

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

MAGDALENA HOFFMANN

CZYNNOŚCIOWA OCENA MIKROKRAŻENIA OBWODOWEGO
ZA POMOCĄ KAPILAROSKOPII
I PRZEZSKÓRNEGO POMIARU CIŚNIENIA PARCJALNEGO TLENU
U DZIECI Z CUKRZYCĄ TYPU 1

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Jolanta Neubauer-Geryk

Centrum Symulacji Medycznej GUMed

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Leszek Bieniaszewski

Gdańsk 2019

*Pragnę serdecznie podziękować Pani dr hab. n. med. Jolancie Neubauer-Geryk
za wszechstronną pomoc przy realizacji niniejszej pracy.
Dziękuję za poświęcony czas pomimo wielu swoich obowiązków,
za cierpliwość, wyrozumiałość oraz życzliwość.*

Moim najbliższym...

SPIS TREŚCI

1	Wstęp	8
1.1	Mikrokrążenie	9
1.2	Mikrokrążenie skórne	12
1.2.1	Metody oceny mikrokrążenia skórniego	13
1.2.2	Testy prowokacyjne stosowane w ocenie mikrokrążenia skórniego	22
2	Cele pracy	25
3	Materiał i Metody.....	26
3.1	Charakterystyka grup	26
3.1.1	Badanie przedmiotowe i podmiotowe	26
3.1.2	Grupa chorych na cukrzycę	27
3.1.3	Grupa kontrolna	27
3.2	Badania biochemiczne	28
3.3	Badanie kapilaroskopowe	28
3.4	Badanie przezskórne pomiaru ciśnienia parcjalnego tlenu	30
3.5	Metody statystyczne	30
4	Wyniki	32
4.1	Porównanie badanych grup.....	32
4.1.1	Podstawowe parametry kliniczne.....	32
4.1.2	Badania laboratoryjne	33
4.1.3	Ciśnienie tętnicze i częstość akcji serca	35
4.1.4	Kapilaroskopia.....	35
4.1.5	Przezskórne ciśnienie tlenu	37
4.2	Zależność pomiędzy wiekiem metrykalnym a parametrami opisującymi mikrokrążenie	37
4.2.1	Kapilaroskopia.....	37
4.2.2	Przezskórne ciśnienie tlenu	39
4.3	Podział grupy pacjentów z cukrzycą ze względu na medianę czasu trwania choroby	40
4.3.1	Podstawowe parametry kliniczne.....	40
4.3.2	Badania laboratoryjne	42
4.3.3	Ciśnienie tętnicze i częstość akcji serca	44
4.3.4	Kapilaroskopia.....	44
4.3.5	Przezskórne ciśnienie tlenu	46
4.4	Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne a parametrami biochemicznymi.....	47

5	Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokąże nie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu.	53
6	Dyskusja	55
7	Wnioski	67
8	Streszczenie	68
9	Summary.....	70
10	Spis tabel	72
11	Spis rycin	74
12	Bibliografia	75
13	Zgody Komisji Bioetycznej GUMed.....	87

Skróty i oznaczenia stosowane w pracy

Ach	<i>acetylcholin</i> acetylocholina
BMI	<i>body mass index</i> wskaźnik masy ciała
CAD	<i>coronary artery disease</i> choroba wieńcowa
Coverage_B	<i>the ratio between area of the capillaries and total area of determined rows at baseline condition</i> stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanych rzędów kapilar w warunkach podstawowych
Coverage_P	<i>the ratio between area of the capillaries and total area of determined rows after post-reactive hyperaemia</i> stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanych rzędów kapilar po teście przekrwienia czynnego
Coverage_V	<i>the ratio between area of the capillaries and total area of determined rows after occlusive test (congestion)</i> stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanych rzędów kapilar po przekrwieniu biernym
ΔCoverage_P	<i>the difference between the values of coverage obtained after and before post-reactive hyperaemia</i> różnica pomiędzy polem powierzchni zajętym przez kapilary wyznaczonym po i przed testem przekrwienia czynnego
ΔCoverage_V	<i>the difference between the values of coverage obtained after and before occlusive test</i> różnica pomiędzy polem powierzchni zajętym przez kapilary wyznaczonym po i przed testem przekrwienia biernego
CRP	<i>C-reactive protein</i> białko C-reaktywne
DCCT	Diabetes Complication Clinical Trial
Distance_B	<i>mean distance between successive capillaries at baseline condition</i> średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami w warunkach podstawowych
Distance_P	<i>distance mean distance between successive capillaries after post-reactive hyperaemia</i> średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami po teście przekrwienia czynnego
Distance_V	<i>distance mean distance between successive capillaries after occlusive test</i> średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami po teście przekrwienia biernego
ΔDistance_P	<i>the difference between the values of distance obtained after and before post-occlusive hyperaemia</i> różnica pomiędzy odległością kapilar wyznaczoną po i przed przekrwieniem czynnym
ΔDistance_V	<i>the difference between the values of distance obtained after and before occlusion test</i> różnica pomiędzy odległością kapilar wyznaczoną po i przed przekrwieniem biernym

DM1	<i>diabetes mellitus type 1</i> cukrzyca typu 1
EDIC	<i>Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications</i>
GUMed	<i>Medical University of Gdansk</i> Gdański Uniwersytet Medyczny
HbA1c	<i>glycated hemoglobin</i> hemoglobina glikowana
HDL	<i>high density lipoproteins</i> lipoproteiny wysokiej gęstości
IDF	<i>International Diabetes Federation</i> Międzynarodowa Federacja Cukrzycy
LDF	<i>laser doppler flowmetry</i> laserowa przepływometria doplerowska
LDL	<i>low density lipoproteins</i> lipoproteiny małej gęstości
NIRS	<i>near infrared spectroscopy</i> spektroskopia bliskiej podczerwieni
NO	<i>nitric oxide</i> tlenek azotu
NOS	<i>nitric oxide synthase</i> syntaza tlenku azotu
NT	<i>arterial hypertension</i> nadciśnienie tętnicze
OCT	<i>optical coherence tomography</i> optyczna tomografia koherentna
OPS	<i>ortogonal polarization spectroscopy</i> ortogonalna polaryzacja spektralna
OUN	<i>central nervous system</i> ośrodkowy układ nerwowy
p	<i>significance level</i> poziom istotności
PORH	<i>post occlusive reactive hyperemia</i> pookluzyjne przekrwienie czynne
PPG	<i>photoplethysmography</i> fotopletyzmografia
r.ż.	<i>age</i> rok życia
SD	<i>standard deviation</i> odchylenie standardowe
SNP	<i>sodium nitroprusside</i> nitroprusydek sodu
TcPO₂_baza	<i>the mean value of tcPO₂ within 60 seconds before T_base</i> średnia wartość tcPO ₂ w ciągu 60 sekund przed T_baza
TcPO₂_diff	<i>the difference between TcPO₂_base and TcPO₂_zero</i> różnica między TcPO ₂ _baza i TcPO ₂ _zero

TcPO₂_zero	<i>the mean value of tcPO₂ within 60 seconds before the T_{zero}</i> średnia wartość tcPO ₂ w ciągu 60 sekund przed T _{zero}
TG	<i>triglycerides</i> trójglicerydy
TRS	<i>tissue reflectance spectrophotometry</i> tkankowa fotometria odbiciowa
TTR	<i>time to reach baseline value after occlusion (T_{recovery} - T_{zero})</i> czas potrzebny do osiągnięcia wartości podstawowej po okluzji (T _{powrót} - T _{zero})
Slope	<i>the ratio of tcPO₂_diff and TTR</i> stosunek tcPO ₂ _diff i TTR
UCK	<i>University Clinical Centre</i> Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
UKPDS	<i>United Kingdom Prospective Diabetes Study</i>
VO	<i>Venous occlusion test/venous congestion test</i> test okluzji żyłnej/test przekrwienia biernego

1 Wstęp

Cukrzyca z uwagi na rozpowszechnienie, a także obserwowany wzrost częstości zachorowań jest uważana za chorobę społeczną. Według International Diabetes Federation (IDF) obecnie na świecie na cukrzycę choruje 425 milionów ludzi, z czego 58 milionów w Europie, a do 2045 r. ta liczba wzrośnie odpowiednio do 629 milionów na świecie oraz do 66,7 mln w Europie (1). Najwyższe wskaźniki zachorowalności odnotowano w Finlandii, Europie Północnej oraz Kanadzie (2), a najniższe w krajach azjatyckich. Występowanie cukrzycy w Polsce IDF szacuje na 7.64 % (1). W tej dużej grupie około 10% stanowią pacjenci z cukrzycą typu 1. Wyraźny wzrost liczby zachorowań na cukrzycę typu 1 obserwuje się także w grupie dzieci i młodzieży (3).

Wprowadzenie do leczenia insuliny w 1922 roku spowodowało zmniejszenie śmiertelności przede wszystkim dzięki ograniczeniu ilości ostrych powikłań cukrzycy. Średni czas przeżycia pacjenta z cukrzycą insulinozależną rozpoznaną przed 30 r.ż. wynosił wówczas niecałe 1,5 roku. Wprowadzenie terapii w schemacie intensywnym (wielokrotne, czyli co najmniej 3 wstrzyknięcia insuliny w ciągu doby albo insulinoterapia z zastosowaniem pompy insulinowej) przyczyniło się do dalszego ograniczenia powikłań. Metoda ta pozwala na odzwierciedlenie dobowego rytmu wydzielania insuliny, dostosowanie podaży insuliny do aktualnych potrzeb pacjenta, jego diety oraz aktywności fizycznej, dzięki czemu wzrasta szansa na dobre wyrównanie metaboliczne. Przełomowym, dużym badaniem w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 przeprowadzonym w latach 1983-1993, które potwierdziło, że intensywna insulinoterapia u pacjentów z cukrzycą typu 1 znamienne zmniejsza ryzyko wystąpienia oraz spowalnia progresję retinopatii, nefropatii, neuropatii oraz powikłań makronaczyniowych było badanie *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) wraz z jego częścią obserwacyjną w latach kolejnych 1994-2006 *Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications* (EDIC). Dalsze monitorowanie pacjentów w fazie obserwacyjnej badania pokazało jak ważne jest dobre wyrównanie metaboliczne, bliskie normoglikemii, od samego początku trwania cukrzycy. Stwierdzono, że korzyści naczyniowe związane ze stosowaniem intensywnego leczenia cukrzycy utrzymują się w latach późniejszych nawet pomimo pogorszenia kontroli glikemii. Zjawisko to zwane „pamięcią metaboliczną” obserwowano zarówno w odniesieniu do powikłań mikro- jak i makronaczyniowych. Badanie DCCT/EDIC pokazało, że korzyści wynikające z intensywnej insulinoterapii utrzymują się co najmniej 10 lat (4,5).

W ostatnich kilkudziesięciu latach dokonał się znaczny postęp w diagnostyce, prewencji oraz leczeniu cukrzycy typu 1, jednak pomimo tego, przewlekłe powikłania cukrzycy w postaci mikroangiopatii oraz makroangiopatii to główne przyczyny inwalidztwa, obniżenia jakości życia oraz niezdolności do pracy.

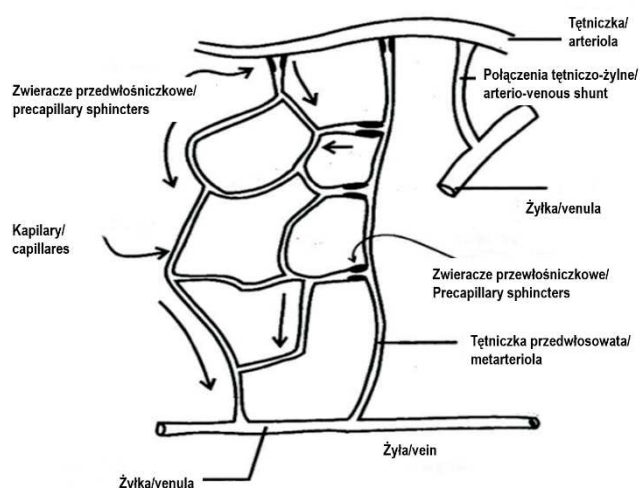
U podstaw charakterystycznych powikłań mikronaczyniowych w cukrzycy typu 1 (DM1), takich jak retinopatia, neuropatia lub nefropatia, leży upośledzenie funkcji śródbłonna. Wszystkie te powikłania można uznać za postępujące pogorszenie funkcji naczyń włosowatych i zmiany strukturalne. Należy podkreślić, że mikrokrążenie jest miejscem, gdzie objawy chorób sercowo-naczyniowych pojawiają się najwcześniej. Współczesna diabetologia poszukuje więc możliwości oceny mikrokrążenia jeszcze przed klinicznym ujawnieniem się powikłań naczyniowych. Zgodnie z wynikami badań Ijzermana (6), mikrokrążenie skóry może być stosowane jako ważny model do badania związku między ryzykiem sercowo-naczyniowym a czynnością mikrokrążenia.

1.1 Mikrokrążenie

Szacuje się, że u dorosłego człowieka jest około 10^{11} naczyń krwionośnych, z tego ponad 99% stanowią naczynia mikrokrążenia (7). Mikrokrążenie to część układu krążenia usytuowana pomiędzy jego częścią żylną a tętniczą. Na podstawie kryterium wymiaru zaliczymy tu naczynia o średnicy poniżej $150\ \mu\text{m}$, coraz częściej jednak stosuje się także kryterium fizjologiczne. Na jego podstawie do mikrokrążenia zalicza się wszystkie naczynia tętnicze odpowiadające na wzrost ciśnienia redukcją średnicy (8). Według tej definicji, opartej na reakcji mięśniówki naczyniowej na różnicę ciśnień, do naczyń mikrokrążenia zalicza się zarówno małe tętniczki, jak i tętnice. Definicja ta jest kompatybilna z panującym ostatnio poglądem, że nie tylko tętniczki, ale i tętnice powinno traktować się, jako ciągłość, a nie, jako odmienne części układu krążenia, które opowiadają za regulację oporu obwodowego (9).

Naczynia mikrounaczynienia ułożone są szeregowo lub równolegle, tworzą podstawowe elementy funkcjonowania, czyli jednostki mikrokrążenia. W skład jednostki wchodzi: tętniczki, metarteriole, naczynia włosowate, żyłki, zespolenie tętniczo-żylnie, naczynia chłonne oraz zwieracze naczyń przedwłosowatych (8,10).

Tętniczka doprowadzająca krew do jednostki mikrokrążenia ma średnicę ok $100\ \mu\text{m}$, od niej odchodzą jeszcze drobniejsze naczynia przedwłosowate o średnicy $10\text{-}20\ \mu\text{m}$. Ściany tych naczyń zbudowane są z ułożonych okrężnie komórek mięśniowych pełniących funkcję zwieraczy naczyń przedwłosowatych i regulujących przepływ krwi przez włosniczkę. Naczynia tętnicze i żyłne są połączone za pomocą metarterioli, od nich odchodzą naczynia włosowate oraz zespolenia tętniczo-żylnie, z pominięciem sieci włosniczek (11). Ściany zespolenia tętniczo-żylnego są zbudowane z mięśni gładkich, a unerwione przez włókna układu współczulnego. W wyniku skurczu mięśni gładkich, zespolenie zamyka się, co powoduje napływ krwi do naczyń włosowatych z pominięciem wymiany odżywczej. Mechanizm ten odgrywa ważną rolę w termoregulacji, dlatego też zespolenia te najliczniej występują w dystalnych częściach ciała (12).



Rysunek 1 Jednostka mikrokrążenia - za zgodą (9)

Szacuje się, że obwodowe krążenie zawiera około 10 miliardów naczyń włosowatych o łącznej powierzchni szacowanej na 500 do 700 metrów kwadratowych (7). Rzadko zdarza się, aby jakakolwiek pojedyncza komórka funkcjonalna ciała znajdowała się w odległości większej niż 20 do 30 mikrometrów od kapilary. Jednak w spoczynku czynnych jest tylko 25% naczyń mikrokrążenia (13,14). Gęstość sieci kapilar jest różna w poszczególnych tkankach i narządach, w zależności od ich stanu czynnościowego. Narządy, takie jak serce, mózg czy nerki, które charakteryzuje wysoka przemiana materii oraz wysokie zapotrzebowanie na tlen posiadają gęstsza sieć naczyń włosowatych niż inne tkanki (11,13). Naczynia włosowate o przekroju 5-10 μm dzięki ścianie zbudowanej z warstwy komórek śródbłonka oraz otaczającej go łącznotkankowej błonie podstawnej pełnią rolę wybiórczej bariery dyfuzyjnej (7). Wielkość dyfuzji zależy przede wszystkim od rodzaju naczyń włosowatych.

