP (cerebral perfusion pressure – mózgowe ciśnienie perfuzji); MAP (mean arterial pressure – średnie ciśnienie tętnicze); pCO<sub>2</sub> (partial carbon dioxide concentration – ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla)

Upośledzenie mechanizmów autoregulacji przepływu mózgowego stwierdzone jest już u młodych chorych na cukrzycę, niezależnie od braku jawnej manifestacji klinicznej „choroby małych naczyń” a dodatkowa obecność układowych powikłań mikroangiopatycznych, takich jak nefro- i retinopatia cukrzycowa, nasila ten proces [111, 126]. Mikroangiopatia mózgowa przejawia się również zmniejszeniem elastyczności ściany naczynia i w konsekwencji wzrostem wskaźnika pulsacyjności przepływu w naczyniach podstawy mózgu. Badania prowadzone u pacjentów z cukrzycą typu 2 wykazały, że zwiększenie wskaźnika pulsacyjności jest stwierdzone u chorych z klinicznymi i radiologicznymi objawami „choroby małych naczyń” – pacjentów po przebytym udarze lakunarnym lub z SCI [139, 140].

### 1.1.2. *Powikłania makronaczyniowe*

Mianem makroangiopatii cukrzycowej określa się powikłania cukrzycy wywołane uszkodzeniem tętnic dużego i średniego kalibru (o średnicy powyżej 0,1 mm). Duże tętnice (aorta i jej główne gałęzie) zbudowane są z 3 warstw: śródbłonka, warstwy mięśniowej i przydanki, oddzielonych od siebie błonami sprężystymi. Taka struktura zapewnia naczyniom dużą sprężystość i umożliwia im pełnienie roli „powietrznicy” stabilizującej ciśnienie tętna oraz utrzymującej laminarny charakter przepływu w naczyniach dystalnych. Średnie tętnice (np. tętnice nerkowe, kończyn, naczynia wieńcowe) cechuje stopniowy zanik warstwy sprężystej i znaczne pogrubienie warstwy mięśniowej gwarantującej ich dużą kurczliwość potrzebną do utrzymania stabilnego przepływu w krążeniu obwodowym niezależnie od wahań ciśnienia perfuzji.

Powikłania makroangiopatyczne u chorych na cukrzycę obejmują chorobę wieńcową, udar mózgu wywołany chorobą „dużych naczyń” i chorobę niedokrwienną naczyń obwodowych. Zmiany miażdżycowe w obrębie naczyń dużego i średniego kalibru występują w cukrzycy, niezależnie od płci, średnio 2–4-krotnie częściej a czas ich rozwoju jest przyspieszony przynajmniej 2-krotnie w porównaniu do osób zdrowych [47, 74, 105, 206, 256, 257]. Blisko połowa chorych z cukrzycą typu 1 i 50–75% chorych z cukrzycą typu 2 umiera z powodu udaru mózgu lub zawału serca ich powikłań [24, 101, 132, 133]. Ryzyko zgonu z powodu choroby wieńcowej u młodych chorych z cukrzycą jest dziesięciokrotnie większe niż u ich rówieśników bez cukrzycy [99].

Podłożem zmian makroangiopatycznych w cukrzycy jest intensywny rozwój miażdżycy i towarzyszące mu zaburzenia reologiczne oraz dysregulacja w układzie krzepnięcia i fibrylizacji. Do powstania zmian miażdżycowych u chorych z cukrzycą dochodzi w młodszym wieku, niż u osób nieobciążonych cukrzycą, ich rozwój jest szybszy, rozległość i zaawansowanie większe a lokalizacja często jest wieloogniskowa i atypowa. Inna też jest struktura blaszki miażdżycowej u chorych z cukrzycą – niezależnie od stopnia „uwapnienia” są one mało stabilne i łatwo ulegają fragmentacji lub owrzodzeniu [270]. Dlatego, z racji odrębności klinicznych oraz wieloczynnikowej natury, proces miażdżycowy u chorych z cukrzycą określany jest mianem ateroskleropatii cukrzycowej (tab. 1).

Jedną z głównych przyczyn dynamicznej progresji aterogenezy u chorych z cukrzycą jest postępująca dysfunkcja śródbłonka. Do uszkodzenia komórek endotelium wyścielających duże naczynia prowadzą podobne, jak w patologii małych naczyń, procesy biochemiczne: zwiększenie stresu oksydacyjnego, zmniejszenie biodostępności tlenu azotu i nieenzymatyczna glikacja białek. Zjawiska te skutkują pogorszeniem czynności wazodylatacyjnej i antyproliferacyjnej śródbłonka oraz upośledzeniem jego aktywności przeciwzakrzepowej i fibrynolitycznej. Kluczowym objawem zaburzeń funkcji śródbłonka prowadzących do progresji makroangiopatii w cukrzycy jest zwiększenie przepuszczalności wewnętrznej ściany naczynia wywołane zwiększoną produkcją VEGF. Skutkuje to wzmożeniem infiltracji ściany naczynia przez substancje proaterogenne oraz elementy morfotyczne krwi. Zwiększona ekspresja molekuł adhezyjnych prowadzi z kolei do nasilenia przylegania tych ostatnich do wewnętrznej ściany naczynia. Procesom tym sprzyja częstsze niż w populacji ogólnej występowanie tzw. „aterogenego profilu lipidowego”. Nie bez znaczenia pozostaje również fakt intensywniejszej, niż w przypadku osób bez cukrzycy, syntezy czynników zapalnych, dodatkowo nasilających degradację endotelium (tab. 1) [99].

Równie niekorzystny dla zachowania prawidłowej funkcji makrokrażenia w cukrzycy ma, często stwierdzany w tej chorobie, stan prozakrzepowy. Zmiany w układzie krzepnięcia i fibrynolizy u pacjentów z cukrzycą obejmują zarówno zwiększoną aktywację płytek krwi, podwyższenie stężenia fibrynogenu i produktów jego przemiany oraz czynników VII, VIII i von Willebranta jak i zmniejszenie aktywności inhibitorów krzepnięcia (antytrombiny III, białka C i białka S) (tab. 1) [270]. Efekt prozakrzepowy wykazuje również insulinooporność, która ponadto zmniejsza biodostępność NO i nasila proces degradacji śródbłonna.

Współistnienie innych klasycznych jak i „nowych” sercowo-naczyniowych czynników ryzyka również potęguje rozwój makroangiopatii cukrzycowej wywierając negatywne i addycyjne działanie na strukturę i funkcję wewnętrznej ściany naczynia (tab. 1) [99].

Obecność mikroangiopatii dodatkowo przyspiesza rozwój miażdżycy u pacjentów z cukrzycą. Dysfunkcja naczyń odżywczych (*vasa vasorum*) prowadzi do powstawania obszarów niedokrwienia w ścianie naczynia oraz obrębie blaszki miażdżycowej. Proces ten stymuluje wtórną angiogenezę, która przyspiesza przyrost blaszki i zwiększa ryzyko wystąpienia mikrokrwotoków, co w konsekwencji pogłębia i tak dużą niestabilność zmian miażdżycowych u chorych z cukrzycą [88, 99].

### **Specyfika choroby dużych naczyń mózgowia w przebiegu cukrzycy**

Mianem choroby dużych naczyń mózgowia (*large vessel disease*) określa się naczyniopochodne objawy uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego wywołane zaburzeniami przepływu krwi w naczyniach zewnątrzczaszkowych (tętnicy szyjnej wewnętrznej i tętnicy kręgosłupowej) oraz w naczyniach zlokalizowanych na podstawie mózgu (tętnicach koła Willisa i ich odgałęzieniach) lub tętnicy podstawnej i jej dopływach (wewnątrzczaszkowych segmentach tętnic kręgosłupowych).

Makroangiopatia cukrzycowa naczyń mózgowia rozwija się zarówno w segmentach zewnątrzczaszkowych tętnicy szyjnej jak i w obrębie tętnic wewnątrzczaszkowych dużego i średniego kalibru. Jej obecność, częściej niż w populacji ogólnej, stwierdzana jest w obu obszarach [66]. Zmiany miażdżycowe tętnicy szyjnej u pacjentów z cukrzycą rozwijają się częściej i w młodszym wieku niż u osób bez cukrzycy, dlatego zarówno objawowe, jak i bezobjawowe zwężenia w obrębie tętnic zewnątrzczaszkowych wykrywane są statystycznie częściej u pacjentów z cukrzycą niż w u osób niechorujących na cukrzycę [15, 22, 35, 194]. Podobna zależność dotyczy występowania objawowych i bezobjawowych zwężeń w dużych i średnich naczyniach wewnątrzczaszkowych – tętnicach podstawy mózgu i ich gałęziach mózgowia [66, 66, 116, 155, 168]. Dlatego też miażdżycy dużych naczyń zewnątrz- oraz wewnątrzczaszkowych pozostaje najczęstszą przyczyną udarów mózgu u chorych na cukrzycę [108, 185].

Cukrzyca wpływa również na pogorszenie wyników leczenia interwencyjnego choroby tętnicy szyjnej. Zarówno klasyczne zabiegi endarterectomii jak i angioplastyki tętnicy szyjnej z implantacją stentów są obciążone większym ryzykiem wystąpienia powikłań około-zabiegowych w tej grupie chorych [59, 83, 210]. Szczególnie duży wzrost ryzyka dotyczy zgonów z przyczyn kardiogennych w okresie okołoperacyjnym [8]. Większy jest też odsetek zwężeń nawrotowych u chorych z cukrzycą, niezależnie od metod leczenia [73, 135, 213]. Wczesnym wykładnikiem morfologicznym przebu-

---

dowy ściany naczynia w przebiegu makroangiopatii cukrzycowej jest zwiększeniem grubości kompleksu błona wewnętrzna – błona środkowa (IMT – *intima-media thickness*). Pomiary ultrasonograficzne IMT ukazują jego większe wartości oraz szybszy i bardziej uogólniony przyrost u pacjentów z cukrzycą typu 1 oraz cukrzycą typu 2, w porównaniu do osób z prawidłową gospodarką węglowodanową [67, 126, 227, 256, 257]. Znamienne większe wartości IMT stwierdzane u chorych z nefropatią i retinopatią cukrzycową w porównaniu do chorych bez tych powikłań potwierdzają hipotezę o przyspieszonym rozwoju makroangiopatii cukrzycowej w obecności powikłań mikroangiopatycznych [82].

Zmiany czynnościowe w obrębie tętnic dużego kalibru występujące w przebiegu cukrzycy są powiązane z obecnością zaburzeń strukturalnych w obrębie naczyń makrokrążenia. Zmniejszenie podatności ścian tętnic obserwowane w grupach chorych z gorszym wyrównaniem cukrzycy, objawiające się wzrostem prędkości fali tętna (PWV – *pulse wave velocity*), dodatnio koreluje z wartościami IMT [48, 91].

Tabela 1. Czynniki metaboliczne wpływające na rozwój ateroskleropatii cukrzycowej (na podstawie Walus i Zozulińska) [99, 270]

Table 1. Metabolic factors involved in development of diabetic arteriosclerosis (based on Walus i Zozulińska) [99, 270]

Czynnik	Zmiany metaboliczne	Skutek
Hiperglikemia	indukcja szlaków: polioloowego i heksozaminowego ↑ glikacji białek ↓ ekspresji eNOS ↑ VEGF	dysfunkcja i uszkodzenie śródbłonna, stres oksydacyjny, ↑ angiogenezy, ↓ arteriogenezy, indukcja procesu zapalnego, modyfikacja macierzy, złogi amyloidowe w ścianie naczyń
Insulinooporność	hiperinsulinemia i hiperanilinemia ↓ NO	uszkodzenie śródbłonna, stres oksydacyjny, indukcja procesu zapalnego, przebudowa ściany naczyń, zwiększenie adhezji
Odpowiedź zapalna	↑ CRP, fibrynogenu ↑ TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, MPO ↑ O $_2^-$ ↑ molekuł adhezyjnych	
Dyslipidemia aterogenna	↑ TG, LDL, sdLDL, FFA ↓ HDL	uszkodzenie śródbłonna, nacieczenie lipidowe, stres oksydacyjny, indukcja procesu zapalnego
AGE	zmiana ekspresji genów i funkcji białek wewnątrz i zewnątrzkomórkowych	dysfunkcja śródbłonna, stres oksydacyjny, indukcja procesu zapalnego, modyfikacja macierzy, przebudowa ściany naczyń
Układy antyoksydacyjne	↓ dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationu, katalazy	
Stan prozakrzepowy	↑ fibrynogenu, czynników VII, VIII, AWF, agregacji płytek ↓ AT III, białka C i S	uszkodzenie śródbłonna, indukcja procesu zapalnego, wzmożone wykrzepianie
ADMA	↓ NO	dysfunkcja śródbłonna
Homocysteina	↓ NO ↑ molekuł adhezyjnych	stres oksydacyjny, działanie prozapalne
Angiotensyna II	↑ O $_2$	dysfunkcja śródbłonna, przebudowa ściany naczyń

CRP – *C-reactive protein*, białko C-reaktywne; TNF $\alpha$  – *Tumor necrosis factor  $\alpha$* , czynnik martwicy nowotwory  $\alpha$ ; IL-6 – interleukina 6; IL-8 – interleukina 8; MPO – *myeloperoxidase*, mieloperoksydaza; O $_2^-$  – anion ponadtlenkowy, TG – *triglycerides*, trójglicerydy; LDL – *low density lipoproteins*, lipoproteiny małej gęstości, sdLDL – *small, dense low density lipoproteins*, małe gęste lipoproteiny małej gęstości; FFA – *free fatty acids*, wolne kwasy tłuszczowe, vWF – *von Willebrand factor*, czynnik von Willebranda; AT III – antytrombina III

## 1.2. Metody oceny krążenia mózgowego

### 1.2.1. *Metody neuroobrazowania stosowane w ocenie hemodynamicznej krążenia mózgowego*

Dynamiczny rozwój metod neuroobrazowania spowodował znaczne poszerzenie spektrum narzędzi diagnostycznych wykorzystywanych do oceny strukturalnej i czynnościowej krążenia mózgowego. Do najważniejszych z nich zaliczamy:

- tomografię emisyjną pojedynczego fotonu (SPECT),
- pozytronową tomografię emisyjną (PET – *positron emission tomography*),
- spektroskopię bliskiej podczerwieni (NIRS – *near infra-red spectroscopy*),
- tomografię komputerową (CT – *computer tomography*),
- cyfrową angiografię subtrakcyjną (DSA – *digital subtraction angiography*),
- obrazowanie rezonansem magnetycznym (MRI – *magnetic resonance imaging*),
- metody ultrasonograficzne (USG).

Badania izotopowe (SPECT, PET) umożliwiają ocenę przepływu mózgowego poprzez rejestrację promieniowania gamma emitowanego przez izotopy promieniotwórcze zawarte w radiofarmaceutykach znajdujących się w krwi wypełniającej naczynia mózgowia. W badaniu SPECT przepływ mózgowy oceniany jest poprzez pomiar emisji fotonów wydzielanych przez radioaktywny Technet<sup>99m</sup> podany pacjentowi dożylnie przed badaniem. Ilość emitowanych fotonów jest względnym wyznacznikiem regionalnej perfuzji mózgowej mierzonej w odniesieniu do rejonów referencyjnych (najczęściej mózdzku lub przeciwnej półkuli mózgowej) [136].

Pozytronowa tomografia emisyjna umożliwia zarówno pomiar objętości krwi krążącej w mózgowiu, jak i ocenę regionalnego metabolizmu mózgowego poprzez pomiar ilości pozytronów emitowanych przez izotopy promieniotwórcze tlenu, węgla, azotu oraz fluoru, którymi znakowane są wykorzystywane w PET radiofarmaceutyki. Krótka trwałość izotopów i ich wysoka cena oraz niska rozdzielczość przestrzenna metod izotopowych ograniczają ich szerokie zastosowanie [238].

Za pomocą spektroskopii bliskiej podczerwieni mierzy się zmiany stężenia oksy- i dezoksyhemoglobiny w naczyniach mikrokrążenia mózgowego. Stosunek stężenia wymienionych substancji odzwierciedla wartości CBF w powierzchniowych warstwach kory mózgowej. Pomimo niskiej czułości i rozdzielczości przestrzennej oraz znacznej podatności na zakłócenia, metoda ta może być wykorzystywana do oceny mikrokrążenia mózgowego [241].

Tomografia komputerowa, oparta na rejestracji pochłaniania promieniowania rentgenowskiego (RTG) przez struktury OUN, jest obecnie podstawową techniką neuroobrazowania. To czułe i obdarzone dużą rozdzielczością przestrzenną narzędzie jest rutynowo wykorzystywane w praktyce klinicznej. Stosunkowo duże napromieniowanie pacjenta oraz konieczność podania środka cieniującego w celu uzyskania obrazu naczyń i oceny perfuzji mózgowia zmniejszają jednak użyteczność TC w badaniach naukowych.

Cyfrowa angiografia subtrakcyjna, również wykorzystująca promieniowanie RTG, jest metodą obdarzoną doskonałą rozdzielczością przestrzenną. Badanie to pozwala ocenić światło naczynia wypełnione środkiem cieniującym w czasie rzeczywistym, niestety nie przynosi ono informacji o strukturze ściany naczynia oraz otaczających go tkanek. Ponadto DSA jest metodą wysoce inwazyjną, ponieważ w przypadku angiografii

naczyń szyjnych lub mózgowych wymaga wprowadzenia cewnika bezpośrednio do tętnicy, co dodatkowo zwiększa i tak znaczny dyskomfort badania oraz niesie ryzyko wywołania zatorowości jatrogennej [119].

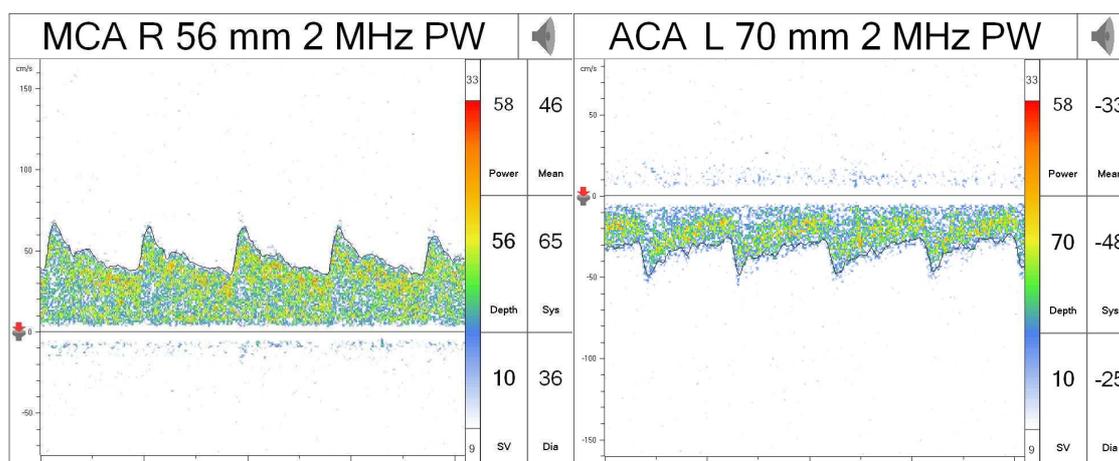
Obrazowanie rezonansu magnetycznego, będące tomograficznym obrazem spektroskopii rezonansu magnetycznego dla jąder atomów wodoru cząsteczek wody zawartej w tkankach organizmu, cechuje doskonała rozdzielczość przestrzenna, możliwość obrazowania wszystkich struktur OUN, a co najważniejsze, mała inwazyjność i brak istotnych objawów ubocznych. Dlatego MRI jest obecnie szeroko wykorzystywane zarówno w diagnostyce jak i badaniach naukowych. Funkcjonalny rezonans magnetyczny umożliwia pomiar regionalnych zmian CBF podczas wykonywania zadań ruchowych lub poznawczych, co pozwala na pośrednią ocenę reaktywności hemodynamicznej mózgowia. Mała rozdzielczość czasowa oraz wciąż wysoka cena, to główne ograniczenie zastosowania MRI.

Ograniczeń tych pozbawione są badania ultrasonograficzne, które umożliwiają obrazowanie struktury tkanek oraz ocenę parametrów przepływu krwi w naczyniu w czasie rzeczywistym. Oprócz znacznej rozdzielczości czasowej (<1 s) dodatkowymi zaletami USG są niskie koszty, nieinwazyjność oraz brak efektów ubocznych. Powyższe cechy sprzyjają szerokiemu wykorzystaniu USG, tak w praktyce klinicznej, jak i w badaniach naukowych [9–11, 79, 161].

Dynamiczny rozwój metod obrazowania opartych na wykorzystaniu ultradźwięków sprawił, iż obecnie z ich pomocą możliwe jest obrazowanie przepływu krwi zarówno w tętnicach zewnątrz- jak i wewnątrzczaszkowych. Metody ultrasonograficzne wykorzystywane w ocenie krążenia mózgowego obejmują: ultrasonografię dopplerowską, ultrasonografię z obrazowaniem dwuwymiarowym, ultrasonografię z kolorowym kodowaniem przepływu oraz dopplera mocy [23, 124].

Za pomocą ultrasonografii dopplerowskiej obrazuje się prędkość przepływu krwi w naczyniu, wykorzystując efekt Dopplera. Zjawisko to polega na zmianie częstotliwości fali ultradźwiękowej odbitej od erytrocytów przemieszczających się w naczyniu krwionośnym. Stopień zmiany częstotliwości fali odbitej w stosunku do częstotliwości fali wyemitowanej przez głowicę ultrasonografu zależy od prędkości krwinki, co po matematycznym przetworzeniu umożliwia ocenę prędkości przepływu krwi w naczyniu. Prędkości przepływu krwinek zmieniają się w trakcie cyklu pracy serca i są niejednorodne w obrębie światła naczynia, dlatego wynik badania prezentowany jest w formie spektrum dopplerowskiego, będącego graficzną ilustracją rozkładu prędkości przepływu krwi w czasie, uzupełnionego o wyniki pomiaru:

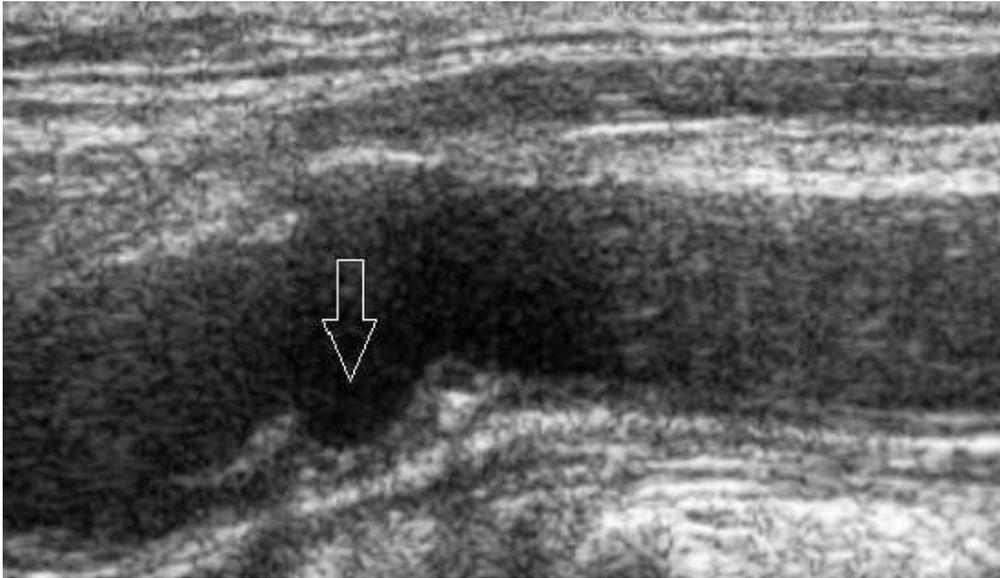
- maksymalnej prędkości skurczowej ( $V_{max}$  – *maximal velocity*),
- minimalnej prędkości końcowo-rozkurczowej ( $V_{min}$  – *minimal velocity*),
- prędkości średniej ( $V_{mean}$  – *mean velocity*) (ryc. 3).



Rycina 3. Spektrum dopplerowskie przepływu krwi w tętnicy mózgu środkowej prawej (MCA R): głębokość pomiaru 56 mm, moc 58%, objętość próbkowania 10 mm (SV),  $V_{mean}$  46 cm/s,  $V_{max}$  65 cm/s,  $V_{min}$  36 cm/s, kierunek przepływu do sondy; oraz tętnicy przedniej mózgu lewej (ACA L): głębokość pomiaru 70 mm, moc 58%, objętość próbkowania 10 mm (SV), prędkość średnia 33 cm/s, maksymalna 48 cm/s, minimalna 25 cm/s, kierunek przepływu od sondy: (wykonano w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, aparatem Viasys Companion III, sonda pulsacyjna 2 MHz)

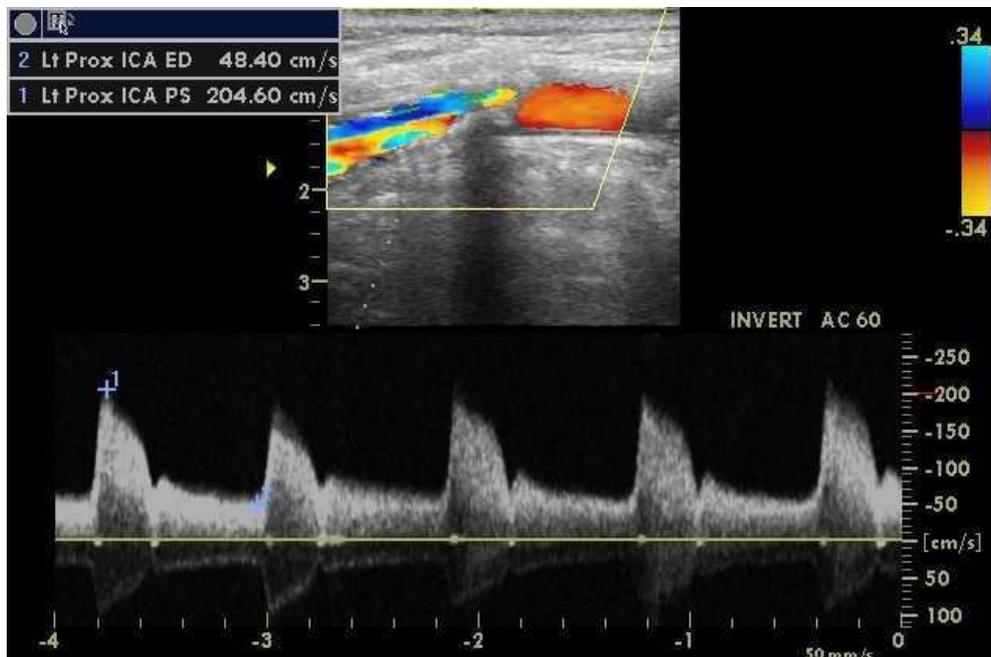
*Figure 3. Doppler spectrum of flow in right middle cerebral artery (MCA R): depth of insonation 56 mm, power 58%, sample volume (SV) 10 mm,  $V_{mean}$  46 cm/s,  $V_{max}$  65 cm/s,  $V_{min}$  36 cm/s, flow direction – toward the transducer; and of left anterior cerebral artery (ACA L): depth of insonation 70 mm, power 58%, sample volume (SV) 10 mm,  $V_{mean}$  33 cm/s,  $V_{max}$  48 cm/s,  $V_{min}$  25 cm/s, flow direction – backward from the transducer: (from Neurosonology Lab, Department of neurology, MUG, Viasys Companion III device, 2 MHz pulse wave transducer)*

Ultrasonografia z obrazowaniem dwuwymiarowym wykorzystuje efekt odbicia fali ultradźwiękowej od granic struktur anatomicznych o różnych właściwościach akustycznych. Stopień przenikania wiązki ultrasonograficznej widoczny jest w skali stopni szarości – stąd angielska nazwa *brightness mode (B-mode)* (ryc. 4). Dzięki tej metodzie możemy uwidocznić ściany i światło naczynia, natomiast nie widać przepływu krwi w jego obrębie. Dla zobrazowania przepływu w świetle naczynia wykorzystuje się ultrasonografię z kodowaniem przepływu w kolorze (*color coded doppler*). Kierunek i średnia prędkość przepływu krwi w naczyniu ukazane są z pomocą koloru (zwyczajowo kolor czerwony oznacza przepływ do sondy lub dogłowy, a niebieski przepływ od sondy lub odgłowy), a jasność barwy jest proporcjonalna do szybkości przepływu krwi. W praktyce najczęściej stosuje się jednocześnie obydwie omówione powyżej metody, otrzymując obraz dupleksowy (*doppler duplex*), w którym na obraz B-mode światła naczynia nałożony zostaje kolorowy obraz przepływu w jego świetle. Można wówczas, pod kontrolą wzroku, w danym miejscu naczynia umieścić bramkę pomiarową i za pomocą dopplera spektralnego zmierzyć precyzyjnie prędkość przepływu. Inną metodą obrazowania przepływu w świetle naczynia jest kodowanie według energii przepływającej krwi. Jest to tzw. doppler mocy (*power doppler*). Dzięki tej metodzie lepiej można wykryć wolne przepływy, np. przy ścianie naczynia. W nowoczesnych aparatach istnieje możliwość uzupełnienia obrazu przepływu uzyskanego tą techniką o kolorowe kodowanie kierunku przepływu (na tle obrazu naczynia w prezentacji *B-mode*) – wówczas określamy taki obraz jako USG tripleks (ryc. 5) [23, 124].



Rycina 4. Obraz w skali szarości owrzodzonej blaszki miażdżycowej (strzałka) w tętnicy szyjnej wewnętrznej (wykonano w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, aparatem *Technos ESAOTE*, sonda liniowa 10 MHz)

*Figure 4. B-mode picture of atheromatous plaque with ulceration (arrow) in internal carotid artery (from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG, Technos ESAOTE device, linear transducer 10 MHz)*

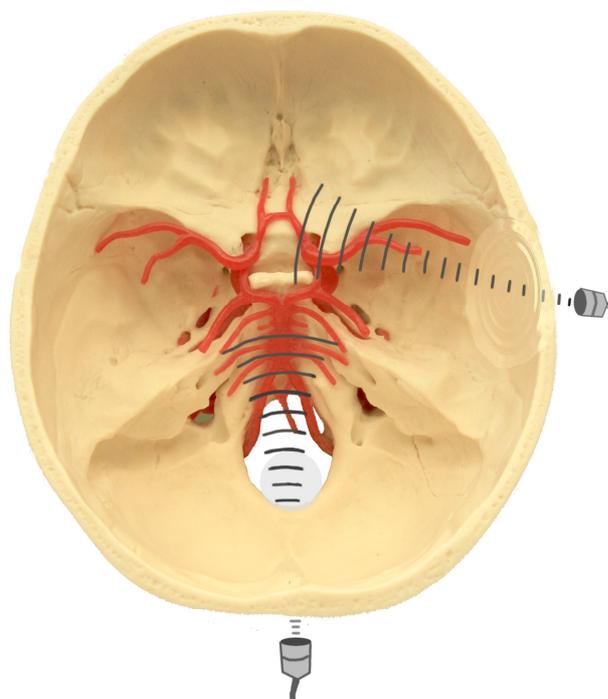


Rycina 5. Badanie USG tripleks hemodynamicznie istotnego zwężenia lewej tętnicy szyjnej wewnętrznej (ICA) (wykonano w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, aparatem *GE Vivid i*, sonda liniowa 8,4 MHz)

*Figure 5. Triplex ultrasound of a stenosis of left internal carotid artery (ICA) (from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG, GE Vivid i, linear transducer 8.4 MHz)*

Wszystkie opisane powyżej metody w zależności od potrzeb można stosować do badań tętnic zewnątrzczaszkowych lub wewnątrzczaszkowych. Rutynowo do oceny przepływów zewnątrzczaszkowych wykorzystywane są metody USG dupleks lub USG tripleks dające możliwość oceny drożności naczyń, pomiaru bezpośredniego stopnia zwężenia, uwidocznienia morfologii zmian miażdżycowych, jak i dokładnego wyznaczenia miejsca pomiaru prędkości w miejscu zwężenia (ryc. 5).

Podstawową metodą ultrasonograficznej oceny przepływów wewnątrzczaszkowych jest przezczaszkowa ultrasonografia dopplerowska (TCD) określana mianem tzw. „ślepego” dopplera. Badanie wykonuje się z dostępu skroniowego, przykładając sondę (2 MHz) do łuski kości skroniowej w okolicy przed-usznej (w tym miejscu łuska kości skroniowej jest cieńsza) oraz z dostępu podpotylicznego, przez otwór potyliczny wielki (ryc. 6). Rutynowo ocenia się prędkości przepływu w naczyniach koła Willisa, tj. w tętnicy środkowej, przedniej i tylnej mózgu oraz w szczycie tętnicy podstawnej (okno skroniowe), a także w tętnicach kręgowych w odcinku wewnątrzczaszkowym i w proksymalnym odcinku tętnicy podstawnej (okno podpotyliczne). Identyfikacji badanego naczynia dokonuje się na podstawie miejsca i kierunku przyłożenia sondy, głębokości pomiaru, kierunku przepływu krwi, kształtu spektrum dopplerowskiego oraz wykorzystania testów aktywacji (ryc. 3). Coraz częściej badanie naczyń mózgowych uzupełniane jest o możliwość ukazania przepływu w kolorze w obrębie otaczających naczynie struktur anatomicznych mózgowia zobrazowanych skali szarości z użyciem przezczaszkowej ultrasonografii dupleksowej (TCCD – *transcranial color-coded doppler*). Metoda ta jest badaniem dokładniejszym w porównaniu do metody „ślepego” dopplera, ponieważ uwidocznienie przebiegu naczynia pozwala dokładniej ocenić prędkość przepływu (możliwa jest korekcja kąta pomiaru w jednej płaszczyźnie) i jego kierunek [23, 124].



Rycina 6. „Okna kostne” rutynowo wykorzystywane w badaniu USG przezczaszkowym  
Figure 6. Acoustic “bone windows” used for transcranial insonation

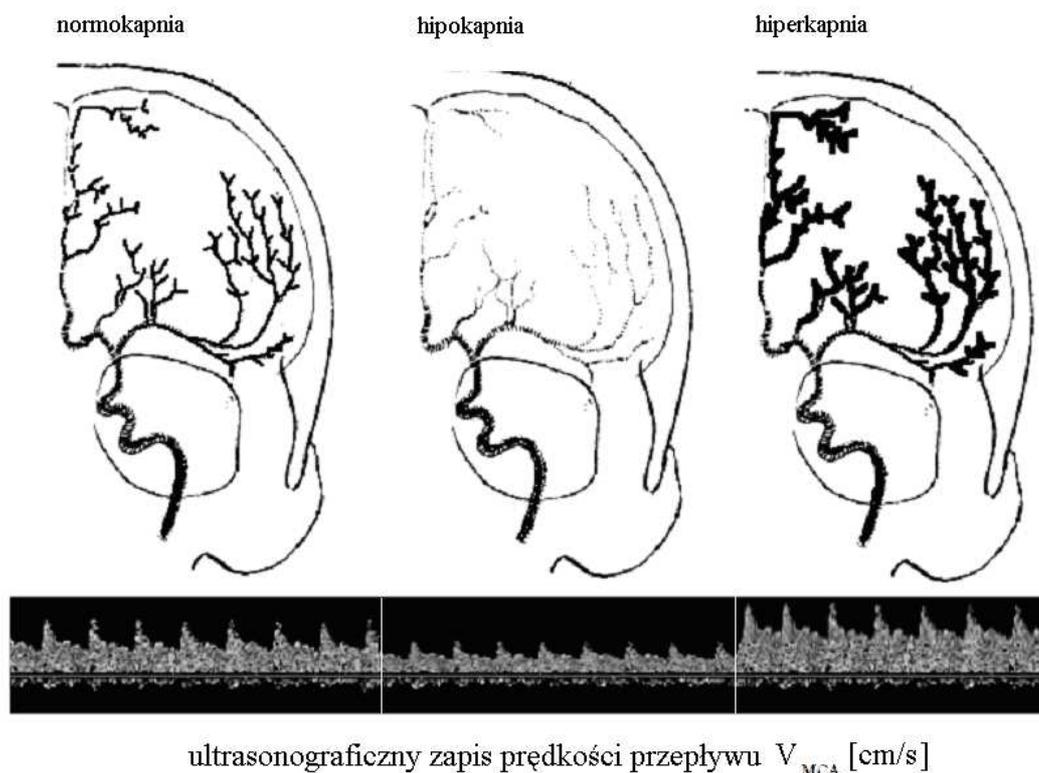
### 1.2.2. *Badanie USG mikrokrążenia mózgowego*

Charakterystyka fizyczna fali ultradźwiękowej niskich częstotliwości stosowanych w badaniach TCD powoduje, że rozdzielczość przestrzenna tej metody zazwyczaj nie przekracza 5 mm. Dlatego, zarówno diagnostyka z użyciem „ślepego” dopplera jak i przezczaszkowej ultrasonografii dupleksowej pozwala uzyskać tylko obraz i parametry przepływu dużych naczyń podstawy mózgu oraz ich głównych odgałęzień.

Z tego powodu ultrasonograficzna ewaluacja naczyń mikrokrążenia mózgowego ograniczona jest tylko do oceny czynnościowej, która przeprowadzana jest w sposób pośredni, poprzez analizę parametrów przepływu w dużych naczyniach zaopatrujących adekwatne obszary łożyska mikronaczyniowego. Jest to możliwe dzięki istnieniu fizjologicznej zależności pomiędzy prędkością przepływu w tętnicach mózgowia dużego kalibru i perfuzją w naczyniach mikrokrążenia (ryc. 7) [153]. Badany jest najczęściej proksymalny odcinek tętnicy mózgu środkowej (MCA – *middle cerebral artery*), ponieważ to naczynie przepływa około 80% objętości krwi półkuli mózgu.

Ultrasonograficznymi parametrami odzwierciedlającymi funkcję małych naczyń są:

- wskaźnik pulsacyjności Goslinga (PI – *pulsatility index*),
- wskaźnik oporności Pourcelota (RI – *resistance index*),
- reaktywność wazomotoryczna naczynia (VMR – *vasomotor reactivity*).



Rycina 7. Zależność prędkości przepływu w tętnicy mózgu środkowej ( $V_{MCA}$ ) od objętości krwi w obrębie łożyska mikronaczyniowego (wg. Kozera G., Nyka W.M.) [122]

Figure 7. Association between flow velocity in MCA ( $V_{MCA}$ ) and blood volume in cerebral microcirculation (by Kozera G., Nyka W.M.) [122]

Zarówno wskaźnik pulsacyjności jak i oporności są pochodnymi zmian prędkości przepływu krwi w naczyniu w trakcie cyklu pracy serca. Ich wartość oblicza się ze wzorów [142]:

$$PI = (V_{max} - V_{min.}) / V_{mean}$$

$$RI = (V_{max} - V_{min.}) / V_{max}$$

Obydwa indeksy, obliczane na podstawie różnicy prędkości przepływu krwi pomiędzy fazą skurczu i rozkurczu, pośrednio odzwierciedlają opór naczyniowy zależny od przekroju oraz elastyczności naczyń mikrokrążenia. Lepiej udokumentowana jest przydatność kliniczna oraz naukowa wskaźnika pulsacyjności. Jego wartość wzrasta z wiekiem i w obecności sercowo-naczyniowych czynników ryzyka, jest on także uznany za wykładnik objawowej mikroangiopatii naczyń mózgowych [115, 125, 140].