Rozróżnia się 3 podstawowe rodzaje naczyń: a/ naczynia o ścianie ciągłej, występujące najpowszechniej i zawierające ciągłą warstwę komórek śródbłonka. Opisywane naczynia występują we wszystkich rodzajach tkanki mięśniowej, tkance łącznej, tkance nerkowej, gruczołach wydzielania zewnętrznego oraz biorą udział w tworzeniu barier m. in. bariery krew-mózg; b/ naczynia o ścianie okienkowej, komórki śródbłonka mają nieduże otwory, czyli fenestracje, co umożliwia szybki transport substancji. Naczynia te występują tam, gdzie wymiana między tkankami a krwią jest bardzo intensywna, np. w kosmkach jelitowych, nerce oraz gruczołach dokrewnych; c/ naczynia włosowate zatokowe o ścianie nieciągłej, charakteryzują się przerwami pomiędzy komórkami śródbłonka albo licznymi otworami w komórkach śródbłonka, co umożliwia swobodne przechodzenie przez ich ścianę wszystkich substancji oraz komórek, występują w szpiku kostnym, wątrobie oraz śledzionie. Na wielkość dyfuzji oprócz przepuszczalności ściany naczynia włosowatego ma wpływ także rozkład ciśnień oraz liczba aktywnych naczyń.

Ściana kapilary składa się z warstwy śródbłonka otoczonej błoną podstawną z okazjonalnymi włóknami mięśni gładkich. Występuje pewna zmienność w strukturze ściany: w dużej kapilarze kilka komórek śródbłonka graniczących ze sobą może wyściełać światło; w małej kapilarze może być tylko jedna warstwa komórek, która otacza światło. W skórze występują naczynia włosowate o ścianie ciągłej oraz naczynia włosowate okienkowane.

Powierzchnia wymiany jest związana z napięciem zwieraczy przedwłośniczkowych, które podlega kontroli przez miejscową autoregulację, czynniki humoralne oraz nerwowe. W narządach, gdzie zachodzi duża przemiana materii, tętniczki są słabo unerwione, a w autoregulacji podstawową rolę odgrywa ujemne sprzężenie zwrotne zależne od stężenia metabolitów w tkance, regulując dzięki temu napięcie mięśniówki gładkiej naczyń (7,13,15). Śródbłonek naczyniowy wytwarzając liczne mediatory odgrywa istotną rolę w mechanizmie autoregulacji. Do najważniejszych czynników naczyniorozszerzających produkowanych przez komórki śródbłonka należy tlenek azotu i prostacyklina, zaś do naczynioskurczowych- endotelina i śródbłonkowy czynnik zwężający naczynia. Uszkodzenie śródbłonka między innymi w następstwie hiperglikemii, nadciśnienia tętniczego czy stanu zapalnego prowadzi do zaburzenia czynności zaopatrywanego narządu. W narządach takich jak skóra czy mięśnie charakteryzujących się niską przemianą materii niewielkie zaburzenia w dostarczaniu tlenu nie mają tak istotnego znaczenia klinicznego. Najważniejszą rolę w regulacji przepływu w ich mikrokrażeniu pełnią pozazwojowe włókna układu współczulnego, odpowiadają one głównie za regulację termiczną (13,15).

Relacje, jakie zachodzą pomiędzy krwią a kapilarami opisują dwa prawa: efekt Fahraeusa i efekt Fahraeusa-Lindquista. Efekt Fahraeusa wiąże się z redystrybucją krwinek czerwonych do centrum naczynia, co powoduje wzrost szybkości przepływu erytrocytów w porównaniu do osocza i wiąże się ze zmniejszeniem hematokrytu w drobnych naczyniach obwodowych. Drugi efekt – Fahraeusa-Linquista polega na zmniejszeniu się lepkości krwi wraz z malejącą średnicą kapilar. Efekt Fahraeusa-Linquista potwierdza teorię stref marginalnych Haynesa, zgodnie z którą rdzeń naczynia stanowi warstwa krwinek czerwonych, który otoczony jest przez pierścieniową warstwę osocza, w której nie występują erytrocyty (16). Efekty Fahraeusa i Fahraeusa-Lindquista są związane z obecnością śródbłonkowej warstwy powierzchniowej. Wykazano, że warstwa ta o szerokości około 0,5 -1,0 μm zbudowana z glikokaliksu ma istotny wpływ na parametry hemodynamiczne mikrokrażenia przede wszystkim na hematokryt oraz opór przepływu. Warstwa ta bierze udział w regulacji napięcia naczyniowego, wrażliwości śródbłonka na czynniki mechaniczne, interakcji komórek śródbłonka oraz komórek układu immunologicznego, moduluje procesy dyfuzji w mikrokrażeniu, uczestniczy w procesach krzepnięcia oraz angiogenezy (13).

Podstawową funkcją mikrokrażenia jest utrzymanie optymalnego dotlenienia tkanek oraz transport substancji odżywczych i produktów przemiany materii pomiędzy krwią i tkankami w zależności od zapotrzebowania organizmu. Drugą istotną funkcją jest zabezpieczenie przed znacznymi wahaniami ciśnienia hydrostatycznego, które mogłyby zakłócić wymianę kapilarną (17). Mikrokrażenie odgrywa także znaczącą rolę w regulacji przepływu i ciśnienia krwi, oraz zapewnia właściwą termoregulację. Prawidłowa czynność mikrokrażenia zapewnia utrzymanie hemostazy (18). Należy podkreślić, że mikrokrażenie jest miejscem, gdzie najwcześniej pojawiają się objawy chorób sercowo-naczyniowych w szczególności te z towarzyszącym procesem zapalnym (17).

1.2 Mikrokrążenie skórne

Zgodnie z wynikami badań Ijzermana (18), mikrokrążenie skóry można wykorzystać jako odpowiedni obszar do badania związku między czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a funkcją mikrokrążenia. Zaburzenia w wymianie gazowej czy wymianie składników odżywczych w naczyniach skórnych mogą być widoczne w początkowych etapach wielu chorób układu krążeniowo-oddechowego oraz metabolicznych (19). Zmiany w mikrounaczynieniu stwierdza się w takich jednostkach chorobowych jak cukrzyca (20), choroby nerek (21), choroby układu sercowo-naczyniowego (22,23) np. w nadciśnieniu tętniczym (24,25) czy chorobach układowych tkanki łącznej (26) ponadto we wstrząsie septycznym (27) niedotlenieniu (28). Zaburzenia w mikrounaczynieniu prowadzą przede wszystkim do nieprawidłowości przepływu, co wiąże się z pogorszeniem utlenowania tkanek i uszkodzeniem narządów oraz wpływa negatywnie na rokowanie (23,29). Mikrokrążenie skórne stanowi szczególną część mikrounaczynienia, która wykazuje odrębności w budowie i niektórych funkcjach. Tworzą je dwa sploty naczyniowe- powierzchniowy i głęboki. Splot powierzchniowy znajduje się na głębokości 400-500 μm pod powierzchnią skóry, odchodzą od niego pętle kapilar o przekroju 10 μm w kierunku warstwy podstawnej. Splot głęboki jest zlokalizowany na głębokości 1,9 mm pod powierzchnią skóry. Oba sploty są ze sobą połączone za pomocą wstępujących tętniczek i zstępujących żyłek, a pomiędzy nimi występują anastomozy tętniczo-żylny. Połączenia te są najliczniejsze w obrębie takich części ciała jak palce, nos, wargi oraz uszy, gdyż umożliwiają szybkie zmiany przepływu przez skórę przy regulacji jej temperatury.

Najgłębszą warstwą skóry jest tkanka podskórna zawierająca tkankę tłuszczową pełniącą funkcję izolacji termicznej oraz funkcję mechaniczną. Tkanka ta unaczyniona jest przez pary tętniczek wstępujących oraz żyłek zstępujących. Pozostałe struktury skóry takie jak włosy czy gruczoły posiadają odrębne niewielkie sieci kapilarne (30).

Mikrounaczynienie skórne jest głównie odpowiedzialne za utrzymanie prawidłowej termoregulacji oraz odpowiada za potrzeby metaboliczne skóry - pełni rolę w procesie gojenia ran czy kontroli reakcji zapalnych. W warunkach fizjologicznych przepływ krwi przez skórę stanowi około 5% pojemności minutowej serca, czyli około 250 $\text{ml/m}^2/\text{min}$. Do uszkodzenia naczyń dochodzi przy spadku przepływu do wartości poniżej 30 $\text{ml/m}^2/\text{min}$. Przepływ krwi w naczyniach mikrokrążenia zależy od stężenia gazów, aktywności hormonalnej oraz czynników fizycznych takich jak temperatura oraz ciśnienie, podlega kontroli autonomicznego układu nerwowego (13).

Mikrokrążenie skórne jest stosunkowo łatwo dostępne badaniu. Obecnie dostępne są nieinwazyjne metody badania pozwalające na ocenę mikrokrążenia w skórze. Do metod o uznanej wartości klinicznej należą: kapilaroskopia, wideokapilaroskopia, laserowa przepływometria dopplerowska, termografia oraz przezskórny pomiar prężności tlenu. Druga grupa metod oceny mikrokrążenia skórnego to metody stosowane przede wszystkim w pracach badawczych. Wśród tych badań wyróżniamy przede wszystkim: ortogonalną polaryzację spektralną, fotopletyzmografię, optyczną tomografię koherencyjną, żylną pletyzmografię okluzyjną, tkankową fotometrię odbiciową, spektroskopię bliskiej podczerwieni oraz obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego.

1.2.1 Metody oceny mikrokrążenia skórno

Przezskórny pomiar prężności tlenu (ang. transcutaneous oxygen measurements; tcPO₂)

Jest to prosta metoda pomiaru znana od 1970 r. Jej istota sprowadza się do oceny ilości tlenu, który dyfunduje z naczyń włosowatych przez naskórek do elektrody i dzięki temu dostarcza informację o zdolności organizmu do dostarczania tlenu do tkanki (31). Jest dobrze udokumentowaną metodą stosowaną w praktyce do badań przesiewowych w kierunku chorób naczyniowych (32), oceny postępu leczenia ran (32), skuteczności zabiegów rewaskularyzacyjnych (33), przewidywania poziomu amputacji (32) trwałości wykonanego przeszczepu skóry (34) oraz kwalifikacji do tlenoterapii w komorze hiperbarycznej (30).

Przezskórny pomiar prężności tlenu nie jest skomplikowany w wykonaniu. Jest metodą czasochłonną i wymaga powtarzanych kalibracji (32,35). Pomiaru tcPO₂ można dokonać w dowolnym miejscu na skórze całego ciała, najczęściej jest to powierzchnia grzbietowa stopy, ale także przedramię. Badanie nie wymaga uprzedniego szczególnego przygotowania pacjenta. Miejsce, w którym dokonany będzie pomiar powinno być dobrane i przygotowane. Należy unikać obszarów z obrzękiem, widocznych dużych naczyń powierzchownych, skóry powierzchni podeszwowej stopy oraz skóry zmienionej chorobowo - m.in. ze zmianami zapalnymi czy miejscami zwiększonego rogowacenia skóry. Skóra musi być oczyszczona i odtłuszczona oraz pozbawiona owłosienia (35).

Wartości w zakresie 50-70 mmHg uznaje się za prawidłowe, wartości poniżej 40 mmHg sugerują możliwość wystąpienia zaburzeń gojenia ran, a wartości poniżej 30 mmHg świadczą o niedokrwieniu oraz związanym z tym dużym prawdopodobieństwem zaburzeń w gojeniu ran. Wartości poniżej 20 mmHg przemawiają za niepomyślnym rokowaniem, korelują m.in. z wydłużeniem czasu hospitalizacji pacjentów z zespołem stopy cukrzycowej (36).

Należy przy tym pamiętać, że wartości tcPO₂ nie stanowią rzeczywistego ciśnienia cząstkowego tlenu w obrębie rany, ponieważ elektrody są umieszczone w sąsiednich obszarach. Dotychczasowe eksperymentalne badania sugerują jednak związek pomiędzy ustalonymi wartościami tcPO₂ oraz ciśnieniem cząstkowym tlenu w obrębie samej rany (35).

Kapilaroskopia (ang. capillaroscopy)

Jest to stosunkowo prosta, nieinwazyjna oraz powtarzalna metoda diagnostyczna, która polega na przyżyciowej ocenie mikrokrążenia krwi w obrębie skóry i błon śluzowych.

Badanie to umożliwia ocenę struktury oraz morfologii wybranego fragmentu mikrokrążenia. W kapilaroskopii tradycyjnej do badania wykorzystuje się mikroskop optyczny z oświetleniem bocznym, który umożliwia powiększenie 20 do 100- krotnie. Dysponujemy również kapilaroskopią fluorescencyjną, gdzie stosuje się specjalistyczne lampy oraz najbardziej nowoczesną techniką kapilaroskopii - wideokapilaroskopią (37).

Kapilaroskopia polega na oglądaniu pętli włosniczkowych wałów paznokciowych najczęściej palców rąk (wał paznokciowy palców II-V lub III-V) oraz palców stóp, bardzo rzadko ocenia się naczynia w obrębie warg, dziąseł, języka czy spojówek gałek ocznych (38). W wałach paznokciowych włosniczki są ułożone równolegle do powierzchni skóry, co daje możliwość ich dokładnej oceny. W innych obszarach skóry włosniczki przebiegają prostopadle do powierzchni skóry, więc w tym badaniu widoczne są jedynie szczyty pętli włosniczkowych. Podczas badania kapilaroskopowego ocenia się płytkę paznokciową, przejrzystość skóry, liczbę naczyń włosowatych, ich wielkość, kształt i rozmieszczenie, przepływ krwi przez pętle oraz obecność wybroczyn i deformacji pętli włosniczkowych oraz podbrodawkowy splot żylny (37,39).

Obraz wału paznokciowego tego samego palca u zdrowej osoby w odstępie czasowym nie zmienia się w istotny sposób, jest również niezależny od płci. Obecność zmian uwidoczniona w badaniu kapilaroskopowym może potwierdzić bądź wykluczyć określoną patologię mikrokrążenia. Zmiany, które możemy najczęściej obserwować w kapilaroskopii to włosniczki olbrzymie tzw. megakapilary, szerokie pętle, naczynia włosowate kręte oraz obszary zmniejszonej liczby i niejednorodnego rozmieszczenia włosniczek (37).

Kapilaroskopia wymaga dużego doświadczenia przy ocenie obrazu kapilaroskopowego. Ponadto należy uwzględnić wpływ stosowanych przez pacjenta leków takich jak - β -blokery czy blokery kanału wapniowego, które mogą powodować zmiany w ocenianych naczyniach (42).

Przed wykonaniem badania należy przez okres około 4 tygodni unikać zabiegów kosmetycznych palców rąk i stóp. Średnica włosniczek jest zależna od czynników zewnętrznych takich jak temperatura czy stres oraz używki. Badanie wykonuje się w cichym pomieszczeniu o temperaturze 20°C-22°C zapewniając około 15 minut na adaptację. Przed badaniem należy zaniechać picia mocnej kawy, herbaty czy palenia papierosów. Przed kapilaroskopią oczyszcza się wybrany wał paznokciowy oraz pokrywa olejkim immersyjnym w celu lepszego uwidocznienia naczyń włosowatych oraz zwiększenia przezierności warstwy rogowej (40).

Kapilaroskopia jest stosowana standardowo przede wszystkim w różnicowaniu pierwotnego i wtórnego objawu Raynauda (41,42), diagnostyce poszczególnych chorób reumatologicznych np. twardziny układowej. Badanie kapilaroskopowe stanowi często ważny element w diagnostyce, jest cennym uzupełnieniem badań serologicznych oraz obrazu klinicznego. Badanie znalazło zastosowanie także w chorobach skóry takich jak trądzik różowaty (43), w ocenie zmian guzowatych oraz w monitorowaniu wyników leczenia m.in. w łuszczycy zwykłej (44). Kapilaroskopię wykorzystuje się w chirurgii naczyniowej w celu oceny zaburzeń przepływu włosniczkowego u pacjentów z przewlekłą niewydolnością żylną

(45) czy niedokrwieniem kończyn dolnych (46). Badanie kapilaroskopowe jest przydatne we wczesnej diagnostyce mikroangiopatii cukrzycowej (38). Badanie stosuje się także w diagnostyce nadciśnienia tętniczego (24), zaburzeniach neurologicznych (47) oraz w celu oceny odmrożeń. Kapilaroskopia rzadziej znajduje swoje zastosowanie u pacjentów z zaburzeniami endokrynologicznymi, takimi jak akromegalia (48) oraz niedoczynność tarczycy (49).

Wideokapilaroskopia (ang. videocapillaroscopy)

Jest nowocześniejszą odmianą kapilaroskopii. Badanie to podobnie jak tradycyjna kapilaroskopia jest całkowicie bezpieczne dla pacjenta, nieinwazyjne, bezbolesne, a przy tym proste do wykonania oraz łatwo powtarzalne. Największe zalety tej metody to szansa na uzyskanie większych powiększeń oraz możliwość archiwizowania obrazów (50). Urządzenie do wykonania wideokapilaroskopii tworzy kamera wyposażona w soczewkę optyczną, z kolei obraz z kamery przesyłany jest na monitor komputera. Wideokapilaroskopia dzięki odpowiedniemu oprogramowaniu umożliwia przetwarzanie obrazów, ich ocenę i porównanie w czasie, drukowanie oraz przesyłanie drogą elektroniczną m.in. w celu konsultacji (51).

Przygotowanie pacjenta do wideokapilaroskopii jest takie samo jak do tradycyjnej kapilaroskopii. Ocenę wideokapilaroskopową można przeprowadzić w różnych punktach ciała ludzkiego, jednak z uwagi na charakterystyczne ułożenie włóscinek w wałach paznokciowych, badanie w tym rejonie jest najbardziej rozpowszechnione. Wideokapilaroskopia podobnie jak tradycyjna kapilaroskopia umożliwia ocenę dynamiki zmian w obrębie mikrokrążenia zarówno w chorobach reumatologicznych - w ocenie zapalnej mikroangiopatii u chorych z układowymi chorobami autoimmunologicznymi, jak i niereumatologicznych – schorzeniach dermatologicznych, neurologicznych oraz w chorobach cywilizacyjnych - jak nadciśnienie tętnicze i cukrzyca, u pacjentów zagrożonych przedwczesnym rozwojem miażdżycy (52).

Termografia (ang. thermography)

Metoda ta umożliwia rejestrację temperatury, a tym samym tworzenie wizualizacji przepływu ciepła w mikrokrążeniu skóry. Nieprawidłowa temperatura ciała jest naturalnym wskaźnikiem choroby (53). Termografia to kolejny nieinwazyjny test, który nie wymaga dużego doświadczenia technicznego i jest stosunkowo łatwy w użyciu. Ponadto jest to metoda bezdotykowa, a obiekt nie jest narażony na żadne szkodliwe promieniowanie lub inne procedury. Główne wady termografii obejmują możliwość pomiaru przepływu tylko w warstwach powierzchniowych i wysokie koszty sprzętu, co ogranicza jego dostępność.

Badanie termograficzne opiera się na rejestracji promieniowania podczerwonego ludzkiego ciała. Cyfrowe obrazy promieniowania podczerwonego skóry (termogramy) uzyskują informacje o rozkładzie temperatury na powierzchni skóry i pozwalają stworzyć dwuwymiarową mapę temperatury skóry. Jednak termografia umożliwia jedynie pośrednią ocenę przepływu mikrokrążenia skóry.

Termografia jest wykorzystywana zarówno w praktyce przedklinicznej, jak i klinicznej. Służy jako narzędzie diagnostyczne i prognostyczne u pacjentów z cukrzycą. Sivanandan i wsp. (54) wykazali, że pomiar temperatury skóry pozwala ustalić diagnozę cukrzycy typu 2 wcześniej niż przy użyciu standardowego parametru HbA1c. Termografia może być również stosowana do diagnozy wczesnej fazy neuropatii cukrzycowej (55,56). W plastycznej i rekonstrukcyjnej chirurgii stosuje się termografię

w celu identyfikacji odpowiedniego przeszczepu skóry, a w okresie pooperacyjnym jest doskonałą metodą monitorowania perfuzji w obrębie przeszczepu i wczesnego wykrywania odrzucenia przeszczepu skóry (57). W kardiochirurgii pozwala obserwować ograniczone obszary zaburzeń perfuzji.

Termografia pomaga rozróżnić formę pierwotną i wtórną oraz ocenić nasilenie choroby Raynauda (58). Jest także przydatny w reumatoidalnym zapaleniu stawów, w którym nawrotom procesów zapalnych towarzyszy wzrost temperatury skóry pokrywającej stawy. Obrazowanie w podczerwieni pozwala na obiektywne i powtarzalne pomiary intensywności i zakresu stanu zapalnego oraz oceny terapii (57).

Laserowa przepływometria dopplerowska (ang. laser Doppler flowmetry; LDF)

Umożliwia nieinwazyjną rejestrację przepływów w naczyniach mikrokrążenia w czasie rzeczywistym (59). Badanie można wykonać na powierzchni każdego narządu – najczęściej jest to skóra lub błona śluzowa żołądka i jamy ustnej. W ostatnich latach wiele publikacji poświęcono tej metodzie badawczej, ponieważ jest łatwa w użyciu, ma krótki czas pomiaru i łatwe szkolenie osoby przeprowadzającej test (60). Największą wadą tego badania jest wrażliwość na zmieniające się warunki w czasie pomiaru (61) oraz możliwość rejestrowania tylko niewielkiej objętości tkanki, a wartości przepływu nie są uzyskiwane w jednostkach bezwzględnych.

Do badania wykorzystuje się światło lasera helowo-neonowego o mocy 2 mW, z monochromatyczną wiązką laserową w wąskim paśmie podczerwieni, które penetruje i rozprzestrzenia się w badanej tkance na głębokość około 1 mm. W badanej tkance część promieni laserowych ulega pochłonięciu, część odbija się od materii nieruchomej (białka, keratyna, melanina, hemoglobina) bez zmiany częstotliwości, a reszta odbija się od poruszających się erytrocytów, zmieniając przy tym częstotliwość, zgodnie z efektem Dopplera (62). Odbite światło jest analizowane przez system fotodetekcji. Natężenie sygnału jest wprost proporcjonalne do liczby i szybkości poruszających się krwinek czerwonych w badanym obszarze. Analiza sprawia trudności z uwagi na podlegające zmianom warunki badania. Wykluczenie tych problemów możliwe jest dzięki wykonaniu testów prowokacyjnych, takich jak reaktywne przekrwienie wywołane ogrzewaniem skóry bądź kontrolowanym niedokrwieniem oraz wykonanie jonoforezy substancji wazoaktywnych (63). Powtarzalność metody potwierdził Roustit i wsp. (64) oceniając perfuzję za pomocą jednopunktowej laserowej przepływometrii dopplerowskiej na opuszcze palca po zastosowaniu okluzji oraz miejscowego ogrzewania.

Laserowa przepływometria dopplerowska stosowana w celu oceny mikrokrążenia w skórze wykazała przydatność kliniczną przede wszystkim w dziedzinach takich jak reumatologia, dermatologia czy chirurgia (65). Badanie LDF stanowi pomoc w ocenie głębokości oparzeń oraz ułatwia decyzję o podjęciu terapii (66). Metodę tą wykorzystuje się również przy ocenie gojenia ran między innymi ran pooperacyjnych w chirurgii protetycznej (67). Laserowa przepływometria dopplerowska znalazła zastosowanie także w diagnostyce chorób reumatologicznych takich jak choroba Raynauda czy twardzina układowa (68).

W reumatoidalnym zapaleniu stawów wyniki badania LDF korelują z siłą dolegliwości bólowych oraz zapaleniem błony maziowej potwierdzonej ultrasonografią (69). Metodę LDF stosuje się także celem oceny mikrokrążenia u pacjentów z cukrzycą typ 1 oraz typ 2 (69,70), u pacjentów z posocznicą (75), nadciśnieniem tętniczym oraz przewlekłą niewydolnością żylną (71).

Fotopletyzmoграфия (ang. photoplethysmography; PPG)

Jest stosowana do oceny zmian objętości krwi w obwodowym mikrokrazeniu. Metoda ta jest prosta, bezbolesna, niedroga oraz nie wymaga dużego doświadczenia osoby przeprowadzającej badanie (72) pozwala tylko na punktową ocenę funkcji mikrokrazenia, a wynik badania nie jest podany w jednostkach absolutnych (73). W badaniu fotopletyzmoграфияcznym stosuje się sondę wyposażoną w źródło emitujące światło w zakresie podczerwieni oraz zestaw czujników optycznych. Światło podczerwone jest absorbowane przez badane tkanki.

W zależności od objętości krwi w momencie badania w badanym fragmencie skóry, absorbowane jest mniej lub więcej światła. W konsekwencji ilość odbijanego światła odnosi się do punktowych zmian objętości krwi. Zatem zmiany w przepływie krwi mogą być rejestrowane jako zmiany w natężeniu światła (72). Pomiar może być wykonywany na palcach obu dłoni i stóp. Test przeprowadza się w cichym pomieszczeniu w temperaturze $> 20^{\circ}\text{C}$. Metoda PPG prezentuje zmiany przepływu krwi w formie wykresu, który przedstawia miejscowe zmiany w objętości przepływającej krwi. Kształt fali składa się z dwóch faz: szybkiej fazy anakrotycznej i powolnej fazy katakrotycznej. Obecnie fotopletyzmoграфия najczęściej wykorzystuje się w diagnostyce przewlekłej niewydolności żylnnej, umożliwia ocenę funkcjonowania zastawek w układzie żył powierzchownych oraz głębokich. Badanie fotopletyzmoграфияczne można również zastosować w diagnostyce choroby kończyn dolnych. Allen i in. wykazali kliniczną wartość pomiarów pulsu fotopletyzmoграфияcznego na palcach obu stóp w diagnostyce tejże choroby (35).

Ortogonalna polaryzacja spektralna (ang. orthogonal polarization spectroscopy; OPS)

To stosunkowo nowa technika obrazowania mikrokrazenia. Wykonane w ostatnich latach badania z wykorzystaniem obrazowania OPS wykazały duże możliwości zastosowania klinicznego z wyraźnym wpływem na postawienie prawidłowej diagnozy, wdrożenie leczenia oraz rokowanie (74). Spolaryzowane światło o długości fali 548 nanometrów, które odbija się od badanej tkanki, jest wychwytywane przez kamerę i wykorzystywane do uzyskania optymalnego obrazowania mikrokrazenia w OPS. Światło rozproszone przez powierzchnią warstwę tkanki zostaje zablokowane w procesie drugiej polaryzacji. W konsekwencji tylko światło powracające z głębszych warstw tkanki przechodzi drugą polaryzację i poprawia widoczność erytrocytów. Komputerowa analiza ruchu erytrocytów umożliwia ocenę perfuzji, średnicy naczyń i gęstości naczyń włosowatych (74). Technika obrazowania za pomocą ortogonalnej polaryzacji spektralnej umożliwia nieinwazyjną ocenę nie tylko naczyń mikrokrazenia skórnoego, ale także podśluzówkowego w czasie rzeczywistym (75,76). Badanie wykonuje się zazwyczaj w okolicy podjęzykowej, możliwe jest także badanie w skórze noworodków oraz w trakcie zabiegów operacyjnych z powierzchni określonego narządu.

Wyniki OPS są podatne na artefakty spowodowane ruchem narządu i zmianami ciśnienia krwi (75). De Backer i wsp. (77) wykazali, że przy użyciu techniki OPS istotne zmiany w mikrokrazeniu skóry u pacjentów z posocznicą i wstrząsem septycznym. OPS dostarcza dokładniejszą wizualizację mikrokrazenia u pacjentów w stanie krytycznym w porównaniu z wideokapilaroskopią i laserowymi technikami dopplerowskimi (78). Ortogonalna spektroskopia polaryzacyjna została również zastosowana do monitorowania pacjentów z hipowolemią oraz niemowląt urodzonych przedwcześnie, jako skuteczna nieinwazyjna metoda oceny perfuzji tkanek (79).

Optyczna tomografia koherencyjna (ang. optical coherence tomography, OCT)

To rozwijająca się technologia obrazowania głównie w diagnostyce medycznej. Metoda ta pozwala na nieinwazyjną penetrację badanej tkanki, dlatego nazywana jest biopsją optyczną (80). Optyczna tomografia koherencyjna wykorzystuje zjawisko interferometrii światła z tkankami. W metodzie OCT źródła światła o specjalnej koherencji i widmie o znacznej szerokości widmowej. Światło stosowane w tej metodzie ma intensywność mniejszą niż parę miliwatów. W związku z tym OCT jest badaniem całkowicie nieinwazyjnym i może być bezpiecznie stosowane wielokrotnie, w wielu miejscach. Technika ta jest analogiczna z badaniem ultrasonograficznym z tą różnicą, że używa światła, zamiast dźwięku (81). Najważniejszą zaletą tej metody jest wysoka rozdzielczość wynosząca 10-20 μm , umożliwiająca uzyskiwanie obrazu porównywalnego z badaniem histopatologicznym (82). Inne zalety OCT to łatwość obsługi aparatu, obrazowanie w czasie rzeczywistym oraz możliwość ciągłej rejestracji. Badanie OCT nie wymaga też wcześniejszego przygotowania pacjenta. Niestety ta metoda sprawdza się najlepiej dla tkanek optycznie transparentnych, obejmuje stosunkowo małą powierzchnię oraz ogranicza się do obrazowania tylko 1-2 mm w głąb pod powierzchnią badanej tkanki. OCT jest ciągle rozwijającą się metodą i znajduje zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny. W okulistyce uważano ją za najnowocześniejszą technikę obrazowania w chorobach siatkówki (83) i przedniego odcinka oka. W kardiologii interwencyjnej stosuje się ją w diagnostyce choroby wieńcowej. W dermatologii OCT stosuje się do oceny stopnia uszkodzenia tkanek, do pomiaru patologicznych zmian skórnych, takich jak naczyńki i do precyzyjnej oceny blizn i zmarszczek. Porównanie odwzorowania OCT wykonanej na przedramieniu osób zdrowych i pacjentów z łuszczycą wykazuje charakterystyczne zmiany mikrokrażenia w obecności łuszczycy (76).

Tkankowa fotometria odbiciowa (ang. tissue reflectance spectrophotometry; TRS)

To prosta metoda oceny mikrokrażenia skórno w czasie rzeczywistym. Spektrofotometria odbiciowa tkankowa (TRS) opiera się na wykrywaniu światła rozproszonego wstecznie w określonych widmach długości fali dla utlenowanej hemoglobiny przy dwóch pikach 542 nm i 577 nm oraz pikę dla hemoglobiny odtlenionej o 556 nm. Technika ta pozwala na ocenę saturacji hemoglobiny tlenem i stężenia hemoglobiny w naczyniach włosowatych, co odzwierciedla stan mikrokrażenia skóry w czasie rzeczywistym (15). Tkankowa fotometria odbiciowa umożliwia dokonywanie pomiarów z powierzchni każdego narządu, najczęściej badanie to wykonuje się na powierzchni skóry oraz błony śluzowej żołądka. Krótki czas badania, wyrażanie wyników w jednostkach bezwzględnych i możliwość wykonywania powtarzalnych pomiarów to główne zalety TRS. Ograniczenia obejmują fakt, że wynik zależy od obecności chromoforów tkankowych innych niż hemoglobina, tj. melaniny lub cytochromów. Błędne wyniki pomiaru zawartości krwi i utlenowania mogą wystąpić u osób o znacznej pigmentacji skóry, ponieważ melanina w naskórku zmniejsza ilość światła rozproszonego wstecz i ma charakterystyczne spektrum absorpcji, różne u każdej osoby (84). TRS jest obecnie stosowany głównie do oceny gojenia się tkanek (85).