Najszerzej stosowaną metodą ultrasonograficznej oceny funkcji mikrokrążenia mózgowego jest pomiar VMR [3, 152, 201, 202, 218, 219]. Parametr ten ukazuje zmiany prędkości przepływu krwi w odcinkach proksymalnych tętnic koła Willisa wywołane oddziaływaniem substancji wazoaktywnych na naczynia mikrokrążenia. Regulacja przepływu mózgowego zachodzi głównie w naczyniach oporowych (drobnych tętniczkach i naczyniach przedwłosowatych) a zakres zmian zależy od ich wydolności skurczowej i rozkurczowej, dlatego pomiar VMR wykorzystywany jest do oceny sprawności mikrokrążenia mózgowego [1, 202, 229]. Związkiem najczęściej stosowanym w badaniach VMR jest dwutlenek węgla, który silnie wpływa wazodylatacyjnie na naczynia mikrokrążenia mózgowego i zwiększa przepływ w łożysku naczyniowym. Wpływ CO<sub>2</sub> na CBF wynika z:

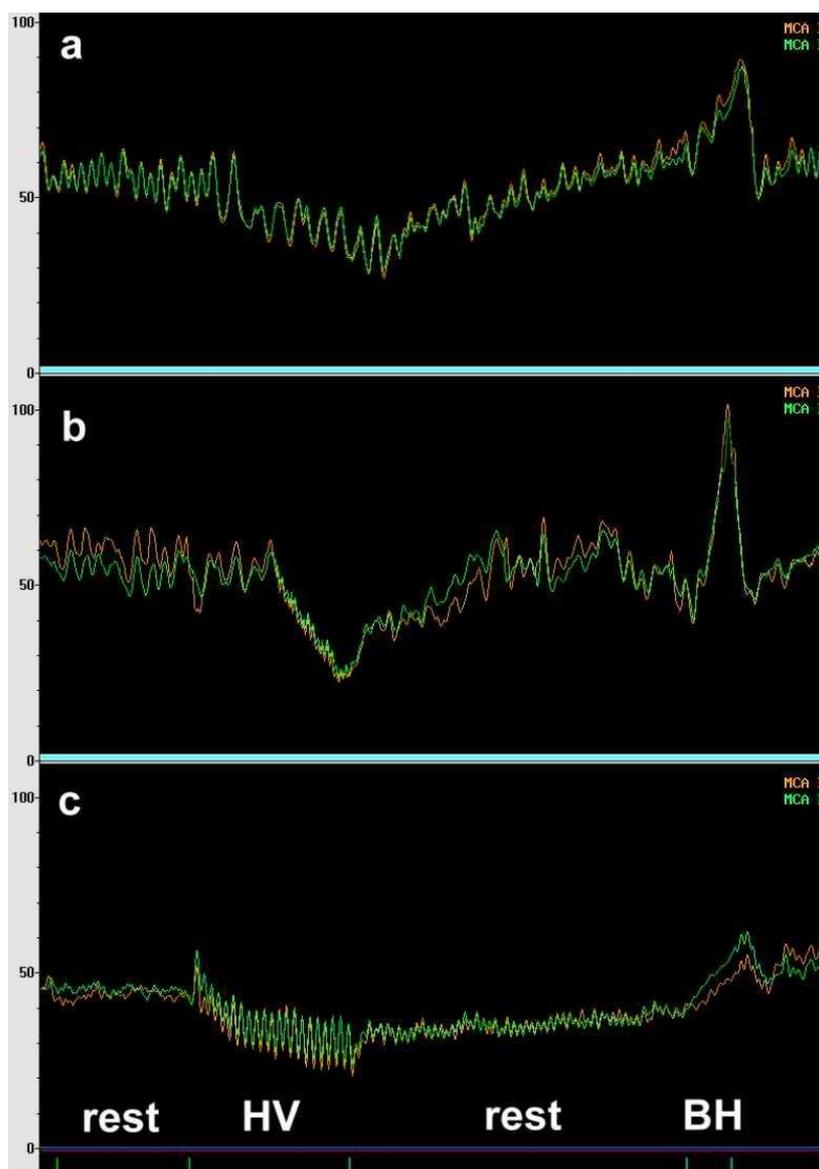
- mechanizmu neurogennego polegającego na zmianie aktywności współczulnej włókien unerwiających naczynia w skutek pobudzenia chemoreceptorów miejsca sinawego pnia mózgu przez CO<sub>2</sub>,
- mechanizmu metabolicznego powodującego rozkurcz naczynia wywołany hiperpolaryzacją błony miocytów pod wpływem CO<sub>2</sub>,
- aktywacji kory mózgowej za pośrednictwem układu limbicznego [248].

Ultrasonograficzny pomiar parametrów przepływu krwi w naczyniach koła Willisa pozwala wiernie odzwierciedlić wahania CBF wywołane zmianami pCO<sub>2</sub> w surowicy [153]. Do oceny VMR stosowane są różnorakie testy hiperkapnicze: test zatrzymania oddechu (*Breath Holding Test*), test z infuzją acetazolamidu, test z karbogenem (oddychanie mieszaniną 95% O<sub>2</sub> i 5% CO<sub>2</sub>), lub też oddech w obiegu zamkniętym (z użyciem tzw. „worka oddechowego”). W celu dodatkowej ewaluacji zmian przepływu w fazie wazokonstrykcji naczynia stosuje się testy hipokapniczne, np. test hiperwentylacji [2, 122].

Metodą komplementarną do badań z użyciem CO<sub>2</sub> jest test infuzji L-argininy. Substancja ta jest substratem dla eNOS, dlatego dożylna podaż L-argininy powoduje wzrost syntezy NO, co skutkuje zmianą napięcia miocytów i poszerzeniem łożyska naczyniowego mózgu. Pomiar zmienności przepływu mózgowego pod wpływem infuzji L-argininy umożliwia selektywną i bezpieczną ocenę VMR zależnej od funkcji śródbłonna, z pominięciem wpływu odruchów sercowo-naczyniowych [199, 268, 271].

Starszą techniką prowokacji VMR poprzez mechanizm śródbłonkowy jest infuzja nitrogliceryny (NTG). Liczne objawy uboczne ze strony układu sercowo naczyniowego powodujące uruchomienie mechanizmów wtórnej kompensacji, takich jak dynamiczna autoregulacja przepływu mózgowego, skutkują mniejszą, niż w przypadku infuzji L-argininy, specyficznością tego testu, [2, 53, 100, 199].

Parametrem liczbowym określającym zakres VMR jest tzw. rezerwa wazomotoryczna naczyń (VMRr – *vasomotor reactivity range*) ukazująca stosunek zmiany prędkości przepływu krwi podczas wykonywania testu do prędkości spoczynkowej. Zmieniona reaktywność wazomotoryczna jest ważnym wyznacznikiem zaburzeń funkcji mikrokrążenia mózgowego i liczne prace ukazują obniżenie VMRr u osób z mikroangiopatią mózgową (ryc. 8) [21, 125, 160, 182, 192].



Rycina 8. Zapis pomiaru VMRr na tętnicy mózgu środkowej (wg. Kozera G., Nyka W.M.) [122]

Figure 8. Measurement of VMRr in middle cerebral artery (by Kozera G., Nyka W.M.) [122]

- a) osoba zdrowa/healthy subject: VMRr = 82%
- b) chory z migreną/patient with migraine: VMRr = 96%
- c) chory z cukrzycą typu 1/patient with type 1 diabetes: VMRr = 63%

MCA L – lewa MCA/left MCA; MCA R – prawa MCA/right MCA; rest – spoczynek;

HV – hiperwentylacja/hyperventilation; BH – zatrzymanie oddechu/breath holding,

VMRr – wartość średnia dla obu stron pomiaru/average value for both sides

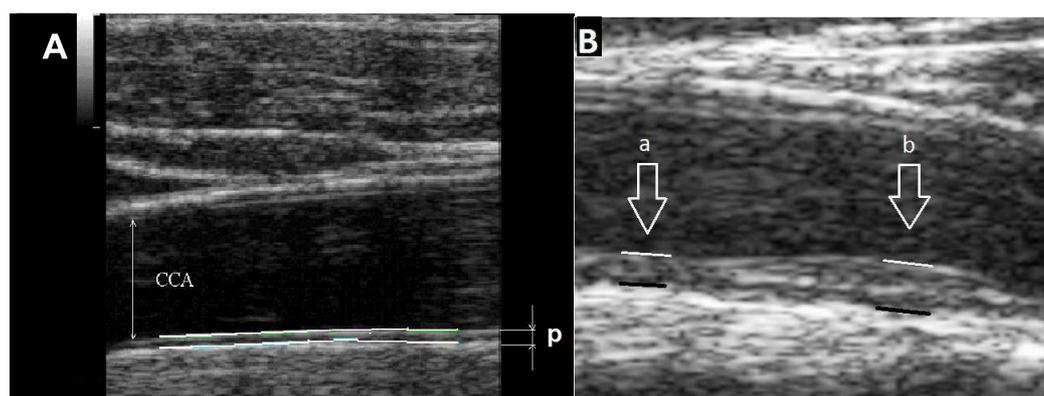
### 1.2.3. *Badanie USG makrokrążenia mózgowego*

Ultrasonografia zewnątrzczaszkowych odcinków tętnic szyjnych pozwala ocenić budowę ściany naczynia, w tym także umożliwić wykrycie i określenie stopnia nasilenia zmian miażdżycowych. Badanie USG umożliwia również diagnostykę rozwarstwienia ściany naczynia, procesów zapalnych i zakrzepowych oraz tętniaków i guzów okołonaczyniowych.

W badaniu USG oceniane są struktury anatomiczne ściany tętnicy – w szczególności warstwa wewnętrzna (*intima*) i środkowa (*media*) tworzące tzw. kompleks błona wewnętrzna-błona środkowa (IMC – *intima-media complex*). Grubość IMC obrazowana w skali szarości (IMT) uznawana jest za wykładnik zaawansowania wczesnego procesu miażdżycowego (ryc. 9) [113, 247].

W praktyce klinicznej badanie USG służy najczęściej do oceny zaawansowania procesu miażdżycowego w naczyniach domózgowych, w szczególności diagnostyce procesów miażdżycowych zaburzających napływ krwi do mózgu [124]. Obecnie dostępne ultrasonografy umożliwiają także dokładną ocenę struktury i przybliżoną ocenę składu blaszki miażdżycowej oraz wykrycie w jej obrębie krwawień i owrzodzeń na jej powierzchni. Dane te pozwalają określić stabilność blaszki, co wraz z oceną stopnia zwężenia naczynia stanowi podstawę do wstępnej kwalifikacji pacjentów do zabiegów udrożnienia tętnic szyjnych.

Pomiar stopnia zwężenia dokonywany jest przy użyciu USG dopplera. Metoda ta pozwala na skuteczną i czułą ocenę zakresu zmniejszenia światła naczynia. Zgodnie z zasadami hemodynamiki, w przypadku zwężenia  $\geq 50\%$  prędkość przepływu krwi w miejscu zwężenia wzrasta w sposób proporcjonalny do jego stopnia. Bezpośrednio za zwężeniem występują również zaburzenia kształtu spektrum dopplerowskiego oraz zmiana charakteru spektrum z linearnego na turbulentny. W związku z wystąpieniem zaburzeń przepływu zwężenie takie określa się mianem istotnego hemodynamicznie (ryc. 5).



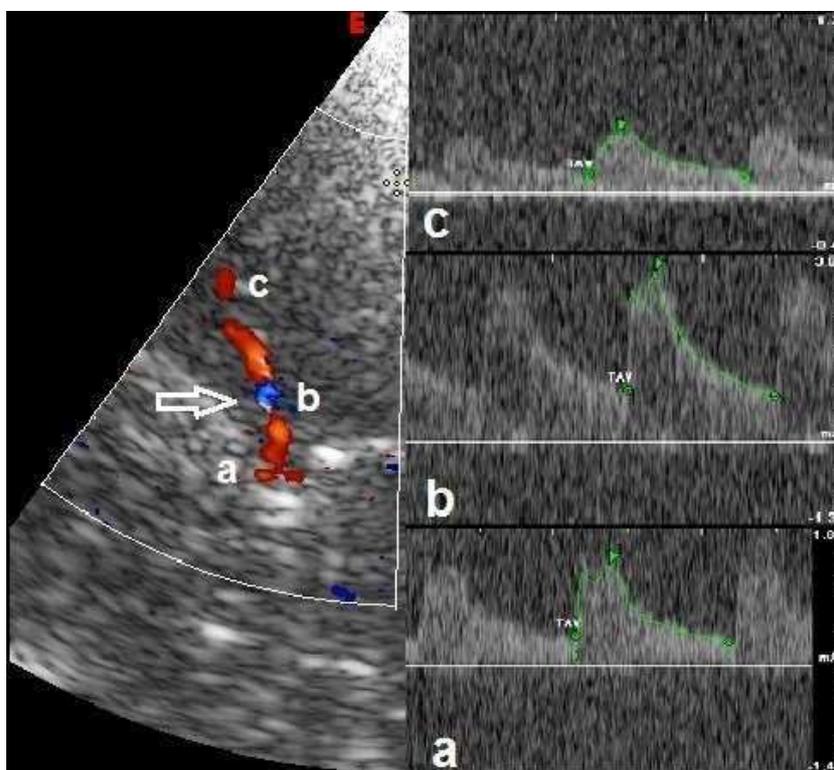
Rycina 9. Prawidłowy (p) i pogrubiały (a) IMT tętnicy szyjnej wspólnej (CCA) z widoczną blaszką miażdżycową (b) (wykonano w Zakładzie Fizjologii Klinicznej GUMed aparatem Aloka 4000 z zastosowaniem półautomatycznego programu do pomiaru IMT (A) oraz w Klinice Neurologii Dorosłych GUMed aparatem GE Vivid i (B))

*Figure 9 . Normal (p) and thickened (a) IMT in common carotid artery (CCA) with atherosclerotic plaque (b) (from Department of Clinical Physiology MUG, made with Aloka 4000 device with use of semi-automatic measurement (A) and from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG, made with Technos ESAOTE device(B))*

Techniki USG stosowane w diagnostyce dużych naczyń wewnątrzczaszkowych obejmują przezczaszkowe badanie dopplerowskie oraz przezczaszkową ultrasonografię dupleksową z kodowanym kolorem przepływem. TCD umożliwia pomiar prędkości i kierunku przepływu oraz ocenę charakterystyki spektrum dopplerowskiego, natomiast TCCD uzupełnia badanie o obraz przebiegu naczyń na podstawie mózgu, co pozwala na dokonanie pomiaru prędkości w oparciu o dokładniejszą korekcję kąta pomiaru.

W diagnostyce makroangiopatii mózgowej badania TCD i TCCD służą do:

- wykrywania niedrożności oraz zwężeń tętnic podstawy mózgu (ryc. 10),
- określania dróg oraz wydolności krążenia obocznego w przypadku zaburzeń przepływu w tętnicach domózgowych zewnątrzczaszkowych,
- monitorowania skuteczności leczenia trombolitycznego udaru mózgu oraz oceny rokowniczej stanu pacjenta w ostrej fazie udaru niedokrwienno mózgu [124].



Rycina 10. Zwężenie odcinka M1 MCA w obrazie TCCD: a) spektrum przepływu przed zwężeniem –  $V_{max}$  0,72 m/s, wzrost PI; b) spektrum przepływu w miejscu zwężenia – wzrost  $V_{max}$  do 1,52 m/s, widoczne zjawisko „aliasingu” (strzałka); c) spektrum przepływu za zwężeniem –  $V_{max}$  obniżona do 0,27 m/s, „stępienie” spektrum przepływu (wykonano w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, aparatem *Technos ESAOTE*, sonda sektorowa 2 MHz).

*Figure 10. TCCD image of a high grade stenosis of M1 segment of MCA: a) flow spectrum proximal to stenosis –  $V_{max}$  0.72 m/s, increased PI; b) flow spectrum in stenotic area – increased  $V_{max}$  up to 1.52 m/s, „aliasing” phenomenon (arrow); c) flow spectrum distal to stenosis –  $V_{max}$  decreased 0.27 m/s, blunted flow spectrum (from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG, *Technos ESAOTE* device, array transducer 2 MHz)*

### 1.3. Zaburzenia autoregulacji przepływu mózgowego w cukrzycy

Dotychczasowe badania prowadzone u pacjentów z cukrzycą typu 1 wskazują na występowanie upośledzenia rezerwy wazomotorycznej w tej grupie chorych, w szczególności u osób z dłuższym czasem trwania choroby lub też obecnością dodatkowych systemowych powikłań mikroangiopatycznych, takich jak retinopatia i nefropatia cukrzycowa [76, 111, 126, 227]. Badania te, wykonywane z użyciem metod prowokacji wykorzystujących wahania prężności dwutlenku węgla w surowicy podczas zatrzymania oddechu i hiperwentylacji lub infuzji acetazolamidu, przy swej dużej czułości obciążone są jednak mniejszą specyficnością. Wynika to z faktu, że zastosowanie testów hiper- i hipokapnicznych uniemożliwia specyficzną ocenę funkcji śródbłonna naczyń mózgowia w skutek możliwości istnienia dodatkowego, negatywnego wpływu neuropatii autonomicznej na reaktywność naczyń mikrokrążenia mózgowego [18, 150].

Pomimo że doniesienia literaturowe ukazują bezpieczne i pozbawione istotnych efektów ubocznych zastosowanie infuzji L-argininy jako efektywnej metody selektywnej oceny funkcji naczynio-rozkurczowej śródbłonna naczyń mózgowych u pacjentów z czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego oraz manifestacją kliniczną choroby małych naczyń, jak do tej pory nie opublikowano badań nad zastosowaniem tej metody do pomiaru VMR u chorych na cukrzycę [25, 189, 269, 271]. Przesłanki teoretyczne, jak i liczne dane z piśmiennictwa ukazujące zależności pomiędzy dysfunkcją śródbłonna a występowaniem systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy wskazują, że użycie tej unikalnej metody czynnościowej oceny mikrokrążenia mózgowego może poszerzyć obecny stan wiedzy na temat mechanizmów rozwoju mikroangiopatii mózgowej u pacjentów z cukrzycą [29, 58, 82, 149, 165, 173, 197, 253, 266, 267].

Dane literaturowe na temat zależności pomiędzy funkcją mikrokrążenia mózgowego a zaawansowaniem makroangiopatii cukrzycowej są również skąpe. Dotychczasowe badania, oparte na ocenie reaktywności wazomotorycznej naczyń mózgowych z użyciem testów hiperkapnicznych, nie wykazały związku pomiędzy nasileniem mikroangiopatii mózgowej charakteryzowanej wartością VMR tętnicy mózgu środkowej a progresją makroangiopatii charakteryzowanej grubością kompleksu błona wewnętrzna – błona środkowa tętnicy szyjnej wspólnej [126, 227, 254]. Obecność odwrotnej korelacji pomiędzy IMT a upośledzeniem VMR ocenianej przy pomocy testu infuzji L-argininy u pacjentów z hiperlipidemią wskazuje na potencjalną możliwość istnienia takiego związku również u chorych na cukrzycę [190].

Pomimo faktu, że palenie tytoniu jest istotnym czynnikiem rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej, jak dotąd nie opublikowano wyników badań nad wpływem tego istotnego czynnika ryzyka na rozwój mikroangiopatii mózgowej u pacjentów z cukrzycą [76, 111, 126, 227, 254]. Dotychczasowe doniesienia literaturowe oceniające zaburzenia reaktywności naczyń mózgowych w przebiegu cukrzycy nie przynoszą również informacji na temat wpływu markerów procesu zapalnego oraz parametrów reologicznych krwi na rozwój mikroangiopatii mózgowej, pomimo ich udowodnionego negatywnego wpływu na strukturę i funkcję naczyń [76, 111, 126, 227, 254].

Proces zmian funkcjonowania mikrokrążenia mózgowego w czasie u chorych na cukrzycę także nie był dotychczas monitorowany. Pomimo że informacje na ten temat mogą być istotnym kryterium oceny czynników rozwoju jak i metod profilaktyki powikłań mózgowo-naczyniowych u chorych z cukrzycą, jak do tej pory brak jest informacji na temat prospektywnej oceny VMR u chorych z cukrzycą, a jedyne dostępne doniesie-

nie ukazuje tylko krótkotrwałe monitorowanie zmienności VMR w czasie u osób zdrowych [216].

Również wpływ cukrzycy na obniżenie elastyczności naczyń mózgowia wyrażany wzrostem wskaźnika pulsacyjności nie został jednoznacznie określony. Nieliczne publikacje ukazują wprawdzie wzrost PI u pacjentów z cukrzycą typu 2, jednakże efekt ten nie został dotychczas dokładnie udokumentowany u pacjentów z cukrzycą typu 1 [126, 139, 140].

## 2. CELE PRACY

Zasadniczym celem pracy jest ocena mechanizmów reaktywności przepływu mózgowego zależnych od funkcji śródbłonna u chorych na cukrzycę typu 1. Dodatkowym celem niniejszego opracowania jest zbadanie zależności pomiędzy obrazem klinicznym cukrzycy a reaktywnością mikrokrążenia mózgowego.

W tym celu zaplanowano przeprowadzenie:

- pomiaru wartości rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z zastosowaniem testu infuzji L-argininy w grupie chorych na cukrzycę typu 1 i w grupie kontrolnej,
- oceny zależności pomiędzy parametrami rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej a:
  - czasem trwania, wyrównaniem biochemicznym i występowaniem powikłań cukrzycy, w szczególności obecnością systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy, pod postacią nefropatii, retinopatii i neuropatii cukrzycowej;
  - stopniem zaawansowania poza-mózgowych powikłań makroangiopatycznych cukrzycy wyrażonym grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa;
  - obecnością klasycznych oraz tzw. „nowych” czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych;
  - reaktywności naczyń mózgowych mierzoną z użyciem metod prowokacji fizjologicznej;
  - elastycznością naczyń mózgowych wyrażoną wartością wskaźnika pulsacyjności przepływu w tętnicy mózgu środkowej;
- oceny zmienności parametrów rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej mierzonej z pomocą testów prowokacji fizjologicznej w okresie 5 letniej obserwacji u chorych na cukrzycę typu 1 i w grupie kontrolnej.

### 3. MATERIAŁ I METODY

Badanie przeprowadzono w okresie kwiecień 2009 – maj 2011 w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed) oraz w Zakładzie Fizjologii Klinicznej GUMed. Badaniem objęto 97 ochotników: 60 pacjentów z cukrzycą typu 1 (grupa badana) oraz 37 osób bez cukrzycy typu 1 (grupa kontrolna).

Chorych z cukrzycą rekrutowano spośród pacjentów pozostających pod długoterminową opieką Regionalnego Centrum Diabetologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego (UCK) w Gdańsku, we współpracy z lekarzem odpowiedzialnym z ich stałe leczenie. Ochotników do grupy kontrolnej rekrutowano spośród pracowników Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku oraz ich rodzin.

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 2009 r. oraz NKEBN/335–60/2009 z dnia 2 III 2009 r.).

Protokół badawczy był kontynuacją pracy doktorskiej autora realizowanej w okresie od 2004 do 2008 r. w Klinice Neurologii Dorosłych oraz Zakładzie Fizjologii Klinicznej GUMed, mającej na celu ocenę reaktywności naczyń mózgowych u osób z cukrzycą typu 1 za pomocą przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej oraz testów hiperkapnicznych. Dlatego do ponownego wzięcia udziału w badaniach zaproszono osoby uczestniczące w uprzednio realizowanym projekcie. W grupie chorych na cukrzycę było to 51 (85%) chorych, a w grupie kontrolnej 18 (48,6%) ochotników.

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.

Z badania wykluczono osoby:

- z brakiem „okna kostnego” skroniowego umożliwiającego badanie TCD,
- obciążone niewydolnością nerek,
- obciążone przewlekłymi chorobami układu oddechowego lub arytmia,
- z objawami zaburzeń krążenia mózgowego w wywiadzie, lub/i ogniskowymi uszkodzenia OUN stwierdzonymi badaniem neurologicznym,
- po przebytych urazie czaszkowo-mózgowym,
- obciążone migrenowymi bólami głowy,
- z klinicznymi objawami infekcji,
- kobiety w ciąży,
- osoby nadużywające alkoholu.

Dodatkowo w grupie chorych na cukrzycę wykluczono osoby:

- z kwasicy metaboliczną,
  - z incydem „ciężkiej” hipoglikemii w okresie do 30 dni przed badaniem,
- a w grupie kontrolnej z analizy wyłączono osoby:
- obciążone nadciśnieniem tętniczym lub zespołem metabolicznym,
  - stosujące leki hipolipemizujące,
  - ze zwiększonym wydalaniem albuminy w moczu (wskaźnik albumina/kreatynina  $>30 \mu\text{g}$  albuminy/mg kreatyniny).

### 3.1. Protokół badania

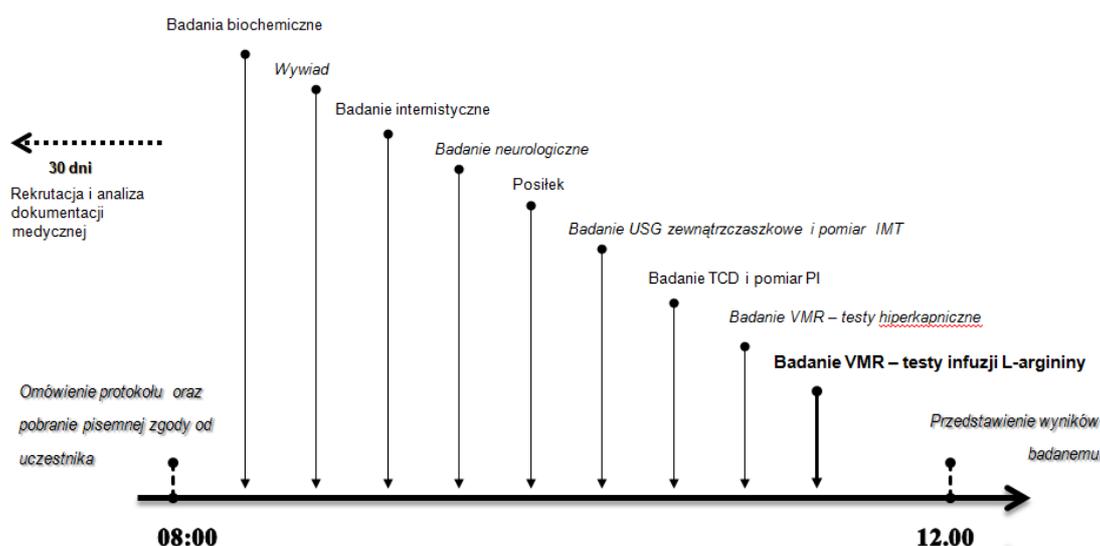
Do badania włączono tylko te osoby, które po zapoznaniu się z jego protokołem wyraziły pisemną zgodę na uczestnictwo w proponowanych testach. Całość badań opisanych w protokole była realizowana w ciągu jednego dnia. Badania wykonywano w stałej porze dnia (w godzinach 8.00–12.00), w dedykowanym, wyciszonym pomieszczeniu o stabilnej temperaturze i oświetleniu. Uczestnicy proszeni byli o przybycie na czczo, powstrzymanie się od picia kawy i palenia papierosów w dniu badania oraz unikanie deprywacji snu w okresie poprzedzającym.

Protokół badania obejmował:

- pobranie materiału do badań laboratoryjnych,
- badanie podmiotowe – wywiad na temat obciążeń chorobowych i nałogów, przeprowadzony w oparciu o standaryzowany formularz,
- badanie fizykalne, pomiar parametrów antropometrycznych oraz ciśnienia tętniczego krwi i akcji serca,
- standardowy posiłek,
- przedmiotowe badanie neurologiczne,
- badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych i kręgowych w odcinku zewnątrzczaszkowym z pomiarem IMT,
- badanie TCD naczyń koła Willisa oraz tętnicy podstawnej i tętnic kręgowych w odcinku wewnątrzczaszkowym z pomiarem PI w obu MCA,
- pomiar VMR tętnicy mózgu środkowej z użyciem testu infuzji L-argininy oraz testów hiperkapnicznych,
- przedstawienie osobie badanej uzyskanych wyników i ich interpretacji.

Ponad to protokół badania osób z cukrzycą uwzględniał:

- wywiad na temat przebiegu cukrzycy i jej powikłań przeprowadzony w oparciu o standaryzowany formularz uzupełniony analizą dokumentacji medycznej chorego (ryc. 11).



Rycina 11. Protokół badawczy  
Figure 11. Research protocol

### 3.1.1. *Badanie podmiotowe i przedmiotowe*

Badanie podmiotowe przeprowadzano w oparciu o dedykowany formularz ankiety (Aneks). W jego trakcie uzyskano informacje na temat obecnych, jak i uprzednio istniejących obciążeń chorobowych, ich przebiegu (w tym czasu trwania, wyrównania i występowania powikłań cukrzycy), przebytych urazów, przyjmowanych leków (w tym dobowego zapotrzebowania na insulinę) oraz nałogów i trybu życia. U chorych na cukrzycę wywiad był poprzedzony analizą dokumentacji medycznej pacjentów z Regionalnego Centrum Diabetologicznego UCK w Gdańsku wykonanej w porozumieniu z lekarzem prowadzącym. Dane na temat obciążeń chorobowych uzyskane w trakcie badania podmiotowego zostały dodatkowo zweryfikowane w oparciu o wyniki badań biochemicznych.

Podczas badania przedmiotowego obejmującego standardowe badanie internistyczne oceniano parametry antropometryczne takie jak wzrost i masa ciała oraz obwód pasa, spoczynkowe wartości ciśnienia tętniczego krwi oraz akcji serca (pomiar aparatem automatycznym OMRON 711 *Matsusaka Co. Ltd.* Japonia). W celu wykluczenia objawów ogniskowego uszkodzenia OUN oraz szczegółowej oceny obwodowego układu nerwowego wszyscy uczestnicy poddani zostali badaniu neurologicznemu.

### 3.1.2. *Badania biochemiczne*

Parametry laboratoryjne oznaczane u uczestników badania w Akademickim Centrum Medycyny Laboratoryjnej UCK obejmowały: morfologię krwi obwodowej (poziom hemoglobiny, hematokryt), odczyn Biernackiego (OB), białko C-reaktywne, poziom kreatyniny, kwasu moczowego, fibrynogenu i albuminy w surowicy krwi oraz parametry lipidogramu (cholesterol całkowity, LDL, HDL, trójglicerydy), jak i wydalanie kreatyniny, białka całkowitego i albuminy z moczem.

Ponadto w obydwu badanych grupach oznaczone zostały stężenia angiogeniny i ADMA w surowicy krwi. Poziom angiogeniny był oznaczany metodą immunoenzymatyczną (SANDWICH) z użyciem testów Quantikine Human Angiogenin Immunoassay (*R&D Systems, Inc.; Minneapolis, USA*), a poziom ADMA metodą immunoenzymatyczną (ELISA) z użyciem testów ADMA–ELISA kit (*DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Niemcy*) Obydwa testy przeprowadzono w laboratorium Katedry Żywienia Klinicznego GUMed.

Dodatkowo, w celu wykluczenia ewentualnej obecności kwasicy metabolicznej, u każdego pacjenta z cukrzycą przed rozpoczęciem testów oznaczano stężenie ciał ketonowych w moczu, przy pomocy testów paskowych (*Ketostix Reagent Strips /Ketone/ firmy Bayer, Niemcy*).

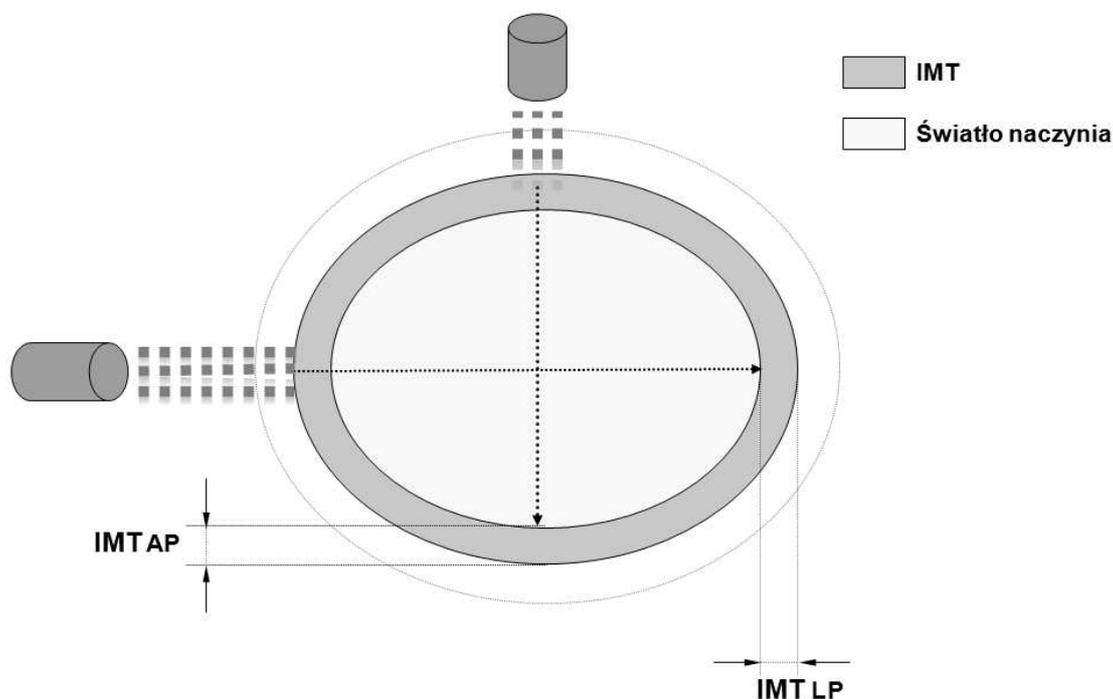
W przypadku podejrzenia hipoglikemii poziom glukozy w surowicy krwi oznaczano glukometrem *Contour® TS* firmy *Bayer* z użyciem pasków testowych *Contour® TS*.

### 3.1.3. *Badanie USG zewnątrzczaszkowe oraz pomiar grubości kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa*

Wszystkie badania zostały wykonane przez autora pracy z użyciem ultrasonografu Vivid i (GE Healthcare, USA) z sondą liniową o 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 naczyń. Badanie przeprowadzano w pozycji leżącej z głową w osi ciała po okresie 10 min spoczynku.

Ultrasonograficzna ocena przepływu w tętnicach zewnątrzczaszkowych obejmowała obustronne, badanie tętnicy szyjnej wspólnej, tętnicy szyjnej wewnętrznej i zewnętrznej oraz tętnic kręgowych metodą USG duplex, w oparciu o standardy badania Sekcji Neurologii Polskiego Towarzystwa Neurologicznego.

Badania grubości kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa wykonywano z użyciem sekwencji B-mode, zgodnie z zaleceniami Międzynarodowego Komitetu Ekspertów (Manheim Carotid Intima-Media Thickness Consensus) [246, 247]. IMT mierzono w obu tętnicach szyjnych wspólnych w odległości 1–3 cm od opuszki, w każdym naczyniu w projekcji przednio-tylnej oraz boczno-tylnej (ryc. 12). W trakcie badania dążono też 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 odcinka minimum 1 cm (minimum 100 punktów pomiarowych).



Rycina 12. Zasada wyznaczania IMT przyjęta w badaniu: IMT AP – grubość w projekcji przednio-tylnej, IMT PL – grubość IM w projekcji boczno-tylnej

Figure. 12. IMT measurement: IMT AP – antero-posterior diameter, IMT LP – latero-posterior diameter

Pomiar IMT wykonywano metodą półautomatyczną, z użyciem dedykowanego, oryginalnego oprogramowania będącego na wyposażeniu aparatu, w sposób zsynchronizowany z zapisem elektrokardiogramu (załamkiem R) (ryc. 13). Za ostateczną wartość IMT przyjęto wynik uśredniony dla wszystkich 4 pomiarów (w obu tętnicach szyjnych wspólnych w 2 projekcjach: przednio-tylnej oraz boczno-tylnej).

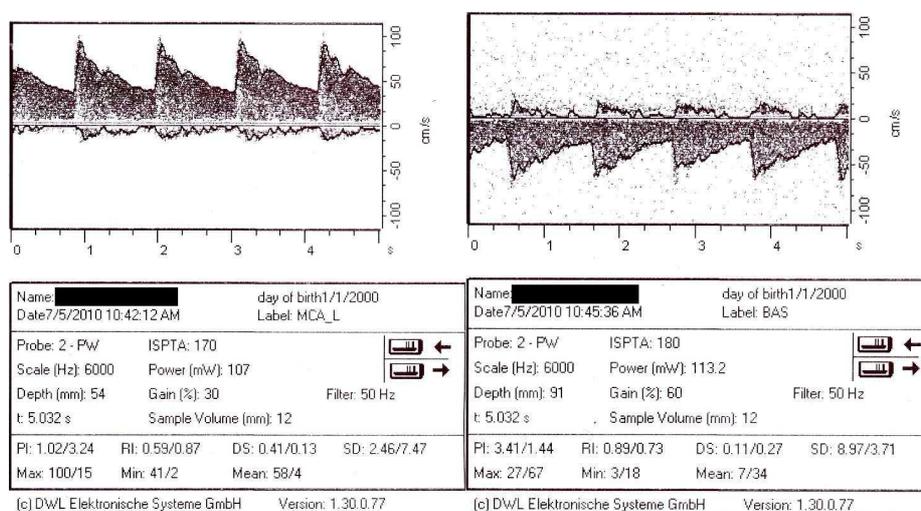


Rycina 13. Okno robocze oprogramowania aparatu Vivid i (GE Healthcare, USA) – półautomatyczne wyznaczenie wartości średniej IMT dla ściany tylnej tętnicy szyjnej wspólnej: d – długość okna pomiarowego (1,37 cm), P Avg – średnia IMT 0,051 cm, IMT P Max – maksymalne IMT 0,072 cm, IMT P Min – minimalne 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)

Figure 13. 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/minute) (from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG with linear transducer with average frequency 6.3 MHz)

### 3.1.4. *Badanie USG przezczaszkowe tętnicy mózgu środkowej*

Badania USG przezczaszkowe były wykonane przez autora pracy, metodą dopplera spektralnego (tzw. „ślepego” Dopplera) zgodnie z zaleceniami Sekcji Neurosonologii Polskiego Towarzystwa Neurologicznego. Ocena przepływów wewnątrzczaszkowych prowadzono przy użyciu przepływomierza dopplerowskiego Multi Dop T2 (*DWL Elektronische Systeme, Singen, Niemcy*) wyposażonego w diagnostyczną sondę z falą pulsacyjną 2 MHz. Pomiary wykonywano w spoczynku, w pozycji leżącej po uprzednim przeprowadzeniu diagnostyki ultrasonograficznej naczyń zewnątrzczaszkowych. Obustronnie oceniano przepływ w tętnicy mózgu środkowej, przedniej i tylnej (insonacja przez okno kostne skroniowe) oraz w wewnątrzczaszkowych odcinkach tętnic kręgowych i w tętnicy podstawnej (insonacja przez okno kostne podpotyliczne) (ryc. 12). Badano kierunek i prędkości przepływu krwi ( $V_{max}$ ,  $V_{min}$ ,  $V_{mean}$ ) oraz kształt spektrum przepływu. Pomiar parametrów przepływu następował po uzyskaniu wyraźnego i stabilnego widma prędkości przepływu z obwiednią obejmującą całe widmo (średnia z 5 sekund pomiaru) umożliwiającego automatyczny pomiar prędkości przez dedykowane oprogramowanie fabryczne aparatu (program *DWL 2000, v.1.3, DWL Elektronische Systeme, Singen, Niemcy*). Rejestracja i automatyczny pomiar wskaźnika pulsacyjności tętnicy mózgu środkowej również wykonywane były przez oprogramowanie będące na wyposażeniu przepływomierza. Wyniki archiwizowano w pamięci stałej ultrasonografu oraz w formie wydruków raportów aparatu (ryc. 14).