Spektroskopia bliskiej podczerwieni (ang. near infrared spectroscopy; NIRS)

Jest szczególną formą tkankowej fotometrii odbiciowej. Metoda ta wykorzystuje światło podczerwone w zakresie 700-1000 nm, które łatwo przenika przez tkanki miękkie, a następnie jest częściowo rozproszone i częściowo wchłaniane przez chromofory, takie jak hemoglobina, mioglobina i cytochrom aa3. Na tej podstawie przeprowadzana jest ocena nasycenia krwi hemoglobina (tHbO₂) (85). Technika ta może być wykorzystywana do oceny różnych narządów, służy przede wszystkim do oceny przepływu przez mózg oraz tkankę mięśniową. Zalety tej metody to łatwość w użyciu oraz krótki czas badania. Dostępne obecnie urządzenia do pomiarów klinicznych charakteryzują się łatwą obsługą. Niestety, NIRS nie pozwala na pomiary wartości bezwzględnych tHbO₂. Ponadto, rozdzielczość sygnału jest słaba i nie jest znana dokładna głębokość penetracji tkanki światłem (85).

Początkowo metoda ta wykorzystywana była do ciągłego monitorowania wysycenia hemoglobiny tlenem tkanki mózgowej podczas endarterektomii tętnicy szyjnej (85). Technika NIRS jest również obecnie uznawana za dobre narzędzie do oceny powierzchniowych tkanek, w tym mikrokrążenia skórnego. NIRS jest stosowany głównie u pacjentów w stanie krytycznym do monitorowania dostarczania tlenu do mięśni szkieletowych na oddziałach intensywnej terapii. Lima i wsp. (86) udowodnili że monitorowanie perfuzji obwodowej może być wczesnym wskaźnikiem tkankowej hipoperfuzji. Stwierdzono, że metoda NIRS ocenia mikrokrążenie skóry u pacjentów z posocznicą i wstrząsem septycznym, jednak jego wartość prognostyczna nie została jeszcze potwierdzona (87). Hartvig i wsp. (88) w pilotażowym badaniu z powodzeniem zastosowali tę technikę do oceny dysfunkcji mikrokrążenia w twardzinie układowej zarówno w warunkach statycznych, jak i dynamicznych. Wykazali również kliniczne zastosowanie NIRS w ocenie mikrokrążenia skóry w związku z testami okluzji naczyń (89). Wykazali również kliniczne zastosowanie NIRS w ocenie mikrokrążenia skóry w związku z testami okluzji naczyń. NIRS, podobnie jak laserowa przepływometria dopplerowska oraz przezskórny pomiar prężności tlenu może być stosowany w ocenie mikrokrążenia u chorych na cukrzycę. Ocena mikrounaczynienia może pomóc w podjęciu decyzji terapeutycznej (90).

Tabela 1 Nieinwazyjne metody oceny mikrokrążenia (9)

Metoda/ Method	Zasada pomiaru/ Measuring principle	Parametry mierzone/ Measuring parameters	Badane tkanki/ Examined tissues	Zalety/ Advantages	Wady/ Disadvantages
Kapilaroskopia/ Capillaroscopy	soczewki umożliwiają analizę morfologii kapilar oraz mikrokrążenia wału paznokciowego	wizualizacja mikrokrążenia przede wszystkim wałów paznokciowych	wały paznokciowe rąk i stóp	niedroga, nieinwazyjna, prosta, powtarzalna oraz czuła metoda obrazowanie w czasie rzeczywistym	
Videokapilaroskopia/ Videocapillaroscopy	badanie pętli włosniczkowych za pomocą ruchomej głowicy wyposażonej w źródło światła i kamerę, która przesyła obraz na monitor komputera	wizualizacja mikrokrążenia przede wszystkim wałów paznokciowych, w czasie rzeczywistym, ocena morfologii oraz funkcji mikrokrążenia	każda okolica ciała (błon śluzowych)	powiększenie do 200x. obrazowanie w czasie rzeczywistym, komputerowa analiza mikrokrążenia z możliwością archiwizacji obrazów kapilaroskopowych	badanie trudne do wykonania w skórze z dużą ilością pigmentu
Laserowa przepływometria dopplerowska/ Laser Doppler flowmetry	monochromatyczne światło o wąskim paśmie od czerwieni do pobliza podczerwieni	strumień erytrocytów	powierzchnie wszystkich narządów, gł. skóra i błona śluzowa żołądka	prosta analiza, krótki czas pomiaru	światło penetruje na głębokość 1-1, 5 mm, pigmentacja zaburza wnikanie wiązki światła oraz odczyt wiązki odbitej, nie pokazuje wartości absolutnych
Termografia/ Termography	korelacja pomiędzy temperaturą ciała i przepływem krwi	mapa temperatury	na przykład: skóra, serce	objaw Raynauda niedokrwienie	temperatura skóry oraz przepływ krwi – nie ma prostej zależności
Przezskórny pomiar prężności tlenu/ Transcutaneous oxygen measurements	metoda polarograficzna/ elektroda podgrzewana jest do temperatury od 37 do 45°C w celu wywołania miejscowego przekrwienia	ocena ilości tlenu, który dyfunduje z naczyń włosowatych, odzwierciedla stan metaboliczny kończyny dolnej	skóra	łatwość pomiaru niskie koszty niezależność od błędu osoby wykonującej badanie	czasochłonność - zanim ustalą się odpowiednie warunki pomiaru mija około 15 min., konieczność wykonywania powtarzalnych kalibracji

Fotopletyzmografia/ <i>Photoplethysmography</i>	pomiar małych wahań w intensywności odbitego światła w podczerwieni związane ze zmianami w perfuzji tkankowej	zmiany objętości krwi	SaO ₂ , ciśnienie tętnicze na palcach, reaktywność naczyń w testach prowokacyjnych	nieinwazyjność, sygnał jest silny układ elektroniczny jest dosyć prosty i mały	wrażliwość na artefakty ruchowe
<i>Ortogonalna polaryzacja spektralna/ Orthogonal polarization spectroscopy</i>	ocena mikrokrążenia przy zastosowaniu światła spolaryzowanego dł. 548 nm.	średnica naczyń, prędkość przepływu krwi, gęstość kapilar	okolica podjęzykowa, skóra u noworodków, powierzchnia narządów wewnętrznych- zabiegi operacyjne	krótki czas pomiaru, różnorodność miejscowego przepływu	płytką penetracja jedynie na głębokość 1mm, czasochłonne, ocena półilościowa, offline
Spektroskopia bliskiej podczerwieni/ <i>Near infrared spectroscopy</i>	światło podczerwone(700-1000 nm) absorbowane przez chromofory takie jak Hb, mioglobinę, cytochrom aa3,	utlenowanie hemoglobiny	powierzchnia narządów zwłaszcza mózg	prosta w użyciu, krótki czas	nieznana dokładna głębokość wnikania światła, nie mierzy wartości absolutnych
Tkankowa fotometria odbiciowa/ <i>Tissue reflectance spectrophotometry</i>	rejestracja światła odbitego w spektrum określonej długości (Hb natlenowana 542 nm i 577 nm; Hb odtlenowana 556 nm)	saturacja hemoglobiny natlenowanej, koncentracja hemo-globiny w kapilarach	powierzchnie organów gł. skóra i błona śluzowa żołądka	prosta technika, pomiar wartości bezwzględnych, wielokrotnie w krótkim czasie	spektrum długości fal zależne od zawartości innych chromoforów tkankowych (melaniny, cytochromy)
Optyczna tomografia koherencyjna/ <i>Optical coherence tomography</i>	wykorzystuje zjawisko interferencji światła z tkankami	np. grubość warstwy włókien nerwowych i plamki żółtej	in vivo i in vitro umożliwia obrazowanie układów narządów wewnątrz ciała	wysoka rozdzielczość wynosząca 10-20 μm, pozwalająca uzyskać obraz umożliwiający porównywalny z badaniem histopatologicznym; łatwość obsługi aparatu obrazowanie w czasie rzeczywistym możliwość ciągłej rejestracji nie wymaga też wcześniejszego przygotowania pacjenta	sprawdza się najlepiej dla tkanek optycznie transparentnych, obejmuje stosunkowo małą powierzchnię ogranicza się do obrazowania tylko 1-2 mm w głąb badanej tkanki

1.2.2 Testy prowokacyjne stosowane w ocenie mikrokrążenia skórniego

Nieinwazyjne metody oceny mikrokrążenia skórniego można uzupełnić o testy prowokacyjne, które umożliwiają ocenę reaktywności naczyń skórnych. Do najczęściej wykonywanych testów prowokacyjnych należą: stymulacja mechaniczna, np. test pookluzyjnego przekrwienia czynnego (PORH, post - occlusive reactive hyperemia), stymulacja termiczna- ogrzewanie skóry oraz stymulacja farmakologiczna, czyli wprowadzenie do skóry substancji wazoaktywnych przy zastosowaniu jonoforezy najczęściej acetylocholiny lub nitroprusydku sodu (91) lub stosowanie substancji w infuzji dożylnie, np. L-arginina (92).

Infuzja L-argininy - substratu dla syntazy tlenu azotu (NOS) - jest selektywnym bodźcem wazodylatacyjnym naczyń mikrokrążenia skórniego. Piśmiennictwo zawiera rozbieżne informacje dotyczące efektów hemodynamicznych działania L-argininy, zarówno zależnych od dawki, sposobu jej podania a także grup badanych. Bode-Böger i wsp. (93,94) stwierdzili, iż 30-minutowa infuzja 30 g L-argininy powoduje rozszerzanie naczyń u ludzi. Reakcja ta obserwowana była w krótkim czasie po zakończeniu infuzji u osób zdrowych (94). Rozszerzenie naczyń wywołane poprzez L-argininę było związane ze zwiększeniem stężenia azotynów i azotanów w moczu, co sugeruje, że reakcja ta była zależna od NO. Wpływ L-argininy na zależną od NO funkcję śródbłonna u chorych na cukrzycę był przedmiotem wielu doniesień (95–99). Wyniki badań nielicznych, 10- osobowych grup osób zdrowych dają podstawy do stwierdzenia, że L-arginina stosowana w dużych dawkach wywiera efekt wazodylatacyjny również poprzez wzrost stężenia hormonu wzrostu i insuliny w surowicy (94,100). Obserwacje przeprowadzone w naszym ośrodku w grupie chorych na cukrzycę typu 1. oraz grupie kontrolnej pozwalają zakładać, że główny mechanizm efektu wazodylatacyjnego L-argininy nie zależał od insuliny. L-arginina została po raz pierwszy zastosowana do oceny reaktywności mikrokrążenia skórniego przez Neubauer-Geryk i wsp. (92). Badacze zaobserwowali, że reaktywność naczyń skórnych w wyniku infuzji L-argininy w grupie kontrolnej jest porównywalna do reaktywności u chorych na cukrzycę, którzy zachorowali przed 19 rokiem życia, a z drugiej strony brak reaktywności u chorych na cukrzycę którzy zachorowali po 19 roku życia może sugerować, że L-arginina działa bezpośrednio jako substrat dla eNOS a nie tylko pośrednio poprzez insulinę. Mimo że infuzja L-argininy u chorych na cukrzycę typu 1. jest uznana za bezpieczną i skuteczną metodę badania reaktywności naczynioruchowej krążenia siatkówki i małych naczyń mózgu (101,102) nie była dotąd wykorzystana do określenia reaktywności mikrokrążenia skórniego.

Test pookluzyjnego przekrwienia czynnego (PORH) jest jednym z najczęściej stosowanych testów prowokacyjnych w ocenie mikrokrążenia. Test ten jest oparty na obserwacji przemijającego zwiększenia perfuzji skórnej zaraz po zwolnieniu okluzji naczynia tętniczego określane, jako reaktywne przekrwienie po okluzji (103). Głównym mechanizmem zaangażowanym w ten test jest *shear stress* i jego konsekwencje (104). Funkcja mikrokrążenia wykorzystująca rekrutację kapilar skóry podczas okluzyjnego przekrwienia reaktywnego jest związana z zależnym od śródbłonna rozszerzeniem naczyń na poziomie prekapilar (105,106), w której pośredniczy odruch aksonalny, czynnik hiperpolaryzujący pochodzenia śródbłonkowego. W PORH biorą udział zarówno czynniki miogenne jak i metaboliczne (107). Rola tlenu azotu (NO) w teście była dyskutowana i obecnie uważa się, że nie bierze on udziału w reakcji przekrwiennej (107–110).

W PORH najczęściej stosuje się mankiety sfingomanometru, który umieszcza się na ramieniu i pompuje do wartości przekraczającej o 50 mmHg ciśnienia skurczowe pacjenta i rejestruje przepływ krwi w mikrokrążeniu skórnym na przedramieniu (91,111). Typowo czas okluzji tętnicy ramiennej wynosi 3-5 min, ale okres ten może wynosić 1-15 min. Zwraca uwagę liniowa korelacja pomiędzy czasem niedokrwienia, a pookluzyjnego przekrwienia czynnego (103). Zmiany przepływu krwi w mikrokrążeniu podczas testu pookluzyjnego przekrwienia czynnego obrazuje charakterystyczna krzywa. W badaniach ocenia się przede wszystkim perfuzję szczytową i oblicza powierzchnię pod krzywą dla całego okresu trwania PORH aż do momentu wznowienia perfuzji (91). Podczas testu PORH dochodzi do rekrutacji kapilar (112).

Schlager i wsp. (113) stosując test PORH przy używaniu laserowej przepływometrii dopplerowskiej zaobserwowali zaburzoną autoregulacją mikrokrążenia u dzieci z cukrzycą typ 1 w porównaniu do grupy kontrolnej. Badacze zwrócili uwagę przede wszystkim na wyższą perfuzję szczytową mikrokrążenia skóry u dzieci z cukrzycą w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej. Zauważono także korelacją między szczytową perfuzją a czasem trwania choroby, natomiast wartość hemoglobiny glikowanej (HbA1c) nie miała wpływu na opisywany parametr mikrounaczynienia.

Test okluzji żyłnej czyli test przekrwienia biernego (ang. Venous Congestion Test) lub inaczej test okluzyjny (ang. Venous Occlusion Test) wywołuje maksymalną gęstość kapilarną oraz zwiększa zawartość erytrocytów w naczyniach włosowatych. W teście wykorzystuje się mankiety sfingomanometru, umieszczając go na ramieniu i stosuje ciśnienie 60 mmHg przez 2 minuty. Serné i wsp. (114) oceniali mikrokrążenie w grupie chorych z nieleczonym nadciśnieniem tętniczym pierwotnym oraz grupie kontrolnej - z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego z zastosowaniem videokapilaroskopii oraz testu PORH i testu okluzyjnego. Badacze obserwowali upośledzoną rekrutację kapilar w okresie pookluzyjnego przekrwienia czynnego oraz teście okluzyjnym u osób z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu z grupą kontrolną, co sugeruje funkcjonalne oraz strukturalne rozrzedzenie. Nazzaro i wsp. (115) z wykorzystaniem videokapilaroskopii oraz testu okluzyjnego wykazali, że występowanie obturacyjnego bezdechu sennego (OBS) pogarsza zaburzenia mikrokrążenia u pacjentów z umiarkowanym nadciśnieniem tętniczym. Badacze zauważyli rozrzedzenie sieci kapilar zarówno w warunkach podstawowych jak i teście okluzyjnym, większe w grupie pacjentów z ciężkim OBS niż w grupie chorych z łagodnym OBS oraz bez OBS.

Wazodylatacja wywołana ciśnieniem (ang. pressure-induced vasodilation; PIV) jest kolejnym nieinwazyjnym testem prowokacyjnym wykorzystywanym przy ocenie reaktywności mikrokrążenia. Bezpośredni, zewnętrzny, nienocyceptywny nacisk na zdrową skórę powoduje przejściowe rozszerzenie naczyń. Dotychczas wykonane badania wskazują, że mechanizm ten pełni ochronną rolę i ma zapobiegać niedokrwieniu tkanek. Uważa się, że reakcja przekrwienia w PIV jest wieloczynnikowa (103,108). Fromy i wsp. (103) wykazali istotną rolę w tym mechanizmie neuronowego kanału jonowego. Badania wskazują, że jest on czujnikiem koniecznym dla rozszerzenia naczyń indukowanego bezpośrednim uciskiem (116). PIV jest upośledzone u starszych osób oraz pacjentów z cukrzycą (117). Głównym ograniczeniem PIV jest brak na rynku medycznym urządzeń umożliwiających wykonanie testu. Obecnie w badaniach wykorzystywane są prototypy takich urządzeń wykonywane jedynie na zamówienie.

Mikrokrążenie skórne jest odpowiedzialne za utrzymanie prawidłowej temperatury ciała i wykazuje dużą

wrażliwość na lokalne zmiany temperatury. W związku z tym ogrzewanie i chłodzenie skóry zostały z powodzeniem zastosowane w ocenie reaktywności.

Test przekrwienia termicznego polega na miejscowym zwiększeniu przepływu krwi w odpowiedzi na ogrzewanie skóry. Wykonanie testu jest możliwe dzięki zastosowaniu specjalnej sondy ogrzewającej na powierzchni skóry. Wzrost miejscowej perfuzji skóry jest spowodowany rozszerzeniem naczyń i jest wprost proporcjonalny do temperatury skóry. Wazodylatacja maksymalna występuje kiedy miejscowa temperatura skóry wynosi około 44°C i jest utrzymywana, przez co najmniej 20 min. Odpowiedź naczyniowa w czasie tego testu ma dwuetapowy charakter. I faza - szybki szczyt przepływu następuje w czasie pierwszych 10 minut i jest związana z udziałem nerwów czuciowych. Druga faza - plateau trwająca około 20-30 min powstaje głównie za pośrednictwem tlenu azotu (91,118,119).

Wiele dotychczas wykonanych badań ujawniło związek między cukrzycą a dysfunkcją naczyń mikrokrążenia. Fuchs i wsp. (118) w dokonanej metaanalizie w teście przekrwienia termicznego zaobserwowali mniejszą odpowiedź naczyń mikrokrążenia w porównaniu ze zdrowymi osobami. Zauważono także, że grupa chorych z powikłaniami mikronaczyniowymi ma osłabioną odpowiedź naczyniową w porównaniu do chorych bez obecności mikroangiopatii. Badacze wysunęli hipotezę, że dłuższy czas trwania cukrzycy oraz obecność powikłań w zakresie mikrokrążenia są związane z większym stopniem upośledzenia reaktywności mikronaczyniowej.

Jonoforeza jest nieinwazyjną metodą, która polega na transporcie najczęściej przez skórę substancji będących w formie zjonizowanej. Jest ona wykorzystywana, jako farmakologiczny test reaktywności naczyń mikrokrążenia. Istotą jonoforezy polega na przenoszeniu jonów przy zastosowaniu prądu o małym natężeniu. Ilość transportowanej substancji jest proporcjonalna do natężenia prądu i czasu jego przepływu. Na przenikanie jonów ma również wpływ pH, stężenie roztworu oraz stan skóry. Mechanizmy, dzięki którym jonoforeza Ach lub SNP (nitroprusydek sodu) indukuje wazodylatację są niejasne. W obserwowanej reakcji podkreśla się wpływ cyklooxygenazy (COX), a także tlenu azotu (NO) (90,91). Fuchs i wsp. (118) w dokonanej metaanalizie wykazali, że w kilku badaniach z udziałem chorych z różnymi typami cukrzycy jest zmniejszona odpowiedź naczyniowa na jonoforezę Ach i SNP. Wyraźniejsze różnice zauważono po jonoforezie Ach niż po jonoforezie SNP. Ponadto w badaniach z udziałem pacjentów z cukrzycą z powikłaniami mikronaczyniowymi w porównaniu do pacjentów z cukrzycą, ale bez powikłań, obserwowano wyraźniejsze upośledzenie funkcji mikrokrążenia.

Współczesny obraz cukrzycy typu 1 różni się od tego sprzed lat. Postęp w leczeniu i edukacji powoduje, iż 10-letni czas trwania cukrzycy nie jest czasem, gdy ujawniają się powikłania cukrzycowe. Oprócz klasycznych powikłań mikroangiopatycznych poszukuje się przejawów wczesnego wystąpienia powikłań. Występowanie wczesnych symptomów dysfunkcji mikrokrążenia u chorych na DMt1 bez jawnych klinicznie powikłań za pomocą nieinwazyjnych badań struktury i funkcji naczyń mikrokrążenia stanowi wciąż obszar wielkiego zainteresowania klinicystów. Zasadne wydaje się sprawdzenie użyteczności dostępnych metod badawczych oraz określenie charakterystyki mikrokrążenia w celu ustalenia wartości referencyjnych niezbędnych dla dalszych obserwacji.

2 Cele pracy

1. Ocena struktury i funkcji mikrokrążenia obwodowego za pomocą kapilaroskopii i przezskórnego pomiaru ciśnienia parcjalnego tlenu u dzieci z cukrzycą typu 1 w warunkach spoczynkowych oraz po teście pookluzyjnego przekrwienia czynnego i teście przekrwienia biernego.
2. Analiza parametrów charakteryzujących mikrokrążenie skórne przy użyciu wybranych metod w zależności od czasu trwania, stopnia wyrównania metabolicznego cukrzycy oraz wybranych markerów biochemicznych.

3 Materiał i Metody

Do badania rekrutowano pacjentów z cukrzycą typu 1 będących pod długoterminową opieką Katedry i Kliniki Pediatrii, Diabetologii i Endokrynologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku. Badania realizowano w okresie od 2014 roku do 2017 roku w Centrum Symulacji Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego współdziałając z lekarzem odpowiedzialnym za stałe leczenie. Ochotników do grupy kontrolnej rekrutowano natomiast spośród rodzin pacjentów objętych badaniem. Badania przeprowadzono we współpracy z Katedrą i Kliniką Okulistyki GUMed oraz Zakładem Ochrony Środowiska i Higieny Transportu IMMiT GUMed. Osoby uczestniczące w badaniu zostały szczegółowo poinformowane o jego celu oraz przebiegu i wyraziły na nie świadomą zgodę.

Zastosowana metodologia badawcza została zaakceptowana przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy GUMed (decyzje NKBBN/277/2014 z 08.07.2014r. oraz NKBBN/277-512/2016 z dnia 05.12.2016 r.)

Kryteria wyłączenia z badania:

1. Powikłania mikroangiopatyczne.
2. Powikłania makroangiopatyczne.
3. Ostre powikłania cukrzycy.
4. Nieprawidłowe stężenie TSH oraz wolnej postaci tyroksyny.
5. Autoimmunologiczne zapalenia tarczycy.
6. Choroby układowe takie jak: reumatoidalne zapalenie stawów, łuszczyca.

Analiza objęła 67 chorych na cukrzycą typ 1 w wieku od 10 do 18 lat nie przyjmujących statyn i innych leków wpływających na układ sercowo - naczyniowy oraz 28 subiektywnie zdrowych ochotników dobranych po względem płci i wieku do grupy badanej.

W badanej grupie oceniono obecność przewlekłych powikłań cukrzycy o charakterze mikroangiopatii: retinopatii, neuropatii i nefropatii cukrzycowej. Wykluczenie obecności retinopatii cukrzycowej zostało oparte na oftalmoskopowej ocenie dna oka po uprzednim rozszerzeniu źrenicy przeprowadzonej przez okulistę w oparciu o kryteria Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (120). Diagnostykę w kierunku obecności retinopatii cukrzycowej uzupełniono o wykonanie optycznej tomografii koherentnej. W celu oceny neuropatii cukrzycowej przeprowadzono diagnostykę opartą na subiektywnych i obiektywnych objawach neuropatii (121). Na podstawie aktualnego oznaczenia stężenia albumin w pobranej próbce moczu oraz badań albuminurii w ciągu ostatnich 6 miesięcy poprzedzających badanie rozpoznawano normo, mikro- bądź makroalbuminurię.

3.1 Charakterystyka grup

3.1.1 Badanie przedmiotowe i podmiotowe

Z osobami, które wzięły udział w badaniu zebrano szczegółowy wywiad medyczny. U pacjentów z cukrzycą badanie przedmiotowe zawierało dane takie jak: wiek zachorowania, schemat i ilość przyjmowanej insuliny, obecność powikłań w szczególności retinopatii, nefropatii oraz neuropatii oraz występowanie hipoglikemii.

U wszystkich badanych, czyli zarówno w grupie kontrolnej, jak i grupie chorych z cukrzycą typu 1 uwzględniono w wywiadzie wiek, obecność nadciśnienia tętniczego, choroby serca, dyslipidemii, stosowanie używek, przyjmowanie innych leków, dane dotyczące aktywności fizycznej (częstość, rodzaj aktywności), wywiad rodzinny.

Badanie pediatryczne zostało przeprowadzone przez doświadczoną pediatrę. Pięciokrotny pomiar

wartości spoczynkowego ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego aparatem automatycznym OMRON HEM-907 w pozycji siedzącej, po co najmniej 10-minutowym odpoczynku przeprowadzono w czasie poprzedzającym badanie kapilaroskopowe.

3.2.1 Grupa chorych na cukrzycę

Badaną grupę stanowiło 67 pacjentów z cukrzycą typu 1, 29 chłopców i 38 dziewczynek z medianą wieku metrykalnego 14,7 (10,9 - 18) lat. Mediana wieku zachorowania wynosiła 10,4 lat, zaś czasu trwania cukrzycy 4,65 lat. Średnie zapotrzebowanie dobowe na insulinę wynosiło 42,2 jednostek międzynarodowych. Mediana stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA1c) w surowicy krwi w czasie badania wynosiła 7,6 (5,3 - 13,6)%.

W okresie badania 34 pacjentów było leczonych pompą insulinową. Mediana czasu leczenia przy użyciu pompy insulinowej w stosunku do czasu trwania cukrzycy wynosiła 35 % całego czasu trwania cukrzycy. W badanej grupie pacjentów nie stwierdzono powikłań mikro- i makroangiopatycznych. Incydenty ciężkiej hipoglikemii (wymagającej udzielenia choremu pomocy przez inną osobę) podczas 12 miesięcy przed badaniem zgłosiło 9 chorych, zaś incydent lekkiej hipoglikemii zgłosiło 57 chorych. Średnie ciśnienie tętnicze skurczowe i rozkurczowe wynosiły odpowiednio 106 i 60 mmHg zaś częstość akcji serca 80 uderzeń/minutę (Tabela 2).

Tabela 2 Charakterystyka chorych na cukrzycę

Charakterystyka	wartość
pleć M % (N)	29 (43)
masa ciała [kg]	56,9 ± 12,1
BMI [kg/m ²]	20,3 ± 2,9
wiek metrykalny [lata]	14,6 (10,9 ; 18)
wiek zachorowania [rok życia]	10,3 (2,1 ; 15,0)
czas trwania cukrzycy [lata]	4,65 (0,6 ; 14,5)
dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j./dobę]	42,2 ± 17,9
czas leczenia przy użyciu pompy insulinowej w stosunku do czasu trwania cukrzycy [%]	35 (0 ; 97)
HbA1c [%]	7,6 (5,3 - 13,6)
incydent łagodnej hipoglikemii w przeciągu ostatniego miesiąca [ilość/miesiąc]	6 (0 ; 30)
incydent ciężkiej hipoglikemii w przeciągu ostatniego roku [ilość/rok]	0 (0 ; 3)
skurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	106 ± 11
rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	60 ± 6
częstość akcji serca [uderzeń/min.]	80 ± 10

3.1.3 Grupa kontrolna

Badaniami objęto 28 osób subiektywnie zdrowych (15 chłopców i 14 dziewczynek) w wieku 14,5 (± 2) lat. Osoby z grupy kontrolnej nie miały zaburzeń węglowodanowych. Stężenie hemoglobiny glikowanej wynosiło 5,3 (4,8; 5,6) %. Średnie ciśnienie tętnicze skurczowo i rozkurczowe wynosiły odpowiednio 109 i 62 mmHg, zaś częstość akcji serca 79 uderzeń/minutę (Tabela 3).

Tabela 3 Charakterystyka grupy kontrolnej

Charakterystyka	wartość
płeć M % [N]	54% [15]
masa ciała [kg]	54 ± 14,4
BMI [kg/m ²]	19,8 ± 3
wiek metrykalny [lata]	14,5 ± 2
HbA1c w czasie badania [%]	5,3 (4,8; 5,6)
skurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	109 ± 9
rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	62 ± 5
częstość akcji serca [uderzeń/min.]	79 ± 12

3.2 Badania biochemiczne

Krew do badań laboratoryjnych pobierano od osób pozostających na czczo z żyły odłokciowej. Badania zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Klinicznym Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego.

Wykonano następujące badania:

- hemoglobinę glikowaną (norma 4,0-6,0%)
- lipidogram:
 - o cholesterol całkowity (norma 115-190 mg/dl),
 - o trójglicerydy (norma <150),
 - o cholesterol HDL (norma >45 mg/dl),
 - o cholesterol LDL
 (norma <70 mg/dl – u osób z bardzo dużym ryzykiem sercowo – naczyniowym, <100 mg/dl u osób z dużym ryzykiem sercowo –naczyniowym, <115 mg/dl u osób z umiarkowanym / małym ryzykiem sercowo- naczyniowym)
- białko C-reaktywne (norma < 5,0 mg/l)
- TSH (norma 0,34-4,94 uU/ml); wolna tyroksyna (norma 9,01-19,05 pmol/l)
- kreatynina (norma 0,55-1,02 mg/dl)
- W grupie pacjentów z cukrzycą wykonano także badanie moczu – poranną próbkę moczu pobrano w celu oznaczenia stężenia albuminy w moczu.
- Klirens kreatyniny= 0.413 x wzrost (cm)/stężenie kreatyniny w surowicy krwi (mg/dL), obliczono według formuły Bedside Schwartz (122).

3.3 Badanie kapilaroskopowe

Badaniem kapilaroskopowym oceniano pętle włósczkowe wałów paznokciowych palców II-V obu kończyn górnych. Pacjenci zostali poproszeni, aby przez okres, co najmniej 2 tygodni przed badaniem unikać zabiegów kosmetycznych palców rąk. Badanie przeprowadzono w cichym pomieszczeniu o stałej temperaturze około 20°C, zapewniając 15 min adaptację cieplną. Przed wykonaniem kapilaroskopii oczyszczono wybrany wał paznokciowy oraz pokryto go olejkim immersyjnym w celu lepszego uwidocznienia naczyń włosowatych oraz zwiększenia przezierności warstwy rogowej.

Badanie kapilaroskopowe wykonywano w pozycji siedzącej, z rękoma podpartymi, tak, że dło-

nie spoczywały swobodnie pod kapilaroskopem. Badanie wykonywano kapilaroskopem OPTA-TECH z oświetleniem dwupunktowym, wyposażonym w kamerę cyfrową o matrycy 5 megapixeli uzyskując 200-krotne powiększenie. Obrazy archiwizowano na dysku używając standardowego oprogramowania producenta.

Analiza obrazów kapilaroskopowych (Rysunek 2) przeprowadzona była według opracowanej w Pracowni Fizjologii Klinicznej metody opublikowanej w *Diabetes Care* w 2012 (92).

Wyznaczano następujące parametry charakteryzujące mikrokrążenie skórne: średni odstęp między kolejnymi kapilarami (Distance), proporcje pomiędzy powierzchnią zajęta przez kapilary a całkowitą powierzchnią analizowanych rzędów kapilar (Coverage). Wskaźniki te uzyskiwano w warunkach podstawowych i po każdym z niżej opisanych testów. Analizowano te same obszary wałów paznokciowych.