Rycina 14. Raport badania dopplerowskiego tętnicy mózgu środkowej prawej (MCA\_R): głębokość pomiaru 56 mm, prędkość średnia 62 cm/s, kierunek przepływu do sondy, rejestracja 5 s, indeks pulsacyjności (PI) 0,85; indeks oporności (RI) 0,55; oraz tętnicy podstawnej (BAS): głębokość pomiaru 93 mm, prędkość średnia 37 cm/s, kierunek przepływu od sondy, rejestracja 5 s, PI 0,86; RI 0,95 (wykonano w Pracowni Ultrasonografii Dopplerowskiej Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, aparatem Multi Dop T2 DWL, sonda z falą pulsacyjną 2 MHz).

Figure 14. Report of TCD measurement of right MCA (MCA\_R): depth of insonation 56 mm,  $V_{mean}$  62 cm/s, flow direction toward the transducer, time of measurement 5 s, PI – pulsatility index (PI) 0.85; resistance index (RI) 0.55 and of basilar artery (BAS): depth of insonation 93 mm,  $V_{mean}$  37 cm/s, flow direction away from the transducer, time of measurement 5 s, PI – pulsatility index (PI) 0.86; resistance index (RI) 0.95 (from Ultrasound Lab, Neurology Department MUG, Multi Dop T2 DWL device with 2 MHz PW transducer)

Zmiennymi stanowiącymi przedmiot dalszych analiz statystycznych były parametry przepływu zmierzone w odcinku proksymalnym (M1) tętnicy mózgu środkowej, ponieważ przez to naczynie przepływa największa objętość krwi półkuli mózgu. W celu wyeliminowania potencjalnego wpływu asymetrii półkulowej na prędkości przepływu w tętnicy mózgu środkowej, w obliczeniach wykorzystywano średnią arytmetyczną prędkości oraz wskaźników pulsacyjności obu tętnic mózgu środkowych [16, 215].

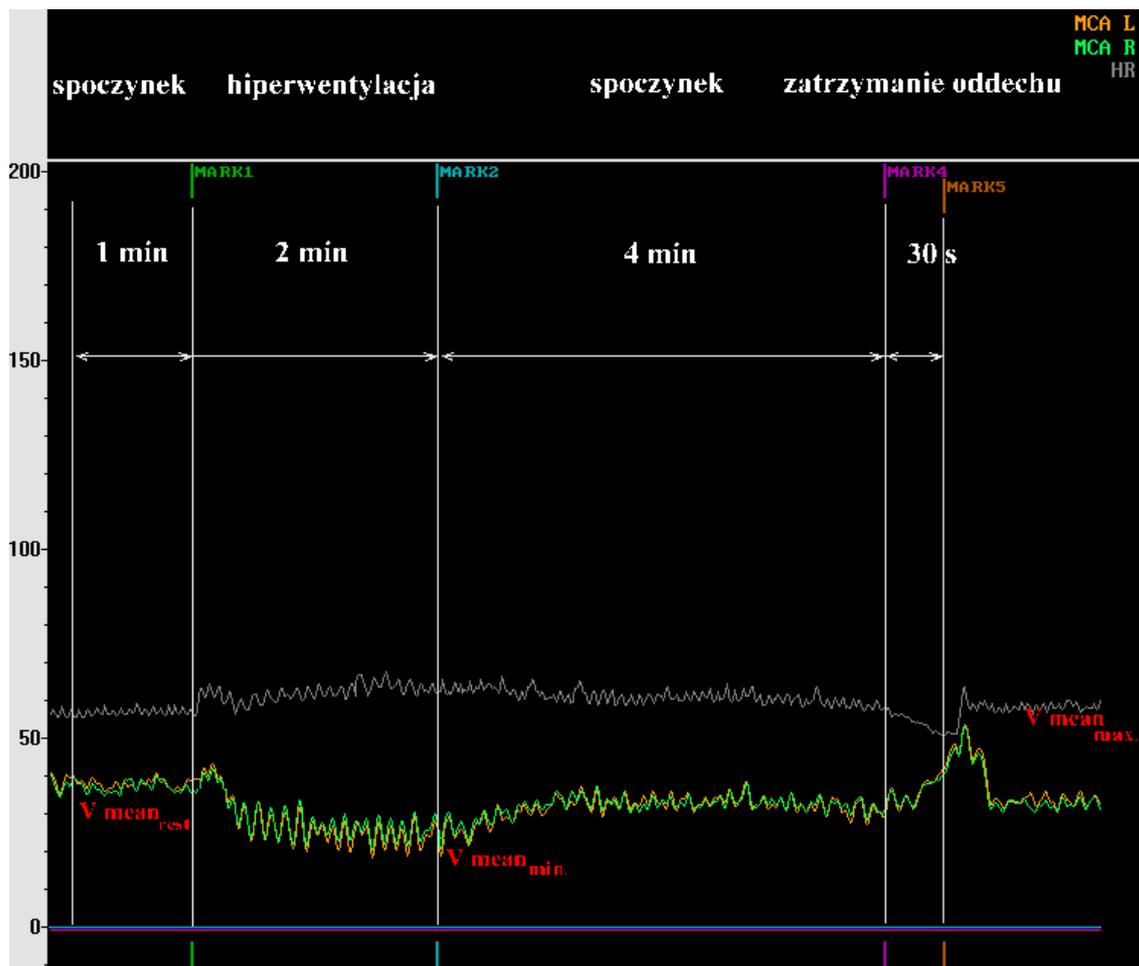
### 3.1.5. *Badanie reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z zastosowaniem metod prowokacji fizjologicznej*

Pomiar rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej wykonywano przy pomocy dwukanałowego przepływomierza dopplerowskiego Multi Dop T2, wyposażonego w sondy monitorujące 2 MHz i hełm mocujący głowice (*DWL Elektronische Systeme, Singen, Niemcy*). Ocena VMR przeprowadzana była w pozycji leżącej, 10 minut po zakończeniu wstępnej diagnostyki ultrasonograficznej naczyń zewnątrz- i wewnątrzczaszkowych. Rejestrację prędkości przepływu rozpoczynano po uzyskaniu wyraźnego widma prędkości przepływu w tętnicy środkowej mózgu, umożliwiające automatyczny pomiar parametrów (stała objętość próbkowania 10 mm). Rejestracji przepływu dokonano przy pomocy oprogramowania monitorującego MF Flow wersja 8,27 L (*DWL Elektronische Systeme, Singen, Niemcy*) umożliwiające dwukanałowy zapis oraz późniejszą analizę danych w trybie *off-line*.

W pierwszym etapie pomiaru VMR zastosowano techniki fizjologicznej prowokacji reaktywności naczyń mózgowych polegające na wywołaniu wahań  $p\text{CO}_2$ . W celu uzyskania hipokapnii stosowano test hiperwentylacji przez okres 2 minut a wywołaniu hiperkapnii służył test zatrzymania oddechu przez okres 30 sekund (*breath holding test*) [152, 202, 218]. Zgodnie ze standardami przytaczanymi w piśmiennictwie testy oddechowe wykonywano kolejno po sobie, w odstępie 4 minut niezbędnych do normalizacji parametrów przepływu [218]. W trakcie pomiaru monitorowano wartości stężenia  $\text{CO}_2$  w powietrzu wydechowym (*Et CO}\_2* – *end-tidal CO}\_2*), w strumieniu bocznym (czujnik donosowy) za pomocą kapnografu (*Datex Normocap, Helsinki, Finlandia*). W trakcie testu monitorowano wartości ciśnienia tętniczego krwi i akcji serca metodą ciągłą (*Finapres*) oraz zapis elektrokardiogramu. Uzyskane parametry układu oddechowego i układu krążenia zapisywano w karcie pacjenta oraz w systemie (*Power Lab Data Acquisition System, ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA*).

Minimalną wartość prędkości średniej przepływu ( $V_{\text{mean}_{\text{min}}}$ ) obliczano jako średnią z pomiaru prędkości w trakcie 3 ostatnich cykli oddechowych hiperwentylacji. Maksymalną wartość prędkości średniej przepływu ( $V_{\text{mean}_{\text{max}}}$ ) mierzono po zakończeniu zatrzymania oddechu, w okresie minimum 4 sekund o największej prędkości przepływu (pełne cykle pracy serca). Spoczynkową prędkość średnią ( $V_{\text{mean}_{\text{rest}}}$ ) mierzono dla okresu 1 minutowej rejestracji przed rozpoczęciem testów oddechowych (ryc. 15). Analizy zapisu i pomiaru prędkości dokonywano metodą manualną (*off-line*), po zakończeniu testu. Wynik pomiaru uśredniano dla obu tętnic mózgu środkowych. Wartość rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej wyznaczono na podstawie wzoru [122]:

$$\text{VMRr} = ((V_{\text{mean}_{\text{max}}} - V_{\text{mean}_{\text{min}}}) / V_{\text{mean}_{\text{rest}}}) \times 100\%$$



Rycina 15. Raport zbiorczy rejestracji prędkości przepływu w tętnicach mózgu środkowych w trakcie pomiaru VMRr z użyciem testów prowokacji fizjologicznej testów hiperwentylacji i zatrzymania oddechu (wykonano w Pracowni Ultrasonografii Dopplerowskiej Kliniki Neurologii Dorosłych GUMeD, aparat MultiDop T2 DWL, program MF Flow ver. 8,27L) MCA L – lewa tętnica mózgu środkowa, MCA R – prawa tętnica mózgu środkowa, HR – akcja serca,  $V_{mean_{rest}}$  – spoczynkowa prędkość średnia,  $V_{mean_{min}}$  – minimalna prędkość średnia,  $V_{mean_{max}}$  – maksymalna prędkość średnia

Figure 15. Report from velocity measurement in middle cerebral arteries during VMRr testing with use of hyper- and hypocapnic test (hyperventilation and Breath Holding test)(from Ultrasound Lab, Neurology Department, MUG, MultiDop T2 DWL device, program MF Flow ver. 8.27L) MCA L – left middle cerebral artery, MCA R right middle cerebral artery, HR – heart rate,  $V_{mean_{rest}}$  – mean flow velocity at rest,  $V_{mean_{min}}$  – minimal mean flow velocity,  $V_{mean_{max}}$  – maximal mean flow velocity

### 3.1.6. *Badanie reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z zastosowaniem testu infuzji L-argininy*

Infuzja L-argininy, aminokwasu uczestniczącego w procesie endogennej syntezy tlenu azotu, powoduje czasowe rozszerzenie naczyń mikrokrążenia. Efekt ten umożliwia selektywny pomiar reaktywności wazomotorycznej zależnej od funkcji śródbłonna [189–191, 271].

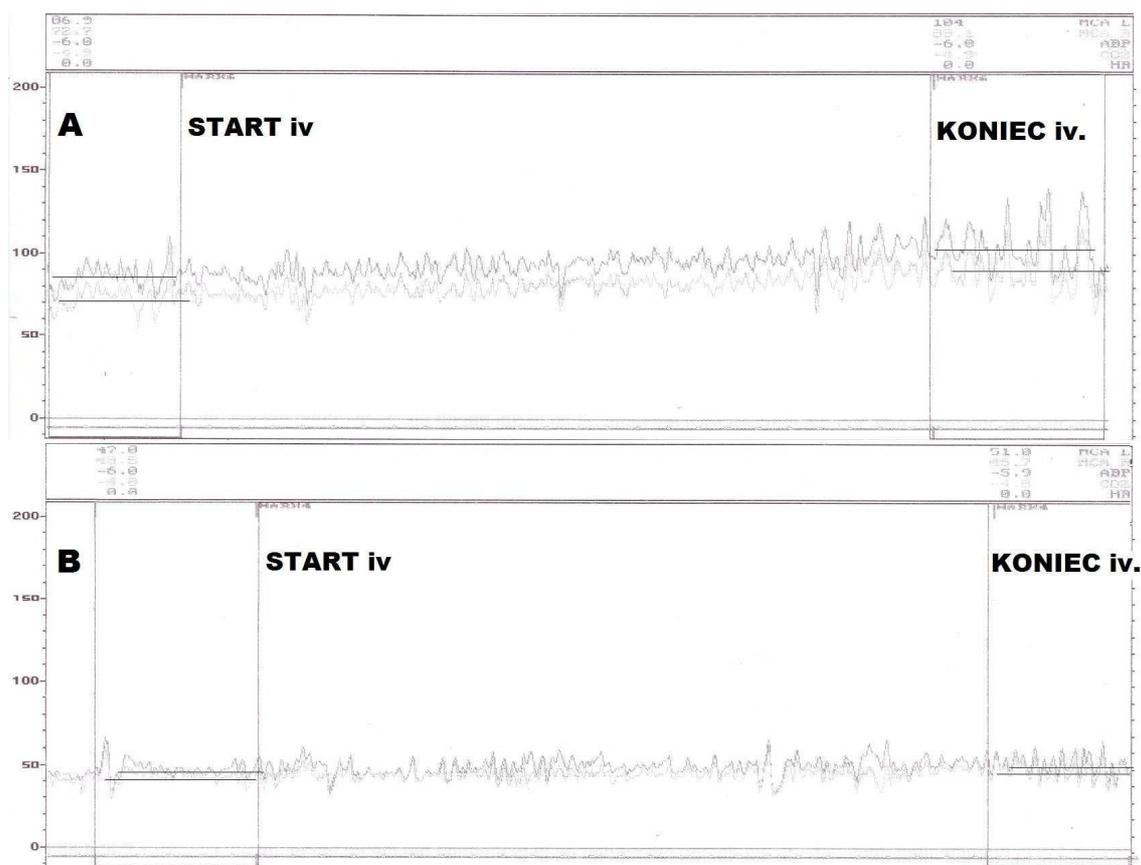
Reaktywność wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej (prezentowana jako wartość procentowa, uśredniona dla obu tętnic) obliczana była na podstawie zmiany prędkości średniej przepływu krwi mierzonej w obydwu tętnicach mózgu środkowych, przed i po zakończeniu infuzji roztworu 30 g L-argininy (*L-Arginin-HYDROCHLORID 21%* firmy *Braun, Melsungen*, Niemcy) rozpuszczonego w 240 ml 0,9% soli fizjologicznej. Infuzja prowadzona była w okresie 30 minut przy pomocy pompy infuzyjnej (AP12 pompa infuzyjna jednostrzykawkowa, firmy *ASCOR*, Warszawa, Polska). Osoba badana pozostawała w pozycji leżącej, w trakcie procedury monitorowano i rejestrowano stężenie CO<sub>2</sub> w powietrzu wydychanym (kapnometr) oraz ciśnienie tętnicze krwi i akcję serca (*Finapres*). Obustronna rejestracja parametrów przepływu w odcinku M1 tętnicy mózgu środkowej prowadzona była w okresie 10 minut przed rozpoczęciem, w trakcie i w okresie 10 minut po zakończeniu infuzji (ryc. 16). Wartość VMR obliczana była ze wzoru [188, 189, 192]:

$$\text{VMR}_{\text{Larg}} = \left( \frac{\text{Vmean}_{\text{PO INFUZJI}} - \text{Vmean}_{\text{PRZED INFUZJĄ}}}{\text{Vmean}_{\text{PRZED INFUZJĄ}}} \right) \times 100\%$$

### 3.1.7. *Ocena prospektywna rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej w badanych grupach*

Ocena prospektywna reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej została przeprowadzona przy wykorzystaniu technik prowokacji fizjologicznej. Pomiar VMRr został powtórnie przeprowadzony w podgrupie 51 chorych na cukrzycę oraz 18 członków grupy kontrolnej, uczestniczących we wcześniejszej edycji badań reaktywności naczyń mózgowych (w latach 2004–2006).

Zarówno wstępny jak i kontrolny pomiar wykonane były w oparciu o ten sam protokół prowokacji i pomiaru VMRr (testy hiperwentylacji i zatrzymania oddechu), z użyciem tych samych urządzeń pomiarowych (dwukanałowego przepływomierza dopplerowskiego Multi Dop T2, wyposażonego w sondy monitorujące 2 MHz i hełm mocujący głowice firmy *DWL Elektronische Systeme, Singen*, Niemcy oraz kapnografu Normocap, firmy *Datex, Helsinki*, Finlandia). Pomiar jak i interpretacja wyników były przeprowadzane przez tego samego badacza (autora pracy) i przy pomocy tego samego oprogramowania monitorującego MF Flow wersja 8,27 L (*DWL Elektronische Systeme, Singen*, Niemcy).



Rycina 16. Raport zbiorczy rejestracji prędkości przepływu w tętnicach mózgu środkowych w trakcie pomiaru VMR z użyciem testów infuzji L-argininy: A –  $VMR_{Larg} = 20,75\%$  (prawidłowa reaktywność); B –  $VMR_{Larg} = 3,3\%$  (reaktywność obniżona) (wykonano w Pracowni Ultrasonografii Dopplerowskiej Kliniki Neurologii Dorosłych GUMed, aparat MultiDop T2 DWL, program MF Flow ver. 8,27L), MCA L – lewa tętnica mózgu środkowa, MCA R prawa tętnica mózgu środkowa, HR – akcja serca

Figure 16. Report from velocity measurement in middle cerebral arteries during VMR testing with use of L-arginine infusion A –  $VMR_{Larg} 20.75\%$  (preserved reactivity); B –  $VMR_{Larg} 3.3\%$  (reduced reactivity), MCA L – left middle cerebral artery, MCA R right middle cerebral artery, HR – heart rate (from Ultrasound Lab, Neurology Department, MUG, MultiDop T2 DWL device, program MF Flow ver. 8.27L)

### 3.2. 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 nie występowania rozkładu normalnego badanych zmiennych ich wartości, prezentowane jako mediana (zakres), porównywano przy pomocy testów nieparametrycznych – testu U-Manna Whitney’a. Porównanie zmiennych charakteryzującym się rozkładem normalnym, prezentowanych jako średnia plus/minus odchylenie standardowe (SD – *standard deviation*), wykonywano z pomocą testów parametrycznych – testu t-Studenta.

Zależności między zmiennymi badano testem analizy korelacji rang Spearmana oraz testem  $\chi^2$ , lub testem  $\chi^2$  z poprawką Yatesa w przypadku, gdy liczba zmiennych nie przekraczała 10.

Za statystycznie istotny uznawano poziom istotności  $p < 0,05$ .

### 3.3. Charakterystyka badanych grup

#### 3.3.1. Chorzy na cukrzycę

Grupę badaną stanowiło 60 osób z rozpoznaną cukrzycą typu 1: 33 kobiety i 27 mężczyzn o medianie wieku 37,2 (25,0–55,7) lat. Średni czas trwania cukrzycy w grupie badanej wyniósł 20,4 ( $\pm 6,54$ ) lat. Średni wiek zachorowania wyniósł 18,8 ( $\pm 7,7$ ) lat. Średnie zapotrzebowanie dobowe na insulinę wynosiło 56,5 ( $\pm 17,5$ ) jednostek międzynarodowych a mediana stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA1C) w surowicy krwi wyniosła 7,64 (5,9–11,8)% (tab. 2.).

Układowe powikłania mikroangiopatyczne cukrzycy stwierdzono łącznie u 44 chorych. Retinopatia cukrzycowa (monitorowana w ramach rutynowej opieki okulistycznej prowadzonej w Regionalnym Centrum Diabetologii UCK w oparciu o kryteria Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego) występowała u 28 pacjentów [14]. Nefropatię cukrzycową, definiowaną jako obecność zwiększonego wydalania albuminy w moczu (wskaźnik albumina/kreatynina  $> 30 \mu\text{g}$  albuminy/mg kreatyniny) stwierdzono u 18 chorych [49]. Obecność neuropatii cukrzycowej, rozpoznawanej w oparciu o objawy subiektywne i obiektywne oraz klinimetryczną ocenę zaburzeń neuropatycznych z użyciem skal: *Neurological Symptoms Score* i *Neurological Disability Score*, stwierdzono u 50% badanych (tab. 3) [61].

Chorzy obciążeni mikroangiopatią cukrzycową charakteryzowali się znamienne dłuższym średnim czasem trwania choroby w stosunku do chorych bez objawów mikroangiopatii (21,7 vs. 17 lat,  $p=0,01$ ), młodszym średnim wiekiem zachorowania (17,2 vs. 23,3 lat,  $p<0,001$ ) oraz wyższą medianą HbA1C (8,08 vs. 7,06%;  $p=0,02$ ). Mediana wieku pacjentów oraz proporcja płci nie różniła się istotnie pomiędzy podgrupami chorych z obecnością i brakiem powikłań mikroangiopatycznych.

U żadnego z badanych chorych nie stwierdzono subiektywnych jak i obiektywnych objawów powikłań mikronaczyniowych cukrzycy: jawnej choroby wieńcowej lub stopy cukrzycowej. W badanej grupie pacjentów nie wykryto również hemodynamicznie istotnych zwężeń w obrębie naczyń domózgowych (tętnic szyjnych i kręgowych) jak tętnic podstawy czaszki (naczyń koła Willisa oraz tętnicy podstawnej i tętnic kręgowych w odcinku wewnątrzczaszkowym).

Tabela 2. Czas trwania i przebieg cukrzycy  
Table 2. Duration and course of diabetes

	średnia <i>mean</i>	zakres <i>range</i>
Czas trwania cukrzycy [lata] <i>Diabetes duration [years]</i>	20,4 ( $\pm 6,54$ )	6–35
Wiek zachorowania [rok życia] <i>diabetes onset [age]</i>	18,8 ( $\pm 7,7$ )	3–39
HbA1C [%] <i>Glycated hemoglobin [%]</i>	<b>7,64*</b>	5,9–11,8
Dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j.m.] <i>Circadian insulin demand [units]</i>	56,5 ( $\pm 17,5$ )	24–109

\* mediana / *median*

Schorzenia współistniejące w grupie chorych na cukrzycę obejmowały nadciśnienie tętnicze (12 pacjentów) i hiperlipidemię (49 pacjentów). Przy rozpoznawaniu nadciśnienia tętniczego oraz hiperlipidemii stosowano zalecenia kliniczne Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego [49]. Terapia hipotensyjna, minimum przez okres 3 miesięcy przed badaniem, była prowadzona u 11 chorych, z czego u 9 stosowano ACEI lub ARB. Leczenie hipolipemizujące z użyciem statyn, również co najmniej przez okres 3 miesięcy przed badaniem, prowadzono u 11 pacjentów. Palenie tytoniu zgłosiło 16 chorych, o medianie 8,75 (1–20) paczko-lat. Nadwagę, definiowaną jako *Body Mass Index* (BMI)  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ , stwierdzono u 22 pacjentów a otyłość (BMI  $> 30 \text{ kg/m}^2$ ) u 6 chorych. Otyłość trzewną diagnozowaną w oparciu o kryteria *Adult Treatment Panel III* (obwód pasa  $> 88 \text{ cm}$  u kobiet oraz  $> 102 \text{ cm}$  u mężczyzn) stwierdzono u 10 chorych [7]. Regularną aktywność fizyczną (wysiłek dynamiczny minimum 2 x w tygodniu przez 30 minut) raportowało 13 pacjentów (tab. 3).

Incydenty tzw. „ciężkiej” hipoglikemii (wymagającej udzielenia choremu pomocy przez inną osobę) przebytej w okresie 12 miesięcy (nie później niż 30 dni) przed badaniem zgłaszało 18 pacjentów. Incydenty tzw. „łagodnej” hipoglikemii (nie wymagającej pomocy) przebytej w okresie miesiąca przed badaniem zgłaszało 52 pacjentów (tab. 3).

Tabela 3. Powikłania cukrzycy oraz współistniejące choroby i leczenie

Table 3. Complications of diabetes and concomitant diseases and treatments

	n	%
Hiperlipidemia <i>Hyperlipidemia</i>	49	81,7
Stosowanie statyn <i>Statin use</i>	11	18,3
Nadciśnienie tętnicze <i>Arterial hypertension</i>	12	20,0
Stosowanie ACEI / ARB <i>ACEI / ARB use</i>	9	15,0
Palenie tytoniu <i>Cigarette smoking</i>	16	26,7
Antykoncepcja hormonalna <i>Oral contraceptives</i>	3	5,0
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	13	21,7
Nadwaga (BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) <i>Overweight (BMI <math>\geq 25 \text{ kg/m}^2</math>)</i>	22	36,7
Otyłość (BMI $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) <i>Obesity (BMI <math>\geq 30 \text{ kg/m}^2</math>)</i>	6	10,0
Otyłość trzewna <i>Visceral obesity</i>	10	16,7

---

	n	%
Retinopatia <i>Retinopathy</i>	28	46,7
Nefropatia <i>Nephropathy</i>	18	30,0
Neuropatia <i>Neuropathy</i>	30	50,0
HbA1C > 6,5% <i>Glycated hemoglobin &gt; 6,5%</i>	53	83,3
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>	18	30,0
Incydent „łagodnej” hipoglikemii w przebiegu ostatniego miesiąca <i>Mild hypoglycemia within one month prior to the study</i>	52	86,7

### 3.3.2. Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiło 37 subiektywnie zdrowych osób bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej: 19 kobiet i 18 mężczyzn o medianie wieku 37,5 (26,3–51,3) lat. Mediana stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA1C) w surowicy krwi wyniosła 5,51 (4,4–6,1)%. Hiperlipidemię, rozpoznawaną w oparciu o kryteria Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego, stwierdzono u 30 członków grupy kontrolnej [198]. Palenie tytoniu raportowały 3 osoby, o medianie 7,5 (4–20) paczko-lat. Nadwagę ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) stwierdzono u 9 a otyłość ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ) u 3 ochotników [7]. Otyłość trzewną (obwód pasa  $> 88 \text{ cm}$  u kobiet i  $> 102 \text{ cm}$  u mężczyzn) stwierdzono u 5 osób (tab. 4). Regularną aktywność fizyczną (minimum 2 x w tygodniu przez 30 minut) raportowało 12 uczestników.

U żadnego z badanych chorych nie stwierdzono jawnej choroby wieńcowej ani nadciśnienia tętniczego. W grupie również nie wykryto hemodynamicznie istotnych zwężeń w obrębie naczyń domózgowych (tętnic szyjnych i kręgowych) jak tętnic podstawy czaszki (naczyń koła Willisa oraz tętnicy podstawnej i tętnic kręgowych w odcinku wewnątrzczaszkowym).

Tabela 4. Charakterystyka kliniczna grupy kontrolnej  
Table 4. Clinical characteristics of control subjects

	n	%
Hiperlipidemia <i>Hyperlipidemia</i>	30	81,1
Palenie tytoniu <i>Cigarette smoking</i>	3	8,1
Nadwaga ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) <i>Overweight (<math>BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2</math>)</i>	9	24,3
Otyłość ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) <i>Obesity (<math>BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2</math>)</i>	3	8,1
Otyłość trzewna <i>Visceral obesity</i>	5	13,6
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	12	32,4
Antykoncepcja hormonalna <i>Oral contraceptives</i>	3	8,1

## 4. WYNIKI

### 4.1. Porównanie analizowanych zmiennych w badanych grupach

#### 4.1.1. *Wiek, dane antropometryczne oraz podstawowe parametry czynnościowe układu krążenia*

W skład grupy badanej weszły 33 kobiety i 27 mężczyzn, a do grupy kontrolnej 19 kobiet i 18 mężczyzn. Rozkład płci nie różnił się w sposób statystycznie istotny pomiędzy grupą badaną a kontrolną (45% vs. 46,8% mężczyzn,  $\text{Chi}^2$  0,12,  $p=0,73$ ). Porównanie median: wieku, BMI oraz rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi mierzonego w warunkach spoczynku nie wykazało znamiennych statystycznie różnic pomiędzy obiema grupami. Wartości średnie obwodu pasa oraz skurczowego ciśnienia tętniczego mierzonych w warunkach spoczynku również nie wykazywały statystycznie istotnej różnicy w badanych grupach (tab. 5).

Tabela 5. Porównanie danych antropometrycznych i parametrów krążeniowo oddechowych u pacjentów z cukrzycą i w grupie kontrolnej

Table 5. Anthropometric data, circulatory and respiratory parameters in patients with type 1 diabetes and controls

	chorzy na cukrzycę <i>patients</i>		grupa kontrolna <i>controls</i>		p
	n=60		n=37		
	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	
Wiek [lata] <i>Age [years]</i>	37,2	25,0–55,7	37,5	26,3–51,3	0,41
RR skurczowe <i>Systolic blood pressure</i> [mmHg]	134,1(±19,5)*	83–180	127,0(±18,9)*	94–189	0,08
RR rozkurczowe <i>Diastolic blood pressure</i> [mmHg]	66,0	45,0–120,0	70,0	45,0–113,0	0,40
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	24,7	19,0–37,3	23,6	20,1–33,3	0,23
Obwód pasa <i>Waist circumference</i> [cm]	85,6(±12,6)*	57–121	84,4(±12,8)*	60–113	0,66

\* średnia (SD) / *mean (SD)*

#### 4.1.2. *Częstość występowania chorób współistniejących*

W grupie chorych na cukrzycę stwierdzono częstsze występowanie nałogu palenia tytoniu w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic, co do częstości występowania hiperlipidemii, nadwagi i otyłości jak i częstości stosowaniu doustnych preparatów antykoncepcyjnych lub raportowania regularnej aktywności fizycznej (tab. 6)

Tabela 6. Porównanie danych epidemiologicznych u osób z cukrzycą i w grupie kontrolnej  
 Table 6. Epidemiological data in patients with type 1 diabetes and controls

	chorzy na cukrzycę <i>patients</i>		grupa kontrolna <i>controls</i>		Chi <sup>2</sup>	p
	n=60		n=37			
	n	%	n	%		
Hiperlipidemia <i>Hyperlipidemia</i>	49	81,7	30	81,1	<0,01	0,94
Palenie tytoniu <i>Cigarette smoking</i>	16	26,7	3	8,1	3,9	<b>0,04</b>
Nadwaga (BMI $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> ) <i>Overweight (BMI <math>\geq 25</math> kg/m<sup>2</sup>)</i>	22	36,7	9	24,3	1,64	0,20
Otyłość (BMI $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> ) <i>Obesity (BMI <math>\geq 30</math> kg/m<sup>2</sup>)</i>	6	10	3	8,1	0,10	0,96
Otyłość trzewna <i>Visceral obesity</i>	10	16,7	5	13,6	0,2	0,90
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	13	21,7	12	32,4	1,36	0,24
Antykoncepcja hormonalna <i>Oral contraceptives</i>	3	5	3	8,1	0,37	0,54

#### 4.1.3. Wyniki badań laboratoryjnych

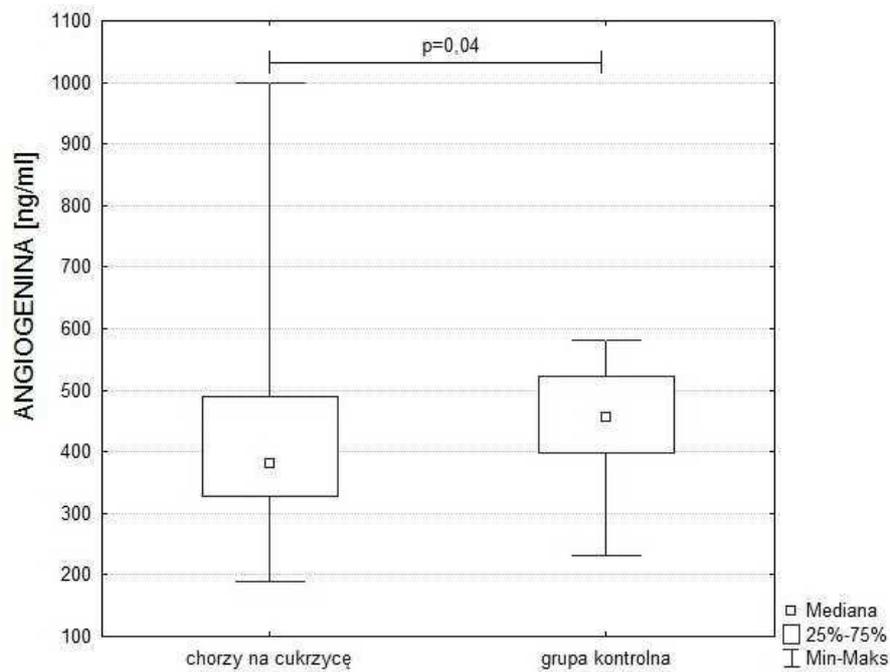
W grupie chorych na cukrzycę stwierdzono znamienne wyższe wartości mediany stężenia CRP i HbA1C w surowicy krwi, OB oraz wskaźnika albumina/kreatynina w moczu w porównaniu do osób bez cukrzycy (tab. 7). Mediany stężenia angiogeniny, asymetrycznej dimetyloargininy oraz kwasu moczowego w grupie badanych chorych były istotnie niższe niż w grupie kontrolnej (ryc. 17 i 18). Nie zaobserwowano różnic dotyczących średnich wartości hematokrytu i stężenie albuminy w surowicy krwi jak mediany stężenia hemoglobiny oraz poziomu kreatyniny, fibrynogenu i parametrów lipidogramu pomiędzy obiema grupami (tab. 7).

Tabela 7. Wyniki badań laboratoryjnych u pacjentów z cukrzycą i w grupie kontrolnej  
Tabela 7. Results of lab tests in patients with type 1 diabetes and controls

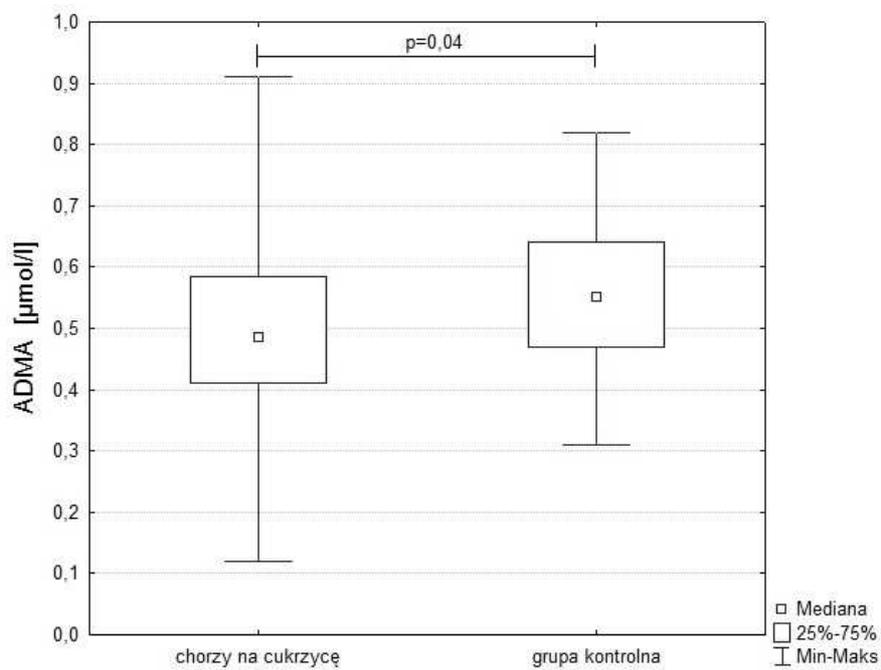
	chorzy na cukrzycę <i>patients</i>		grupa kontrolna <i>controls</i>		p
	n=60		n=37		
	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	
HbA1c <i>Glycated hemoglobin</i> [%]	7,64	5,9–11,8	5,5	4,4–6,1	<b>&lt;0,001</b>
Hemoglobina <i>Hemoglobin</i> [g/dl]	13,6	9,2–16,9	13,4	9,1–16,2	0,81
Hematokryt <i>Hematocrit</i> [%]	41,1 (±4,2)*	31–50	40,6 (± 4,2)*	30,8–47,3	0,89
CRP <i>C-reactive protein</i> [mg/l]	1,6	0,3–39,3	0,75	0,2–10,9	<b>&lt;0,001</b>
OB [mm/godz] <i>Sedimentation rate</i> [mm/h]	12,0	2–60	5,0	2–23	<b>0,004</b>
Kwas moczowy <i>Urea</i> [ng/dl]	3,2	1,7–5,9	3,6	1,8–7,5	<b>0,01</b>
Fibrynogen <i>Fibrinogen</i> [g/l]	2,95	2,1–6,7	2,68	1,6–4,1	0,24
Albumina (surowica) <i>Albumin (serum)</i> [g/l]	41,1(±3,5)*	30–49	40,8 (± 3,8)*	35–50	0,70

	chorzy na cukrzycę <i>patients</i>		grupa kontrolna <i>controls</i>		p
	n=60		n=37		
	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	
Kreatynina (surowica) <i>Creatinine (serum)</i> [mg/dl]	0,79	0,62–4,3	0,76	0,65–1,13	0,36
Cholesterol całkowity <i>Total cholesterol</i> [mg/dl]	185	130–302	196	128–278	0,19
Triglicerydy <i>Triglycerides</i> [mg/dl]	67	38–380	80	35–223	0,39
HDL High Density Lipoproteins [mg/dl]	58	28–115	49	33–90	0,09
Albumina/ kreatynina w moczach [μg alb./mg kreat.] <i>Albumin/ creatinine ratio</i> <i>in urine</i> [μg alb./mg creat.]	11,7	1,2–2506	6,9	1,8–25,3	<b>0,001</b>
Angiogenina <i>Angiogenin</i> [ng/ml]	379,8	190–999	456,5	231–581	<b>0,049</b>
ADMA [μmol/l]	0,48	0,12–0,91	0,55	0,31–0,82	<b>0,04</b>

\* średnia (SD) / *mean (SD)*



Rycina 17. Stężenie angiogeniny w surowicy pacjentów z cukrzycą i w grupie kontrolnej  
*Figure 17. Angiogenin plasma concentration in patients with type 1 diabetes and controls*



Rycina 18. Stężenie ADMA w surowicy u pacjentów z cukrzycą i w grupie kontrolnej  
*Figure 18. ADMA plasma concentration in patients with type 1 diabetes and controls*

#### 4.1.4. Parametry przepływu w tętnicy mózgu środkowej

Z powodu jednostronnego braku okna kostnego u 2 osób z cukrzycą i 2 z grupy kontrolnej parametry przepływu określono tylko dla 1 tętnicy mózgu środkowej. W pozostałych przypadkach analizowano średnią arytmetyczną wartości zmierzonych w odcinkach M1 obu MCA. Głębokość insonacji i  $i$  Et CO<sub>2</sub> były podobne w obydwu grupach (tab. 8).

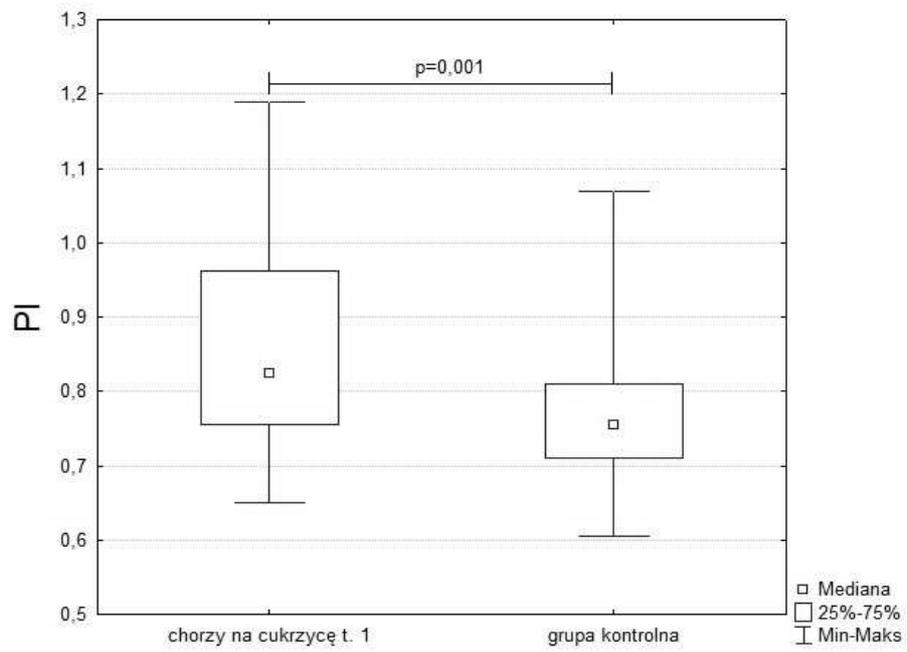
Mediana Vmean zmierzonych w grupie chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej nie różniły się w sposób statystycznie istotny. Mediana wskaźnika pulsacyjności przepływu była istotnie wyższa u pacjentów z cukrzycą w porównaniu do osób niechorujących na cukrzycę (tab. 8; ryc. 19).