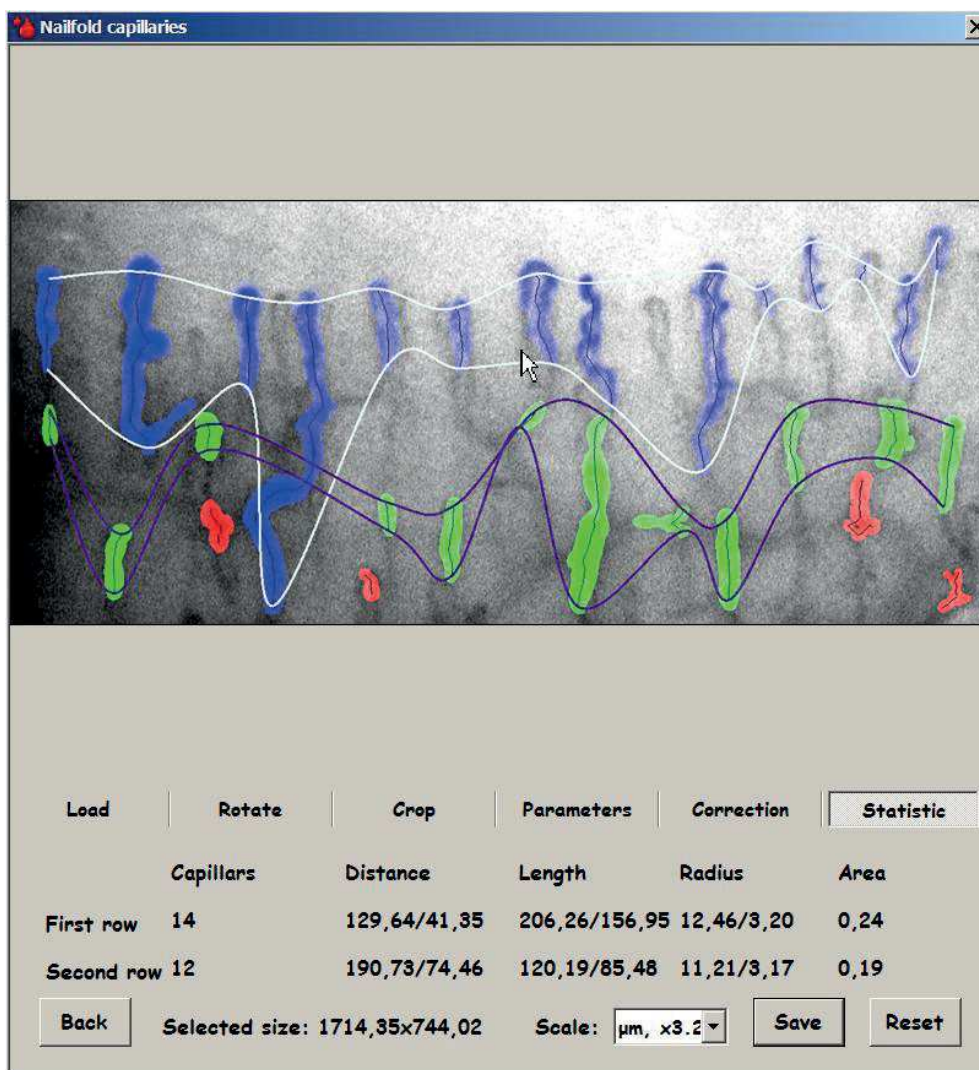
Kapilaroskopia podczas badania wykonywana była trzy razy:

1. Po 20 minutach odpoczynku w pozycji siedzącej
2. Po wywołaniu przekrwienia czynnego 4-minutowym wcześniejszym uciskiem ramienia mankietem sfigmomanometru ciśnieniem przekraczającym o 50 mmHg ciśnienie skurczowe pacjenta
3. Po 2 minutowym przekrwieniu biernym wywołanym uciskiem ramienia mankietem sfigmomanometru ciśnieniem 60 mmHg.

Pomiędzy testem przekrwienia czynnego a biernego zachowywano 5-minutową przerwę.

Oznaczano następujące parametry opisujące mikrokrążenie skórne:

Coverage_B	stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanego obszaru w warunkach podstawowych
Coverage_P	stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanego obszaru teście przekrwienia czynnego
Coverage_V	stosunek powierzchni zajętej przez kapilary do całkowitej powierzchni analizowanego obszaru po przekrwieniu biernym
ΔCoverage_P	zmiana w powierzchni zajętej przez kapilary po teście przekrwienia czynnego w stosunku do wartości w warunkach przed testem (warunki podstawowe) Δ Coverage_P = Coverage_P - Coverage_B
ΔCoverage_V	zmiana w powierzchni zajętej przez kapilary po teście przekrwienia biernego w stosunku do wartości w warunkach przed testem (warunki podstawowe) Δ Coverage_V = Coverage_V - Coverage_B
Reaktywność kapilar	Δ Coverage_P / Coverage_B
Distance_B	średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami w warunkach podstawowych
Distance_P	średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami po teście przekrwienia czynnego
Distance_V	średni odstęp pomiędzy kolejnymi kapilarami po teście przekrwienia biernego
ΔDistance_P	różnica pomiędzy odległością kapilar wyznaczoną po i przed przekrwieniem czynnym Δ Distance_P = Distance_P - Distance_B
ΔDistance_V	różnica pomiędzy odległością kapilar wyznaczoną po i przed przekrwieniem biernym Δ Distance_V = Distance_V - Distance_B



Rysunek 2 Przykładowy wynik analizy obrazów kapilaroskopowych (badania własne).

3.4 Badanie przezskórnego pomiaru ciśnienia parcjalnego tlenu

Badanie przezskórnego pomiaru prężności tlenu wykonywano na przedramieniu pacjenta. Czujnik umieszczano na pozbawionej owłosienia oraz uprzednio oczyszczonej przyśrodkowej części przedramienia. Temperaturę ciała kontrolowano za pomocą termometru bezdotykowego (Novama - Model NT 19) i mieściła się w zakresie prawidłowym u wszystkich badanych pacjentów i kontroli. Temperatura w pomieszczeniu była kontrolowana przez klimatyzację i była utrzymywana na tym samym poziomie podczas wszystkich testów.

Przezskórne badanie ciśnienia tlenu przeprowadzono przy wykorzystaniu PeriFlux System 5000 (Perimed AB, Szwecja). $TcPO_2$ opiera się na ilości tlenu, która dyfunduje z naczyń włosowatych przez naskórek do elektrody, a tym samym dostarcza informacji o zdolności organizmu do dostarczania tlenu do tkanek (30). W pomiarze t_cPO_2 , czujniki zawierają parę spolaryzowanych elektrod, co umożliwia określenie aktualnej zawartości tlenu w danej objętości. Klasyczna elektroda tlenowa zawiera srebrno-srebrną anodę i katodę wykonaną ze złota lub platyny, oddzieloną ciekłym elektrolitem. Elektrody są ograniczone membraną wykonaną z polimeru (teflon, polietylen lub silikonowy polimer), przez którą selektywnie przenika tlen z badanego obszaru skóry (123). Prąd wyjściowy jest proporcjonalny do ciśnienia cząstkowego tlenu w tkankach (124) i przepływu krwi w skórze, dysocjacji oksyhemoglobiny i metabolicznej aktywności tkanki. Do testu użyto elektrody elektrochemicznej i lokalnego systemu

grzewczego. Temperaturę skóry 43°C wybiera się w celu miejscowego przekrwienia (125).

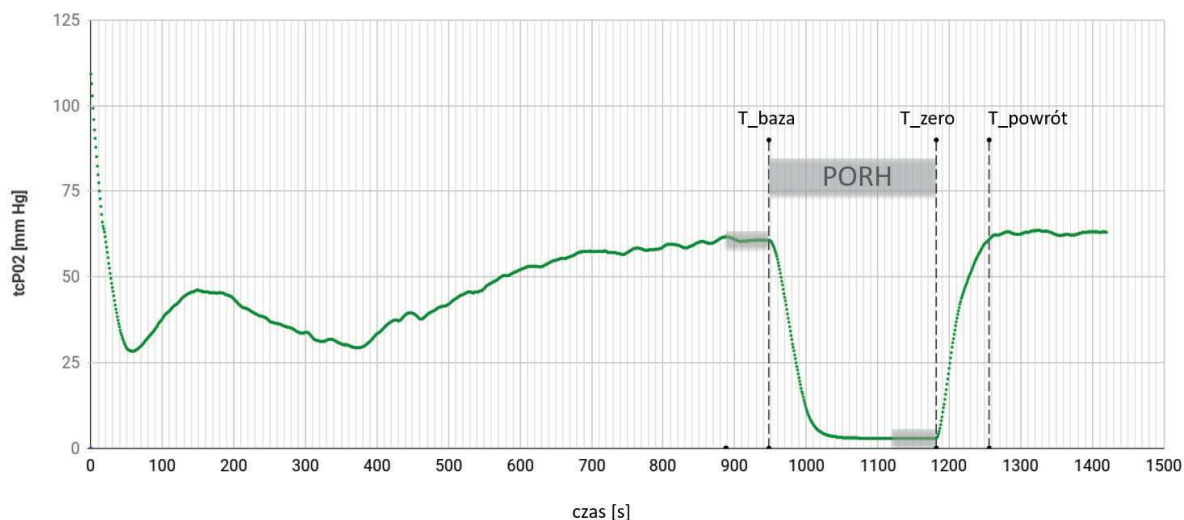
Rejestracja zapisu przezskórnego pomiaru ciśnienia parcjalnego tlenu odbywała się podczas całego badania, w warunkach spoczynkowych, podczas testu przekrwienia czynnego oraz po nim.

W celu zastosowania testu PORH mankiety do pomiaru ciśnienia krwi został umieszczony wokół ramienia pacjenta i napełniony powietrzem do ciśnienia 50 mm Hg większego niż skurczowe ciśnienie krwi przez 4 minuty (126). TcPO_2 zarejestrowano podczas co najmniej 20 minut odpoczynku, okluzji i po zwolnieniu mankiety (Rysunek 3).

Dane z badania zostały przedstawione w postaci wykresu.

Analiza krzywej obejmowała identyfikację określonych punktów, tj. T_{baza} dla momentu rozpoczęcia okluzji, T_{zero} - jako moment zakończenia okluzji i $T_{\text{powrót}}$ jako moment, w którym osiągnięto odzysk. Określono następujące parametry:

- TcPO_{2_baza} - średnia wartość tcPO_2 w ciągu 60 sekund przed T_{baza} .
- TcPO_{2_zero} - średnia wartość tcPO_2 w ciągu 60 sekund przed T_{zero} .
- Slope - zostało określone jako stosunek tcPO_{2_diff} i TTR, gdzie:
 - TcPO_{2_diff} - różnica między TcPO_{2_baza} i TcPO_{2_zero}
 - TTR - czas potrzebny do osiągnięcia wartości podstawowej po okluzji ($T_{\text{powrót}} - T_{\text{zero}}$)



Rysunek 3 Zapis pomiaru TcPO_2 podczas testu PORH

3.5 Metody statystyczne

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania STATISTICA do analizy danych w wersji 12. (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

Przeprowadzono test Shapiro-Wilk w celu analizy rozkładu zmiennych ciągłych. Wartości wyrażono, jako mediana i zakres lub średnie i standardowe odchylenia. Do porównywania dwóch powiązanych pomiarów przed i po testach zastosowano test Wilcoxon.

Korelacje oceniano za pomocą testu korelacji rangi Spearmana dla wszystkich zmiennych ciągłych. Porównanie parametrów mikrokrażenia skóry z wiekiem, czasem trwania cukrzycy przeprowadzono stosując test ANOVA. Do porównania odsetka płci, ilości lekkich i ciężkich hipoglikemii zastosowano test χ^2 .

Porównanie grup odnośnie badanych parametrów z uwzględnieniem zmiennych towarzyszących przeprowadzono za pomocą testu ANOVA. W analizie post-hoc wykorzystano test Fishera.

Poziom $p < 0,05$ uznawano za istotny statystycznie.

4 Wyniki

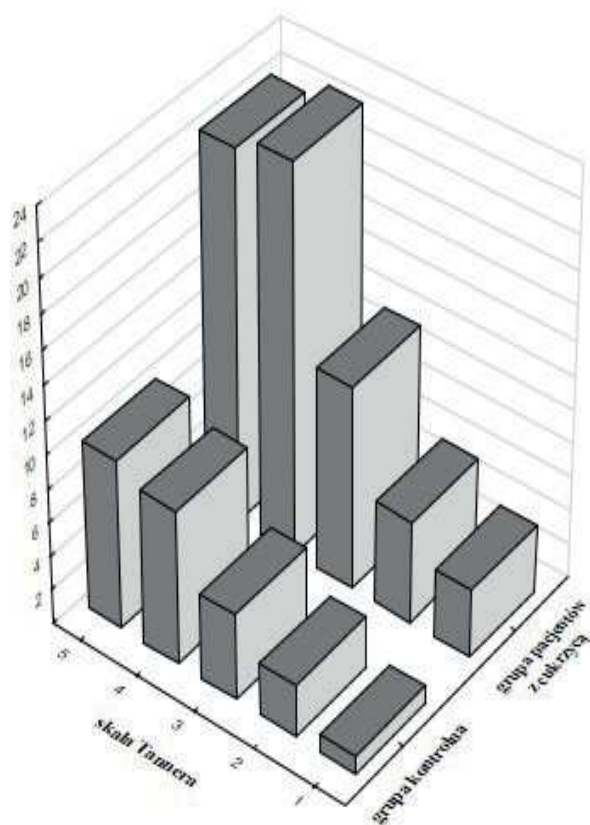
4.1 Porównanie badanych grup

4.1.1 Podstawowe parametry kliniczne

Badana grupa 67 pacjentów z cukrzycą typu 1 (DM1) nie różniła się istotnie statystycznie od 28 osób z grupy kontrolnej (K) zarówno rozkładem płci, masą ciała, wskaźnikiem masy ciała oraz wiekiem metrykalnym (Tabela 4).

Tabela 4 Porównanie wieku, płci i danych antropometrycznych u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

	K:Grupa kontrolna N=28	DM1: Grupa z cukrzycą t.1 N= 67	p
Płeć M/K [%]	54/46	43/57	0,36
masa ciała [kg]	54 ±14,4	56,8 ± 12,1	0,33
BMI [kg/m ²]	19,8 ± 3	20,3 ± 2,9	0,43
wiek metrykalny [lata]	14,8 (11,3;17,7)	14,6 (10,9 ; 18)	0,49
wiek zachorowania [rok życia]	nie dotyczy	10,3 (2,1 ; 15,0)	n.a.
czas trwania cukrzycy [lata]	nie dotyczy	4,65 (0,6 ; 14,5)	n.a.
dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j./dobę]	nie dotyczy	42,2 ± 17,9	n.a.
czas leczenia przy użyciu pompy insulinowej w stosunku do czasu trwania cukrzycy [%]	nie dotyczy	35 (0 ; 97)	n.a.
incydent łagodnej hipoglikemii w przeciągu ostatniego miesiąca [ilość/miesiąc]	nie dotyczy	6 (0 ; 30)	n.a.
incydent ciężkiej hipoglikemii w przeciągu ostatniego roku [ilość/rok]	nie dotyczy	0 (0 ; 3)	n.a.



Rysunek 4 Rozkład stadiów dojrzałości płciowej ocenianej wg skali Tannera w badanych grupach

Ponadto badane grupy: kontrolna i pacjentów z cukrzycą nie różniły się między sobą rozkładem stadium dojrzałości płciowej ocenianej wg skali Tannera (χ^2 Pearsona $p = 0,99$) (Rysunek 4).

4.1.2 Badania laboratoryjne

Poziom hemoglobiny glikowanej w grupie kontrolnej w porównaniu z grupą pacjentów z cukrzycą był istotnie niższy i wynosił odpowiednio 5,3 (4,8 ; 5,6) zaś w grupie z cukrzycą 7,6 (5,3 ; 3,6) %, ($p < 0,001$). Porównanie stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i HDL oraz trójglicerydów wykazały, iż w grupie pacjentów z cukrzycą stężenie zarówno cholesterolu całkowitego, jak i trójglicerydów było istotnie wyższe. Natomiast badane grupy nie różniły się pomiędzy sobą istotnie stężeniem frakcji LDL i HDL cholesterolu (Tabela 5).

Tabela 5 Porównanie parametrów lipidogramu u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

	K: Grupa kontrolna N=28	DM1: Grupa z cukrzycą t.1 N= 67*	p
cholesterol całkowity [mg/dl]	163 (120 ; 218)	178 (119 ; 288)	0,004
cholesterol LDL [mg/dl]	95 (64 ; 127)	102 (61 ; 188)	0,11
cholesterol HDL [mg/dl]	51 (41 ; 82)	55 (33 ; 120)	0,21
trójglicerydy [mg/dl]	54 (36 ; 117)	70 (37 ; 294)	0,003

*badanie wykonano w części badanej grupy z cukrzycą u N=59

Porównanie wybranych wyników badań laboratoryjnych: poziomu kreatyniny, klirensu kreatyniny, albuminurii, TSH, fT4, CRP pomiędzy grupami wykazało, iż pacjenci z cukrzycą typu 1 i osoby z grupy kontrolnej nie różniły się pomiędzy sobą istotnie stężeniem kreatyniny w surowicy krwi, poziomem klirensu kreatyniny oraz wartością CRP (Tabela 6).

Pacjenci z cukrzycą mieli statystycznie wyższy poziom TSH i niższy poziom fT4 w porównaniu z grupą kontrolną. Zarówno w grupie kontrolnej, jak i grupie z cukrzycą typu 1 wartości TSH jak i fT4 mieściły się w zakresie normy. Badanie poziomu albuminurii przeprowadzono jedynie u pacjentów z cukrzycą typu 1. Poziom albuminurii wynosił 6,4 (2,5 ; 27).

Tabela 6 Porównanie parametrów charakteryzujących funkcję nerek i tarczycy oraz stan zapalny u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

	K: Grupa kontrolna N	DM1: Grupa z cukrzycą t.1 N	p
kreatynina w surowicy [mg/dl]	0,64 (0,52 ; 0,94) N=28	0,69 (0,46 ; 0,95) N=62	0,30
klirens kreatyniny [ml/min.]	104,7 (76,9 ; 125,4) N=28	98,8 (76,1 ; 147,2) N=62	0,30
albuminuria [mg/dl]	nie badano	6,4 (2,5 ; 27) N=56	<i>n.a.</i>
TSH [mIU/l]	1,2 (0,58 ; 2,37) N=28	1,7 (0,6 ; 4) N=59	0,001
fT4 [pmol/L]	13,5 ± 1,3 N=28	12,4 ± 1,3 N=58	0,001
CRP [mg/l]	0,2 (0,1 ; 2,9) N=28	0,4 (0,1 ; 8,5) N=58	0,14

4.1.3 Ciśnienie tętnicze i częstość akcji serca

Porównanie wartości średniego ciśnienia skurczowego i rozkurczowego oraz częstości akcji serca mierzonych w warunkach spoczynkowych w pozycji siedzącej pomiędzy badanymi grupami nie wykazało istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami (Tabela 7).

Tabela 7 Porównanie wartości ciśnienia tętniczego i częstości akcji serca u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

	K: Grupa kontrolna N=28	DM1: Grupa z cukrzycą t.1 N= 67	p
skurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	109 ± 9	106 ± 11	0,21
rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	62 ± 5	60 ± 6	0,12
częstość akcji serca [uderzeń/min.]	79 ± 12	80 ± 10	0,59

4.1.4 Kapilaroskopia

Badanie kapilaroskopowe zostało przeprowadzone w warunkach podstawowych, po teście PORH i VO. Porównanie grupy pacjentów z cukrzycą i grupy kontrolnej wykazało istotną różnicę wartości Coverage pomiędzy grupą kontrolną a grupą chorych na cukrzycę typu 1.

Wartości Coverage były istotnie wyższe w grupie kontrolnej zarówno w warunkach podstawowych (Coverage_B), po teście PORH (Coverage_P), jak również po teście VO (Coverage_V). Stwierdzono ponadto istotną statystycznie większą zmianę Coverage w teście VO (Δ Coverage_V) w grupie kontrolnej w porównaniu z grupą cukrzycową ($p=0,03$).

Odległość pomiędzy kapilarami oceniona po teście VO (Distance_V) była istotnie statystycznie mniejsza w grupie kontrolnej w porównaniu z grupą pacjentów z cukrzycą.

Ponadto w analizie wewnątrzgrupowej wykazano istotne zmiany w wartości Coverage wyłącznie w grupie z cukrzycą. W wyniku testu PORH, jak i VO wartości Coverage: COVERGE_P i Coverage_V uległy istotnemu zmniejszeniu w stosunku do wartości wyjściowej (Coverage_B).

W grupie pacjentów z cukrzycą obserwowano także istotne zwiększenie wartości Distance ($p=0,04$) w teście PORH ($p<0,001$) w stosunku do wartości wyjściowej (Tabela 8).

Porównanie parametrów charakteryzujących mikrokrażenie skórne zależnie od płci badanych nie wykazało istotnych różnic między płciami zarówno w grupie kontrolnej jak i grupie pacjentów z cukrzycą typu 1.

Porównanie parametrów charakteryzujących mikrokrażenie skórne zależnie od płci badanych nie wykazało istotnych różnic między płciami zarówno w grupie kontrolnej jak i grupie pacjentów z cukrzycą typu 1.

Tabela 8 Porównanie parametrów mikrokrażenia skórnoego u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej w warunkach podstawowych oraz po testach PORH i VO

Parametr mikrokrażenia skórnoego	K: Grupa kontrolna N=28	DM1: Grupa z cukrzycą t.1 N= 67	p
Coverage_B [%]	18,7 (14,2 ; 26,4)	17,5 (11,5 ; 24,8)	0,02
Coverage_P [%]	17,9 (13,7 ; 23,2)	16,2 (9,8 ; 24,4) # (p<0,001)	<0,001
Coverage_V [%]	19,5 (15,6 ; 27,2)	16,8 (11,3 ; 26,6) # (p=0,004)	<0,001
Δ Coverage_P [%]	-0,5 \pm 2,9	-1,1 \pm 2,4	0,47
Δ Coverage_V [%]	0,9 \pm 3	-0,7 \pm 2	0,03
Reaktywność kapilar	-1,26 \pm 15,6	-5,6 \pm 13,6	0,40
Distance_B [μ m] *	218 (177,5 ; 278)	224,3 (165,8 ; 377,7)	0,35
Distance_P [μ m] *	225,1 \pm 30,3	235 \pm 36,7 # (p=0,04)	0,19
Distance_V [μ m] *	217,7 (161,1 ; 349,5)	230,4 (169,7 ; 361,6)	0,02
Δ Distance_P [μ m]*	6,3 \pm 29	10,5 \pm 37,7	0,59
Δ Distance_V [μ m]*	-6,1 (-66,7 ; 95,6)	8,5 (-101,3 ; 111)	0,045

*W grupie kontrolnej badanie wykonano u N=27, w grupie cukrzycowej N=67;

zmiana względem wartości wyjściowych

4.1.5 Przeskórne ciśnienie tlenu

Tabela 9 przedstawia parametry charakteryzujące przeskórne ciśnienie tlenu na podstawie analizy krzywej tcPO_2 takie jak : TcPO_{2_baza} , TcPO_{2_zero} oraz TTR i SLOPE. Stwierdzono, iż badana grupa pacjentów z cukrzycą i grupa kontrolna nie różniły się istotnie statystycznie wielkością parametrów TcPO_{2_baza} , TTR i SLOPE. Wykazano jedynie, iż wielkość TcPO_{2_zero} była istotnie statystycznie większa w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 w porównaniu z grupą kontrolną ($p = 0,007$).

Tabela 9 Charakterystyka parametrów tcPO_2 u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

	K: Grupa kontrolna N=28	DM1: Grupa z cukrzycą t.1 N= 67	p
TcPO_{2_baza} [mmHg]	56,3 (18,6 ; 81,1)	51,7 (27,9 ; 80,8)	0,16
TcPO_{2_zero} [mm Hg]	1,6 (0,4 ; 12,0)	2,3 (0,7 ; 18,8)	0,007
TTR [s]	85 (41 ; 240)	83 (42 ; 240)	0,96
SLOPE	0,61 (0,15 ; 1,32)	0,57 (0,14 ; 1,13)	0,36

4.2 Zależność pomiędzy wiekiem metrykalnym a parametrami opisującymi mikrokąże

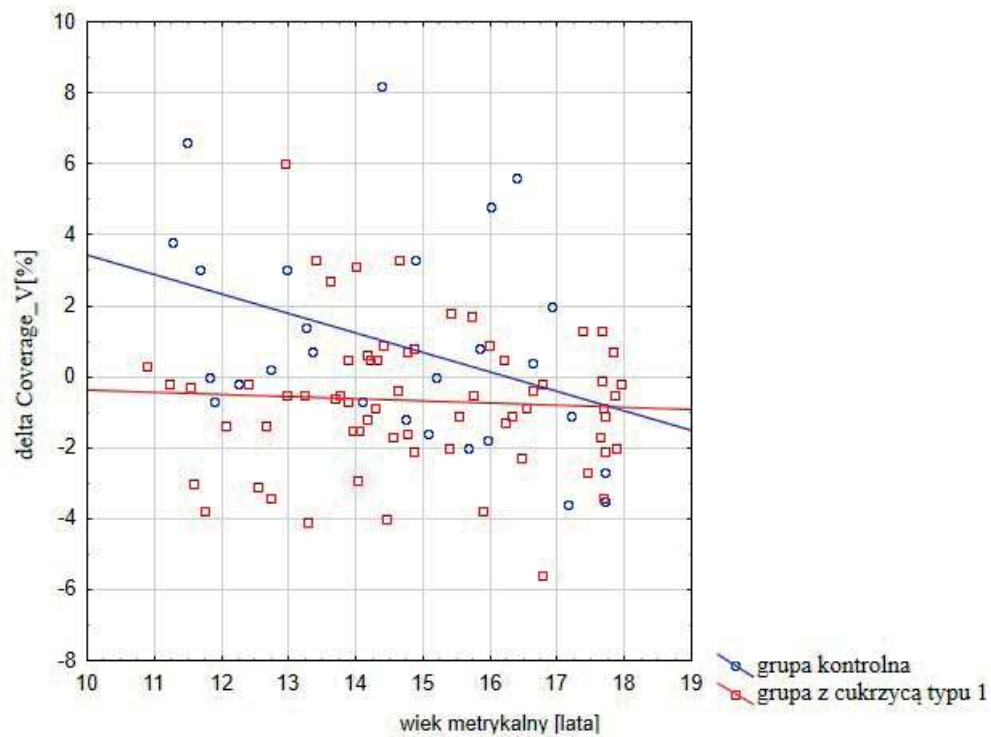
4.2.1 Kapilaroskopia

Analiza korelacji pomiędzy wielkością wieku metrykalnego a parametrami opisującymi stan mikrokążenia obwodowego ocenianego za pomocą kapilaroskopii w grupie pacjentów z cukrzycą oraz w grupie kontrolnej wykazała jedynie w grupie kontrolnej ujemną istotną korelację pomiędzy wiekiem metrykalnym a zmianą Coverage po teście VO ($\Delta\text{Coverage}_V$) ($r=-0,42$; $p=0,03$).

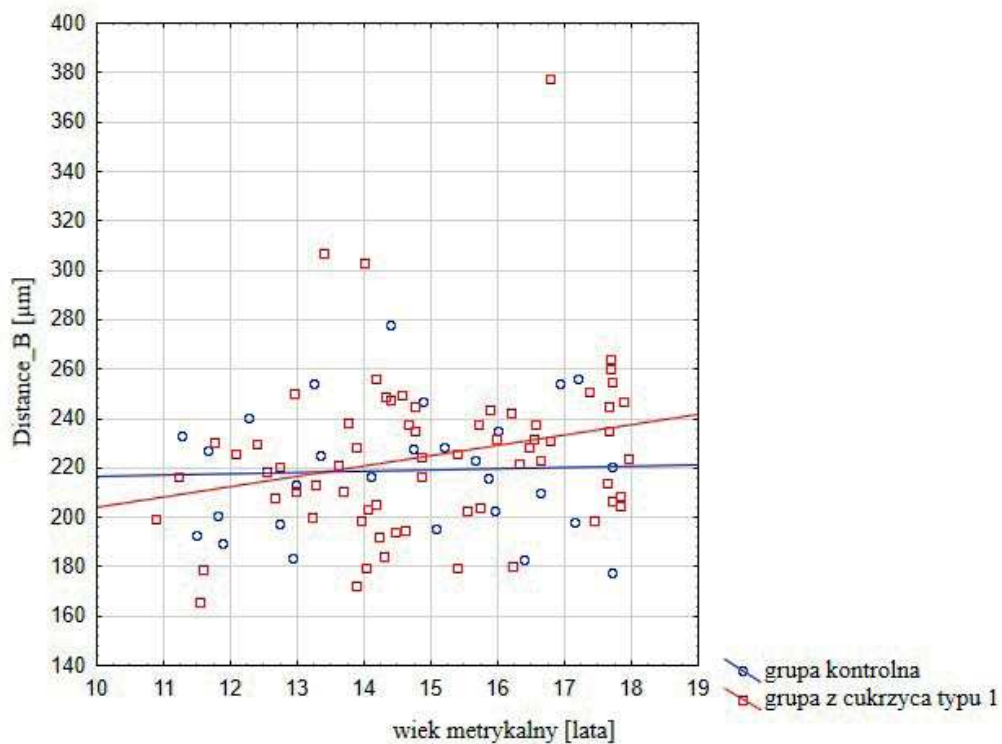
W grupie pacjentów z cukrzycą stwierdzono istotną korelację pomiędzy wiekiem metrykalnym a odległością pomiędzy kapilarami w warunkach podstawowych (Distance_B) (Tabela 10).

Tabela 10 Analiza korelacji pomiędzy wiekiem metrykalnym a parametrami kapilaroskopowymi u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

Parametr mikrokrazenia skórnego	Grupa kontrolna N=28, *N=27		Grupa pacjentów z cukrzycą N=67, *N=66	
	wiek metrykalny			
	r	p	r	p
Coverage_B [%]	0,19	0,34	-0,09	0,45
Coverage_P [%]	-0,07	0,74	-0,01	0,92
Coverage_V [%]*	-0,18	0,36	-0,15	0,22
Δ Coverage_P [%]	-0,25	0,20	0,05	0,68
Δ Coverage_V [%]*	-0,42	0,03	-0,02	0,89
Reaktywność kapilar	-0,25	0,20	0,03	0,78
Distance_B [μ m]	0,04	0,86	0,28	0,02
Distance_P [μ m]	0,31	0,11	0,12	0,35
Distance_V [μ m] *	0,32	0,10	0,15	0,23
Δ Distance_P [μ m]	0,27	0,16	-0,07	0,58
Δ Distance_V [μ m]*	0,14	0,48	-0,03	0,83



Rysunek 5 Porównanie zależności pomiędzy $\Delta\text{Coverage}_V$ a wiekiem metrykalnym u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.



Rysunek 6 Porównanie zależności pomiędzy Distance_B a wiekiem metrykalnym u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

4.2.2 Przeskórne ciśnienie tlenu

Analiza korelacji pomiędzy wiekiem metrykalnym a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu w grupie pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej nie wykazała żadnej istotnej korelacji pomiędzy analizowanymi parametrami.

Tabela 11 Analiza korelacji pomiędzy wiekiem metrykalnym a przezskórnym ciśnieniem tlenu u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.

Parametry charakteryzujące przezskórne ciśnienie tlenu	Grupa kontrolna N=28		Grupa pacjentów z cukrzycą N=67	
	wiek metrykalny			
	r	p	r	p
TcPO ₂ _baza [mmHg]	0,11	0,56	-0,09	0,46
TcPO ₂ _zero [mm Hg]	0,18	0,36	0,00	0,98
TTR [s]	-0,00	0,99	-0,15	0,21
SLOPE	0,06	0,75	0,13	0,30

4.3 Podział grupy pacjentów z cukrzycą ze względu na medianę czasu trwania choroby

4.3.1 Podstawowe parametry kliniczne

Grupa kontrolna oraz grupa pacjentów z cukrzycą nie różniły się pomiędzy sobą wiekiem metrykalnym. Aby zbadać wpływ wieku zachorowania na stan mikrokrążenia skórniego, całą badaną grupę pacjentów podzielono względem mediany czasu trwania cukrzycy na dwie podgrupy: podgrupę A (<4,65 lat) oraz podgrupę B (>=4,65 lat) (Tabela 12).

Wydzielone w ten sposób podgrupy pacjentów różniły się pomiędzy sobą wiekiem metrykalnym, wiekiem zachorowania oraz częstością łagodnej hipoglikemii w przebiegu miesiąca poprzedzającego badanie.

Pacjenci, u których cukrzyca trwała powyżej mediany 4,65 lat byli starsi, w młodszym wieku zachorowali na cukrzycę oraz częściej występowała w tej podgrupie łagodna hipoglikemia.

Wyszczególnione ze względu na czas trwania cukrzycy podgrupy pacjentów oraz grupa kontrolna nie różniły się pomiędzy sobą istotnie ze względu na rozkład płci, masę ciała oraz BMI.