Tab. 8. Parametry przepływu w tętnicy mózgu środkowej

Tab. 8. Flow parameters in MCA

	chorzy na cukrzycę <i>patients</i>		grupa kontrolna <i>controls</i>		p
	n=60		n=37		
	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	
Głębokość insonacji <i>Depth of insonation</i> [mm]	55,5	50,0–59,5	56,0	50,0–50,8	0,29
Vmean [cm/s]	64,7	36,8–106,0	63,1	37,9–100,5	0,52
PI	0,82	0,65–1,19	0,75	0,60–1,07	<b>0,001</b>
Et CO <sub>2</sub> [%]	4,78(±0,52)*	3,9–6,0	4,80(±0,53)*	3,5–6,0	0,89

\* średnia (SD) / *mean (SD)*



Rycina 19. Wskaźnik pulsacyjności przepływu w tętnicy mózgu środkowej  
*Figure 19. Pulsatility Index in middle cerebral artery*

#### 4.1.5. *Rezerwa wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej oceniana z wykorzystaniem metod prowokacji fizjologicznej*

Średnie wartości rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej ocenianej z użyciem testów hipo- i hiperkapnicznych (test hiperwentylacji i test zatrzymania oddechu) u chorych z cukrzycą i u osób zdrowych nie różniły się w sposób statystycznie znamienne. Mediany spadku Et CO<sub>2</sub> w trakcie hiperwentylacji oraz wzrostu Et CO<sub>2</sub> w trakcie zatrzymania oddechu również nie odbiegały istotnie od siebie obu badanych grupach. Nie zaobserwowano istotnych różnic wartości średniego ciśnienia tętniczego krwi (*MAP* – *mean arterial pressure*) pomiędzy grupami, mierzonego zarówno przed jak i po rozpoczęciu testów oddechowych (tab. 9).

Tabela 9. Ocena VMRr tętnicy mózgu środkowej oceniana testem hipo- i hiperkapnicznym  
Table. 9. Evaluation of vasomotor reactivity range in MCA with hypo- and hypercapnic tests

	chorzy na cukrzycę <i>patients</i>		grupa kontrolna <i>controls</i>		p
	n=60		n=37		
	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	
MAP przed pomiarem <i>MAP before the test</i> [mmHg]	88,2	61,0–140,0	91,3	61,7–138,3	0,94
MAP po pomiarze <i>MAP after the test</i> [mmHg]	98,7	66,7–161,7	96,3	66,3–146,7	0,07
$\Delta$ Et CO <sub>2</sub> podczas hiperwentylacji <i><math>\Delta</math>Et CO<sub>2</sub> during hyperventilation</i> [%]	1,6	0,8–3,0	1,5	0,5–2,9	0,97
$\Delta$ Et CO <sub>2</sub> podczas zatrzymania oddechu <i><math>\Delta</math>Et CO<sub>2</sub> during breath-holding</i> [%]	0,9	0,5–2,0	1,0	0,5–2,9	0,91
VMRr [%]	84,5 ( $\pm$ 14,1)*	50,8–116,6	86,7( $\pm$ 14,9)*	57,8–116,6	0,48

\* średnia (SD) / *mean (SD)*

#### 4.1.6. Rezerwa wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej oceniana z użyciem testu infuzji L-argininy

Ocenę wartości VMR przy pomocy testu infuzji L-argininy przeprowadzono u 52 (86,7%) chorych na cukrzycę oraz 22 (59,5%) osób z bez cukrzycy. Testu z użyciem substancji farmakologicznej nie wykonano u 8 (13,3%) pacjentów i 15 (40,5%) członków grupy kontrolnej.

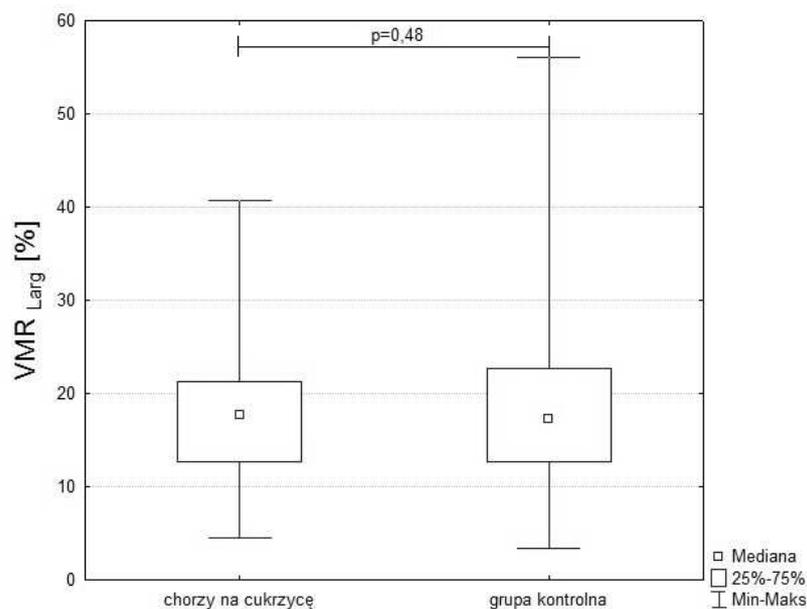
Mediana wartości VMR<sub>Larg</sub> tętnicy mózgu środkowej zmierzonych w grupie chorych nie różniła się w sposób statystycznie istotny od mediany wartości VMR<sub>Larg</sub> stwierdzonych w grupie kontrolnej (ryc. 20). Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy średnimi wartościami Et CO<sub>2</sub> oraz MAP rejestrowanymi przed rozpoczęciem, jak i medianami wartości Et CO<sub>2</sub> oraz MAP rejestrowanych po zakończeniu infuzji L-argininy (tab. 10).

Tabela 10. Ocena VMR tętnicy mózgu środkowej z użyciem infuzji L-argininy

Table. 10. Evaluation of VMR in MCA with L-arginine infusion

	chorzy na cukrzycę		grupa kontrolna		p
	n=52		n=22		
	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	mediana <i>median</i>	zakres <i>range</i>	
MAP przed pomiarem <i>MAP before the test</i> [mmHg]	94,1 (±13,4)*	68,3–134,0	92,3 (±17,1)*	67,7–139,3	0,62
MAP po pomiarze <i>MAP after the test</i> [mmHg]	89,0	61,7–146,7	86,8	63,7–134,3	0,21
Et CO <sub>2</sub> przed infuzją <i>Et CO<sub>2</sub> before infusion</i> [%]	4,82 (±0,43)*	4,0–6,0	4,84 (±0,46)*	3,9–5,8	0,82
Et CO <sub>2</sub> po infuzji <i>Et CO<sub>2</sub> after infusion</i> [%]	4,95	4,1–6,2	5,05	4,4–6,5	0,23
VMRr [%]	17,6	4,6–40,7	17,3	3,3–56,0	0,91

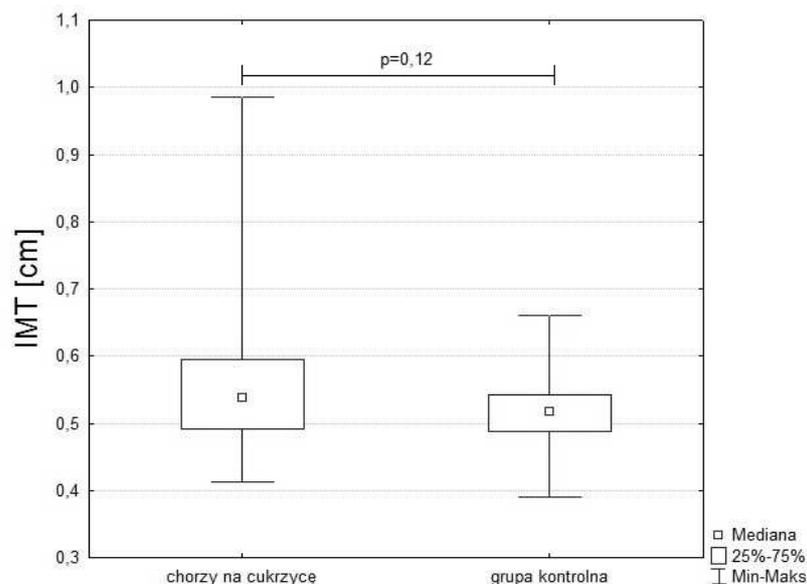
\* średnia (SD) / *mean (SD)*



Rycina 20. VMR tętnicy mózgu środkowej oceniana z użyciem infuzji L-argininy  
Figure 20. VMR of middle cerebral artery assessed with L-arginine infusion

#### 4.1.7. Grubość kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa

U pacjentów z cukrzycą mediana grubości kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa wyniosła 0,054 (0,041 – 0,098) cm. Wartość mediany IMT w grupie kontrolnej wyniosła 0,052 (0,039 – 0,066) cm, różnica grubości IMT była statystycznie nie istotna ( $p=0,12$ ) (ryc. 21).



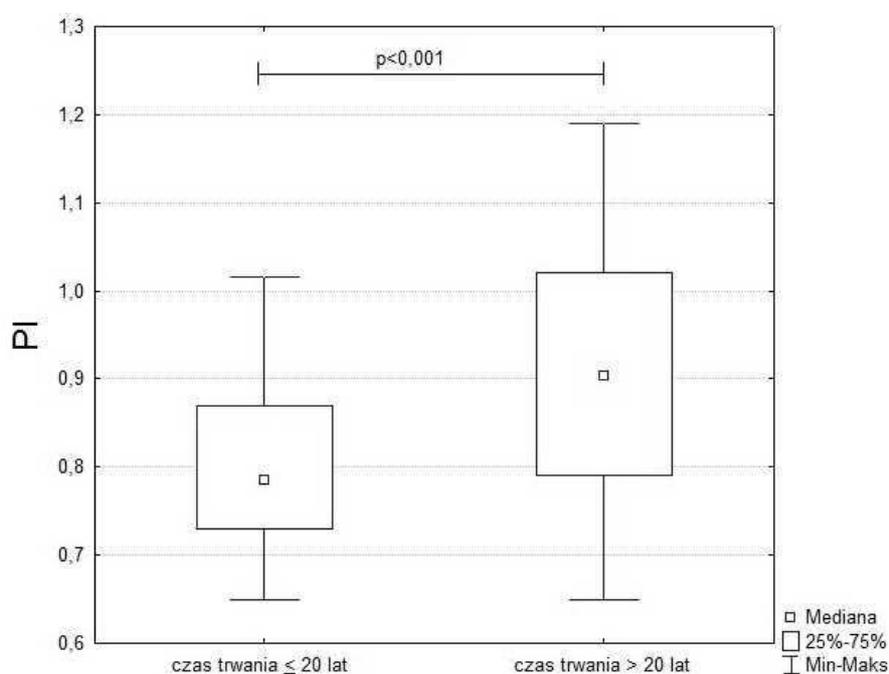
Rycina 21. IMT u pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej  
Figure 21. IMT in patients with diabetes and control subjects

## 4.2. Ocena zależności pomiędzy wiekiem, parametrami antropometrycznymi oraz współistniejącymi obciążeniami chorobowymi i obrazem klinicznym cukrzycy a wskaźnikiem pulsacyjności i reaktywnością wazomotoryczną MCA

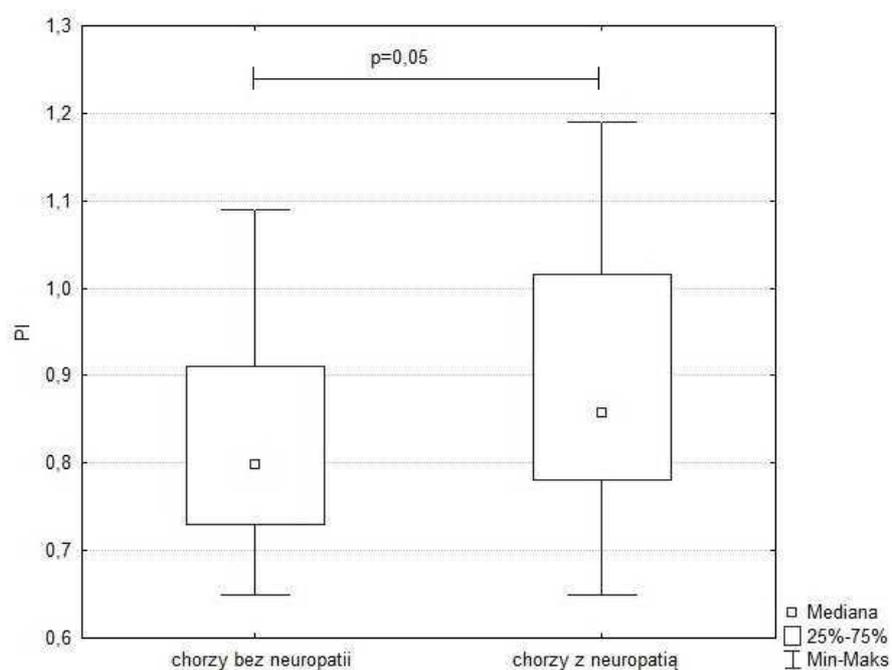
### 4.2.1. Chorzy na cukrzycę

Mediana wartości PI była znamienne wyższa w podgrupie pacjentów z cukrzycą z czasem trwania choroby > 20 lat niż w podgrupie pacjentów z krótszym czasem trwania choroby ( $\leq 20$  lat) (ryc. 22). Chorzy na cukrzycę powikłaną obecnością neuropatii cukrzycowej również cechowali się wyższą medianą PI w porównaniu do chorych bez neuropatii (ryc. 23). Zaobserwowano także wyższe wartości mediany PI u pacjentów leczonych statyną. Nie stwierdzono wpływu płci, BMI, palenia tytoniu, aktywności fizycznej, wyrównania cukrzycy oraz współistniejących obciążeń chorobowych i terapii farmakologicznych jak i obecności retinopatii lub nefropatii cukrzycowej na wartości wskaźnika pulsacyjności (tab. 11).

W podgrupie chorych leczonych statyną zaobserwowano niższą średnią wartości reaktywności wazomotorycznej MCA ocenianej z użyciem testów „oddechowych”. Poza tym nie zaobserwowano znamienych różnic dotyczących VMRr pomiędzy podgrupami chorych na cukrzycę wyodrębnionymi na podstawie płci, BMI, palenia tytoniu, aktywności fizycznej, czasu trwania i wyrównania cukrzycy, współistniejących obciążeń chorobowych i form ich terapii oraz obecności układowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy (tab. 11).



Rycina 22. Wartości PI w podgrupach chorych z czasem trwania cukrzycy  $\leq$  i  $>$  20 lat  
Figure 22. PI values in subgroups of patients with diabetes duration  $\leq$  and  $>$  20 years



Rycina 23. Wartości PI w podgrupach chorych z i bez neuropatii cukrzycowej  
 Figure 23. PI values in subgroup of patients with and without diabetic neuropathy

Parametry reaktywności wazomotorycznej MCA prowokowanej infuzją L-argininy były istotnie niższe u mężczyzn chorych na cukrzycę niż u kobiet z cukrzycą (ryc. 24). Nie stwierdzono innych różnic dotyczących wartości  $VMR_{Larg}$  pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą wyodrębnionymi na podstawie BMI, palenia tytoniu, aktywności fizycznej, czasu trwania, wyrównania i obecności powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy (tab. 11).

Analiza korelacji pomiędzy czynnościowymi parametrami przepływu w MCA a wiekiem chorych, czasem trwania cukrzycy oraz dobowym zapotrzebowaniem na insulinę wykazała istotną zależność pomiędzy wartościami PI a wiekiem pacjentów i czasem trwania choroby (ryc. 25, 26). Stwierdzono również znamiennej statystycznie, ujemną korelacją pomiędzy  $VMR_{Larg}$  a wiekiem chorych oraz BMI i obwodem pasa (ryc. 27, 28, 29). Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy dobowym zapotrzebowaniem na insulinę a parametrami przepływu w MCA jak i zależności pomiędzy wiekiem chorych i czasem trwania cukrzycy a  $VMRr$  (tab. 12).

Tabela 11. Porównanie wartości PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> w podgrupach chorych na cukrzycę  
 Table 11. Comparison of PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> values in subgroups of patients with diabetes

	% % <sub>Larg</sub>	PI			VMRr [%]			VMR <sub>Larg</sub> [%]		
		n=60			n=60			n=52		
		tak <i>yes</i>	nie <i>no</i>	p	tak <i>yes</i>	nie <i>no</i>	p	tak <i>yes</i>	nie <i>no</i>	p
Płeć męska <i>Males</i>	45,0 44,2	0,93	0,81	0,07	82,7	86,0	0,36	14,6	20,33	<0,01
Hiperlipidemia <i>Hyperlipidemia</i>	81,7 80,8	0,82	0,84	0,95	84,7	83,9	0,86	18,2	15,9	0,38
Leczenie statyną <i>Statin use</i>	18,3 21,1	0,93	0,81	<b>0,04</b>	76,1	86,4	<b>0,03</b>	16,8	18,0	0,62
Nadciśnienie tętnicze <i>Arterial hypertension</i>	20,0 21,2	0,92	0,82	0,14	82,0	85,2	0,47	17,6	17,8	0,92
Leczenie ACEI / ARB <i>ACEI / ARB use</i>	15,0 15,4	0,89	0,82	0,25	83,9	84,7	0,88	17,5	17,8	0,96
Nadwaga lub otyłość <i>Overweight or obesity (BMI ≥25 kg/m<sup>2</sup>)</i>	46,7 51,9	0,85	0,82	0,37	85,9	83,4	0,50	16,1	19,3	0,13
Otyłość trzewna <i>Visceral obesity</i>	16,7 15,4	0,87	0,82	0,50	84,8	84,5	0,95	14,2	18,4	0,14
Palenie tytoniu <i>Cigarette smo- king</i>	26,7 25,0	0,82	0,86	0,78	87,3	83,5	0,36	17,5	18,7	0,61
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	21,7 23,1	0,76	0,82	0,21	84,0	84,7	0,88	15,3	18,5	0,19
Antykoncepcja hormonalna <i>Oral contracep- tives</i>	5,0 3,8	0,72	0,82	0,14	94,8	84,0	0,20	19,1	17,7	0,80

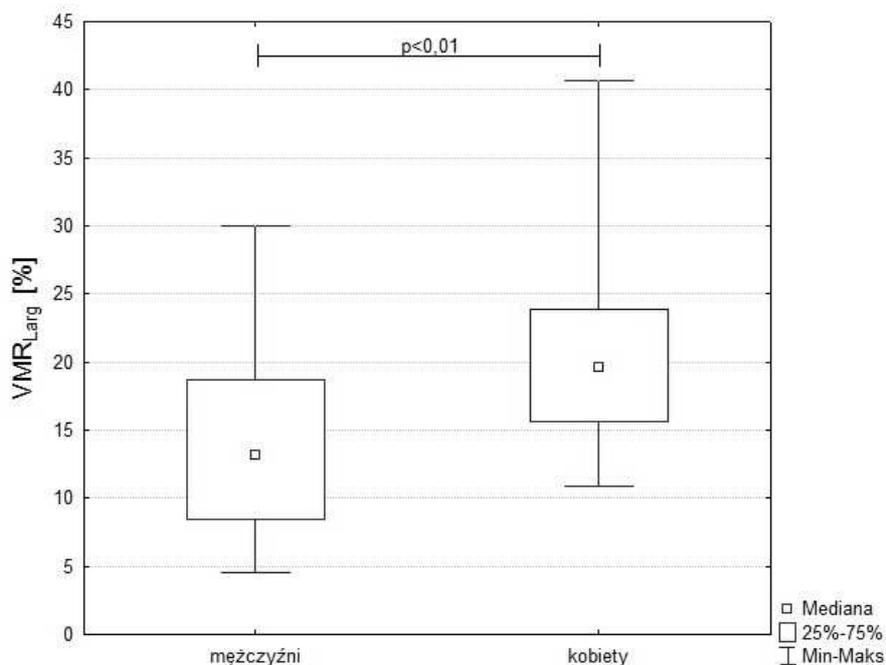
	% % <sub>Larg</sub>	PI			VMRr [%]			VMR <sub>Larg</sub> [%]		
		n=60			n=60			n=52		
		tak yes	nie no	p	tak yes	nie no	p	tak yes	nie no	p
Nefropatia cukrzycowa <i>Diabetic nephropathy</i>	30,0 34,6	0,81	0,84	0,91	85,5	84,1	0,73	19,2	17,0	0,31
Retinopatia cukrzycowa <i>Diabetic retinopathy</i>	46,7 48,1	0,83	0,82	0,99	85,6	83,6	0,59	17,5	18,4	0,79
Neuropatia cukrzycowa <i>Diabetic neuropathy</i>	50,0 51,9	0,86	0,80	<b>0,05</b>	82,6	86,5	0,29	18,6	16,9	0,41
HbA1C >6,5% <i>Glycated hemo- globin &gt;6.5%</i>	88,3 88,4	0,89	0,82	0,45	85,2	79,5	0,40	18,1	15,4	0,31
Czas trwania cukrzycy >20 lat <i>Diabetes dura- tion &gt;20 years</i>	55,0 51,9	0,90	0,78	<b>&lt;0,01</b>	84,1	85,1	0,79	17,9	17,7	0,93
Incydent ciężkiej hipoglikemii* <i>Severe hypog- lycemia*</i>	30,0 30,8	0,91	0,82	0,84	83,0	85,0	0,50	16,1	18,4	0,30

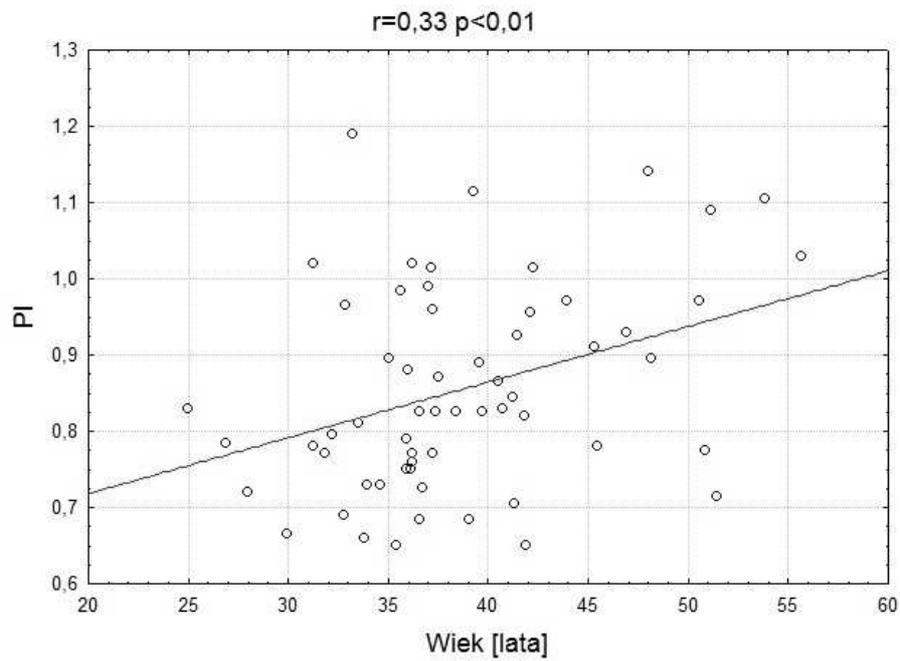
\* w przeciągu ostatniego roku, ale nie później niż 30 dni przed badaniem

\* *within last year, but no later than 30 days before the examination*

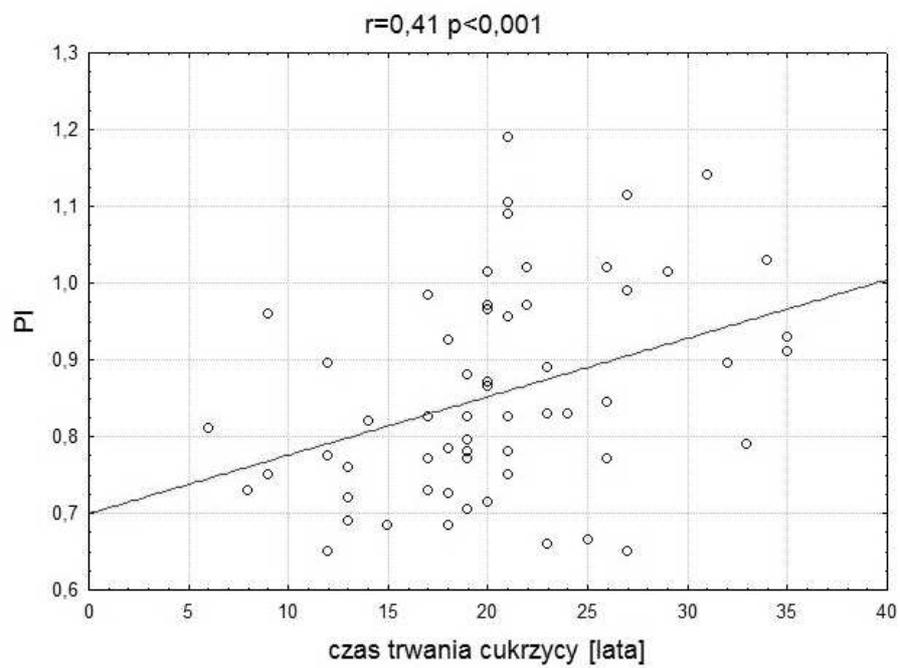
Tabela 12. Korelacje pomiędzy PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> a wiekiem chorych, czasem trwania cukrzycy i dobowym zapotrzebowaniem na insulinęTable 12. Correlations between PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> and patients age, diabetes duration and daily insulin demand

	PI n=60		VMRr [%] n=60		VMR <sub>Larg</sub> [%] n=52	
	r	p	r	p	r	p
Wiek chorych [lata] Age [years]	<b>0,33</b>	<b>&lt;0,01</b>	-0,17	0,19	<b>-0,32</b>	<b>0,02</b>
Czas trwania cukrzycy [lata] Diabetes duration [years]	<b>0,42</b>	<b>&lt;0,001</b>	-0,003	0,97	-0,05	0,70
Dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j.m.] Circadian insulin demand [units]	-0,14	0,30	0,11	0,38	-0,21	0,14
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,16	0,21	0,05	0,70	<b>-0,38</b>	<b>0,006</b>
Obwód pasa Waist circumference [cm]	0,20	0,12	-0,03	0,80	<b>-0,47</b>	<b>&lt;0,001</b>

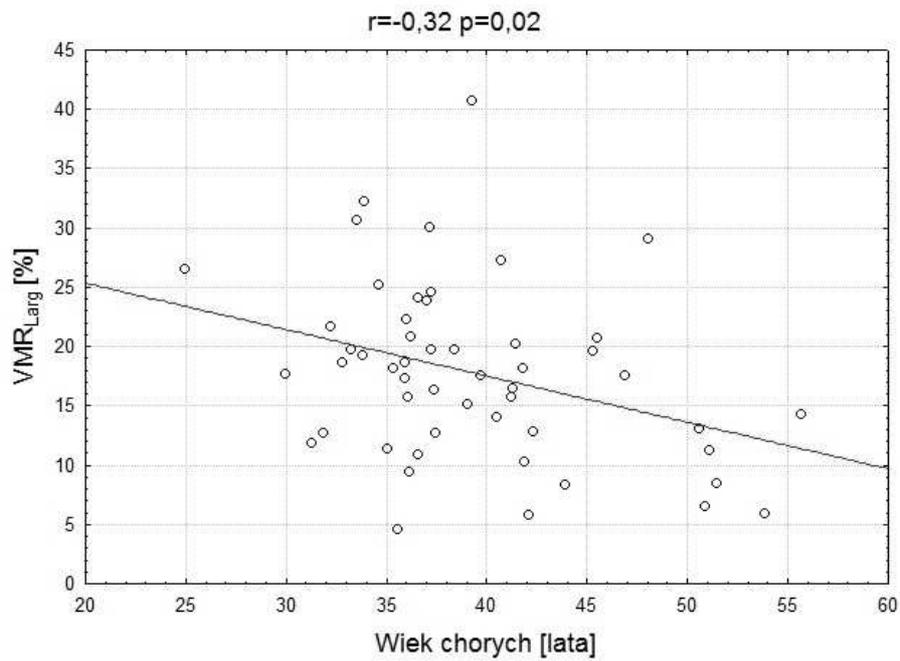
Rycina 23. Mediana wartości VMR<sub>Larg</sub> u mężczyzn i kobiet z cukrzycą  
Figure 23. Median VMR<sub>Larg</sub> values in males and females with diabetes



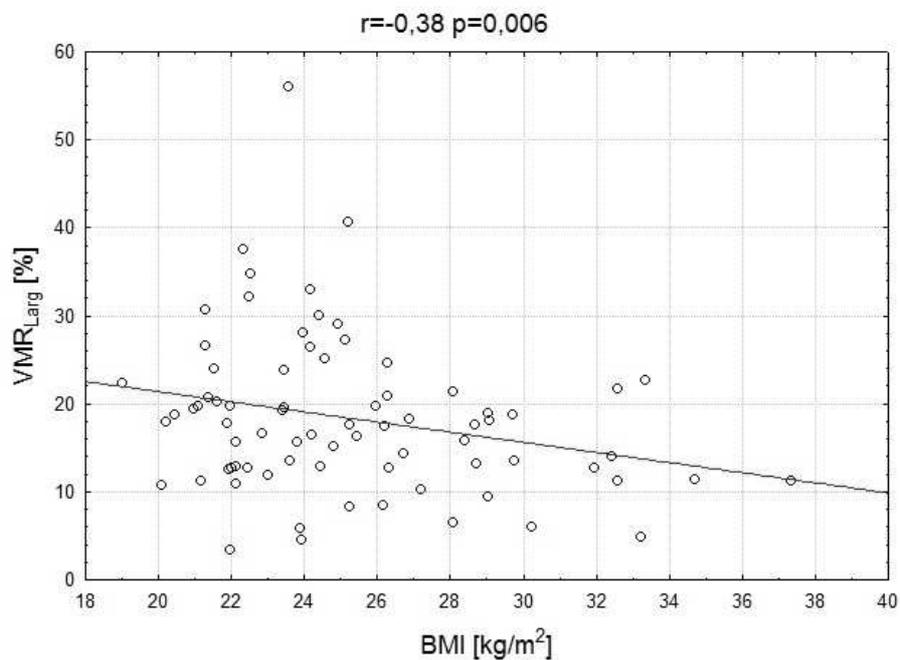
Rycina 24. Korelacja PI i wieku u chorych na cukrzycę  
*Figure 24. Correlation between PI and age in patients with diabetes*



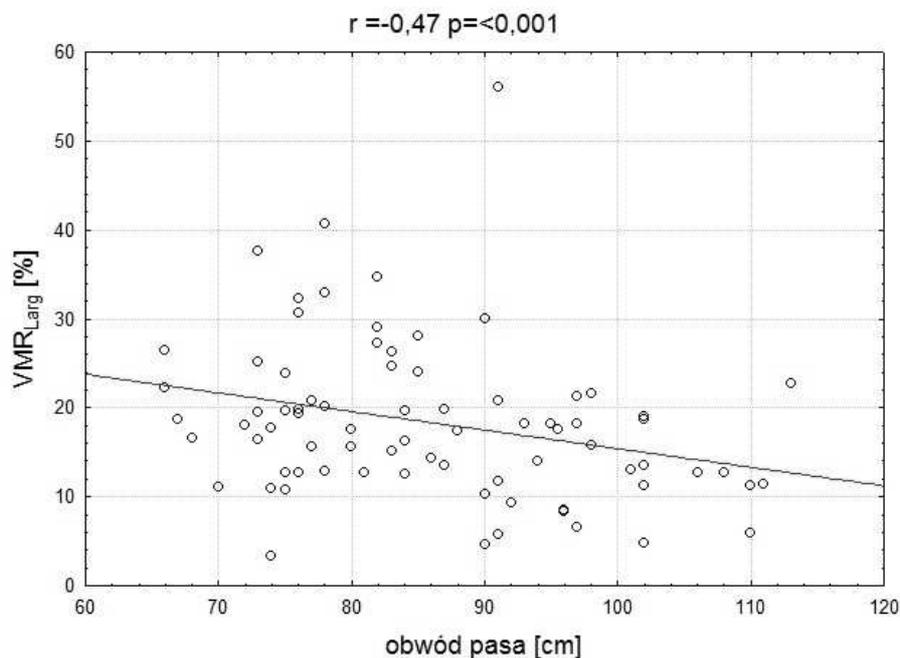
Rycina 25. Korelacja PI i czasu trwania cukrzycy  
*Figure 25. Correlation between PI and diabetes duration*



Rycina 26. Korelacja  $VMR_{Larg}$  i wieku u chorych na cukrzycę  
*Figure 26. Correlation between  $VMR_{Larg}$  and age in patients with diabetes mellitus*



Rycina 27. Korelacja  $VMR_{Larg}$  i BMI u chorych na cukrzycę  
*Figure 27. Correlation between  $VMR_{Larg}$  and BMI in patients with diabetes mellitus*



Rycina 28. Korelacja VMR<sub>Larg</sub> i obwodu pasa u chorych na cukrzycę

Figure 28. Correlation between VMR<sub>Larg</sub> and waist circumference in patients with diabetes

#### 4.2.2. Grupa kontrolna

Mediana wartości PI była znamienne niższa u osób z grupy kontrolnej obciążonych hiperlipidemią oraz u osób z otyłością trzewną, w porównaniu do osób bez zaburzeń gospodarki lipidowej. Nie stwierdzono wpływu płci, BMI, palenia tytoniu i aktywności fizycznej na wartości wskaźnika pulsacyjności (tab 13).

W grupie kontrolnej nie zaobserwowano istotnych różnic dotyczących parametrów reaktywności wazomotorycznej MCA, zarówno ocenianej z użyciem testów „oddechowych” jak i prowokowanej infuzją L-argininy, pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie płci, BMI, palenia tytoniu i aktywności fizycznej (tab. 13).

Analiza korelacji pomiędzy czynnościowymi parametrami przepływu w MCA a wiekiem badanych osób bez cukrzycy oraz obwodem pasa i BMI nie wykazała znamiennej statystycznie zależności (tab. 14).

Tabela 13. Porównanie wartości PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> w podgrupach osób bez cukrzycy  
 Table 13. Comparison of PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> values in subgroups of control subjects

	% % <sub>Larg</sub>	PI n=37			VMRr [%] n=37			VMR <sub>Larg</sub> [%] n=22		
		tak yes	nie no	p	tak yes	nie no	p	tak yes	nie no	p
Płeć męska <i>Males</i>	48,6 50,0	0,76	0,75	0,96	85,0	88,3	0,51	20,4	18,1	0,65
Hiperlipidemia <i>Hyperlipidemia</i>	81,1 86,4	0,74	0,83	<b>0,02</b>	86,9	85,7	0,85	19,2	19,6	0,96
Nadwaga lub otyłość <i>Overweight /obesity</i> (BMI ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> )	32,4 36,4	0,71	0,76	0,16	88,0	86,0	0,71	16,0	21,2	0,31
Otyłość trzewna <i>Visceral obesity</i>	13,5 22,7	0,69	0,76	<b>0,03</b>	84,9	87,0	0,78	14,5	20,7	0,30
Palenie tytoniu <i>Cigarette smoking</i>	8,1 9,1	0,76	0,75	0,34	92,0	86,2	0,52	14,7	19,8	0,56
Regularna aktywność fizyczna <i>Regular physical activity</i>	32,4 22,7	0,76	0,75	0,51	85,1	87,4	0,67	25,2	17,5	0,19
Antykoncepcja hor- monalna <i>Oral cantraceptives</i>	8,1 0,0	0,71	0,76	0,09	91,4	86,2	0,58	–	–	–

Tabela 14. Korelacje pomiędzy PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> a wiekiem, BMI i obwodem pasa osób z grupy kontrolnej  
 Table 14. Correlations between PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> and age, BMI and waist circumference of control subjects

	PI n=37		VMRr [%] n=37		VMR <sub>Larg</sub> [%] n=22	
	r	p	r	p	r	P
Wiek chorych [lata] <i>Age [years]</i>	-0,07	0,67	0,06	0,73	-0,25	0,27
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,31	0,06	-0,19	0,27	0,15	0,50
Obwód pasa <i>Waist circumference</i> [cm]	-0,19	0,25	-0,08	0,62	0,12	0,61

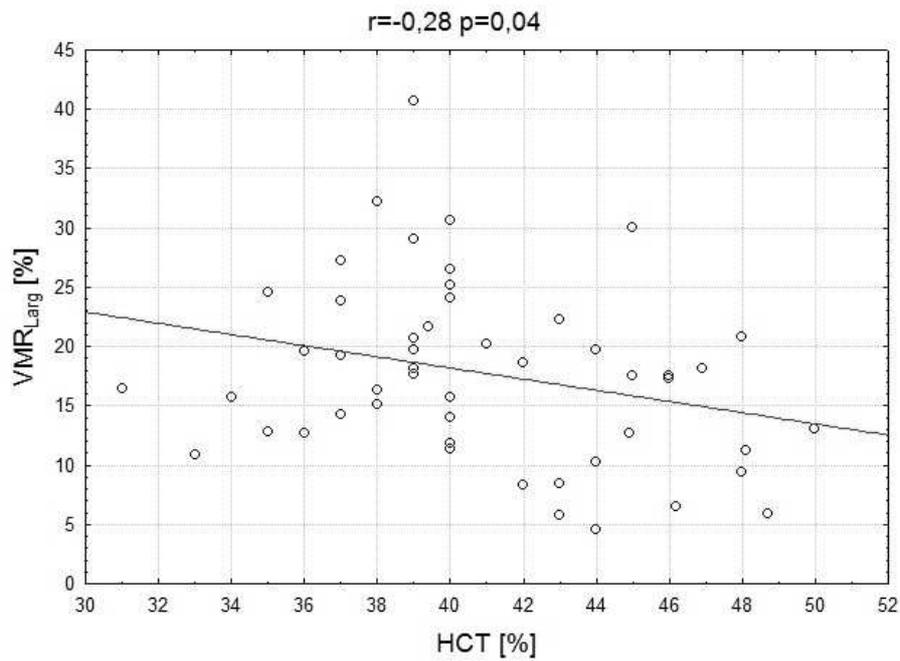
### 4.3. Ocena zależności pomiędzy wynikami badań laboratoryjnych a wskaźnikiem pulsacyjności oraz reaktywnością wazomotoryczną MCA

#### 4.3.1. Chorzy na cukrzycę

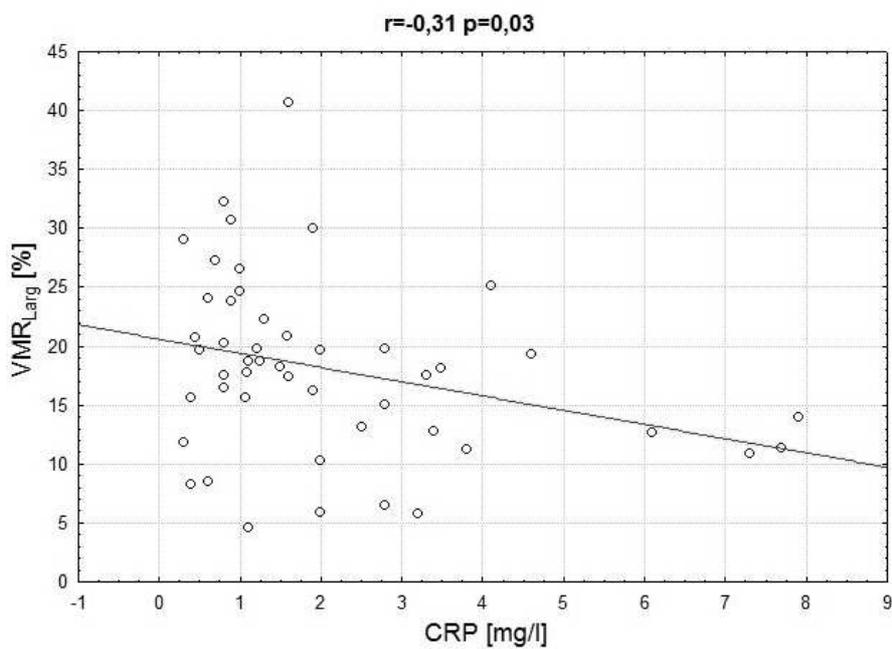
Analiza korelacji pomiędzy wartościami PI oraz VMRr a oznaczanymi parametrami biochemicznymi krwi i moczu nie wykazała istotnych statystycznie zależności (tab. 15). Wartości reaktywności wazomotorycznej MCA prowokowanej infuzją L-argininy wykazywały odwrotną zależność z wartościami hematokrytu oraz stężeń hemoglobiny, CRP i kwasu moczowego w krwi (ryc. 31, 31, 32). Nie stwierdzono znamiennych korelacji pomiędzy pozostałymi wynikami badań laboratoryjnych a VMR<sub>Larg</sub> (tab. 15).

Tabela 15. Korelacje PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> z wynikami badań laboratoryjnych u osób z cukrzycą  
Table 15. Correlations between PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> and lab results in patients with diabetes

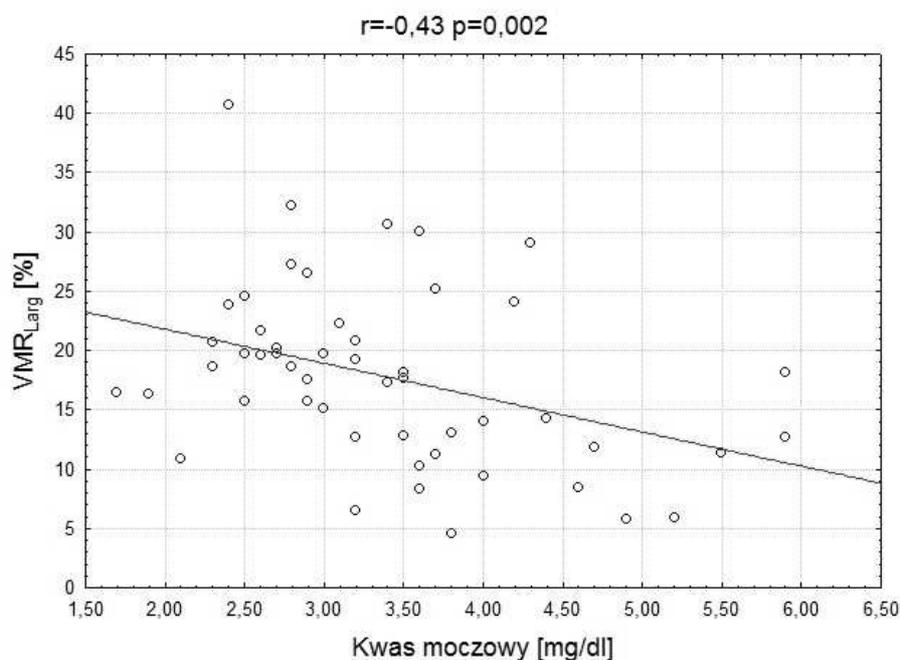
	PI n=60		VMRr [%] n=60		VMR <sub>Larg</sub> [%] n=52	
	r	p	r	p	r	p
HbA1c [%]	-0,20	0,13	0,03	0,82	-0,17	0,23
Hematokryt [%] <i>Hematocrit</i>	0,17	0,19	0,04	0,78	<b>-0,28</b>	<b>0,04</b>
Hemoglobina [g/dl] <i>Hemoglobin</i>	0,20	0,13	0,04	0,76	<b>-0,27</b>	<b>0,049</b>
CRP [mg/l]	0,01	0,94	0,02	0,88	<b>-0,31</b>	<b>0,03</b>
Kwas moczowy [mg/dl] <i>Urea</i>	0,06	0,63	-0,10	0,47	<b>-0,43</b>	<b>0,002</b>
Albumina (sur.) [g/l] <i>Albumin (serum)</i>	0,11	0,39	-0,14	0,28	0,08	0,55
Fibrynogen [g/l] <i>Fibrinogen</i>	0,10	0,47	-0,03	0,80	0,03	0,86
OB [mm/godz] <i>Sedimentation rate</i>	-0,05	0,74	0,05	0,74	0,02	0,90
Angiogenina <i>Angiogenin</i> [ng/ml]	0,22	0,09	-0,003	0,98	0,03	0,98
ADMA [ $\mu$ mol/l]	-0,01	0,95	-0,13	0,32	0,25	0,07
Cholesterol całkowity <i>Total cholesterol</i> [mg/dl]	0,02	0,90	0,04	0,74	0,20	0,16
Kreatynina (sur.) <i>Creatinine (serum)</i> [mg/dl]	0,18	0,17	-0,07	0,62	-0,24	0,09
Albumina/ kreatynina w moczu [ $\mu$ g alb./mg kreat.] <i>Albumin/ creatinine ratio in urine</i> [ $\mu$ g alb./mg creat.]	-0,02	0,90	0,05	0,71	0,05	0,75



Rycina 30. Korelacja  $VMR_{Larg}$  i wartości hematokrytu u chorych na cukrzycę  
*Figure 30. Correlation between  $VMR_{Larg}$  and hematocrit in patients with diabetes*



Rycina 31. Korelacja  $VMR_{Larg}$  i stężenia CRP w surowicy krwi u chorych na cukrzycę  
*Figure 31. Correlation between  $VMR_{Larg}$  and CRP serum concentration in patients with diabetes*



Rycina 32. Korelacja  $VMR_{Larg}$  i stężenia kw. moczowego w surowicy krwi u chorych na cukrzycę  
*Figure 32. Correlation between  $VMR_{Larg}$  and urea serum concentration in patients with diabetes*

#### 4.3.2. *Grupa kontrolna*

W grupie kontrolnej stwierdzono znamiennej, odwrotną korelację PI i stężenia cholesterolu całkowitego w surowicy krwi. Poza tym nie zaobserwowano innych zależności pomiędzy parametrami biochemicznymi krwi i moczu a wartościami PI oraz VMRr i  $VMR_{Larg}$  (tab. 16).

Tabela 16. Zależności pomiędzy PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> a wynikami badań laboratoryjnych u osób z grupy kontrolnejTable 16. Associations between PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> and lab results in control subjects

	PI n=37		VMRr [%] n=37		VMR <sub>Larg</sub> [%] n=22	
	r	p	r	p	r	p
HbA1c [%]	-0,13	0,45	-0,10	0,58	0,12	0,60
Hematokryt <i>Hematocrit</i> [%]	-0,13	0,46	-0,04	0,80	0,31	0,16
Hemoglobina <i>Hemoglobin</i> [g/dl]	-0,11	0,51	0,10	0,56	0,33	0,13
CRP [mg/l]	-0,29	0,09	0,14	0,43	0,15	0,51
Kwas moczowy <i>Urea</i> [mg/dl]	-0,34	0,06	0,12	0,50	-0,05	0,83
Albumina (sur.) <i>Albumin (serum)</i> [g/l]	-0,01	0,94	-0,25	0,15	0,24	0,29
Fibrynogen <i>Fibrinogen</i> [g/l]	-0,12	0,49	0,25	0,15	-0,01	0,95
OB [mm/godz] <i>Sedimentation rate [mm/h]</i>	0,15	0,56	0,43	0,08	-0,07	0,85
Angiogenina <i>Angiogenin</i> [ng/ml]	-0,22	0,20	-0,03	0,87	0,32	0,14
ADMA [ $\mu$ mol/l]	-0,001	1,00	-0,21	0,23	-0,24	0,29
Cholesterol całkowity <i>Total cholesterol</i> [mg/dl]	<b>-0,62</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,06	0,74	-0,16	0,46
Kreatynina (sur.) <i>Creatinine (serum)</i> [mg/dl]	-0,11	0,50	-0,26	0,13	0,13	0,55
Albumina/ kreatynina w moczu [ $\mu$ g alb./mg kreat.] <i>Albumin/ creatinine ratio</i> <i>in urine</i> [ $\mu$ g alb./mg creat.]	0,16	0,37	-0,16	0,37	0,17	0,44

#### 4.4. Ocena wzajemnych zależności pomiędzy wartościami wskaźnika pulsacyjności i parametrami rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej ocenianymi w teście infuzji L-argininy oraz z użyciem technik prowokacji fizjologicznej

##### 4.4.1. Chorzy na cukrzycę

W grupie pacjentów z cukrzycą analiza korelacji nie wykazała istotnych wzajemnych korelacji pomiędzy wartościami PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> (tab. 17).

Tabela 17. Korelacje pomiędzy PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> u chorych na cukrzycę  
Table 17. Correlations between PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> in patients with diabetes mellitus

	PI n=60		VMRr [%] n=60		VMR <sub>Larg</sub> [%] n=52	
	r	p	r	p	r	p
PI	–	–	-0,12	0,35	-0,01	0,92
VMRr [%]	-0,12	0,35	–	–	-0,06	0,69
VMR <sub>Larg</sub> [%]	-0,01	0,92	-0,06	0,69	–	–

##### 4.4.2. Grupa kontrolna

W grupie kontrolnej analiza statystyczna nie wykazała znamienych statystycznie korelacji pomiędzy wartościami PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> (tab. 18).

Tabela 18. Korelacje pomiędzy PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> w grupie kontrolnej  
Table 18. Correlations between PI, VMRr and VMR<sub>Larg</sub> in control subjects

	PI n=37		VMRr [%] n=37		VMR <sub>Larg</sub> [%] n=22	
	r	p	r	p	r	p
PI	–	–	0,05	0,74	0,02	0,94
VMRr [%]	0,05	0,74	–	–	0,08	0,70
VMR <sub>Larg</sub> [%]	0,02	0,94	0,08	0,70	–	–

#### 4.5. Ocena zależności pomiędzy grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa a wskaźnikiem pulsacyjności oraz reaktywnością wazomotoryczną MCA

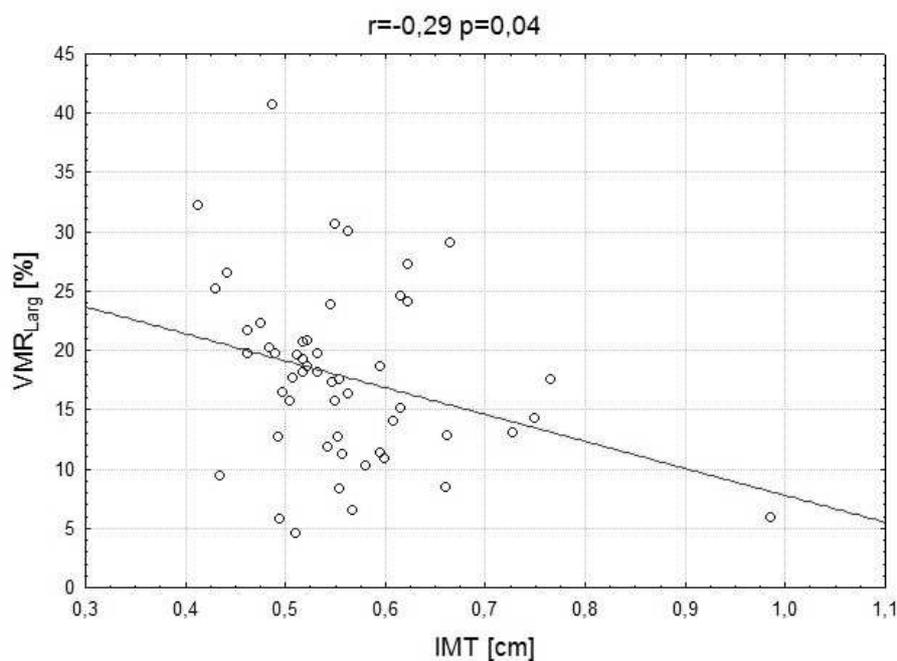
##### 4.5.1. Chorzy na cukrzycę

W grupie pacjentów z cukrzycą analiza korelacji ukazała znamiennej, ujemnej korelację pomiędzy grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa a wartościami reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej prowokowanej infuzją L-argininy (ryc. 33). Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy IMT a wartościami wskaźnika pulsacyjności oraz rezerwy wazomotorycznej MCA (tab. 19).

Tabela 19. Korelacje pomiędzy PI, VMRr, VMR<sub>Larg</sub> a IMT u chorych na cukrzycę

Table 19. Correlations between PI, VMRr, VMR<sub>Larg</sub> and IMT in patients with diabetes mellitus

	PI			VMRr [%]			VMR <sub>Larg</sub> [%]		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
IMT [cm]	60	0,11	0,51	60	0,12	0,47	52	<b>-0,29</b>	<b>0,036</b>



Rycina 33. Korelacja VMR<sub>Larg</sub> i IMT u chorych na cukrzycę

Figure 33. Correlation between VMR<sub>Larg</sub> and IMT in patients with diabetes mellitus

#### 4.5.2. Grupa kontrolna

W grupie osób bez cukrzycy analiza korelacji nie wykazała znamienych statystycznie zależności pomiędzy wartościami IMT a PI, VMRr i VMR<sub>Larg</sub> (tab. 20).

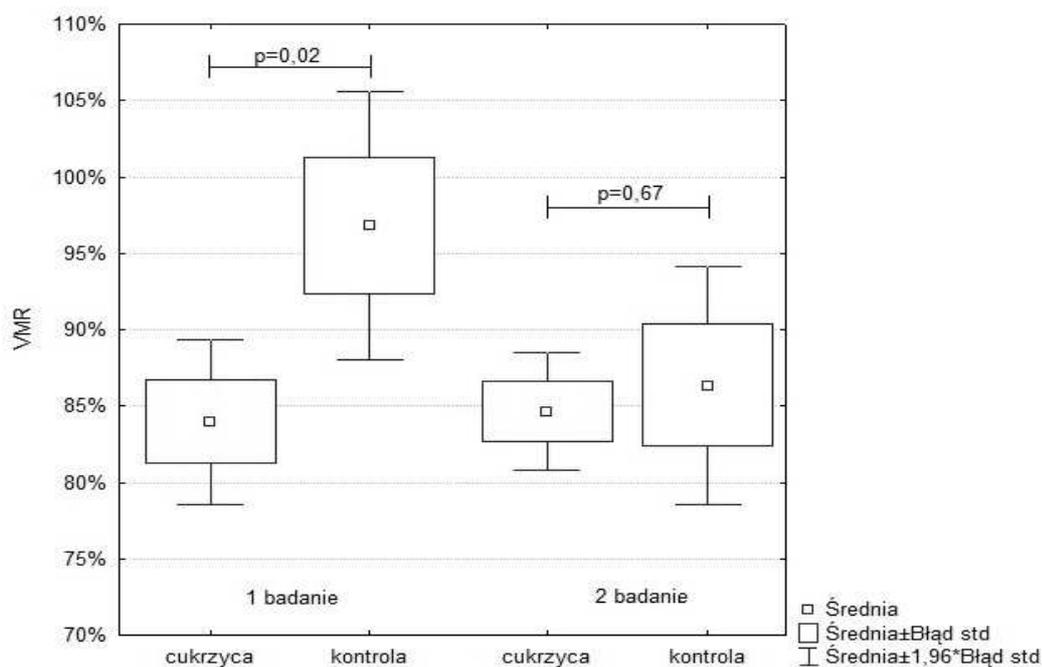
Tabela 20. Korelacje pomiędzy PI, VMRr, VMR<sub>Larg</sub> a IMT w grupie kontrolnej  
Table 20. Correlation between PI, VMRr, VMR<sub>Larg</sub> and IMT in controls

	PI			VMRr [%]			VMR <sub>Larg</sub> [%]		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
IMT [cm]	37	0,13	0,31	37	-0,15	0,24	22	0,09	0,68

#### 4.6. Ocena prospektywna rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej

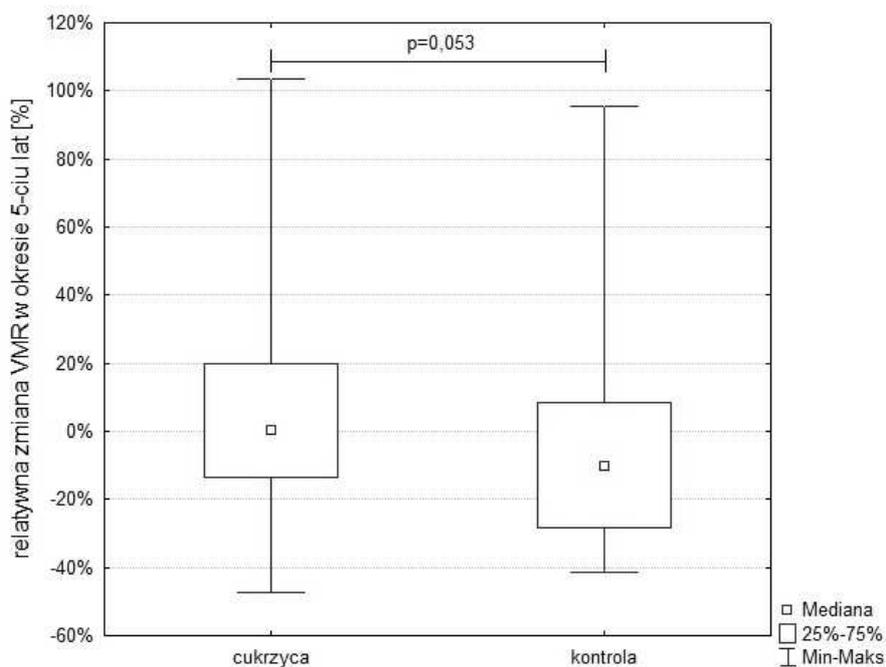
Mediana przedziału czasowego po którym została wykonana ponowna ocena VMRr wynosiła w grupie chorych na cukrzycę 1588 dni a w grupie kontrolnej 1539 dni ( $p=0,56$ ). Średnia wartość VMRr w grupie chorych na cukrzycę w pierwszym badaniu wynosiła  $83,9 (\pm 19,6)\%$ , a w grupie kontrolnej  $96,8 (\pm 19,0)\%$  ( $p=0,02$ ). W powtórny badaniu, wykonany po około 4,5 roku, średnia wartość VMRr w grupie chorych na cukrzycę wynosiła  $84,7 (\pm 14,0)\%$ , a w grupie kontrolnej  $86,3 (\pm 16,4)\%$  ( $p=0,67$ ) (ryc. 34).

W grupie chorych na cukrzycę nie zaobserwowano istotnej zmiany parametrów reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej po okresie obserwacji: mediana względnej zmiany VMRr ( $\Delta$ VMRr) w stosunku do pierwszego badania wyniosła 0,03 (zakres od -47 do +103)%. U osób z grupy kontrolnej wielkość rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej uległa obniżeniu w analogicznym okresie czasu: mediana  $\Delta$ VMRr wyniosła -10,5 (zakres od -41 do +96)%. Różnica  $\Delta$ VMRr pomiędzy grupą chorych na cukrzycę a grupą kontrolną była na granicy znamienności statystycznej ( $p=0,053$ ) (ryc. 35).



Rycina 34. Porównanie VMRr przed i po okresie 4,5 letniej obserwacji pomiędzy grupami chorych na cukrzycę i osób z grupy kontrolnej

Figure 45. Comparison of VMRr before and after the follow up between patients and controls



Rycina 35. Porównanie median względnej zmiany VMRr w okresie obserwacji pomiędzy grupami chorych na cukrzycę i osób z grupy kontrolnej

Figure 35. Comparison of the relative changes of VMRr during the follow up between patients and controls

## 5. DYSKUSJA

### Dobór badanej populacji

Dotychczasowe prace oceniające reaktywność wazomotoryczną naczyń mózgowych z użyciem TCD u osób z cukrzycą typu 1 prowadzone były w różnorodnych grupach wiekowych pacjentów, obejmujących zarówno dzieci, nastolatków jak i młodych dorosłych. Także stopień zaawansowania i częstość występowania powikłań cukrzycy różnił się pomiędzy badanymi populacjami bowiem prezentowane protokoły uwzględniały zarówno chorych bez naczyniowych powikłań cukrzycy, jaki obciążonych mikroangiopatią cukrzycową oraz pacjentów bez poważnych zaburzeń metabolicznych jak i z nasiloną kwasicią metaboliczną [76, 95, 96, 126, 227].

W prezentowanej rozprawie, podobnie jak we wcześniej publikowanych badaniach w skład grup wchodził przedstawiciel obojga płci. Zrównoważona struktura płci pozwoliła na pełniejszą ocenę VMR w badanych populacjach, pozostając w zgodności z faktem, że zmiany reaktywności naczyń mózgowych wywołane wiekiem obserwowane są tylko u kobiet po menopauzie [77, 203]. Mediana wieku uczestników, wynosząca odpowiednio 37,2 lat dla chorych na cukrzycę i 37,5 lat dla osób bez cukrzycy była najbardziej zbliżona do zaprezentowanych w pracach *Fulesdi i wsp* [76] ponieważ inne badania dotyczące osób dorosłych obejmowały odmienne wiekowo grupy uczestników [126, 227].

Częstości występowania nefro-, retino- i neuropatii cukrzycowej nie odbiegały od prezentowanych w badaniach epidemiologicznych odnoszących się do dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 1 [12, 62, 86]. Rozpowszechnienie powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy było także podobne do opisanych w publikacji *Fulesdi i wsp.*, jednak średni czas trwania cukrzycy, wynoszący 20,4 lata, był dłuższy niż u cytowanych powyżej autorów [76]. Chorych o podobnym czasie trwania cukrzycy oceniano natomiast w badaniach *Siro i wsp*, jednakże ich stopień wyrównania cukrzycy był gorszy a częstość występowania systemowych powikłań mikroangiopatycznych większa niż u pacjentów omawianych w niniejszym opracowaniu [227]. Żadna z omawianych populacji nie zawierała pacjentów z makroangiopatycznymi powikłaniami cukrzycy – jawną klinicznie chorobą wieńcową lub istotną hemodynamicznie chorobą miażdżycową tętnicy szyjnej. Charakterystyka współistniejących obciążeń chorobowych – nadciśnienia tętniczego i otyłości w populacji chorych na cukrzycę prezentowanych w niniejszej pracy odpowiadała informacjom przytaczanym w piśmiennictwie [38, 45, 98, 162]. Jedynie częstość występowania zaburzeń lipidowych była większa niż ukazują dane literaturowe [38, 45, 98, 162]. Zarówno *Fulesdi i wsp.*, jak i *Siro i wsp*, nie wypowiedają się na temat rozpowszechniania współistniejących czynników ryzyka sercowo-naczyniowego wśród badanych przez nich osób [76, 227].

Opierając się na wynikach badań WOBASZ i NATPOL PLUS należy zauważyć, że także w grupie kontrolnej większy odsetek chorych obciążony był hiperlipidemią, w porównaniu do ogółu populacji Polaków. Jak wskazują przytoczone badania, w populacji polskiej zaburzenia lipidowe występują u 67% mężczyzn i 64% kobiet [176, 265]. Z kolei rozpowszechnienie nadwagi i otyłości w badanej grupie było mniejsze od opisywanego przez autorów programu WOBASZ, wynoszącego odpowiednio 40,4% i 20,6% u mężczyzn oraz 27,9% i 20,2% u kobiet [26].

Kryteria wykluczenia przewidziane w protokole uwzględniały pacjentów z migrenowymi bólami głowy, arytmia oraz osoby po przebytych urazie czaszkowo-mózgowym, ponieważ udowodniono, że wymienione obciążenia mogą powodować zaburzenia reaktywności naczyń mózgowych [36, 51, 52, 70, 179, 243]. Pomimo doniesień o wpływie estrogenów na przepływ mózgowy w badaniu uczestniczyły kobiety stosujące antykoncepcję doustną [127, 128]. Ich odsetek był jednak znikomy i nie różnił się od siebie w obu grupach.

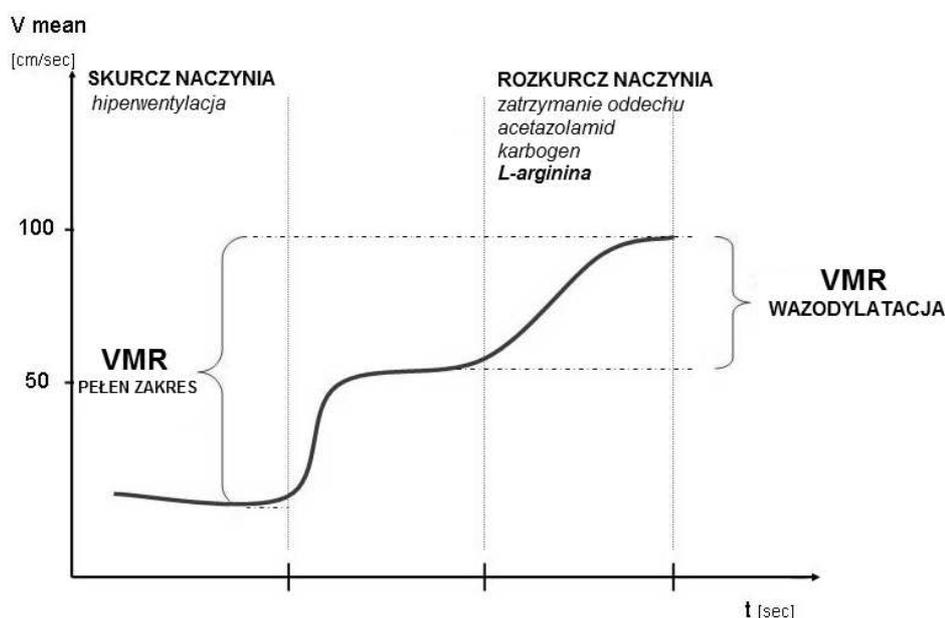
### Wybór metod oceny funkcjonalnej mikrokrążenia mózgowego

Pomiar parametrów reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z pomocą przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej jest szeroko rozpowszechnioną i dobrze udokumentowaną metodą oceny czynnościowej mikrokrążenia mózgowego. Sposoby oceny VMR uwzględnione w protokole badania obejmowały opisywane i stosowane uprzednio metody prowokacji fizjologicznej oraz farmakologicznej. Pierwsze z nich – test hiperwentylacji oraz test zatrzymania oddechu posłużyły ewaluacji VMR zależnej od wahań  $p\text{CO}_2$  [126, 152, 163, 202]. Z kolei druga metoda – test infuzji L-argininy pozwolił na pomiar VMR indukowanej tlenkiem azotu [190, 191, 269, 271]. Testy oddechowe poprzedzały test farmakologiczny, ponieważ normalizacja przepływu następuje stosunkowo szybko – już po około 4 minutach od ich zakończenia [218]. Badanie reaktywności naczyń zostało uzupełnione o pomiar wskaźnika pulsacyjności, którego wzrost jest również uznawany za ultrasonograficzny objaw mikroangiopatii mózgowej. Dodatkowo w protokole, obok oceny czynności naczyń mikrokrążenia mózgowego uwzględniono pomiar grubości kompleksu błona środkowa-błona wewnętrzna będącego czułym wykładnikiem rozwoju makroangiopatii mózgowej.

Wszyscy autorzy dotychczas opublikowanych prac opisujących parametry VMR u pacjentów z cukrzycą typu 1 stosowali testy hiper- lub/ i hipokapniczne. W badaniach *Fulesdi i wsp.* wykorzystano test infuzji acetazolamidu (*Diamox*), wywołujący przejściową hiperkapnię [84, 85]. Ta uznana i stosowana od wielu lat metoda obdarzona jest jednak pewnymi niedogodnościami. Należą do nich częste objawy uboczne, takie jak bóle głowy oraz zaburzenia naczynioruchowe w obrębie powłok skórnych. Dodatkowo, istotnym mankamentem testu z acetazolamidem jest fakt, że wywołuje on tylko dylatację naczyń, a więc z jego pomocą nie można ocenić pełnego zakresu VMR (ryc. 34). Powyższą wadą obarczony jest również test inhalacji karbogenu, stosowany w badaniach u dzieci z cukrzycą publikowanych przez *Hoffman i wsp.* [95, 96].

Ocenę pełnego zakresu VMR, zarówno w fazie wazokonstrykcji, jak i wazodylatacji, umożliwia zastosowanie testów oddechowych: hiperwentylacji oraz zatrzymania oddechu [152, 163, 201]. Użycie fizjologicznych metod prowokacji zmian  $p\text{CO}_2$  pozwala również uzyskać warunki stymulacji najbardziej zbliżone do naturalnych. Ostatnio opublikowane badania *Kozera i wsp.* oraz *Siro i wsp.* ukazują zastosowanie tych testów do pomiaru VMRr u pacjentów z cukrzycą typu 1 [126, 227]. W świetle danych literaturowych powyższa metoda wydaje się być bardziej czuła w porównaniu do testów obejmujących tylko fazę hiperkapniczną, m.in. testu z acetazolamidem (ryc. 34) [125, 126, 233]. Ponadto, brak istotnych objawów ubocznych oraz szybsza, niż w przypadku testu z acetazolamidem normalizacja parametrów przepływu po zakończeniu testów stanowią dodatkowe zalety tej metody [218, 232, 233].

Powyższe przesłanki zdecydowały o wyborze testów oddechowych, jako sposobu stymulacji VMR zależnej od  $p\text{CO}_2$ . Ponadto, ich użycie pozwoliło na przeprowadzenie prospektywnej oceny VMRr w podgrupie osób uczestniczących przed 5 laty w badaniu opartym na tej samej metodologii pomiaru. Dodatkowym argumentem była dobra powtarzalności wykonywanych testów [125, 126]. Zastosowanie nie farmakologicznej prowokacji zmian  $p\text{CO}_2$  umożliwiło również wykonanie testu infuzji L-argininy w stosunkowo niewielkim odstępie czasu, co pozwoliło zachować najbardziej zbliżone do siebie warunki podczas poszczególnych pomiarów. Należy spodziewać się, że propozycja użycia innych niż fizjologiczne metod prowokacji zmian  $p\text{CO}_2$ , np. infuzji acetazolamidu, mogłaby wzbudzić wątpliwości komisji bioetycznej lub zniechęcić część uczestników, wobec planowanej podaży dożylniej L-argininy w dalszym etapie badania. Dlatego, w opinii autora powyższy dobór testów hiper- i hipokapnicznych był jedynym, jaki umożliwiał ocenę VMR z uwzględnieniem  $\text{CO}_2$  i NO jako czynników naczynioruchowych w ramach wspólnego protokołu badawczego.



Rycina 34. Zakres oceny VMR z zastosowanych poszczególnych testów, wg Kozera i wsp. [122]  
 Figure 34. Range of VMR assesment with use of different tests, by Kozera et al. [122]

Główną metodą badawczą ujętą w niniejszym protokole był test infuzji L-argininy, umożliwiający specyficzną ocenę VMR zależnej od funkcji śródbłónka. Substancja ta podana dożylnie, będąca substratem eNOS, powoduje zwiększoną produkcję NO wywołującego wazodylatację naczyń mikrokrążenia mózgowego. W przeciwieństwie do nitrogliceryny, której podaż również prowadzi do rozszerzenia naczyń poprzez mechanizm śródbłónkowy, czas działania L-argininy jest krótszy a objawy uboczne mniejsze [53, 100, 157]. Ponadto, jak wykazali *Micelli i wsp.*, o ile infuzja L-argininy wywołuje stopniowy wzrost prędkości przepływu krwi w naczyniach podstawy mózgu, to stosowanie nitrogliceryny prowadzi do istotnego spadku prędkości przepływu krwi, co może wywoływać dodatkowe objawy niepożądane [157].

Wpływ podaży L-argininy na wzrost CBF wykazany pierwotnie na modelu zwierzęcym przez *Rosenblum i wsp.* został potwierdzony u ludzi przy użyciu PET przez *Reutens i wsp.* [207]. Kolejni autorzy – *Zvan i wsp.* oraz *Oblak i wsp.* stwierdzili występowanie obniżonej reaktywności naczyń mózgowych w teście infuzji L-argininy u pacjentów z udarem mózgu – w tym wywołanym „chorobą małych naczyń” [192, 271]. Ich wyniki „zweryfikowały” wcześniejszą hipotezę o podwyższonej reaktywności naczyń mózgowych w teście infuzji L-argininy u pacjentów w udarem lakunarnym zaprezentowaną przez *Zimmermann i wsp.* [269]. Dalsze badania *Oblak i wsp.* udowodniły korzystny wpływ statyn na wartości  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  oraz korelację wartości  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  z wynikami testu wazodylatacji tętnicy ramiennej (FMD – *flow mediated dilatation*) i pomiarów IMT, co ugruntowało znaczenie tego parametru jako markera dysfunkcji śródbłonna naczyniowego [188–190]. Jedyne badanie ukazujące wyniki pomiarów  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  u chorych z pierwotną mikroangiopatią mózgową przeprowadzono wśród chorych z mózgową autosomalną dominującą arteriopatią z podkorowymi zawałami i leukoencefalopatią (CADASIL – *Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*) [180]. Zaprezentowane w nim wyniki, sprzeczne z pracami *Zvan i wsp.* oraz *Oblak i wsp.* wykazały, podobnie jak *Zimmerman i wsp.* wzmożoną reaktywność naczyń u osób z objawową mikroangiopatią.

Pomimo kluczowej roli patologii *endotelium* w rozwoju powikłań mikroangiopacyjnych cukrzycy, jak dotąd brak jest doniesień na temat zastosowania testu infuzji L-argininy do oceny rezerwy wazomotorycznej u chorych na cukrzycę typu 1. Fakt ten, jak również liczne przesłanki teoretyczne przytoczone we wstępie do niniejszej rozprawy skłoniły autora przeprowadzenia pomiaru  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  w tej grupie chorych. Potencjalna możliwość wykazania zależności pomiędzy dysfunkcją śródbłonna mózgowego a progresją makroangiopatii odzwierciedlaną wzrostem IMT przy pomocy testu infuzji L-argininy była dodatkowym argumentem przemawiającym za wyborem tej metody prowokacji VMR [190].

W związku z koniecznością podaży dożylniej preparatu L-argininy, z prowokacji farmakologicznej odstąpiono u osób obciążonych alergią lub niewyrażających zgody na działania inwazyjne. Kryteria wyłączenia obejmowały również osoby, u których wykryto by obecność ciał ketonowych w moczu, ponieważ firma *Braun* będąca producentem preparatu L-argininy wśród możliwych efektów ubocznych wymienia kwasicę. Pomimo, że u żadnego z uczestników test paskowy moczu nie potwierdził istotnej ketonurii, to jednak w skutek wymieniowych wcześniej innych obostrzeń protokołu ostateczna liczba osób poddanych ocenie  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  była mniejsza niż całkowita liczba osób uczestniczących w badaniu.

Badania *Schmidt i wsp.* wykazały, że parametry przepływu mogą się różnić pomiędzy obiema półkulami mózgu, dlatego obliczenia statystyczne przeprowadzono w oparciu o średnią arytmetyczną wyników pomiaru VMR w obu tętnicach mózgu środkowych [214]. Pozwoliło to wyeliminowanie potencjalnego wpływu asymetrii półkulowej na uzyskane wyniki. W trakcie testów w sposób ciągły monitorowano ciśnienie tętnicze krwi, co jak wskazali *Hetzer i wsp.* zwiększa powtarzalność wyników [92]. Obrona metodyka obliczenia wartości  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  była zgodna z cytowaną w pracach *Oblak i wsp.* prezentujących szereg prac na ten temat, w tym prowadzonych w najbardziej zbliżonych wiekowo populacjach [179, 188, 190, 192].

### Reaktywność wazomotoryczna i wskaźnik pulsacyjności

Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy wynikami pomiarów reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej uzyskanymi u chorymi na cukrzycę typu 1 i osób bez cukrzycy. Wartości VMR oceniane zarówno z użyciem metod prowokacji fizjologicznej jak i infuzji L-argininy nie odbiegały od siebie w obu badanych populacjach. Elastyczność naczyń mikrokrążenia mózgowego odzwierciedlana wartością wskaźnika pulsacyjności była istotnie mniejsza u pacjentów z cukrzycą typu 1.

Występowanie podobnych wartości  $VMR_{Larg}$  u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej może wskazywać na zachowanie prawidłowej funkcji naczynio-rozkurczowej śródbłonna naczyń mózgowych u młodych dorosłych z cukrzycą typu 1. Pomimo znacznego rozpowszechnienia dodatkowych czynników ryzyka oraz obecności systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy mediana wartości  $VMR_{Larg}$  nie odbiega od prezentowanej w literaturze normy, która jak ukazali *Oblak i wsp.* u zdrowych młodych dorosłych wynosi 16–20% [179, 189]. Według wiedzy autora niniejsza rozprawa, jako pierwsza porusza temat specyficznej oceny funkcji śródbłonna naczyń mózgowych u chorych na cukrzycę typu 1, dlatego interpretacja oraz dyskusja uzyskanych wyników w dużej mierze opierają się na publikacjach dotyczących pomiarów  $VMR_{Larg}$  prowadzonych w innych populacjach.

Jedną z przyczyn braku różnicy pomiędzy wartościami  $VMR_{Larg}$  w badanych grupach może być protekcyjny wpływ stosunkowo młodego wieku na naczynia mikrokrążenia mózgowego. Takie wyjaśnienie pośrednio sugerują wyniki prac *Oblak i wsp.*, ukazujące istotne obniżenie  $VMR_{Larg}$  u osób wieku średnim obciążonych innymi, niż cukrzyca naczyniowo-sercowymi czynnikami ryzyka [188, 192]. Również prace *Oka-moto i wsp.* prezentujące obniżenie  $VMR_{Larg}$  u osób w starszym wieku sprzyjają powyższej argumentacji [172]. Obecność ujemnej korelacji pomiędzy wiekiem a  $VMR_{Larg}$  u chorych na cukrzycę, z jednoczesnym brakiem takiej korelacji u osób zdrowych zaprezentowane w niniejszej rozprawie również wspiera hipotezę o rosnącej wraz z wiekiem podatności śródbłonna naczyń mózgowych na uszkodzenia wywołane obecnością cukrzycy.

Innym wytłumaczeniem uzyskania podobnych wartości  $VMR_{Larg}$  w obydwu populacjach może być fakt znacznie częstszego stosowania statyn przez pacjentów z cukrzycą niż przez osoby bez cukrzycy. Zarówno badania *Sterzer i wsp.* jak i *Oblak i wsp.* udowadniają, że taka forma leczenia hipolipemizującego ma korzystne oddziaływanie na funkcję naczynio-rozkurczową śródbłonna naczyń mózgowia [188, 230]. Dlatego nie można wykluczyć, że zastosowanie statyn mogło zniwelować zakres uszkodzenia śródbłonna wywołany cukrzycą oraz zmniejszyć negatywny wpływ innych współistniejących czynników na reaktywność mikrokrążenia mózgowego u tych pacjentów.

Przytaczana powyżej praca badaczy słoweńskich sugeruje jeszcze jedno potencjalne wytłumaczenie braku istotnych różnic wartości  $VMR_{Larg}$  pomiędzy grupami osób z cukrzycą i bez cukrzycy. W swojej publikacji *Oblak i wsp.* wskazują, iż reaktywność MCA w teście infuzji L-argininy u osób z czynnikami ryzyka jest istotnie niższa niż u osób ich pozbawionych, ale nie różni się od reaktywności MCA u pacjentów z „chorobą małych naczyń” [192]. Ponadto, w innym opracowaniu ten sam zespół potwierdza negatywny wpływ poziomu cholesterolu całkowitego i LDL na  $VMR_{Larg}$  [188]. W świetle takich wyników znaczne rozpowszechnienie zaburzeń lipidowych może skutkować zmniejszeniem funkcji wazodylatacyjnej śródbłonna u osób z grupy kontrolnej i również

pośrednio uzasadniać brak różnic  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  pomiędzy badanymi populacjami. Faktu, że u osób bez cukrzycy i bez zaburzeń lipidowych nie stwierdzono istotnie wyższych wartości  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  nie można uznawać za zaprzeczenie powyższej hipotezy, bowiem ich znikoma liczba, wynosząca tylko 3 osoby, wskazuje na możliwość wpływu błędu typu 2 na wyniki adekwatnej analizy statystycznej. Podobnie jak w przypadku chorych na cukrzycę, w piśmiennictwie brak jest informacji na temat wpływu hiperlipidemii na reaktywność śródbłonna naczyń mózgowych u młodych zdrowych dorosłych. Jedyna praca oceniająca wartości  $\text{VMR}_{\text{Larg}}$  u osób w podobnym przedziale wiekowym nie zawiera takich danych, ponieważ obejmowała populację wolną od obecności naczyniowo-sercowych czynników ryzyka [179].

Inaczej, niż w przypadku testu infuzji L-argininy, temat wpływu cukrzycy typu 1 na reaktywność naczyń mózgowych w testach hiper- i hipokapnicznych był uprzednio poruszany przez kilka zespołów badawczych. Pierwsze doniesienia o możliwym upośledzeniu autoregulacji przepływu mózgowego w przebiegu cukrzycy typu 1 zaprezentował *Dandona i wsp* [54]. Badania wykonywane z pomocą tomografii ksenonowej wykazały zmniejszenie reaktywności naczyń mózgowych prowokowanej karbogenem w heterogenicznej grupie chorych obciążonych zarówno cukrzycą I oraz II typu. Ich wyniki potwierdzili następnie *Rodriguez i wsp.* którzy opisali zmniejszenie reaktywności wazomotorycznej naczyń mózgowych w teście z acetazolamidem przeprowadzonym w grupie 25 pacjentów z cukrzycą typu 1 [204].

Pierwsze wyniki pomiarów VMR przeprowadzone z użyciem TCD u pacjentów z typem 1 cukrzycy opublikowali w 1997 roku *Fulesdi i wsp* [76]. Wykorzystując test infuzji acetazolamidu wykazali oni, że VMR ulega obniżeniu w podgrupie pacjentów z długim czasem trwania choroby. Kolejne badanie VMR zaprezentowane w 2004 roku przez *Hoffman i wsp.* nie wykazały zaburzeń reaktywności naczyń mózgowych w grupie dzieci i nastolatków [95]. Dopiero w 2009 r. ukazały się następne prace na temat reaktywności wazomotorycznej MCA prowokowanej zmianami  $\text{pCO}_2$  u dorosłych z cukrzycą typu 1. Ich autorzy: *Kozera i wsp.* oraz *Siro i wsp.*, korzystając z testów prowokacji fizjologicznej – hiperwentylacji oraz testu zatrzymania oddechu, dokonali pomiaru pełnego zakresu VMR. Oba cytowane zespoły uwidocznily niższe wartości VMR w obrębie całej badanej grupy chorych a nie tylko pacjentów z dłuższym czasem trwania choroby [126, 227].

Rezultaty pomiarów VMR z użyciem metod prowokacji fizjologicznej prezentowane w niniejszej rozprawie tylko w niewielkim stopniu zgodne są z wynikami uprzednio opublikowanymi badań własnych, jak i prac innych autorów. Inaczej, niż we wcześniejszych doniesieniach, nie stwierdzono różnic VMR pomiędzy populacją chorych na cukrzycę i grupą kontrolną. Inny przedział wiekowy uczestników zaprezentowany w badaniach *Siro i wsp.*, oraz gorsze wyrównanie cukrzycy w grupie pacjentów badanych przez *Fulesdi i wsp.* zmniejszają wartość porównawczą tych prac. Dlatego, zdaniem autora, porównanie uzyskanych wyników z rezultatami wcześniejszych badań własnych, wydaje się najkorzystniejsze z metodologicznego punktu widzenia, zwłaszcza, że były one prowadzone z użyciem tej samej metodologii i częściowo w obrębie tej samej populacji.

Rozbieżność pomiędzy obecnie zaprezentowanymi a wcześniej uzyskanymi rezultatami może wynikać z faktu, że znaczny odsetek osób z grupy kontrolnej obciążony był zaburzeniami lipidowymi. Wyniki oceny porównawczej aktualnych i wykonanych przed 4,5 laty pomiarów VMR pozwalają przypuszczać, że czynnik ten w połączeniu ze wzrostem wieku badanych zadecydowały o istotnym zmniejszeniu VMR u osób z grupy

kontrolnej. Poparciem takiej hipotezy może być również fakt, że brak istotnych różnic VMR stwierdzony w części badanej populacji chorych zaprezentowany w badaniach *Fulesdi i wsp.* mógł być także efektem wpływu starszego wieku osób bez cukrzycy na obniżenie wartości VMR. Zarówno *Fulesdi i wsp.* jak i *Siro i wsp.* nie podają informacji na temat rozpowszechnienia współlistniejących czynników ryzyka u osób z grupy kontrolnej [76, 227].

Dodatkową przyczyną braku różnic VMR pomiędzy chorymi na cukrzycę a członkami grupy kontrolnej, podobnie jak w przypadku  $VMR_{Larg}$ , może być fakt znacznie częstszego stosowania statyn w grupie osób z cukrzycą. Jak wykazały badania *Sterzer i wsp.* ich użycie zwiększa reaktywność wazomotoryczną MCA w testach hiperkapnicznych u pacjentów z chorobą małych naczyń [230]. W argumentacji nie można również pominąć korzystnego wpływu ACEI na utrzymanie stabilnych parametrów VMR u pacjentów z mikroangiopatią, wykazanego w pracy *Walters i wsp.* [258].

W odróżnieniu od wyników pomiaru reaktywności wazomotorycznej MCA, mediana wskaźnika pulsacyjności była wyższa w grupie chorych na cukrzycę niż osób bez cukrzycy. Spośród autorów nielicznych opublikowanych do tej pory prac poruszających temat pulsacyjności przepływu tętnicy mózgu środkowej u osób z cukrzycą typu 1, jedynie *Siro i wsp.* stwierdzili istotny wzrost wartości PI u chorych po 40 roku życia [227]. Badania *Hoffman i wsp.* oraz wcześniejsza praca *Kozera i wsp.* nie wykazywały wpływu cukrzycy na zmniejszenie elastyczności naczyń mikrokrążenia w młodszych grupach wiekowych pacjentów [95, 126]. Występowanie różnic pomiędzy wartościami PI tylko w starszych populacjach oraz ich dodatnia korelacja z wiekiem chorych na cukrzycę stwierdzona w niniejszej pracy wskazują na istotny wpływ wieku na obniżenie elastyczności naczyń mózgowych w przebiegu cukrzycy typu 1. Fakt, że zaprezentowane dane są również zgodne z rezultatami pomiarów PI u pacjentów z cukrzycą typu 2 jest dodatkową przesłanką przemawiającą na korzyść hipotezy o rosnącej wraz z wiekiem podatności śródbłonna naczyń mózgowych na uszkodzenia wywołane obecnością cukrzycy [139, 140, 177]. Innym argumentem może być mniejsza, niż w przypadku VMR, „wrażliwość” PI na obecność zaburzeń lipidowych potwierdzona, jak dotąd, tylko w przypadku małej grupy chorych z hipercholesterolemią rodzinną [208].

Brak wzajemnych korelacji pomiędzy wartościami PI i VMR ukazany w prezentowanej rozprawie nie odbiega od wcześniej publikowanych rezultatów. W żadnej z dotychczas zaprezentowanych prac, nie tylko dotyczących pacjentów z cukrzycą typu 1, ale także prowadzonych w grupach chorych obarczonych dysfunkcją mikrokrążenia mózgowego o innym podłożu, nie wykazano korelacji pomiędzy wartościami PI i VMR [125, 126, 182, 225, 227]. Brak jest natomiast doniesień, których autorzy oceniali by wzajemne zależności pomiędzy zakresami reaktywności naczyń mózgowych prowokowanych z przy pomocy  $CO_2$  oraz NO u chorych z mikroangiopatią mózgową. Praca opublikowana w 1997 r. przez *Micelli i wsp.* dotycząca pacjentów z miażdżycową chorobą tętnicy szyjnej wskazuje na brak korelacji pomiędzy VMR MCA ocenianą z użyciem testów hiperkapnicznych i infuzji L-argininy, podobne sugestie zawiera też publikacja *Kiss i wsp.* oparta na badaniach naczyń mózgowia oraz siatkówki zdrowych ochotników [118, 158]. Piśmiennictwo nie przynosi żadnych informacji na temat korelacji PI i  $VMR_{Larg}$  i w opinii autora niniejsza praca, jako pierwsza ukazuje ta zagadnienie.

Jak dotąd żadnemu z badaczy nie udało się stwierdzić wzajemnych zależności pomiędzy pulsacyjnością przepływu a zakresem reaktywności MCA, dlatego można dopu-

ścić hipotezę, że zaburzenia elastyczności oraz reaktywności naczyń mózgowych stanowią niezależne od siebie markery uszkodzeń naczyń mikrokrążenia. Ich czułość oraz podatność na wpływ współistniejących obciążeń chorobowych zmienia się z wiekiem badanych osób. W świetle uzyskanych wyników oraz wcześniejszych doniesień innych autorów można zaryzykować hipotezę, iż upływ czasu może niwelować różnice pomiędzy wartościami VMR u osób obciążonych cukrzycą i bez cukrzycy i jednocześnie nasilać różnice pomiędzy wartościami PI w badanych grupach.

### **Wpływ wieku, płci i BMI na reaktywność i pulsacyjność przepływu mózgowego**

Dotychczasowe badania reaktywności naczyń mózgowych prowokowanej CO<sub>2</sub> u chorych na cukrzycę typu 1 nie wykazały jej zależności z wiekiem uczestników [76, 126, 227]. Badania *Kastrup i wsp.* prowadzone w populacji osób bez cukrzycy również nie potwierdzają istotnego wpływu wieku na VMR u młodych dorosłych, ukazując jedynie stopniowy spadek VMR u kobiet w 5–7 dekadzie życia [109]. W przypadku badań z użyciem infuzji L-argininy jedynie *Okamoto i wsp.* poddaje analizie związek wieku badanych i VMR<sub>Larg</sub> stwierdzając, podobnie jak autor niniejszej rozprawy, negatywny wpływ starzenia się na wartości VMR<sub>Larg</sub> [172]. Autorzy dotychczas opublikowanych prac nie wypowiadają się natomiast na temat związku PI z wiekiem badanych chorych na cukrzycę typu 1 [126, 227]. Prezentowane wyniki potwierdzają obecność zależności pomiędzy spadkiem elastyczności naczyń mikrokrążenia mózgowego a wzrostem wieku opisywanej uprzednio u pacjentów z cukrzycą typu 2 [139, 140, 177].

Wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie nie wskazują na istnienie wpływu płci na reaktywność MCA w testach prowokacji CO<sub>2</sub>. Fakt ten zgodny jest z wynikami wcześniejszych prac dotyczących pacjentów z cukrzycą typu 1 [76, 126, 227]. Brak zależności VMR od płci osób bez cukrzycy pozostaje jednak w sprzeczności z rezultatami badań innych autorów, ukazującymi wyższe wartości VMR w populacji kobiet [110, 216]. Większy stopień dysfunkcji śródbłonna naczyń mózgowia, odzwierciedlony niższymi wartościami VMR<sub>Larg</sub> stwierdzony w badanej populacji mężczyzn chorujących na cukrzycę jest natomiast zbieżny z treścią uprzednio publikowanych prac dotyczących pacjentów z objawową mikroangiopatią mózgową [188]. W świetle wiedzy autora dostępne piśmiennictwo nie przynosi natomiast informacji na temat zależności pomiędzy wskaźnikiem pulsacyjności a płcią u chorych na cukrzycę jak w i innych grupach.

Nieliczne prace analizują związek nadwagi i otyłości z czynnością mikrokrążenia mózgowego. Jedynie *Oblak i wsp.* wskazują na negatywny wpływ wzrostu BMI na funkcję naczyniowo-rozkurczową śródbłonna mózgowego u pacjentów z objawową „chorobą małych naczyń” a *Selim i wsp.* prezentują dodatnią korelację pomiędzy BMI i wzrostem oporu naczyń mózgowia u chorych z zespołem metabolicznym [192, 217]. W literaturze brak jest innych danych na temat zależności pomiędzy BMI a VMR i PI. W świetle zaprezentowanej ujemnej korelacji pomiędzy BMI oraz obwodem pasa a VMR<sub>Larg</sub> u pacjentów z cukrzycą można przypuszczać, że nadwaga i otyłość wywołują niekorzystne zmiany czynności śródbłonna już we wczesnym etapie rozwoju mikroangiopatii mózgowej. Powyższe wyniki jak i wcześniejsze doniesienia pozwalają także postawić hipotezę o przewadze metod specyficznej oceny funkcji śródbłonna naczyń

mózgowych nad testami opartymi na użyciu CO<sub>2</sub> w wykrywaniu czynników metabolicznych prowadzących do rozwoju dysfunkcji naczyń mikrokrążenia mózgowego.

### **Wpływ obrazu klinicznego cukrzycy na reaktywność wazomotoryczną**

Dostępne publikacje nie przynoszą jednoznacznych informacji na temat wpływu przebiegu klinicznego cukrzycy typu 1 na reaktywność wazomotoryczną tętnicy mózgu środkowej indukowaną zmianami pCO<sub>2</sub>. Wyniki zaprezentowane w pracy *Fulesdi i wsp.* wykazały zmniejszenie VMR w podgrupie pacjentów z długotrwałym czasem trwania choroby oraz istotny wpływ nefro- i retinopatii cukrzycowej na obniżenie wartości VMR, natomiast badania własne *Kozera i wsp.* uwiaryściły jedynie związek pomiędzy cukrzycową chorobą nerek a pogorszeniem VMR, bez zależności pomiędzy czasem trwania choroby a stopniem uszkodzenia mikrokrążenia mózgowego [76, 126]. W innej z opublikowanych dotychczas prac *Siro i wsp.* badając chorych ze stosunkowo długim, bo ponad 20 letnim czasem trwania cukrzycy, nie uwiaryściły związku VMR z czasem trwania oraz obecnością żadnego z systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy [227]. Rezultaty ostatniej z cytowanych prac podobnie jak czas trwania cukrzycy opisywanych w niej chorych były najbardziej zbliżone do wyników zaprezentowanych w niniejszej rozprawie.

W żadnym z omówionych powyżej opracowań, nie zaprezentowano zależności pomiędzy VMR a wyrównaniem glikemii, odzwierciedlanym przez stężenie HbA<sub>1c</sub> w surowicy krwi, dobowym zapotrzebowaniem na insulinę lub obecnością neuropatii cukrzycowej. Również wpływ częstości występowania incydentów hipoglikemii na VMR również nie był dotychczas opisywany w żadnej z przytoczonych publikacji [76, 126, 227]. Wyniki prezentowanej analizy wykazujące brak zależności pomiędzy częstością występowania incydentów hipoglikemii a pogorszeniem reaktywności naczyń mikrokrążenia mózgowego, mogą stanowić uzupełnienie ostatnio publikowanych doniesień poddających w wątpliwość negatywny wpływ częstych spadków glikemii na funkcję poznawczą pacjentów z cukrzycą typu 1 [75, 144, 146].

W przypadku oceny reaktywności wazomotorycznej zależnej od funkcji śródbłonka z pomocą infuzji L-argininy przedstawionej w ramach niniejszego opracowania, również nie zaobserwowano zależności pomiędzy czasem trwania, poziomem wyrównania oraz obecnością systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy a zakresem wazodylatacji MCA indukowanej NO. Brak dysfunkcji mikrokrążenia mózgowego odzwierciedlonej zmniejszeniem reaktywności naczyń w teście infuzji L-argininy przy jednocześnie częstym występowaniu objawów uszkodzenia naczyń mikrokrążenia systemowego, stwierdzanych u 73 % badanych pacjentów, można tłumaczyć obecnością odmiennych izoenzymów eNOS w śródbłonku naczyń obwodowych i mózgowych oraz ich różną wrażliwością na uszkodzenia wywołane cukrzycą [211]. Fakt mogą potwierdzać badania *Kawagishi i wsp.* ukazujące upośledzenie reakcji naczyniowo-rozkurczowej tętnic siatkówki i nerek po infuzji L-argininy u chorych na cukrzycę typu 2 [112].

W świetle rezultatów powyższych badań należy uznać, że kwestia wzajemnych powiązań pomiędzy występowaniem mikroangiopatii mózgowej i systemowej nadal pozostaje niejasna i wymaga kontynuacji badań. Dalsze prace powinny uwzględniać również inne metody badawcze, np. ocenę zmian strukturalnych oraz czynnościowych w obrębie mikrokrążenia z pomocą MRI. Przydatność tej metody do oceny zależności pomiędzy

mikroangiopatią mózgową i systemową wykazały prace *Cooper i wsp* oraz publikacje *Wesels i wsp* [46, 260]. Na zasadność kontynuowania takich badań w starszych grupach wiekowych pacjentów z typem 1 cukrzycy wskazują wyniki prac ukazujących istotne związki nefro- i retinopatii cukrzycowej z progresją mikroangiopatii mózgowej u pacjentów z cukrzycą typu 2 [81, 143].

Pomimo licznych doniesień ukazujących negatywny wpływ obecności nadciśnienia tętniczego na reaktywności i pulsacyjność naczyń mózgowych w badanej populacji chorych na cukrzycę nie stwierdzono takiej zależności. W opinii autora fakt ten można jedynie wytłumaczyć dobrą kontrolą RR w badanej grupie pacjentów oraz częstym stosowaniem terapii hipotensyjnej w użyciu ACEI, bowiem leki te mają udowodniony korzystny wpływ na VMR u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [183, 258].

### **Zależność pomiędzy IMT a reaktywnością wazomotoryczną MCA**

Pogrubienie kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa jest uznanym wykładnikiem wczesnej fazy rozwoju makroangiopatii. Badania prowadzone u chorych z cukrzycą wykazały istotne zwiększenie grubości kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa w porównaniu do osób zdrowych zarówno w przebiegu cukrzycy 1 jak 2 typu oraz ukazały korelację IMT z wyrównaniem cukrzycy oraz obecnością dodatkowych obciążeń chorobowych [67, 82, 126, 227, 256, 257].

Jak to tej pory nie udało się potwierdzić zależności pomiędzy wartościami IMT a zakresem reaktywności naczyń mózgowych u pacjentów z cukrzycą. Zarówno wcześniejsze badania własne autora z 2009 r. oraz praca *Siro i wsp.* dotyczące chorych na cukrzycę typu 1, jak i praca *van Oers i wsp.* dotycząca chorych na cukrzycę typu II, nie wykazały korelacji pomiędzy IMT i VMR [126, 227, 254]. Fakt ten można tłumaczyć użyciem przez wymienionych autorów niespecyficznym metod oceny VMR opartych na prowokacji CO<sub>2</sub>, a nie testu infuzji L-argininy umożliwiającego selektywny pomiar wazodylatycji zależnej od funkcji śródbłonna. Poparciem tej tezy jest praca *Oblak i wsp.* ukazująca obecność ujemnej korelacji pomiędzy VMR<sub>Larg</sub> i IMT u pacjentów z mikroangiopatią mózgową bez cukrzycy [190]. W niniejszej rozprawie po raz pierwszy wykazano istnienie podobnej zależności u pacjentów z cukrzycą typu 1, co również potwierdza tezę, że tylko użycie specyficznych metod oceny funkcji śródbłonna pozwala na stwierdzenie zależności pomiędzy procesami rozwoju mikro- i makroangiopatii naczyń mózgowych.

W przeciwieństwie do wcześniejszych doniesień, prezentowane badanie nie wykazało różnic pomiędzy wartościami IMT u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej [126, 227]. Taki wynik można tłumaczyć znacznym rozpowszechnieniem zaburzeń lipidowych z jednoczesnym brakiem stosowania terapii statynami u osób bez cukrzycy. Liczne publikacje wskazują, że zastosowanie statyn skutecznie hamuje przyrost IMT u chorych na cukrzycę, dlatego częste występowanie nieleczonej hiperlipidemii u osób z grupy kontrolnej przy jednoczesnym częstym stosowaniu statyn u pacjentów z cukrzycą może być przyczyną braku istotnych różnic IMT pomiędzy badanymi populacjami [72, 78, 147, 156].

Odmienne niż w przypadku VMR, ocena przyrostu IMT po okresie 5 letniej obserwacji nie była jednak możliwa do przeprowadzenia, ponieważ oba pomiary – uprzedni

i aktualny były wykonywane przy pomocy różnego oprzyrządowania i przez różnych ultrasonografistów [126].

### **Wpływ parametrów biochemicznych na reaktywność naczyń mózgowych**

Parametrem biochemicznym ukazującym stopień wyrównania glikemii w okresie 3 miesięcy poprzedzających pomiar jest stężenie hemoglobiny glikowanej w surowicy krwi. Pomimo licznych doniesień na temat wpływu gorszego wyrównania cukrzycy na częstszy rozwój systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy, zarówno wcześniejsze prace, jak i wyniki zaprezentowane w ramach niniejszej rozprawy nie wskazują na istnienie istotnej zależności poziomu HbA1c z parametrami reaktywności mikrokrążenia mózgowego u chorych z cukrzycą typu 1. Dotychczas jedynie *Kadoi i wsp.* wykazali ujemną korelację poziomu HbA1c z wartościami VMR u chorych z cukrzycą typu 2. Badacze ci oceniali wartości VMR u pacjentów poddanych zabiegom operacyjnym w znieczuleniu ogólnym z użyciem infuzji propofolu – a więc w mało reprezentatywnej grupie pacjentów [104].

W piśmiennictwie brak jest doniesień potwierdzających związek pomiędzy obecnością zaburzeń lipidowych a obniżeniem rezerwy wazomotorycznej indukowanej CO<sub>2</sub> u chorych na cukrzycę. Większość autorów cytowanych uprzednio publikacji nie porusza w ogóle tego zagadnienia i jedynie autor niniejszej rozprawy w swojej wcześniejszej pracy prezentuje brak takiej zależności [126]. W literaturze brak jest również doniesień analizujących wpływ obecności zaburzeń lipidowych na czynność naczyniowo-rozkurczową *endotelium* naczyń mózgowych u pacjentów z cukrzycą. Badania funkcji naczyniowo-rozkurczowej śródbłonna naczyń mózgowych z użyciem L-argininy u pacjentów z objawową mikroangiopatią mózgową nieobciążonych cukrzycą, jako jedyne ukazują istotny wpływ wzrostu stężenia cholesterolu całkowitego oraz LDL na obniżenie VMR<sub>Larg</sub> [188]. Wyniki niniejszej pracy nie wskazują jednak na istnienie takiej zależności w badanej populacji pacjentów z cukrzycą, pomimo dużego rozpowszechnienia hiperlipidemii wśród badanych chorych.

Publikacje innych autorów potwierdzają natomiast zależność pomiędzy poziomem markerów stanu zapalnego w surowicy krwi a reaktywnością naczyń mózgowych ocenianą zarówno z użyciem prowokacji CO<sub>2</sub> jak i NO. W przypadku badań z zastosowaniem testów hiperkapnicznych *Fulesdi i wsp.* wykazali negatywną korelację pomiędzy poziomem fibrynogenu i VMR u chorych na cukrzycę typu 1 [76]. Również *van Oers i wsp.* przedstawili podobną zależność dotyczącą CRP u pacjentów z 2 typem cukrzycy [254]. Odwrotnie, w przypadku reaktywności zależnej od funkcji śródbłonna *Zimmermann i wsp.* wykazali zwiększenie VMR<sub>Larg</sub> u osób z podwyższonym stężeniem fibrynogenu, co jest niezgodne z wynikami zaprezentowanymi niniejszej pracy [269].

Nowością, w stosunku do uprzednio prezentowanych wyników, jest wykazanie zależności pomiędzy wzrostem poziomem kwasu moczowego w surowicy krwi i wzrostem parametrów morfologii krwi a obniżeniem VMR<sub>Larg</sub>. Taki rezultat wskazuje na negatywną rolę zmian parametrów reologicznych krwi w procesie uszkodzenia śródbłonna mózgowego oraz na wpływ dodatkowych, w stosunku do uprzednio opisywanych, zaburzeń metabolicznych na uszkodzenie małych naczyń mózgowia.

Porównanie stężenia asymetrycznej dimetyloargininy w surowicy krwi, uznawanej za jeden z biomarkerów dysfunkcji śródbłonna, ukazuje jej niższe stężenia w grupie badanych chorych z cukrzycą typu 1 niż u osób bez cukrzycy. Wynik ten nie odbiega od rezultatów wcześniejszych prac opisujących zbliżone wiekiem i obrazem klinicznym

populacje pacjentów [42, 90, 221]. Pomimo tego, że zmniejszona synteza NO w cukrzyki jest wynikiem zahamowania ekspresji białka eNOS przez zwiększenie poziomu ADMA w surowicy, wyniki niniejszej analizy nie ukazują istotnego związku jej stężenia z reaktywnością naczyń mózgowych ocenianej zarówno w teście infuzji L-argininy, jak też indukowanej CO<sub>2</sub>. Również elastyczność naczyń, odzwierciedlana wartością PI nie koreluje ze stężeniem tego biomarkera. Jak do tej pory, w świetle wiedzy autora, w piśmiennictwie brak jest innych doniesień na ten temat. Brak możliwości konfrontacji uzyskanych wyników z dorobkiem innych autorów nakazuje ostrożność w ich interpretacji w świetle prac ukazujących obecność powiązań z obecnością systemowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzyki [6, 134, 239].

Piśmiennictwo nie przynosi natomiast informacji na temat porównania stężenia angiogeniny w surowicy krwi dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 1 i osób bez cukrzycy. Dostępne doniesienia dotyczą tylko chorych poniżej 24 roku życia, u których stwierdza się wyższy poziom angiogeniny w porównaniu do ich rówieśników bez cukrzycy lub starszych dorosłych obciążonych typem 2 cukrzyki, u których odnotowuje się spadek poziomu tej cytokiny pro-angiogennej w surowicy [151, 223, 224]. Równie skąpe i zarazem sprzeczne dane przynoszą publikacje na temat związku angiogeniny z występowaniem powikłań mikroangiopatycznych cukrzyki typu 1. Praca *Marek i wsp.* wskazuje, podobnie jak wyniki niniejszej analizy, na brak takich powiązań, czemu przeczy jednak praca *Chiarelli i wsp.* ukazująca wysokie stężenie tej cytokiny u młodych chorych z retinopatią cukrzycową [37, 151].

W świetle przesłanek teoretycznych oraz doniesień innych autorów cennym i korzystnym poszerzeniem protokołu badawczego może być oznaczenie stężenia homocysteiny lub VEGF w surowicy krwi oraz ocena ich zależności z parametrami pulsacyjności i reaktywności naczyń mózgowia. Testy te nie były możliwe do przeprowadzenia w ramach prezentowanego protokołu. Zdaniem autora powinny one zostać uwzględnione, podobnie jak neuroobrazowanie z użyciem MRI, w dalszych badaniach dotyczących chorych z cukrzycą typu 1.

### **Wpływ palenia tytoniu na reaktywność i pulsacyjność naczyń mózgowych.**

Dotychczasowe publikacje nie przynoszą informacji na temat wpływu palenia na reaktywność wazomotoryczną, jak też pulsacyjność przepływu mózgowego u chorych na cukrzycę. Żadne z zaprezentowanych dotychczas badań obejmujących pacjentów z cukrzycą typu 1 nie obejmowało pacjentów obciążonych nikotynizmem [76, 126, 227]. Jedynym obejmującym osoby palące było badanie *van Oers i wsp.* przeprowadzone w populacji pacjentów z typem 2 cukrzyki, jednakże również ci autorzy nie przeanalizowali wpływu palenia tytoniu na VMR [254].

Również w przypadku osób bez cukrzycy wpływ palenia na VMR nie został jednoznacznie określony. Wprawdzie prace zespołów *Silvestrini i wsp.* oraz *Boyajian i wsp.* wskazują na istnienie krótkotrwałego, negatywnego wpływu palenia tytoniu na reaktywność wazomotoryczną MCA ocenianą w teście zatrzymania oddechu, jednakże odległe skutki tego nałogu w odniesieniu do VMR nie zostały dotychczas określone [32, 226].

Dlatego, w opinii autora, uzyskane wyniki ukazujące brak wpływu palenia na czynność mikrokrążenia mózgowego w badanej grupie chorych, jak również obecność wzajemnie sprzecznych doniesień na temat wpływu nikotynizmu na rozwój mikroangiopatii systemowych, wskazują na konieczność kontynuowania badań w celu określenia rze-

czywistej podatności mikrokążenia mózgowego na uszkodzenia wywołane tym nałogiem [28, 39, 240, 261].

## 6. WNIOSKI:

Badania przeprowadzone według przyjętego protokołu pozwalają na sformułowanie następujących wniosków dotyczących mikrokrążenia mózgowego u chorych na cukrzycę typu 1:

- nie stwierdza się istotnego wpływu choroby na funkcję naczyniowo-rozkurczową śródbłonna naczyń mózgowych, charakteryzowaną zakresem reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej indukowanej infuzją L-argininy;
- obecność cukrzycy typu 1 powoduje zmniejszenie elastyczności naczyń mikrokrążenia mózgowego, czego wyrazem jest wzrost wskaźnika pulsacyjności;
- płeć męska wiąże się z obniżeniem funkcji naczyniowo-rozkurczowej śródbłonna naczyń mózgowych indukowanej infuzją L-argininy;
- reaktywność wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej indukowana infuzją L-argininy jest ujemnie skorelowana z wiekiem, BMI i obwodem pasa, stężeniem markerów stanu zapalnego i kwasu moczowego w surowicy krwi oraz poziomem hemoglobiny;
- obraz kliniczny choroby charakteryzowany przez czas trwania, poziom wyrównania biochemicznego oraz obecność mikroangiopatycznych powikłań cukrzycy nie wpływa na zakres reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej indukowanej infuzją L-argininy;
- wiek pacjentów i obecność neuropatii cukrzycowej związane są z występowaniem mniejszej elastyczności naczyń mikrokrążenia mózgowego, czego wyrazem jest wzrost wskaźnika pulsacyjności;
- funkcja naczyniowo-rozkurczowa śródbłonna naczyń mózgowych indukowana tlenkiem azotu nie jest skorelowana z zakresem wazodylatacji indukowanej CO<sub>2</sub> jak i z elastycznością mikrokrążenia mózgowego charakteryzowaną wskaźnikiem pulsacyjności;
- reaktywność wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej indukowana CO<sub>2</sub> u chorych na cukrzycę typu 1 nie ulega istotnym zmianom w okresie 5 letniej obserwacji ale ulega istotnemu obniżeniu w podobnej grupie wiekowej osób bez cukrzycy;
- istnieje zależność pomiędzy upośledzeniem funkcji naczyniowo-rozkurczowej śródbłonna naczyń mikrokrążenia mózgowego indukowanej infuzją L-argininy a wykładnikiem wczesnych zmian makroangiopatycznych charakteryzowanym grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa tętnicy szyjnej wspólnej.

## 7. PIŚMIENNICTWO

1. Aaslid R.: Cerebral hemodynamics. W: Newell D.N., Aaslid R. (red.): Transcranial doppler. NY: Raven Press, 1992, s. 49-56.
2. Aaslid R.: Cerebral autoregulation and vasomotor activity. W: Baumgartner R.W. (red.): Handbook on neurovascular ultrasound. Basylea: Karger, 2006, s. 216-228.
3. Aaslid R.: Cerebral autoregulation and vasomotor reactivity. *Front Neurol.Neurosci.* 2006, 21, 216-228.
4. Abbasi F., Asagmi T., Cooke J.P., Lamendola C., McLaughlin T., Reaven G.M., Stuehlinger M., Tsao P.S.: Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am.J.Cardiol.* 2001, 88, 10, 1201-1203.
5. Abbott R.D., Donahue R.P., MacMahon S.W., Reed D.M., Yano K.: Diabetes and the risk of stroke. The Honolulu Heart Program. *JAMA* 1987, 257, 7, 949-952.
6. 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 dimethylarginines. *Diabetes Care* 2009, 32, 11, 2084-2086.
7. Adult Treatment Panel III.: 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.
8. Ahari A., Bergqvist D., Troeng T., Elfstrom J., Hedberg B., Ljungstrom K., Norgren L., Ortenwall P.: Diabetes mellitus as a risk factor for early outcome after carotid endarterectomy-a population-based study. *Eur.J.Vasc.Endovasc.Surg.* 1999, 18, 2, 122-126.
9. Alexandrov A.V., Bornstein N.M.: Advances in neurosonology 2005. *Stroke* 2006, 37, 2, 299-300.
10. Alexandrov A.V., Demchuk A.M., Wein T.H., Grotta J.C.: Yield of transcranial Doppler in acute cerebral ischemia. *Stroke* 1999, 30, 8, 1604-1609.
11. Alexandrov A.V., Sloan M.A., Tegeler C.H., Newell D.N., Lumsden A., Garami Z., Levy C.R., Wong L.K., Douville C., Kaps M., Tsivgoulis G.: Practice Standards for Transcranial Doppler (TCD) Ultrasound. Part II. Clinical Indications and Expected Outcomes. *J.Neuroimaging* 2010, 10, 1552-6569.

12. Allen K.V., Walker J.D.: Microalbuminuria and mortality in long-duration type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2003, 26, 8, 2389-2391.
13. Alvarez-Sabin J., Molina C.A., Montaner J., Arenillas J.F., Huertas R., Ribo M., Codina A., Quintana M.: Effects of admission hyperglycemia on stroke outcome in reperfused tissue plasminogen activator-treated patients. *Stroke* 2003, 34, 5, 1235-1241.
14. American College of Physicians, American Diabetes Association, and American Academy of Ophthalmology.: Screening guidelines for diabetic retinopathy. *Ann.Intern.Med.* 1992, 116, 8, 683-685.
15. Aquil N., Begum I., Ahmed A., Vohra E.A., Soomro B.A.: Risk factors in various subtypes of ischemic stroke according to TOAST criteria. *J.Coll.Physicians Surg.Pak.* 2011, 21, 5, 280-283.
16. Arkuszewski M., Krejza J., Chen R., Kwiatkowski J.L., Ichord R., Zimmerman R., Ohene-Frempong K., Desiderio L., Melhem E.R.: Sickle Cell Disease: Reference Values and Interhemispheric Differences of Nonimaging Transcranial Doppler Blood Flow Parameters. *AJNR Am.J.Neuroradiol.* 2011, 32, 8, 1444-1450.
17. Asagami T., Abbasi F., Stuelinger M., Lamendola C., McLaughlin T., Cooke J.P., Reaven G.M., Tsao P.S.: Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002, 51, 7, 843-846.
18. Asil T., Utku U., Balci K., Uzunca I.: Changing cerebral blood flow velocity by transcranial Doppler during head up tilt in patients with diabetes mellitus. *Clin.Neurol.Neurosurg.* 2007, 109, 1, 1-6.
19. Baena-Diez J.M., Tomas-Pelegrina J., Merino-Audi M., Arboix A., Ellacuria-Torres A., Garcia-Lareo M., Liste-Salvador V.: Modifiable risk factors for non-cardioembolic transient ischemic attacks. Case control studies in the general population. *Rev.Neurol.* 2003, 37, 3, 206-210.
20. Baird T.A., Parsons M.W., Phan T., Butcher K.S., Desmond P.M., Tress B.M., Colman P.G., Chambers B.R., Davis S.M.: Persistent poststroke hyperglycemia is independently associated with infarct expansion and worse clinical outcome. *Stroke* 2003, 34, 9, 2208-2214.
21. Bakker S.L., de Leeuw F.E., de Groot J.C., Hofman A., Koudstaal P.J., Breteler M.M.: Cerebral vasomotor reactivity and cerebral white matter lesions in the elderly. *Neurology* 1999, 52, 3, 578-583.

22. Ballotta E., Da G.G., Renon L.: Is diabetes mellitus a risk factor for carotid endarterectomy? A prospective study. *Surgery* 2001, 129, 2, 146-152.
23. Bartels E.: *Color-Coded Duplex Ultrasonography of the Cerebral Vessels. Atlas and Manual.* Stuttgart: Schattauer, 1999, ISBN 3-7945-1740-7.
24. Beckman J.A., Creager M.A., Libby P.: Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* 2002, 287, 19, 2570-2581.
25. Bein B., Meybohm P., Cavus E., Tonner P.H., Steinfath M., Scholz J., Doerges V.: A comparison of transcranial Doppler with near infrared spectroscopy and indocyanine green during hemorrhagic shock: a prospective experimental study. *Crit. Care* 2006, 10, 1, R18.
26. Biela U., Pająk A., Kaczmarczyk-Chalas K., Głuszek J., Tendera M., Waśkiewicz A., Kurjata P., Wyrzykowski B.: Incidence of overweight and obesity in women and men between the ages of 20-74. Results of the WOBASZ program. *Kardiol.Pol.* 2005, 63, 6 Suppl 4, S632-S635.
27. Billault B.M., Passa P.L.: Factors associated with diabetic microangiopathy: a study of 157 type I (insulin-dependent) diabetic patients. *J.Diabet.Complications* 1991, 5, 4, 238-243.
28. Billault B.M., Passa P.L.: Factors associated with diabetic microangiopathy: a study of 157 type I (insulin-dependent) diabetic patients. *J.Diabet.Complications* 1991, 5, 4, 238-243.
29. Boger R.H., Schwedhelm E., Maas R., Quispe-Bravo S., Skamira C.: ADMA and oxidative stress may relate to the progression of renal disease: rationale and design of the VIVALDI study. *Vasc.Med.* 2005, 10 Suppl 1, S97-102.
30. Bots M.L., van der Wilk E.C., Koudstaal P.J., Hofman A., Grobbee D.E.: Transient neurological attacks in the general population. Prevalence, risk factors, and clinical relevance. *Stroke* 1997, 28, 4, 768-773.
31. Bouchi R., Babazono T., Yoshida N., Nyumura I., Toya K., Hayashi T., Hanai K., Tanaka N., Ishii A., Iwamoto Y.: Silent cerebral infarction is associated with the development and progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Hypertens.Res.* 2010, 33, 10, 1000-1003.

32. Boyajian R.A., Otis S.M.: Acute effects of smoking on human cerebral blood flow: a transcranial Doppler ultrasonography study. *J.Neuroimaging* 2000, 10, 4, 204-208.
33. Bruno A., Biller J., Adams H.P., Jr., Clarke W.R., Woolson R.F., Williams L.S., Hansen M.D.: Acute blood glucose level and outcome from ischemic stroke. Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Investigators. *Neurology* 1999, 52, 2, 280-284.
34. Bruno A., Levine S.R., Frankel M.R., Brott T.G., Lin Y., Tilley B.C., Lyden P.D., Broderick J.P., Kwiatkowski T.G., Fineberg S.E.: Admission glucose level and clinical outcomes in the NINDS rt-PA Stroke Trial. *Neurology* 2002, 59, 5, 669-674.
35. Chan A., Beach K.W., Martin D.C., Strandness D.E., Jr.: Carotid artery disease in NIDDM diabetes. *Diabetes Care* 1983, 6, 6, 562-569.
36. Chernyshev O.Y., Vein A.M., Mathew N.T., Kolosova O.A., Kailasam J., Frolov A., Danilov A.B., Meadors L., Gentry P., Alexandrov A.V.: Blood flow velocity and pulsatility index differences in patients with unilateral migraine. *Headache* 2001, 41, 7, 704-709.
37. Chiarelli F., Pomilio M., Mohn A., Tumini S., Verrotti A., Mezzetti A., Cipollone F., Waśniewska M., Morgese G., Spagnoli A.: Serum angiogenin concentrations in young patients with diabetes mellitus. *Eur.J.Clin.Invest* 2002, 32, 2, 110-114.
38. Chillaron J.J., Sales M.P., Flores-Le-Roux J.A., Murillo J., Benaiges D., Castells I., Goday A., Cano J.F., Pedro-Botet J.: Insulin resistance and hypertension in patients with type 1 diabetes. *J.Diabetes Complications* 2011, 25, 4, 232-236.
39. Christiansen J.S.: Cigarette smoking and prevalence of microangiopathy in juvenile-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1978, 1, 3, 146-149.
40. Chwojnicky K., Kozera G, Wierucki Ł, Nyka WM, Zdrojewski T. Quality of secondary prevention after ischaemic stroke in Pomerania Region in Poland. *Cerebrovasc.Dis.* 2010, 29 Suppl. 2, S961.
41. Chwojnicky K., Yagensky A., Wierucki Ł., Sichkaruk I., Sydor N., Nyka W.M., Wyrzykowski B., Zdrojewski T.: Assessment of the Quality of Secondary Ischemic Stroke Prevention in Selected Urban Areas of Poland and Ukraine: The ASCEP Study Results. *Eur.Neurol.* 2011, 65, 6, 323-331.

42. Cighetti G., Fermo I., Aman C.S., Ferraroni M., Secchi A., Fiorina P., Paroni R.: Dimethylarginines in complicated type 1 diabetes: roles of insulin, glucose, and oxidative stress. *Free Radic.Biol.Med.* 2009, 47, 3, 307-311.
43. Colhoun H.M., Betteridge D.J., Durrington P.N., Hitman G.A., Neil H.A., Livingstone S.J., Thomason M.J., Mackness M.I., Charlton-Menys V., Fuller J.H.: Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2004, 364, 9435, 685-696.
44. Collins R., Armitage J., Parish S., Sleight P., Peto R.: MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003, 361, 9374, 2005-2016.
45. Conway B., Miller R.G., Costacou T., Fried L., Kelsey S., Evans R.W., Orchard T.J.: Temporal patterns in overweight and obesity in Type 1 diabetes. *Diabet.Med.* 2010, 27, 4, 398-404.
46. Cooper L.S., Wong T.Y., Klein R., Sharrett A.R., Bryan R.N., Hubbard L.D., Couper D.J., Heiss G., Sorlie P.D.: Retinal microvascular abnormalities and MRI-defined subclinical cerebral infarction: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Stroke* 2006, 37, 1, 82-86.
47. Costacou T., Edmundowicz D., Prince C., Conway B., Orchard T.J.: Progression of coronary artery calcium in type 1 diabetes mellitus. *Am.J.Cardiol.* 2007, 100, 10, 1543-1547.
48. Cruickshank K., Riste L., Anderson S.G., Wright J.S., Dunn G., Gosling R.G.: Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation* 2002, 106, 16, 2085-2090.
49. Czech A., Cypryk K., Czupryniak L., Grzeszczak W., Gumprecht J., Idzior-Waluś B., Jarosz-Chrobot P., Karnafel W., Kokoszka A., Koblik T., Loba J., Majkowska L., Małecki M., Mirkiewicz-Sieradzka B., Noczyńska A., Sieradzki J., Solnica B., Strojek K., Szelachowska M., Wender-Orzegowska E., Wierusz-Wysocka B.: Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2011. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Praktyczna* 2011, 1, Suppl. A.
50. Członkowska A., Drozdowski W., Gąsecki D., Kobayashi A., Kozubski W., Krawczyk M., Kuczyńska-Zardzewiały A., Kweciński H., Kwolek A., Niewada

- M., Nowacki P., Nyka W.M., Opala G., Opara J., Pierzchała K., Roźniecki J., Ryglewicz D., Sarzyńska-Długosz I., Seniów J., Skowrońska M., Słowik A., Szczepanska-Szerej A., Szczudlik A., Świat M., Wiszniewska M.: Postępowanie w udarze mózgu: wytyczne Grupy Ekspertów Narodowego Programu Profilaktyki i Leczenia Chorób Układu Sercowo-Naczyniowego POLKARD. *Neurol.Neurochir.Pol.* 2008, 42, 4 Suppl. 3, S201-288.
51. Czosnyka M., Balestreri M., Steiner L., Smielewski P., Hutchinson P.J., Matta B., Pickard J.D.: Age, intracranial pressure, autoregulation, and outcome after brain trauma. *J.Neurosurg.* 2005, 102, 3, 450-454.
  52. Czosnyka M., Smielewski P., Piechnik S., Schmidt E.A., Seeley H., al-Rawi P., Matta B.F., Kirkpatrick P.J., Pickard J.D.: Continuous assessment of cerebral autoregulation--clinical verification of the method in head injured patients. *Acta Neurochir.Suppl* 2000, 76, 483-484.
  53. Dahl A., Russell D., Nyberg-Hansen R., Rootwelt K.: Effect of nitroglycerin on cerebral circulation measured by transcranial Doppler and SPECT. *Stroke* 1989, 20, 12, 1733-1736.
  54. Dandona P., James I.M., Newbury P.A., Woollard M.L., Beckett A.G.: Cerebral blood flow in diabetes mellitus: evidence of abnormal cerebrovascular reactivity. *Br.Med.J.* 1978, 2, 6133, 325-326.
  55. Davis T.M., Bruce D.G., Davis W.A.: Predictors of first stroke in Type 1 diabetes: The Fremantle Diabetes Study. *Diabet.Med.* 2005, 22, 5, 551-553.
  56. Davis T.M., Millns H., Stratton I.M., Holman R.R., Turner R.C.: Risk factors for stroke in type 2 diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) 29. *Arch.Intern.Med.* 1999, 159, 10, 1097-1103.
  57. de B.J., Tiehuis A.M., van den Berg E., Reijmer Y.D., Jongen C., Kappelle L.J., Mali W.P., Viergever M.A., Biessels G.J.: Progression of cerebral atrophy and white matter hyperintensities in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010, 33, 6, 1309-1314.
  58. Dedov I.I., Shestakov M.V., Kochemasova T.V., Severina I.S., Baryshnikov A.I.: Endothelial dysfunction in the development of vascular complications in diabetes mellitus. *Ross.Fiziol.Zh.Im I.M.Sechenova* 2001, 87, 8, 1073-1084.

59. Dorigo W., Pulli R., Pratesi G., Fargion A., Marek J., Innocenti A.A., Pratesi C.: Early and long-term results of carotid endarterectomy in diabetic patients. *J.Vasc.Surg.* 2011, 53, 1, 44-52.
60. Duckworth W., Abraira C., Moritz T., Reda D., Emanuele N., Reaven P.D., Zieve F.J., Marks J., Davis S.N., Hayward R., Warren S.R., Goldman S., McCarren M., Vitek M.E., Henderson W.G., Huang G.D.: Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N.Engl.J.Med.* 2009, 360, 2, 129-139.
61. Dyck P.J.: Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve* 1988, 11, 1, 21-32.
62. Dyck P.J., Kratz K.M., Karnes J.L., Litchy W.J., Klein R., Pach J.M., Wilson D.M., O'Brien P.C., Melton L.J., III, Service F.J.: The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology* 1993, 43, 4, 817-824.
63. Dziatkowiak H., Ciechanowska M., Wasikowa R., Symonides-Lawecka A., Bieniasz J., Trippenbach-Dulska H., Korniszewski L., Szybinski Z.: Increase in the incidence of type 1 diabetes mellitus in children in three cities in Poland, 1987-1999. *J.Pediatr.Endocrinol.Metab* 2002, 15, 8, 1153-1160.
64. Eguchi K., Kario K., Shimada K.: Greater impact of coexistence of hypertension and diabetes on silent cerebral infarcts. *Stroke* 2003, 34, 10, 2471-2474.
65. Ejma M.: Neurologiczne powikłania cukrzycy. *Pol.Przegl.Neurolog.* 2010, 6, 4, 179-189.
66. Elmore E.M., Mosquera A., Weinberger J.: The prevalence of asymptomatic intracranial large-vessel occlusive disease: the role of diabetes. *J.Neuroimaging* 2003, 13, 3, 224-227.
67. Espeland M.A., Evans G.W., Wagenknecht L.E., O'Leary D.H., Zaccaro D.J., Crouse J.R., Howard G., Haffner S.M.: Site-specific progression of carotid artery intimal-medial thickness. *Atherosclerosis* 2003, 171, 1, 137-143.
68. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee.: Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc.Dis.* 2008, 25, 5, 457-507.

- 
69. Evangelista V., De B.G., Totani L., Avanzini F., Giorda C.B., Brero L., Levantesi G., Marelli G., Pupillo M., Iacuitti G., Pozzoli G., di S.P., Nada E., de S.G., Dell'Elba G., Amore C., Manarini S., Pecce R., Maione A., Tognoni G., Nicolucci A.: Persistent platelet activation in patients with type 2 diabetes treated with low doses of aspirin. *J.Thromb.Haemost.* 2007, 5, 11, 2197-2203.
  70. Evers S., Schmidt O., Frese A., Husstedt I.W., Ringelstein E.B.: The cerebral hemodynamics of headache associated with sexual activity. *Pain* 2003, 102, 1-2, 73-78.
  71. Fang Y.K., Pan S.Y.: Risk factors for cerebral microbleeds. *Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao.* 2010, 30, 6, 1425-1427.
  72. Fisicaro M., Da Col P.G., Tonizzo M., Fonda M., Bollini M., Cattin L.: Early carotid atherosclerosis in asymptomatic adults with primary moderate hypercholesterolemia: a case-control study. *Atherosclerosis* 1994, 106, 2, 255-261.
  73. Fluri F., Hatz F., Voss B., Lyrer P.A., Engelter S.T.: Restenosis after carotid endarterectomy: significance of newly acquired risk factors. *Eur.J.Neurol.* 2010, 17, 3, 493-498.
  74. Folsom A.R., Eckfeldt J.H., Weitzman S., Ma J., Chambless L.E., Barnes R.W., Cram K.B., Hutchinson R.G.: Relation of carotid artery wall thickness to diabetes mellitus, fasting glucose and insulin, body size, and physical activity. *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Stroke* 1994, 25, 1, 66-73.
  75. Frier B.M.: Cognitive functioning in type 1 diabetes: the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) revisited. *Diabetologia* 2011, 54, 2, 233-236.
  76. Fulesdi B., Limburg M., Bereczki D., Michels R.P., Neuwirth G., Legemate D., Valikovics A., Csiba L.: Impairment of cerebrovascular reactivity in long-term type 1 diabetes. *Diabetes* 1997, 46, 11, 1840-1845.
  77. Fulesdi B., Limburg M., Olah L., Bereczki D., Csiba L., Kollar J.: Lack of gender difference in acetazolamide-induced cerebral vasomotor reactivity in patients suffering from type-1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2001, 38, 3, 107-112.
  78. Furberg C.D., Adams H.P., Jr., Applegate W.B., Byington R.P., Espeland M.A., Hartwell T., Hunninghake D.B., Lefkowitz D.S., Probstfield J., Riley W.A., .: Effect of lovastatin on early carotid atherosclerosis and cardiovascular events.

- Asymptomatic Carotid Artery Progression Study (ACAPS) Research Group. *Circulation* 1994, 90, 4, 1679-1687.
79. Garami Z., Alexandrov A.V.: *Neurosonology. Neurol.Clin.* 2009, 27, 1, 89-108, VIII.
  80. Goldstein L.B., Bushnell C.D., Adams R.J., Appel L.J., Braun L.T., Chaturvedi S., Creager M.A., Culebras A., Eckel R.H., Hart R.G., Hinchey J.A., Howard V.J., Jauch E.C., Levine S.R., Meschia J.F., Moore W.S., Nixon J.V., Pearson T.A.: Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011, 42, 2, 517-584.
  81. Gregorio F., Ambrosi F., Carle F., Boemi M., Boscaro M., Ceravolo M.G., Evangelisti L., Bordoni E., Sardu C.: Microalbuminuria, brain vasomotor reactivity, carotid and kidney arterial flow in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Nutr.Metab* 2004, 17, 6, 323-330.
  82. Gul K., Ustun I., Aydin Y., Berker D., Erol K., Unal M., Barazi A.O., Delibasi T., Guler S.: Carotid intima-media thickness and its relations with the complications in patients with type 1 diabetes mellitus. *Anadolu.Kardiyol.Derg.* 2010, 10, 1, 52-58.
  83. Halm E.A., Tuhim S., Wang J.J., Rockman C., Riles T.S., Chassin M.R.: Risk factors for perioperative death and stroke after carotid endarterectomy: results of the new york carotid artery surgery study. *Stroke* 2009, 40, 1, 221-229.
  84. Hamann G., Jost V., Haass A., Schimrigk K.: Acetazolamide test evaluating cerebral autoregulation. *Stroke* 1991, 22, 10, 1326.
  85. Hamann G.F., Stoll M., Jost V., Bompotti U.A., Fitridge R., Schimrigk K.: Time course of acetazolamide effect in normal persons. *J.Neuroimaging* 1996, 6, 1, 29-31.
  86. Hammes H.P., Kerner W., Hofer S., Kordonouri O., Raile K., Holl R.W.: Diabetic retinopathy in type 1 diabetes-a contemporary analysis of 8,784 patients. *Diabetologia* 2011, 54, 8, 1977-1984.
  87. Hankey G.J., Jamrozik K., Broadhurst R.J., Forbes S., Burvill P.W., Anderson C.S., Stewart-Wynne E.G.: Long-term risk of first recurrent stroke in the Perth Community Stroke Study. *Stroke* 1998, 29, 12, 2491-2500.

- 
88. Hayden M.R., Tyagi S.C.: Vasa vasorum in plaque angiogenesis, metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and atheroscleropathy: a malignant transformation. *Cardiovasc.Diabetol.* 2004, 3, 1.
  89. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators.: Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Lancet* 2000, 355, 9200, 253-259.
  90. 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.
  91. Henry R.M., Kostense P.J., Spijkerman A.M., Dekker J.M., Nijpels G., Heine R.J., Kamp O., Westerhof N., Bouter L.M., Stehouwer C.D.: Arterial stiffness increases with deteriorating glucose tolerance status: the Hoorn Study. *Circulation* 2003, 107, 16, 2089-2095.
  92. Hetzel A., Braune S., Guschlbauer B., Dohms K.: CO2 reactivity testing without blood pressure monitoring? *Stroke* 1999, 30, 2, 398-401.
  93. Hill M.D., Yiannakoulis N., Jeerakathil T., Tu J.V., Svenson L.W., Schopflocher D.P.: The high risk of stroke immediately after transient ischemic attack: a population-based study. *Neurology* 2004, 62, 11, 2015-2020.
  94. Hillen T., Coshall C., Tilling K., Rudd A.G., McGovern R., Wolfe C.D.: Cause of stroke recurrence is multifactorial: patterns, risk factors, and outcomes of stroke recurrence in the South London Stroke Register. *Stroke* 2003, 34, 6, 1457-1463.
  95. Hoffman W.H., Litaker M.S., Pluta R.M., Camens M.L.: Cerebral vasoreactivity in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Endocr.Res.* 2004, 30, 3, 315-325.
  96. Hoffman W.H., Pluta R.M., Fisher A.Q., Wagner M.B., Yanovski J.A.: Transcranial Doppler ultrasound assessment of intracranial hemodynamics in children with diabetic ketoacidosis. *J.Clin.Ultrasound* 1995, 23, 9, 517-523.
  97. Holman R.R., Paul S.K., Bethel M.A., Neil H.A., Matthews D.R.: Long-term follow-up after tight control of blood pressure in type 2 diabetes. *N.Engl.J.Med.* 2008, 359, 15, 1565-1576.

98. Idzior-Walus B., Mattock M.B., Solnica B., Stevens L., Fuller J.H.: Factors associated with plasma lipids and lipoproteins in type 1 diabetes mellitus: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabet.Med.* 2001, 18, 10, 786-796.
99. Idzior-Waluś B., Waluś-Miarka M.: Epidemiologia i ogólna patogeneza przewlekłych powikłań cukrzycy. Ogólna patogeneza przewlekłych powikłań cukrzycy. W: Sieradzki J. (red.): *Cukrzyca. T. 2.* Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 673-688.
100. Iversen H.K., Holm S., Friberg L., Tfelt-Hansen P.: Intracranial hemodynamics during intravenous infusion of glyceryl trinitrate. *J.Headache Pain* 2008, 9, 3, 177-180.
101. Janeczko D.: Epidemiologia cukrzycy typu 2. Podział, diagnostyka i epidemiologia cukrzycy. W: Sieradzki J. (red.): *Cukrzyca. T. 1.* Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 171-219.
102. Jorgensen H., Nakayama H., Raaschou H.O., Olsen T.S.: Stroke in patients with diabetes. The Copenhagen Stroke Study. *Stroke* 1994, 25, 10, 1977-1984.
103. Kaarisalo M.M., Raiha I., Sivenius J., Immonen-Raiha P., Lehtonen A., Sarti C., Mahonen M., Torppa J., Tuomilehto J., Salomaa V.: Diabetes worsens the outcome of acute ischemic stroke. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 2005, 69, 3, 293-298.
104. Kadoi Y., Hinohara H., Kunimoto F., Saito S., Ide M., Hiraoka H., Kawahara F., Goto F.: Diabetic patients have an impaired cerebral vasodilatory response to hypercapnia under propofol anesthesia. *Stroke* 2003, 34, 10, 2399-2403.
105. Kamalesh M., Ng C., El M.H., Eckert G., Sawada S.: Does diabetes accelerate progression of calcific aortic stenosis? *Eur.J.Echocardiogr.* 2009, 10, 6, 723-725.
106. Kannel W.B., McGee D.L.: Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 1979, 241, 19, 2035-2038.
107. Kaplar M., Paragh G., Erdei A., Csongradi E., Varga E., Garai I., Szabados L., Galuska L., Varga J.: Changes in cerebral blood flow detected by SPECT in type 1 and type 2 diabetic patients. *J.Nucl.Med.* 2009, 50, 12, 1993-1998.
108. Karapanayiotides T., Piechowski-Jozwiak B., van M.G., Bogousslavsky J., Devuyst G.: Stroke patterns, etiology, and prognosis in patients with diabetes mellitus. *Neurology* 2004, 62, 9, 1558-1562.

- 
109. Kastrup A., Dichgans J., Niemeier M., Schabet M.: Changes of cerebrovascular CO<sub>2</sub> reactivity during normal aging. *Stroke* 1998, 29, 7, 1311-1314.
  110. Kastrup A., Thomas C., Hartmann C., Schabet M.: Sex dependency of cerebrovascular CO<sub>2</sub> reactivity in normal subjects. *Stroke* 1997, 28, 12, 2353-2356.
  111. Kastrup J., Rorsgaard S., Parving H.H., Lassen N.A.: Impaired autoregulation of cerebral blood flow in long-term type I (insulin-dependent) diabetic patients with nephropathy and retinopathy. *Clin.Physiol* 1986, 6, 6, 549-559.
  112. 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.
  113. Kaźmierski R.: Badanie ultrasonograficzne tetnic szyjnych w odcinku zewnątrzczaszkowym. W: Kaźmierski R.: (red.): Podręcznik diagnostyki ultrasonograficznej w neurologii. Lublin: Czelej, 2011, s. 48-51.
  114. Khan U., Porteous L., Hassan A., Markus H.S.: Risk factor profile of cerebral small vessel disease and its subtypes. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 2007, 78, 7, 702-706.
  115. Kidwell C.S., el-Saden S., Livshits Z., Martin N.A., Glenn T.C., Saver J.L.: Transcranial Doppler pulsatility indices as a measure of diffuse small-vessel disease. *J.Neuroimaging* 2001, 11, 3, 229-235.
  116. Kim B.J., Lee S.H., Kang B.S., Yoon B.W., Roh J.K.: Diabetes increases large artery diseases, but not small artery diseases in the brain. *J.Neurol.* 2008, 255, 8, 1176-1181.
  117. Kim M.H., Moon J.S., Park S.Y., An S.A., Kim O.J., Kim N.K., Oh S.H.: Different Risk Factor Profiles between Silent Brain Infarction and Symptomatic Lacunar Infarction. *Eur.Neurol.* 2011, 65, 5, 250-256.
  118. Kiss B., Dallinger S., Findl O., Rainer G., Eichler H.G., Schmetterer L.: Acetazolamide-induced cerebral and ocular vasodilation in humans is independent of nitric oxide. *Am.J.Physiol* 1999, 276, 6 Pt 2, R1661-R1667.
  119. Koch S.: Extracranial large artery atherothrombosis. W: Rabinstein A.A., Resnick S.J. (red.): *Practical neuroimaging in stroke*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009, s. 139-155.

120. Kozera G, Chwojncki K, Gąsecki D, Wiśniewska M, Szczyrba S, Skrzypek M, Nyka WM. Pre-hospital care in acute ischemic stroke in urban and rural areas: report from prum registry. *Cerebrovasc.Dis.* 2008, 25, Suppl.2, 100.
121. Kozera G., Chwojncki K., Sobolewski P., Stoiński J., Broła W., Zdrojewski T., Nyka W.M.: Epidemiologia i leczenie udaru mózgu w województwie pomorskim oraz regionie świętokrzysko-sandomierskim w świetle danych Pomorskiego Rejestru Udarów Mózgu. *Udar Mózgu* 2010, 12, 1/2, 1-9.
122. Kozera G., Nyka W.M.: Zastosowanie przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej w ocenie autoregulacji przepływu mózgowego. W: Kaźmierski R. (red.): *Podręcznik diagnostyki ultrasonograficznej w neurologii*. Lublin: Czelej, 2011, s. 287-289.
123. Kozera G., Nyka W.M., Siebert J.: Aktualne zasady terapii ostrej fazy udaru mózgu. *Forum.Med.Rodz.* 2011, 5, 2, 147-155.
124. Kozera G., Wojczal J., Gąsecki D.: Badanie ultrasonograficzne w diagnostyce i leczeniu udaru mózgu. W: Siebert J., Nyka W.M. (red.): *Udar mózgu: postępowanie diagnostyczne i terapia w ostrym okresie udaru*. Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 62-71.
125. Kozera G.M., Dubaniewicz M., Zdrojewski T., Madej-Dmochowska A., Mielczarek M., Wojczal J., Chwojncki K., Swierblewska E., Schminke U., Wyrzykowski B., Nyka W.M.: Cerebral vasomotor reactivity and extent of white matter lesions in middle-aged men with arterial hypertension: a pilot study. *Am.J.Hypertens.* 2010, 23, 11, 1198-1203.
126. Kozera G.M., Wolnik B., Kunicka K.B., Szczyrba S., Wojczal J., Schminke U., Nyka W.M., Bieniaszewski L.: Cerebrovascular reactivity, intima-media thickness, and nephropathy presence in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2009, 32, 5, 878-882.
127. Krejza J., Mariak Z., Nowacka A., Melhem E.R., Babikian V.L.: Influence of 17-beta-estradiol on cerebrovascular impedance during menstrual cycle in women. *J.Neurol.Sci.* 2004, 221, 1-2, 61-67.
128. Krejza J., Siemkowicz J., Sawicka M., Szylak A., Kochanowicz J., Mariak Z., Lewko J., Spektor V., Babikian V., Bert R.: Oscillations of cerebrovascular resistance throughout the menstrual cycle in healthy women. *Ultrasound Obstet.Gynecol.* 2003, 22, 6, 627-632.

- 
129. Kretowski A., Kowalska I., Peczyńska J., Urban M., Kinalska I.: Epidemiology of diabetes type 1 in the 0 to 29 year-old age group in Northeastern Poland, 1994-1998--prospective observations. *Pol.Arch.Med.Wewn.* 1999, 101, 6, 509-515.
  130. Królewski A.S., Moczulski D.: Epidemiologia i ogólna patogeneza przewlekłych powikłań cukrzycy. *Epidemiologia i genetyka powikłań cukrzycowych*. W: Sieradzki J. (red.): *Cukrzyca. T. 2*. Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 655-672.
  131. Lai S.L., Weng H.H., Lee M., Hsiao M.C., Lin L.J., Huang W.Y.: Risk factors and subtype analysis of acute ischemic stroke. *Eur.Neurol.* 2008, 60, 5, 230-236.
  132. Laing S.P., Swerdlow A.J., Carpenter L.M., Slater S.D., Burden A.C., Botha J.L., Morris A.D., Waugh N.R., Gatling W., Gale E.A., Patterson C.C., Qiao Z., Keen H.: Mortality from cerebrovascular disease in a cohort of 23 000 patients with insulin-treated diabetes. *Stroke* 2003, 34, 2, 418-421.
  133. 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, 6, 760-765.
  134. 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.
  135. Lal B.K., Kaperonis E.A., Cuadra S., Kapadia I., Hobson R.W.: Patterns of in-stent restenosis after carotid artery stenting: classification and implications for long-term outcome. *J.Vasc.Surg.* 2007, 46, 5, 833-840.
  136. Lass P.: *Medycyna nuklearna w codziennej praktyce lekarskiej*. Gdańsk: Via Medica, 1994, ISBN 8-3901-4473-5.
  137. Lauria G., Gentile M., Fassetta G., Casetta I., Caneve G.: Transient global amnesia and transient ischemic attack: a community-based case-control study. *Acta Neurol.Scand.* 1998, 97, 6, 381-385.
  138. Le D.C., Khodabandehlou T., Zhao H., Vimeux M.: Role and limits of glycemic regulation in the pathogenesis of diabetic microangiopathy. *Clin.Hemorheol.Microcirc.* 1997, 17, 5, 363-370.

139. Lee K.O., Lee K.Y., Lee S.Y., Ahn C.W., Park J.S.: Lacunar infarction in type 2 diabetes is associated with an elevated intracranial arterial pulsatility index. *Yonsei Med.J.* 2007, 48, 5, 802-806.
140. Lee K.Y., Sohn Y.H., Baik J.S., Kim G.W., Kim J.S.: Arterial pulsatility as an index of cerebral microangiopathy in diabetes. *Stroke* 2000, 31, 5, 1111-1115.
141. Lehto S., Ronnema T., Pyorala K., Laakso M.: Predictors of stroke in middle-aged patients with non-insulin-dependent diabetes. *Stroke* 1996, 27, 1, 63-68.
142. Lindegaard K.F.: Indices of pulsatility. W: Newell D.N., Aaslid R. (red.): *Transcranial Doppler*. NY: Raven Press, 1992, s. 67-82.
143. Lippera S., Gregorio F., Ceravolo M.G., Lagalla G., Provinciali L.: Diabetic retinopathy and cerebral hemodynamic impairment in type II diabetes. *Eur.J.Ophthalmol.* 1997, 7, 2, 156-162.
144. Luchsinger J.A., Reitz C., Patel B., Tang M.X., Manly J.J., Mayeux R.: Relation of diabetes to mild cognitive impairment. *Arch.Neurol.* 2007, 64, 4, 570-575.
145. Luchsinger J.A., Tang M.X., Stern Y., Shea S., Mayeux R.: Diabetes mellitus and risk of Alzheimer's disease and dementia with stroke in a multiethnic cohort. *Am.J.Epidemiol.* 2001, 154, 7, 635-641.
146. Ly T.T., Anderson M., McNamara K.A., Davis E.A., Jones T.W.: Neurocognitive Outcomes in Young Adults With Early Onset Type 1 Diabetes: A prospective follow-up study. *Diabetes Care* 2011.
147. Magyar M.T., Paragh G., Katona E., Valikovics A., Seres I., Csiba L., Bereczki D.: Serum cholesterols have a more important role than triglycerides in determining intima-media thickness of the common carotid artery in subjects younger than 55 years of age. *J.Ultrasound Med.* 2004, 23, 9, 1161-1169.
148. Majkowska I.: Cukrzyca a ryzyko udaru mózgu. W: Sieradzki J. (red.): *Cukrzyca. T. 2*. Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 965-973.
149. Malecki M.T., Osmenda G., Waluś-Miarka M., Skupień J., Cyganek K., Mirkiewicz-Sieradzka B., Damek-Guzik T.A., Guzik T.J., Sieradzki J.: Retinopathy in type 2 diabetes mellitus is associated with increased intima-media thickness and endothelial dysfunction. *Eur.J.Clin.Invest* 2008, 38, 12, 925-930.

- 
150. Mankovsky B.N., Piolot R., Mankovsky O.L., Ziegler D.: Impairment of cerebral autoregulation in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy and orthostatic hypotension. *Diabet.Med.* 2003, 20, 2, 119-126.
  151. 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.
  152. Markus H.S., Harrison M.J.: Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus. *Stroke* 1992, 23, 5, 668-673.
  153. Markwalder T.M., Grolimund P., Seiler R.W., Roth F., Aaslid R.: Dependency of blood flow velocity in the middle cerebral artery on end-tidal carbon dioxide partial pressure--a transcranial ultrasound Doppler study. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 1984, 4, 3, 368-372.
  154. Megherbi S.E., Milan C., Minier D., Couvreur G., Osseby G.V., Tilling K., Di C.A., Inzitari D., Wolfe C.D., Moreau T., Giroud M.: Association between diabetes and stroke subtype on survival and functional outcome 3 months after stroke: data from the European BIOMED Stroke Project. *Stroke* 2003, 34, 3, 688-694.
  155. Mendes I., Baptista P., Soares F., Oliveira V., Ferro J.M.: Diabetes mellitus and intracranial stenosis. *Rev.Neurol.* 1999, 28, 11, 1030-1033.
  156. Mercuri M., Bond M.G., Sirtori C.R., Veglia F., Crepaldi G., Feruglio F.S., Descovich G., Ricci G., Rubba P., Mancini M., Gallus G., Bianchi G., D'Alo G., Ventura A.: Pravastatin reduces carotid intima-media thickness progression in an asymptomatic hypercholesterolemic mediterranean population: the Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study. *Am.J.Med.* 1996, 101, 6, 627-634.
  157. Micieli G., Bosone D., Costa A., Cavallini A., Marcheselli S., Pompeo F., Nappi G.: Opposite effects of L-arginine and nitroglycerin on cerebral blood velocity: nitric oxide precursors and cerebral blood velocity. *J.Neurol.Sci.* 1997, 150, 1, 71-75.
  158. Micieli G., Bosone D., Zappoli F., Marcheselli S., Argentero A., Nappi G.: Vasomotor response to CO<sub>2</sub> and L-Arginine in patients with severe internal carotid artery stenosis; pre- and post-surgical evaluation with transcranial Doppler. *J.Neurol.Sci.* 1999, 163, 2, 153-158.

159. Miyamoto N., Tanaka Y., Ueno Y., Tanaka R., Hattori N., Urabe T.: Comparison of clinical backgrounds with anterior versus posterior circulation infarcts. *J.Stroke Cerebrovasc.Dis.* 2010, 19, 5, 393-397.
160. Molina C., Sabin J.A., Montaner J., Rovira A., Abilleira S., Codina A.: Impaired cerebrovascular reactivity as a risk marker for first-ever lacunar infarction: A case-control study. *Stroke* 1999, 30, 11, 2296-2301.
161. Molina C.A., Alexandrov A.V.: Transcranial ultrasound in acute stroke: from diagnosis to therapy. *Cerebrovasc.Dis.* 2007, 24 Suppl 1, 1-6.
162. Momesso D.P., Bussade I., Epifanio M.A., Schettino C.D., Russo L.A., Kupfer R.: Increased epicardial adipose tissue in type 1 diabetes is associated with central obesity and metabolic syndrome. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 2011, 91, 1, 47-53.
163. Muller M., Voges M., Piepgras U., Schimrigk K.: Assessment of cerebral vasomotor reactivity by transcranial Doppler ultrasound and breath-holding. A comparison with acetazolamide as vasodilatory stimulus. *Stroke* 1995, 26, 1, 96-100.
164. Myśliwiec M., Balcerska A., Zorena K., Jędrzejczyk A., Malinowska E., Myśliwiec J.: Increasing Incidence of Diabetes Mellitus Type 1 in Children - the Role of Environmental Factors. *Polish Journal of Environmental Studies* 2007, 16, 1, 109-112.
165. Nakagawa T., Tanabe K., Croker B.P., Johnson R.J., Grant M.B., Kosugi T., Li Q.: Endothelial dysfunction as a potential contributor in diabetic nephropathy. *Nat.Rev.Nephrol.* 2011, 7, 1, 36-44.
166. Nakamura T., Kawagoe Y., Matsuda T., Ueda Y., Ebihara I., Koide H.: Silent cerebral infarction in patients with type 2 diabetic nephropathy. Effects of antiplatelet drug dilazep dihydrochloride. *Diabetes Metab Res.Rev.* 2005, 21, 1, 39-43.
167. Napora M., Zdrojewski Z.: Znaczenie asymetrycznej dimetylgargininy (ADMA) w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. *Nefrol.Dial.Pol.* 2006, 10, 95-100.
168. Ni J., Yao M., Gao S., Cui L.Y.: Stroke risk and prognostic factors of asymptomatic middle cerebral artery atherosclerotic stenosis. *J.Neurol.Sci.* 2011, 301, 1-2, 63-65.

- 
169. Nicolucci A., De B.G., Sacco M., Tognoni G.: AHA/ADA vs. ESC/EASD recommendations on aspirin as a primary prevention strategy in people with diabetes: how the same data generate divergent conclusions. *Eur.Heart J.* 2007, 28, 16, 1925-1927.
  170. Niewada M., Skowrońska M., Ryglewicz D., Kamiński B., Członkowska A.: Acute ischemic stroke care and outcome in centers participating in the Polish National Stroke Prevention and Treatment Registry. *Stroke* 2006, 37, 7, 1837-1843.
  171. Ohkubo Y., Kishikawa H., Araki E., Miyata T., Isami S., Motoyoshi S., Kojima Y., Furuyoshi N., Shichiri M.: Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 1995, 28, 2, 103-117.
  172. Okamoto M., Etani H., Yagita Y., Kinoshita N., Nukada T.: Diminished reserve for cerebral vasomotor response to L-arginine in the elderly: evaluation by transcranial Doppler sonography. *Gerontology* 2001, 47, 3, 131-135.
  173. Oku H., Kida T., Sugiyama T., Hamada J., Sato B., Ikeda T.: Possible involvement of endothelin-1 and nitric oxide in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2001, 21, 6, 647-651.
  174. Olsson T., Viitanen M., Asplund K., Eriksson S., Hagg E.: Prognosis after stroke in diabetic patients. A controlled prospective study. *Diabetologia* 1990, 33, 4, 244-249.
  175. Ong M.E., Chan Y.H., Lin W.P., Chung W.L.: Validating the ABCD(2) Score for predicting stroke risk after transient ischemic attack in the ED. *Am.J.Emerg.Med.* 2010, 28, 1, 44-48.
  176. Pająk 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. *Kardiol.Pol.* 2005, 63, 6 Suppl 4, S620-S625.
  177. Park J.S., Cho M.H., Lee K.Y., Kim C.S., Kim H.J., Nam J.S., Ahn C.W., Cha B.S., Lee E.J., Lim S.K., Kim K.R., Lee H.C.: Cerebral arterial pulsatility and insulin resistance in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 2008, 79, 2, 237-242.

178. Parsons M.W., Barber P.A., Desmond P.M., Baird T.A., Darby D.G., Byrnes G., Tress B.M., Davis S.M.: Acute hyperglycemia adversely affects stroke outcome: a magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *Ann.Neurol.* 2002, 52, 1, 20-28.
179. 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.
180. Peters N., Freilinger T., Opherk C., Pfefferkorn T., Dichgans M.: Enhanced L-arginine-induced vasoreactivity suggests endothelial dysfunction in CADASIL. *J.Neurol.* 2008, 255, 8, 1203-1208.
181. Petty G.W., Brown R.D., Jr., Whisnant J.P., Sicks J.D., O'Fallon W.M., Wiebers D.O.: Survival and recurrence after first cerebral infarction: a population-based study in Rochester, Minnesota, 1975 through 1989. *Neurology* 1998, 50, 1, 208-216.
182. Pfefferkorn T., von Stuckrad-Barre S., Herzog J., Gasser T., Hamann G.F., Dichgans M.: Reduced cerebrovascular CO(2) reactivity in CADASIL: A transcranial Doppler sonography study. *Stroke* 2001, 32, 1, 17-21.
183. Pieniazek W., Dimitrow P.P., Jasinski T.: Comparison of the effect of perindopril and acebutolol on cerebral hemodynamics in hypertensive patients. *Cardiovasc.Drugs Ther.* 2001, 15, 1, 63-67.
184. Pinto A., Tuttolomondo A., Di R.D., Di S.R., Fernandez P., Di G.M., Arnao V., Licata G.: A case control study between diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke. *Int.Angiol.* 2007, 26, 1, 26-32.
185. Pinto A., Tuttolomondo A., Di R.D., La P.S., Di S.R., Fernandez P., Di G.M., Raffa A., Licata G.: Ischemic stroke in patients with diabetic foot. *Int.Angiol.* 2007, 26, 3, 266-269.
186. Pocanic D.: Ten years after publishing results from The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study--HOPE: implications on treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors in clinical practice. *Lijec.Vjesn.* 2011, 133, 1-2, 69-71.
187. Ponz de T.A., Chamarro L.R., Gil G.R., Santonja Llabata J.M., Lainez Andres J.M.: Silent microhemorrhages in patients with symptomatic cerebrovascular disease. *Neurologia* 2008, 23, 9, 587-592.

- 
188. Pretnar-Oblak J., Sabovic M., Sebestjen M., Pogacnik T., Zaletel M.: Influence of atorvastatin treatment on L-arginine cerebrovascular reactivity and flow-mediated dilatation in patients with lacunar infarctions. *Stroke* 2006, 37, 10, 2540-2545.
  189. 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.
  190. 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.
  191. 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.
  192. Pretnar-Oblak J., Zaletel M., Zvan B., Sabovic M., Pogacnik T.: Cerebrovascular reactivity to L-arginine in patients with lacunar infarctions. *Cerebrovasc.Dis.* 2006, 21, 3, 180-186.
  193. Putaala J., Kurkinen M., Tarvos V., Salonen O., Kaste M., Tatlisumak T.: Silent brain infarcts and leukoaraiosis in young adults with first-ever ischemic stroke. *Neurology* 2009, 72, 21, 1823-1829.
  194. Putaala J., Liebkind R., Gordin D., Thorn L.M., Haapaniemi E., Forsblom C., Groop P.H., Kaste M., Tatlisumak T.: Diabetes mellitus and ischemic stroke in the young: Clinical features and long-term prognosis. *Neurology* 2011, 76, 21, 1831-1837.
  195. Qiu C., Cotch M.F., Sigurdsson S., Garcia M., Klein R., Jonasson F., Klein B.E., Eiriksdottir G., Harris T.B., van Buchem M.A., Gudnason V., Launer L.J.: Retinal and cerebral microvascular signs and diabetes: the age, gene/environment susceptibility-Reykjavik study. *Diabetes* 2008, 57, 6, 1645-1650.
  196. Rabinstein A.A., Resnick S.J.: Small vessel disease. W: Rabinstein A.A., Resnick S.J. (red.): *Practical neuroimaging in stroke*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009, s. 169-180.
  197. Raptis A.E., Viberti G.: Pathogenesis of diabetic nephropathy. *Exp.Clin.Endocrinol.Diabetes* 2001, 109 Suppl 2, S424-S437.

198. Reiner Z., Catapano A.L., De B.G., Graham I., Taskinen M.R., Wiklund O., Agewall S., Alegria E., Chapman M.J., Durrington P., Erdine S., Halcox J., Hobbs R., Kjekshus J., Filardi P.P., Riccardi G., Storey R.F., Wood D., Bax J., Vahanian A., Auricchio A., Baumgartner H., Ceconi C., Dean V., Deaton C., Fagard R., Filippatos G., Funck-Brentano C., Hasdai D., Hobbs R., Hoes A., Kearney P., Knuuti J., Kolh P., McDonagh T., Moulin C., Poldermans D., Popescu B.A., Reiner Z., Sechtem U., Sirnes P.A., Tendera M., Torbicki A., Vardas P., Widimsky P., Windecker S., Reviewers D., Funck-Brentano C., Poldermans D., Berkenboom G., De G.J., Descamps O., Gotcheva N., Griffith K., Guida G.F., Gulec S., Henkin Y., Huber K., Kesaniemi Y.A., Lekakis J., Manolis A.J., Marques-Vidal P., Masana L., McMurray J., Mendes M., Pagava Z., Pedersen T., Prescott E., Rato Q., Rosano G., Sans S., Stalenoef A., Tokgozoglu L., Viigimaa M., Wittekoek M.E., Zamorano J.L.: ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur.Heart J.* 2011, 32, 14, 1769-1818.
199. Reutens D.C., McHugh M.D., Toussaint P.J., Evans A.C., Gjedde A., Meyer E., Stewart D.J.: L-arginine infusion increases basal but not activated cerebral blood flow in humans. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 1997, 17, 3, 309-315.
200. Rewers M., Krętkowski A.: *Epidemiologia cukrzycy typu 1*. W: Sieradzki J. (red.): *Cukrzyca*. T. 1. Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 151-163.
201. Ringelstein E.B., Otis S.M.: *Physiological testing of vasomotor reserve*. W: Newell D.N., Aaslid R. (red.): *Transcranial Doppler*. NY: Raven Press, 1992, s. 83-100.
202. Ringelstein E.B., Sievers C., Ecker S., Schneider P.A., Otis S.M.: Noninvasive assessment of CO<sub>2</sub>-induced cerebral vasomotor response in normal individuals and patients with internal carotid artery occlusions. *Stroke* 1988, 19, 8, 963-969.
203. Robertson J.W., Debert C.T., Frayne R., Poulin M.J.: Variability of middle cerebral artery blood flow with hypercapnia in women. *Ultrasound Med.Biol.* 2008, 34, 5, 730-740.
204. Rodriguez G., Nobili F., Celestino M.A., Francione S., Gulli G., Hassan K., Marengo S., Rosadini G., Cordera R.: Regional cerebral blood flow and cerebrovascular reactivity in IDDM. *Diabetes Care* 1993, 16, 2, 462-468.
205. Roglic G., Unwin N., Bennett P.H., Mathers C., Tuomilehto J., Nag S., Connolly V., King H.: The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. *Diabetes Care* 2005, 28, 9, 2130-2135.

- 
206. Rose K.M., Newman B., Tyroler H.A., Szkło M., Arnett D., Srivastava N.: Women, employment status, and hypertension: cross-sectional and prospective findings from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Ann.Epidemiol.* 1999, 9, 6, 374-382.
207. Rosenblum W.I., Nishimura H., Nelson G.H.: Endothelium-dependent L-Arg- and L-NMMA-sensitive mechanisms regulate tone of brain microvessels. *Am.J.Physiol* 1990, 259, 5 Pt 2, H1396-H1401.
208. Rubba P., Mercuri M., Faccenda F., Iannuzzi A., Irace C., Strisciuglio P., Gnasso A., Tang R., Andria G., Bond M.G., .: Premature carotid atherosclerosis: does it occur in both familial hypercholesterolemia and homocystinuria? Ultrasound assessment of arterial intima-media thickness and blood flow velocity. *Stroke* 1994, 25, 5, 943-950.
209. Ryglewicz D., Milewska D.: Epidemiologia udaru mózgu. W: Mazur R., Książkiewicz B., Nyka W.M. (red.): *Udar mózgu w praktyce lekarskiej* . Gdańsk: Via Medica, 2010, s. 5-14.
210. Salenius J.P., Harju E., Riekkinen H.: Early cerebral complications in carotid endarterectomy: risk factors. *J.Cardiovasc.Surg.(Torino)* 1990, 31, 2, 162-167.
211. Samdani A.F., Dawson T.M., Dawson V.L.: Nitric oxide synthase in models of focal ischemia. *Stroke* 1997, 28, 6, 1283-1288.
212. Sarkar R.N., Banerjee S., Basu A.: Comparative evaluation of diabetic and non-diabetic stroke--effect of glycaemia on outcome. *J.Indian Med.Assoc.* 2004, 102, 10, 551-553.
213. Schluter M., Reimers B., Castriota F., Tubler T., Cernetti C., Cremonesi A., Berger J., Colombo A., Schofer J.: Impact of diabetes, patient age, and gender on the 30-day incidence of stroke and death in patients undergoing carotid artery stenting with embolus protection: a post-hoc subanalysis of a prospective multicenter registry. *J.Endovasc.Ther.* 2007, 14, 3, 271-278.
214. Schmidt E.A., Piechnik S.K., Smielewski P., Raabe A., Matta B.F., Czosnyka M.: Symmetry of cerebral hemodynamic indices derived from bilateral transcranial Doppler. *J.Neuroimaging* 2003, 13, 3, 248-254.
215. Schmidt P., Krings T., Willmes K., Roessler F., Reul J., Thron A.: Determination of cognitive hemispheric lateralization by "functional" transcranial Doppler cross-validated by functional MRI. *Stroke* 1999, 30, 5, 939-945.

216. Schwertfeger N., Neu P., Schlattmann P., Lemke H., Heuser I., Bajbouj M.: Cerebrovascular reactivity over time course in healthy subjects. *J.Neurol.Sci.* 2006, 249, 2, 135-139.
217. Selim M., Jones R., Novak P., Zhao P., Novak V.: The effects of body mass index on cerebral blood flow velocity. *Clin.Auton.Res.* 2008, 18, 6, 331-338.
218. Settakis G., Lengyel A., Molnar C., Bereczki D., Csiba L., Fulesdi B.: Transcranial Doppler study of the cerebral hemodynamic changes during breath-holding and hyperventilation tests. *J.Neuroimaging* 2002, 12, 3, 252-258.
219. Settakis G., Molnar C., Kerenyi L., Kollar J., Legemate D., Csiba L., Fulesdi B.: Acetazolamide as a vasodilatory stimulus in cerebrovascular diseases and in conditions affecting the cerebral vasculature. *Eur.J.Neurol.* 2003, 10, 6, 609-620.
220. Sever P.S., Poulter N.R., Dahlof B., Wedel H., Collins R., Beevers G., Caulfield M., Kjeldsen S.E., Kristinsson A., McInnes G.T., Mehlsen J., Nieminen M., O'Brien E., Ostergren J.: Reduction in cardiovascular events with atorvastatin in 2,532 patients with type 2 diabetes: Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--lipid-lowering arm (ASCOT-LLA). *Diabetes Care* 2005, 28, 5, 1151-1157.
221. Sibal L., Agarwal S.C., Schwedhelm E., Luneburg N., Boger 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.
222. Siebert J., Reiwer-Gostomska M.: Angiogenina - nowy kierunek badań w chorobie niedokrwiennej serca. *Kardiol.Pol.* 2006, 64, 8, 899-900.
223. Siebert J., Reiwer-Gostomska M., Babinska Z., Mysliwska J., Mysliwski A., Skopinska-Rozewska E., Sommer E., Skopinski P.: Low serum angiogenin concentrations in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007, 30, 12, 3086-3087.
224. Siebert J., Reiwer-Gostomska M., Myśliwska J., Marek N., Raczyńska K., Glasner L.: Glycemic control influences serum angiogenin concentrations in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010, 33, 8, 1829-1830.
225. Sierra C., de la Sierra A., Chamorro A., Larrousse M., Domenech M., Coca A.: Cerebral hemodynamics and silent cerebral white matter lesions in middle-aged essential hypertensive patients. *Blood Press* 2004, 13, 5, 304-309.

- 
226. Silvestrini M., Troisi E., Matteis M., Cupini L.M., Bernardi G.: Effect of smoking on cerebrovascular reactivity. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 1996, 16, 4, 746-749.
227. Siro P., Molnar C., Katona E., Antek C., Kollar J., Settakis G., Fulesdi B.: Carotid intima-media thickness and cerebrovascular reactivity in long-term type 1 diabetes mellitus. *J.Clin.Ultrasound* 2009, 37, 8, 451-456.
228. Soedamah-Muthu S.S., Chaturvedi N., Teerlink T., Idzior-Waluś B., Fuller J.H., Stehouwer C.D.: Plasma homocysteine and microvascular and macrovascular complications in type 1 diabetes: a cross-sectional nested case-control study. *J.Intern.Med.* 2005, 258, 5, 450-459.
229. Sorteberg W.: Cerebral artery blood flow velocity and cerebral blood flow. W: Newell D.N., Aaslid R. (red.): *Transcranial Doppler*. New York: Raven Press, 1992, s. 57-66.
230. Sterzer P., Meintzschel F., Rosler A., Lanfermann H., Steinmetz H., Sitzer M.: Pravastatin improves cerebral vasomotor reactivity in patients with subcortical small-vessel disease. *Stroke* 2001, 32, 12, 2817-2820.
231. Stevens R.J., Coleman R.L., Adler A.I., Stratton I.M., Matthews D.R., Holman R.R.: Risk factors for myocardial infarction case fatality and stroke case fatality in type 2 diabetes: UKPDS 66. *Diabetes Care* 2004, 27, 1, 201-207.
232. Stoll M., Hamann G.F., Jost V., Bompotti U.A., Fitridge R., Schimrigk K.: Time course of the acetazolamide effect in patients with extracranial carotid artery disease. *J.Neuroimaging* 1996, 6, 3, 144-149.
233. Stoll M., Treib J., Hamann G., Jost V., Argyropulu R.B., Haass A.: The value of various transcranial color doppler tests for determining cerebrovascular reserve capacity. *Ultraschall Med.* 1994, 15, 5, 243-247.
234. Stratton I.M., Adler A.I., Neil H.A., Matthews D.R., Manley S.E., Cull C.A., Hadden D., Turner R.C., Holman R.R.: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000, 321, 7258, 405-412.
235. Stuhlinger M.C., 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. *JAMA* 2002, 287, 11, 1420-1426.

236. Subramanian G., Silva J., Silver F.L., Fang J., Kapral M.K., Oczkowski W., Gould L., O'Donnell M.J.: Risk factors for posterior compared to anterior ischemic stroke: an observational study of the Registry of the Canadian Stroke Network. *Neuroepidemiology* 2009, 33, 1, 12-16.
237. Szczepańska-Szerej A., Wojczal J., Belniak E., Krasieńska-Czerlunczakiewicz H., Stelmasiak Z.: Does diabetes mellitus affect the course and prognosis of ischemic stroke? *Neurol.Neurochir.Pol.* 2003, 37, 2, 327-337.
238. Tai Y.F., Piccini P.: Applications of positron emission tomography (PET) in neurology. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 2004, 75, 5, 669-676.
239. Tarnow L., Hovind P., Teerlink T., Stehouwer C.D., 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.
240. Telmer S., Christiansen J.S., Andersen A.R., Nerup J., Deckert T.: Smoking habits and prevalence of clinical diabetic microangiopathy in insulin-dependent diabetics. *Acta Med.Scand.* 1984, 215, 1, 63-68.
241. Terborg C., Gora F., Weiller C., Rother J.: Reduced vasomotor reactivity in cerebral microangiopathy : a study with near-infrared spectroscopy and transcranial Doppler sonography. *Stroke* 2000, 31, 4, 924-929.
242. The Diabetes Control and Complications Trial Collaborators.: The absence of a glycemic threshold for the development of long-term complications: the perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1996, 45, 10, 1289-1298.
243. Thie A., Carvajal-Lizano M., Schlichting U., Spitzer K., Kunze K.: Multimodal tests of cerebrovascular reactivity in migraine: a transcranial Doppler study. *J.Neurol.* 1992, 239, 6, 338-342.
244. Tiehuis A.M., van der Graaf Y., Visseren F.L., Vincken K.L., Biessels G.J., Appelman A.P., Kappelle L.J., Mali W.P.: Diabetes increases atrophy and vascular lesions on brain MRI in patients with symptomatic arterial disease. *Stroke* 2008, 39, 5, 1600-1603.
245. Tkac I.: Effect of intensive glycemic control on cardiovascular outcomes and all-cause mortality in type 2 diabetes: Overview and metaanalysis of five trials. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 2009, 86 Suppl 1, S57-S62.

- 
246. Touboul P.J., Hennerici M.G., Meairs S., Adams H., Amarenco P., Bornstein N., Csiba L., Desvarieux M., Ebrahim S., Fatar M., Hernandez H.R., Jaff M., Kownator S., Prati P., Rundek T., Sitzer M., Schminke U., Tardif J.C., Taylor A., Vicaud 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.
247. Touboul P.J., Hennerici M.G., Meairs S., Adams H., Amarenco P., Desvarieux M., Ebrahim S., Fatar M., Hernandez H.R., Kownator S., Prati P., Rundek T., Taylor A., Bornstein N., Csiba L., Vicaud E., Woo K.S., Zannad F.: Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc.Dis.* 2004, 18, 4, 346-349.
248. Trzebski A.: Przepływ krwi i regulacja ciśnienia tętniczego krwi. W: Traczyk W., Trzebski A. (red.): *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej*. T. 2. Warszawa: PZWL, 2001, s. 599-605.
249. Tuomilehto J., Rastenyte D., Jousilahti P., Sarti C., Vartiainen E.: Diabetes mellitus as a risk factor for death from stroke. Prospective study of the middle-aged Finnish population. *Stroke* 1996, 27, 2, 210-215.
250. Turner R.C., Cull C.A., Frighi V., Holman R.R.: Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA* 1999, 281, 21, 2005-2012.
251. Tuttolomondo A., Pinto A., Salemi G., Di R.D., Di S.R., Fernandez P., Ragonese P., Savettieri G., Licata G.: Diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke: differences, subtype distribution and outcome. *Nutr.Metab Cardiovasc.Dis.* 2008, 18, 2, 152-157.
252. van Elderen S.G., Brandts A., van der Grond J., Westenberg J.J., Kroft L.J., van Buchem M.A., Smit J.W., de R.A.: Cerebral perfusion and aortic stiffness are independent predictors of white matter brain atrophy in type 1 diabetic patients assessed with magnetic resonance imaging. *Diabetes Care* 2011, 34, 2, 459-463.
253. van Hecke M.V., Dekker J.M., Nijpels G., Stolk R.P., Henry R.M., Heine R.J., Bouter L.M., Stehouwer C.D., Polak B.C.: Are retinal microvascular abnormalities associated with large artery endothelial dysfunction and intima-media thickness? The Hoorn Study. *Clin.Sci.(Lond)* 2006, 110, 5, 597-604.

- 
254. van Oers C.A., Manschot S.M., van Huffelen A.C., Kappelle L.J., Biessels G.J.: Cerebrovascular reserve capacity is preserved in a population-based sample of patients with type 2 diabetes mellitus. *Cerebrovasc.Dis.* 2006, 22, 1, 46-50.
  255. Vermeer S.E., Longstreth W.T., Jr., Koudstaal P.J.: Silent brain infarcts: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2007, 6, 7, 611-619.
  256. Wagenknecht L.E., D'Agostino R., Jr., Savage P.J., O'Leary D.H., Saad M.F., Haffner S.M.: Duration of diabetes and carotid wall thickness. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Stroke* 1997, 28, 5, 999-1005.
  257. Wagenknecht L.E., Zaccaro D., Espeland M.A., Karter A.J., O'Leary D.H., Haffner S.M.: Diabetes and progression of carotid atherosclerosis: the insulin resistance atherosclerosis study. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2003, 23, 6, 1035-1041.
  258. Walters M., Muir S., Shah I., Lees K.: Effect of perindopril on cerebral vasomotor reactivity in patients with lacunar infarction. *Stroke* 2004, 35, 8, 1899-1902.
  259. Webby D.: Losartan reduced stroke and new onset diabetes more than atenolol in essential hypertension with signs of left ventricular hypertrophy. *Evid.Based.Nurs.* 2002, 5, 4, 112.
  260. Wessels A.M., Rombouts S.A., Simsek S., Kuijper J.P., Kostense P.J., Barkhof F., Scheltens P., Snoek F.J., Heine R.J.: Microvascular disease in type 1 diabetes alters brain activation: a functional magnetic resonance imaging study. *Diabetes* 2006, 55, 2, 334-340.
  261. West K.M., Erdreich L.S., Stober J.A.: Absence of a relationship between smoking and diabetic microangiopathy. *Diabetes Care* 1980, 3, 2, 250-252.
  262. Wróbel M.: *Epidemiologia cukrzycy*. W: Strojek K. (red.): *Diabetologia*. Poznań: Termedia, 2008, s. 7-18.
  263. Yoshinari M., Kaku R., Iwase M., Iino K., Yamamoto M., Satou Y., Minami M., Kodama T., Fujishima M.: Development of ischemic stroke in normotensive and hypertensive diabetic patients with or without antihypertensive treatment: an 8-year followup study. *J.Diabetes Complications* 1997, 11, 1, 9-14.
  264. Zangerle A., Kiechl S., Spiegel M., Furtner M., Knoflach M., Werner P., Mair A., Wille G., Schmidauer C., Gautschi K., Gotwald T., Felber S., Poewe W., Willeit J.: Recanalization after thrombolysis in stroke patients: predictors and prognostic implications. *Neurology* 2007, 68, 1, 39-44.

- 
265. Zdrojewski T., Bandosz P., Konarski R., Jakubowski Z., Manikowski A., Wołkiewicz E., Łysiak-Szydłowska W., Bautembach S., Wyrzykowski B.: Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w Polsce : wyniki badania NATPOL PLUS. *Kardiol.Pol.* 2004, 60, suppl.4, 5-26.
266. Zheng Z., Chen H., Ke G., Fan Y., Zou H., Sun X., Gu Q., Xu X., Ho P.C.: Protective effect of perindopril on diabetic retinopathy is associated with decreased vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio: involvement of a mitochondria-reactive oxygen species pathway. *Diabetes* 2009, 58, 4, 954-964.
267. Zimering M.B., Anderson R.J., Moritz T.E., Ge L.: Endothelial cell inhibitory autoantibodies are associated with laser photocoagulation in adults from the Veterans Affairs Diabetes Trial. *Metabolism* 2009, 58, 6, 882-887.
268. Zimmermann C., Haberl R.L.: L-arginine improves diminished cerebral CO<sub>2</sub> reactivity in patients. *Stroke* 2003, 34, 3, 643-647.
269. Zimmermann C., Wimmer M., Haberl R.L.: L-arginine-mediated vasoreactivity in patients with a risk of stroke. *Cerebrovasc.Dis.* 2004, 17, 2-3, 128-133.
270. Zozulińska D., Wierusz-Wysocka B.: Ogólna patogeneza zmian tętnic w cukrzycy. W: Sieradzki J. (red.): *Cukrzyca. T. 2.* Gdańsk: Via Medica, 2007, s. 883-896.
271. Zvan B., Zaletel M., Pogacnik T., Kiauta T.: Testing of cerebral endothelium function with L-arginine after stroke. *Int.Angiol.* 2002, 21, 3, 256-259.

## 8. STRESZCZENIE

Choroby naczyniowe ośrodkowego układu nerwowego stanowią jedną z najważniejszych przyczyn utraty zdrowia w XXI wieku. W naszym kraju udar mózgu dotyka nawet 90 tys. osób rocznie, z których tylko 1/3 wraca do samodzielnego życia. Kluczowymi dla poprawy tak niekorzystnej sytuacji epidemiologicznej są identyfikacja i skuteczna kontrola modyfikowalnych czynników ryzyka udaru mózgu.

Cukrzyca jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych czynników ryzyka udaru, stwierdzanym u 1/4 pacjentów z ostrymi incydentami mózgowo-naczyniowymi. Stały wzrost zapadalności na cukrzycę przybiera postać epidemii i tylko w samej Europie 50 mln osób obciążonych jest tą chorobą. W Polsce liczba chorych na cukrzycę wynosi co najmniej 1,6 mln, z czego około 10 % stanowią pacjenci z cukrzycą typu 1. Polska w ostatnim dziesięcioleciu znalazła się w grupie państw o średniej zapadalności na typ 1 cukrzycy.

Przebieg chorób naczyniowych OUN u chorych z cukrzycą cechują istotne odrębności etiopatogenetyczne, kliniczne i rokownicze w stosunku do pacjentów bez cukrzycy. Jej obecność może skutkować gorszym rokowaniem, mniejszą skutecznością terapii oraz zwiększoną częstością nawrotów udaru mózgu. U podłoża rozwoju zaburzeń krążenia mózgowego w przebiegu cukrzycy leży przyspieszony rozwój makroangiopatii naczyń mózgowych i częstsze, niż w populacji ogólnej, występowanie mikroangiopatii mózgowej. W obydwu przypadkach kluczowym patomechanizmem prowadzącym do wystąpienia zmian czynnościowych i strukturalnych w obrębie naczyń mózgowia jest dysfunkcja śródbłonna wywołana przewlekłą hiperglikemią.

Wczesnym objawem dysfunkcji mikrokrążenia mózgowego jest upośledzenie mechanizmów autoregulacji przepływu mózgowego, odpowiedzialnych za zapewnienie stabilnej perfuzji mózgowia. Wiarygodnym sposobem oceny ich wydolności jest pomiar reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z pomocą przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej, ukazującym zmiany przepływu krwi w naczyniu w odpowiedzi na działanie substancji wazoaktywnych. Obniżenie rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej, będącej ilościowym wykładnikiem zakresu reaktywności naczynia, stwierdzano u chorych z typem 1 cukrzycy, co stanowiło potwierdzenie hipotezy o wczesnym rozwoju mikroangiopatii mózgowej w tej grupie chorych. Stosowana dotychczas metodyka, oparta na prowokacji reakcji wazomotorycznej przy pomocy dwutlenku węgla, nie pozwalała jednak na przeprowadzenie selektywnej oceny funkcji naczynio-rozkurczowej śródbłonna naczyń.

Test infuzji L-argininy umożliwia wybiórczą ocenę funkcji wazodylatoryjnej śródbłonna naczyń mózgowych mediowanej NO. Metoda ta nie była dotychczas stosowana u chorych na cukrzycę typu 1. W piśmiennictwie brak jest również doniesień na temat oceny progresji zaburzeń rezerwy wazomotorycznej w przebiegu cukrzycy. Dotychczasowe prace nie potwierdziły także związku pomiędzy zaawansowaniem mikroangiopatii mózgowej, objawiającym się obniżeniem reaktywności naczyń mózgowia, a stopniem zaawansowania makroangiopatii mózgowej odzwierciedlanym przez pogrubienie kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa tętnicy szyjnej wspólnej.

Dlatego celem niniejszej rozprawy była ocena mechanizmów reaktywności przepływu mózgowego zależnych od funkcji śródbłonna u osób z cukrzycą typu 1 poprzez pomiar wartości rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z zastosowaniem przezczaszkowej ultrasonografii dopplerowskiej oraz testu infuzji L-argininy w grupie chorych na cukrzycę typu 1 i w grupie kontrolnej. Ocenie poddano zależności pomiędzy parametrami rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej, a czasem trwania i obrazem klinicznym cukrzycy, obecnością klasycznych i tzw. „nowych” czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, stopniem zaawansowania pozamózgowych powikłań makroangiopatycznych cukrzycy wyrażonym grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa oraz elastycznością naczyń mózgowych wyrażoną wartością wskaźnika pulsacyjności przepływu w tętnicy mózgu środkowej. Dodatkowo oceniono zmienność parametrów rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej mierzonej z pomocą testów prowokacji CO<sub>2</sub> w okresie 5 letniej prospektywnej obserwacji u chorych na cukrzycę typu 1 i w grupie kontrolnej.

Badanie przeprowadzono w Pracowni Neurosonologii Kliniki Neurologii Dorosłych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz w Zakładzie Fizjologii Klinicznej GUMed. Badaniem objęto 60 pacjentów z cukrzycą typu 1 (mediana wieku 37,2 lata; 45% mężczyzn), pacjentów Regionalnego Centrum Diabetologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku oraz 37 subiektywnie zdrowych osób bez cukrzycy typu 1 (mediana wieku 37,5 lata; 46,8% mężczyzn). 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 badania obejmował: pobranie materiału do badań laboratoryjnych, badanie podmiotowe i przedmiotowe, w tym badanie neurologiczne, badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych i kręgowych w odcinku zewnątrzczaszkowym z pomiarem IMT, badanie USG przezczaszkowe naczyń tętniczych podstawy mózgu oraz pomiar rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej z użyciem testu infuzji L-argininy i testów prowokacji CO<sub>2</sub>.

Badane grupy były zrównoważone, co do proporcji płci i wieku, nie zaobserwowano także istotnych statystycznie różnic, co do częstości występowania hipelipidemii, nadwagi i otyłości, jak i częstości stosowania doustnych preparatów antykoncepcyjnych lub raportowania regularnej aktywności fizycznej. W grupie chorych na cukrzycę stwierdzono częstsze występowanie nałogu palenia tytoniu oraz znamienne wyższe wartości mediany stężenia CRP i HbA1C w surowicy krwi, OB oraz wskaźnika albumina/kreatynina w moczu w porównaniu do osób bez cukrzycy, natomiast nie zaobserwowano różnic dotyczących średnich wartości hematokrytu i stężenia albuminy w surowicy krwi jak i mediany stężenia hemoglobiny oraz poziomu kreatyniny, fibrynogenu i parametrów lipidogramu pomiędzy obiema grupami. Mediany stężenia angiogeniny, asymetrycznej dimetyloargininy oraz kwasu moczowego w grupie badanych chorych były istotnie niższe niż w grupie kontrolnej.

Mediana wskaźnika pulsacyjności przepływu w tętnicy mózgu środkowej była istotnie wyższa u pacjentów z cukrzycą w porównaniu do osób niechorujących na cukrzycę (0,82 vs. 0,75; p=0,001). Średnie wartości rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej ocenianej z użyciem testów prowokacji CO<sub>2</sub> u chorych z cukrzycą i u osób zdrowych nie różniły się w sposób statystycznie znamieny (84,5% vs. 86,7%, p=0,48). Również mediana wartości rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej ocenia-

nej z użyciem infuzji L-argininy zmierzona w grupie chorych nie różniła się w sposób statystycznie istotny od mediany wartości stwierdzonych w grupie kontrolnej (17,6% vs. 17,3%,  $p=0,91$ ). U pacjentów z cukrzycą mediana grubości kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa wyniosła 0,054 cm a wartość mediany IMT w grupie kontrolnej wyniosła 0,052 cm ( $p=0,12$ ).

Mediana wartości wskaźnika pulsacyjności była znamienne wyższa w podgrupie pacjentów z cukrzycą z dłuższym czasem trwania choroby oraz u chorych na cukrzycę powikłaną obecnością neuropatii cukrzycowej. Nie stwierdzono wpływu płci, BMI, palenia tytoniu, aktywności fizycznej, wyrównania cukrzycy oraz współistniejących obciążeń chorobowych i terapii farmakologicznych jak i obecności retinopatii lub nefropatii cukrzycowej na wartości wskaźnika pulsacyjności. Nie zaobserwowano znamienych różnic dotyczących wartości rezerwy wazomotorycznej prowokowanej CO<sub>2</sub> pomiędzy podgrupami chorych na cukrzycę wyodrębnionymi na podstawie płci, BMI, palenia tytoniu, aktywności fizycznej, czasu trwania i wyrównania cukrzycy, współistniejących obciążeń chorobowych i form ich terapii oraz obecności układowych powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy. Parametry reaktywności wazomotorycznej prowokowanej infuzją L-argininy były istotnie niższe u mężczyzn chorych na cukrzycę niż u kobiet z cukrzycą, nie stwierdzono innych różnic dotyczących jej wartości pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą wyodrębnionymi na podstawie BMI, palenia tytoniu, aktywności fizycznej, czasu trwania, wyrównania i obecności powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy. Analiza korelacji wykazała istotną zależność pomiędzy wartościami wskaźnika pulsacyjności a wiekiem pacjentów i czasem trwania choroby. Stwierdzono również znamienne statystycznie, ujemną korelację pomiędzy reaktywnością wazomotoryczną prowokowaną infuzją L-argininy a wiekiem chorych, BMI i obwodem pasa oraz wartościami hematokrytu oraz stężeń hemoglobiny, CRP i kwasu moczowego w surowicy krwi.

W grupie kontrolnej nie zaobserwowano istotnych różnic dotyczących parametrów reaktywności wazomotorycznej MCA ocenianej, zarówno z użyciem testów hiperkapnicznych, jak i prowokowanej infuzją L-argininy, pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie płci, BMI, palenia tytoniu i aktywności fizycznej. Nie wykazano również korelacji pomiędzy czynnościowymi parametrami przepływu w MCA a wiekiem badanych osób bez cukrzycy oraz obwodem pasa i BMI lub parametrami biochemicznymi krwi i moczu.

W grupie pacjentów z cukrzycą analiza korelacji ukazała znamienne, ujemną korelację pomiędzy grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa a wartościami reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej prowokowanej infuzją L-argininy. Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy IMT a wartościami wskaźnika pulsacyjności oraz rezerwy wazomotorycznej prowokowanej CO<sub>2</sub>. W grupie osób bez cukrzycy analiza korelacji nie wykazała znamienych statystycznie zależności pomiędzy wartościami IMT a parametrami przepływu w tętnicy mózgu środkowej.

W grupie chorych na cukrzycę nie zaobserwowano istotnej zmiany parametrów reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej po okresie 4,5 lat obserwacji i mediana względnej zmiany wyniosła 0,03%. U osób z grupy kontrolnej wielkość rezerwy wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej uległa obniżeniu w analogicznym okresie czasu a mediana spadku wyniosła 10,5 %.

Na podstawie uzyskanych wyników wnioskowano, że w badanej grupie chorych na cukrzycę typu 1 nie stwierdza się upośledzenia funkcji naczyniowo-rozkurczowej śródbłonna naczyń mózgowych natomiast obserwuje się mniejszą elastyczność naczyń mikrokrążenia mózgowego w porównaniu do równoważnej grupy wiekowej osób bez cukrzycy. Ponadto u chorych na cukrzycę typu 1 płci męskiej stwierdza się upośledzenie funkcji wazodylatacyjnej śródbłonna naczyń mózgowych w porównaniu do chorych płci żeńskiej oraz jej ujemną korelację z wiekiem, BMI i obwodem pasa, stężeniem markerów stanu zapalnego i kwasu moczowego w surowicy krwi oraz poziomem hemoglobiny i hematokrytu. Czas trwania cukrzycy, poziom wyrównania biochemicznego oraz obecność systemowych powikłań mikroangiopatycznych nie wpływają na zakres reaktywności wazomotorycznej tętnicy mózgu środkowej indukowanej infuzją L-argininy, natomiast długi czas trwania choroby oraz starszy wiek pacjentów i obecność neuropatii cukrzycowej związane są ze zmniejszeniem elastyczności naczyń mikrokrążenia mózgowego. Funkcja naczyniowo-rozkurczowa śródbłonna naczyń mózgowych indukowana tlenkiem azotu nie jest skorelowana z zakresem wazodylatacji indukowanej CO<sub>2</sub> jak i z elastycznością naczyń mikrokrążenia mózgowego charakteryzowaną wskaźnikiem pulsacyjności. Reaktywność wazomotoryczna tętnicy mózgu środkowej prowokowana CO<sub>2</sub> u chorych na cukrzycę typu 1 nie ulega istotnym zmianom w okresie 5 letniej obserwacji, co obserwuje się w równoważnej grupie wiekowej osób bez cukrzycy. W badanej grupie chorych na cukrzycę typu 1 stwierdza się istotną zależność pomiędzy upośledzeniem funkcji naczyniowo-rozkurczowej śródbłonna naczyń mikrokrążenia mózgowego a stopniem zaawansowania wczesnych zmian makroangiopatycznych charakteryzowanych grubością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa tętnicy szyjnej wspólnej.

## SUMMARY

Cerebrovascular diseases are the main challenge for health services in 21st century. Each year, about 90 thousand people suffer a stroke in Poland and only 1/3 of them remain independent afterwards. The identification and effective control of risk factors remains crucial for the improvement of adverse epidemiological tendencies.

Diabetes is one of the most frequent risk factors of stroke, recognized in 1/4 of patients with acute cerebrovascular event. Permanent and pandemic increase of its morbidity results with 50 millions diabetics in Europe and about 1,6 million in Poland. About 10% of them are patients with type 1 diabetes. In the last decade Poland became a country with moderate morbidity of type 1 diabetes.

Cerebrovascular events in patient with diabetes are featured with certain etiopathogenic, clinical and prognostic differences comparing to a person without diabetes. Its presence may result with poorer prognosis, worse efficacy of treatment and a higher recurrence rate of stroke. Both, cerebral micro- and macroangiopathy, that are main reasons for stroke in diabetics, result from endothelial dysfunction following chronic hyperglycemia.

Cerebral autoregulation mechanisms are responsible for preservation of stable cerebral perfusion. Vasomotor reactivity testing of middle cerebral artery with use of transcranial Doppler is an approved method for the evaluation of cerebral autoregulation. The impairment of vasomotor reactivity was reported as an early sign of cerebral microangiopathy in humans with type 1 diabetes. However, the provocation of vasomotor reactivity based on CO<sub>2</sub> does not enable the evaluation of selectively endothelial induced vasodilatation.

L-arginine infusion is a method that enables the assessment of selectively NO mediated cerebral vasodilatation. Until now, its use in humans with diabetes has not been reported. Furthermore, no published data exists on the evaluation of progression of impairment of vasomotor reactivity in patients with diabetes. The association between the progression of vasomotor reactivity impairment and the progression of cerebral macroangiopathy, reflected by intima-media thickening in common carotid artery, was neither confirmed.

Thus, the aim of the study was to evaluate endothelial induced vasomotor reactivity with use of L-arginine infusion and transcranial doppler in adults with type 1 diabetes and controls without diabetes and to assess its relationship to diabetes course, the presence of concomitant risk factors, the progression of systemic microangiopathy, intima-media thickness and vessels elasticity reflected by pulsatility index. Additionally the relative change of CO<sub>2</sub> induced vasomotor reactivity was tested after 5-year follow up.

Study was performed in the Neurosonology Lab at Neurology Department and in The Department of Clinical Physiology at Medical University of Gdańsk. Study group consisted of 60 patients from Regional Center of Diabetes of Medical University of Gdańsk (median age 37.2 years; 45% males) and 37 controls without diabetes (median age 37.5 year; 46.8% males). Groups selection and study protocol were approved by Independent Bio-Ethics Committee of Medical University of Gdańsk (decisions NKEBN/335/2008 from 23 XII 2009 and NKEBN/335-60/2009 from 2 III 2009).

Study protocol included biochemical lab testing, history taking and physical examination, including neurological assessment, carotid ultrasound with the measurement of intima-media thickness and transcranial Doppler with the measurement of CO<sub>2</sub> and L-arginine induced vasomotor reactivity.

Groups were age and gender matched, no differences between groups were observed regarding the presence of hyperlipidemia, obesity, oral contraceptives and physical activity. Smoking habit was reported more frequently by patients with diabetes compared to controls. Medians of CRP, HBA1C, sedimentation rate and urine albumin/creatinine ratio were higher in diabetic patients than controls. No differences were found regarding serum concentrations of albumin, creatinine, fibrinogen, hemoglobin, hematocrit and lipid fraction between both groups. Median concentration of angiogenin and dimethylarginine were lower in patients with diabetes than in controls.

Median of pulsatility index of middle cerebral artery was higher in patients with diabetes than in controls (0.82 vs. 0.75;  $p=0.001$ ). Mean of CO<sub>2</sub> induced vasomotor reactivity did not differ between patients and controls (84.5% vs. 86.7%,  $p=0.48$ ). Also medians of L-arginine induced vasomotor reactivity were similar in both groups (17.6% vs. 17.3%,  $p=0.91$ ). Median of IMT was 0.054 cm in humans with diabetes and 0.052 cm in control subjects ( $p=0.12$ ).

Median of pulsatility index was significantly higher in subgroup of patients with longer diabetes duration and those with diabetic neuropathy. No associations between pulsatility index and gender, BMI, smoking habit, physical activity, glucose serum level control, concomitant risk factors and treatments, as well as the presence of diabetic retinopathy and nephropathy were found.

There were also no differences regarding CO<sub>2</sub> induced vasomotor reactivity between subgroups of patients divided by the presence of the obesity, smoking, long duration or poor diabetes control, concomitant diseases and treatments as well as the presence of systemic microangiopathy. The values of L-arginine induced vasomotor reactivity were lower in males with diabetes than in females, no other differences between subgroups of patients divided by the presence of the obesity, smoking, long duration and poor diabetes control, concomitant diseases and treatments as well as the presence of systemic microangiopathy were found. There were significant positive correlations between pulsatility index and patient age and diabetes duration and negative correlations between L-arginine induced vasomotor reactivity and patient age, BMI, waist circumference, hematocrit, hemoglobin, CRP and uremic acid serum levels.

No differences regarding both CO<sub>2</sub> and L-arginine induced vasomotor reactivity were found in subgroups of control subjects divided by BMI, cigarette smoking, physical activity. Correlations between vasomotor reactivity and age, BMI and biochemical parameters neither existed.

L-arginine induced vasomotor reactivity was negatively correlated with intima-media thickness in group of patient with diabetes. No correlations between cerebral pulsatility and CO<sub>2</sub> induced vasomotor reactivity were found in those patients. Either, no correlation between parameters mentioned above were found in control subjects.

Prospective evaluation of CO<sub>2</sub> induced vasomotor reactivity after 4.5 years of follow up revealed no relative change in patients with diabetes (median reduction 0.03%) and a significant reduction in controls (median reduction 10.5 %).

Presented results show no impairment of endothelium induced vasodilatation and reveal reduced vessels elasticity in adult patients with type 1 diabetes compared to age matched controls without diabetes. Additionally endothelium induced vasodilatation is reduced in males with diabetes and is negatively correlated with obesity, inflammatory parameters and blood viscosity. Diabetes course does not influence both CO<sub>2</sub> and L-arginine induced vasodilatation, but is associated with an increase of cerebral pulsatility. The CO<sub>2</sub> induced vasomotor reactivity remains unchanged after 5 years of follow up in patients with diabetes but is significantly reduced in controls without diabetes. L-arginine induced vasodilatation is negatively correlated with the progression of cerebral macroangiopathy in patients with diabetes, such relationship does not exist in control subjects without diabetes.