Tabela 12 Porównanie grupy kontrolnej oraz grup pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby

	K: Grupa kontrolna N=28	A: DM1 <4,65 lat N=33	B: DM1 >=4,65 lat N=34	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
Płeć M/K [%]	54/46	48/52	38/62	0,46	n.a.	n.a.	n.a.
masa ciała [kg]	54,3 ± 14,4	54,2 ± 12,8	59,5 ± 11	0,12	n.a.	n.a.	n.a.
BMI [kg/m ²]	19,8 ± 3	19,7 ± 2,8	20,9 ± 2,9	0,13	n.a.	n.a.	n.a.
wiek metrykalny [lata]	14,7 (11,3 ; 17,7)	14 (10,9 ; 17,8)	16,1 (11,7 ; 18)	0,003	1	0,07	0,003
wiek zachorowania [rok życia]	nie dotyczy	11,6 (6,9 ; 15)	8,5 (2,0 ; 12,7)	0,000	n.a.	n.a.	0,000
czas trwania cukrzycy [lata]	nie dotyczy	2,38 (0,55 ; 4,65)	7,3 (4,65 ; 6,5)	<0,001	n.a.	n.a.	<0,001
dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j./dobę]	nie dotyczy	42 ± 50	56 ± 50	0,63	n.a.	n.a.	n.a.
czas leczenia przy użyciu pompy insulinowej w stosunku do czasu trwania cukrzycy [%]	nie dotyczy	0 (0 ; 93)	36 (0 ; 97)	0,13	n.a.	n.a.	n.a.
incydent łagodnej hipoglikemii w przebiegu ostatniego miesiąca [ilość/miesiąc]	nie dotyczy	4 (0 ; 30)	10 (0 ; 20)	0,02	n.a.	n.a.	0,02
incydent ciężkiej hipoglikemii w przebiegu ostatniego roku [ilość/rok]	nie dotyczy	0 (0 ; 3)	0 (0 ; 2)	0,77	n.a.	n.a.	n.a.

4.3.2 Badania laboratoryjne

Porównanie poziomu hemoglobiny glikowanej pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na czas trwania choroby nie wykazało istotnych statystycznie różnic. Wykazano istotne statystycznie różnice stężenia hemoglobiny glikowanej pomiędzy każdą podgrupą pacjentów z cukrzycą a grupą kontrolną (Tabela 13).

Tabela 13 Wartość hemoglobiny glikowanej w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.

	K: Grupa Kontrolna N=28	A: DM1 <4,65 lat N=33	B: DM1 ≥4,65 lat N=34	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
HbA1c [%]	5,3 (4,8 ; 5,6)	7,1 (5,3 ; 11)	7,6 (6,2 ; 13,6)	<0,001	<0,001	<0,001	0,86

Porównanie poziomu cholesterolu całkowitego, jego frakcji LDL i HDL oraz poziomu trójglicerydów pomiędzy grupą kontrolną a dwoma podgrupami pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na czas trwania choroby wykazało występowanie istotnej różnicy w stężeniu cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu i poziomu trójglicerydów pomiędzy grupą kontrolną i podgrupą, u której cukrzyca trwała dłużej (grupa B) (Tabela 14). Stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i trójglicerydów był istotnie wyższe w podgrupie pacjentów, u których cukrzyca trwała dłużej w porównaniu z grupą kontrolną.

Wykazano, iż podgrupa pacjentów chorujących dłużej charakteryzowała się istotnie większym stężeniem trójglicerydów i cholesterolu LDL w porównaniu do pacjentów z krótszym czasem trwania choroby.

Po uwzględnieniu w analizach porównawczych wieku metrykalnego, którym różniły się badane podgrupy pacjentów z cukrzycą, wykazano utrzymywanie się wyżej wykazanych różnic między podgrupami pacjentów z cukrzycą i grupą kontrolną.

Tabela 14 Porównanie parametrów lipidogramu w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.

lipidogram	K: Grupa kontrolna N=28	A: DM1 <4,65 lat N=33, *N=24	B: DM1 ≥4,65 lat N=34, *N=34	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
cholesterol całkowity [mg/dl] *	163 (120 ; 218)	169 (119 ; 228)	183 (125 ; 288)	0,007	0,23	0,005	0,72
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,003	0,10	<0,001	0,16
cholesterol LDL [mg/dl] *	95 (64 ; 127)	90,5 (61 ; 131)	108 (70 ; 188)	0,008	1	0,03	0,03
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,002	0,97	0,004	0,006
cholesterol HDL [mg/dl] *	51 (41 ; 82)	58,5 (33 ; 120)	51 (35 ; 95)	0,07	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,07	n.a.	n.a.	n.a.
trójglicerydy [mg/dl] *	54 (36 ; 117)	61,5 (37 ; 153)	76 (46 ; 294)	<0,001	0,80	<0,001	0,04
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,008	0,43	<0,001	0,01

Porównanie podgrup pacjentów z cukrzycą różniących się czasem trwania cukrzycy w zakresie stężenia kreatyniny, klirensu kreatyniny, poziomu TSH i fT4, stężenia CRP oraz albuminurii nie wykazało istotnych różnic w ocenianych parametrach pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą (Tabela 15).

Również nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi podgrupami pacjentów z cukrzycą a grupą kontrolną w zakresie stężenia kreatyniny, klirensu kreatyniny i stężenia CRP. Natomiast wykazano występowanie istotnych różnic w stężeniu hormonów tarczycy: TSH i fT4. Osoby z grupy kontrolnej charakteryzowały się istotnie niższym TSH i wyższym stężeniem fT4 w porównaniu zarówno do podgrupy pacjentów z cukrzycą o krótszym jak i dłuższym czasie trwania choroby. Wszyscy badani pacjenci i osoby z grupy kontrolnej były w stanie eutyreozy.

Pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą nie wykazano istotnych różnic w stężeniu TSH i fT4. Po uwzględnieniu w analizie wieku metrykalnego stwierdzono, iż wykazane istotności nie uległy zmianie.

Tabela 15 Porównanie wyników badań laboratoryjnych w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby

Parametr biochemiczny	K: Grupa kontrolna N=28	A: DM1 <4,65 lat N=33	B: DM1 >=4,65 lat N=34	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
CRP [mg/l]	0,3 (0,1 ; 2,9)	0,6 (0,1 ; 3,7) N=29	0,4 (0,1 ; 8,5) N=29	0,33	n.a	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,16	n.a	n.a.	n.a.
kreatynina w surowicy [mg/dl]	0,6 (0,5 ; 0,9)	0,7 (0,5 ; 0,9) N=28	0,7 (0,5 ; 1) N=34	0,34	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,45	n.a	n.a.	n.a.
albuminuria [mg/dl]	nie badano	7 (2,5 ; 24,1) N=23	5 (2,5 ; 27) N=33	n.a	n.a.	n.a.	0,36
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				n.a	n.a.	n.a.	0,20
klirens kreatyniny [ml/min.]	104,7 (76,9 ; 125,4)	104 (76 ; 135) N=28	94 (77 ; 147) N=34	0,37	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,64	n.a	n.a.	n.a.
TSH [mIU/l]	1,2 (0,6 ; 2,4)	1,6 (0,7 ; 3,6) N=24	1,8 (0,6 ; 4) N=34	0,006	0,04	0,008	1
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,002	0,009	0,002	0,74
fT4 [pmol/L]	13,5 ± 1,3	12,5 ± 1,0 N=24	12,3 ± 1,5 N=34	0,004	0,03	0,006	1
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,002	0,006	0,001	0,74

4.3.3 Ciśnienie tętnicze i częstość akcji serca

Porównanie badanych podgrup pacjentów z cukrzycą różniących się czasem trwania choroby i grupy kontrolnej nie wykazało istotnych statystycznie różnic w wysokości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego oraz częstości akcji serca. Po uwzględnieniu wieku metrykalnego analizowane parametry nie różniły się istotnie między podgrupami pacjentów i grupą kontrolną (Tabela 16).

Tabela 16 Porównanie wartości ciśnienia tętniczego w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby

ciśnienie tętnicze	K: Grupa kontrolna N=28	A: DM1 <4,65 lat N=33	B: DM1 >=4,65 lat N=34	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
skurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	109 ± 9	104 ± 12	108 ± 10	0,1	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,25	n.a.	n.a.	n.a.
rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mmHg]	62 ± 5	59 ± 6	60 ± 6	0,25	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,22	n.a.	n.a.	n.a.
częstość akcji serca [uderzeń/min.]	79 ± 12	79 ± 10	80 ± 10	0,82	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu wieku metrykalnego				0,23	n.a.	n.a.	n.a.

4.3.4 Kapilaroskopia

Porównywano parametry charakteryzujące obraz kapilaroskopowy pomiędzy grupą kontrolną i podgrupami pacjentów wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania cukrzycy. Badane podgrupy różniły się między sobą wiekiem metrykalnym oraz parametrami lipidogramu i poziomem hormonów tarczycy, dlatego też uwzględniono również te zmienne w analizach (Tabela 17).

Porównanie parametrów charakteryzujących obraz kapilaroskopowy zarówno w warunkach spoczynkowych jak i po teście PORH czy VO nie wykazało istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą różniących się czasem trwania choroby. Nie wykazano także różnic pomiędzy tymi podgrupami po uwzględnieniu zmiennych różnicujących podgrupy. Wartości Coverage, po uwzględnieniu wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy w warunkach podstawowych, po teście PORH i VO były istotnie większe w grupie kontrolnej w porównaniu do pacjentów z cukrzycą, którzy chorowali krócej i dłużej. W przypadku Coverage_B wykazano różnicę pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą pacjentów chorującą dłużej na granicy istotności statystycznej ($p=0,06$).

Gdy analizowano wartości parametrów kapilaroskopowych po uwzględnieniu jedynie wieku metrykalnego stwierdzono istotną statystycznie różnicę w wartości Coverage_P i Coverage_V oraz w zmianie wartości Coverage w wyniku testu przekrwienia biernego (Δ Coverage_V) pomiędzy grupą kontrolną a każdą z podgrup pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na czas trwania cukrzycy.

Wykazano istotne zmniejszenie wartości Coverage w wyniku testu PORH w podgrupie pacjentów z cukrzycą o krótszym czasie trwania choroby ($p=0,001$) oraz istotne zmniejszenie Coverage w wyniku testu VO w podgrupie pacjentów z cukrzycą chorujących dłużej ($p=0,02$), wartość Distance istotnie statystycznie wzrosła w wyniku testu VO w podgrupie pacjentów z krótszym czasem trwania cukrzycy ($p=0,04$).

Tabela 17 Porównanie parametrów kapilaroskopowych w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.

Parametr mikrokrążenia skórniego	K: Grupa kontrolna N=28 * N=27	A: DM1 <4,65 lat N=33	B: DM1 >=4,65 lat N=34, *N=33	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
Coverage_B [%]	18,8 ± 2,6	17,6 ± 2,5	17,2 ± 2,9	0,08	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,07	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,009	0,04	0,06	0,72
Coverage_P [%]	18,3 ± 2,2	16,4 ± 2,4 # (p=0,001)	16,4 ± 3,5	0,001	<0,001	0,06	0,53
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,004	<0,001	0,04	0,16
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				<0,001	0,002	0,03	0,20
Coverage_V [%]*	19,5 (15,6 - 27,2)	17,5 (12;21,7)	16,1(11,3 ; 26,6) # (p=0,02)	<0,001	0,003	0,002	1
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				<0,001	<0,001	<0,001	0,94
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy)				<0,001	<0,001	<0,001	0,86
ΔCoverage_P [%]	-0,5 ± 2,9	-1,2 ± 2,6	-0,8 ± 2,3	0,54	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,28	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,50	n.a.	n.a.	n.a.
ΔCoverage_V [%]*	0,9 ± 3	-0,4 ± 2,3	-0,9 ± 1,7	0,08	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,02	0,01	0,008	0,81
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,12	n.a.	n.a.	n.a.
Reaktywność kapilar	-1,3 ± 15,6	-6 ± 14	-4,6 ± 13,3	0,51	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,18	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,37	n.a.	n.a.	n.a.
Distance_B [μm]	218,3 (177,5 ; 278)	216,3 (165,8 ; 307,3)	230,1 (179,4 ; 377,7)	0,29	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,73	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,23	n.a.	n.a.	n.a.
Distance_P [μm]	225,1 ± 30,3	231,9 ± 35,3	240,4 ± 38	0,43	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,29	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,09	n.a.	n.a.	n.a.
Distance_V [μm] *	217,7 (161,1 ; 349,5)	230 (169,7 ; 341,7) # (p=0,04)	228,8 (175 ; 3 61,5)	0,06	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,12	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,02	0,053	0,08	0,74
ΔDistance_P [μm]	6,4 (-52,3 ; 69,2)	11,7 (-63,3 ; 74,3)	8,2 (-70,4 ; 90,5)	0,75	n.a.	n.a.	n.a.
Po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,69	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,84	n.a.	n.a.	n.a.
ΔDistance_V [μm]*	-6,11 (-66,7 ; 95,6)	7,4 (-101,3 ; 111)	8,8 (-49,9 ; 57,3)	0,07	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,25	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,30	n.a.	n.a.	n.a.

vs. wartości parametru w warunkach wyjściowych p<0,05

4.3.5 Przeskórne ciśnienie tlenu

Analiza porównawcza parametrów charakteryzujących przekórne ciśnienie tlenu w warunkach spoczynkowych, w trakcie oraz po teście PORH pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą różniących się czasem trwania choroby i grupą kontrolną wykazała istotną statystycznie różnicę w wartości $tcPO_2$ _zero pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą pacjentów o dłuższym czasie trwania choroby oraz pomiędzy badanymi podgrupami pacjentów z cukrzycą (Tabela 18). Jednakże po uwzględnieniu wieku metrykalnego oraz profilu lipidowego i stężenia hormonów tarczycy nie stwierdzono istotnych różnic w parametrach opisujących przekórne ciśnienie tlenu pomiędzy badanymi podgrupami.

Tabela 18 Porównanie $tcPO_2$ w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.

Przeskórne ciśnienie tlenu	K: Grupa kontrolna N=28	A: DM1 <4,65 lat N=33	B: DM1 ≥4,65 lat N=34	p	p pomiędzy grupami		
					K vs A	K vs B	A vs B
TcPO ₂ _baza [mmHg]	56,3 (18,6 ; 81,1)	54,1 (27,9 ; 71,5)	51,3 (30 ; 81)	0,28	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,32	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,50	n.a.	n.a.	n.a.
TcPO ₂ _zero [mm Hg]	1,65 (0,4 ; 12,0)	2,01 (0,7 ; 18,8)	2,7 (1,0 ; 9)	<0,001	0,86	<0,001	0,02
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,30	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,18	n.a.	n.a.	n.a.
TTR [s]	85 (41 ; 240)	85 (42 ; 240)	80 (42 ; 240)	0,99	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,83	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,87	n.a.	n.a.	n.a.
SLOPE	0,61 (0,15 ; 1,32)	0,56 (0,1 ; 1,13)	0,59 (0,2 ; 1,1)	0,53	n.a.	n.a.	n.a.
po uwzględnieniu: wieku metrykalnego				0,22	n.a.	n.a.	n.a.
wieku metrykalnego, profilu lipidowego i hormonów tarczycy				0,71	n.a.	n.a.	n.a.

4.4 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokąże nie skórne a parametrami biochemicznymi

Analizę zależności pomiędzy parametrami opisującymi mikrokąże nie skórne a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wyszczególnionych ze względu na medianę czasu trwania choroby przedstawiają szczegółowo tabele 20-23.

W grupie kontrolnej stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy Coverage_V a stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL (Tabela 19). W tejże grupie wykazano również istotną korelację pomiędzy Distance_V a stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL (Tabela 21).

W grupie kontrolnej stwierdzono dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem kreatyniny a Distance_V oraz ujemną korelację pomiędzy klirensiem kreatyniny a Distance_B i Distance_V (Tabela 21).

W podgrupie pacjentów z cukrzycą, których czas trwania choroby był krótszy niż 4,65 lat stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy Coverage_V a stężeniem cholesterolu HDL (Tabela 19) oraz pomiędzy Distance_P a stężeniem HbA1c (Tabela 21).

W podgrupie pacjentów z cukrzycą, których czas trwania choroby był dłuższy nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy parametrami opisującymi obraz kapilaroskopowy a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi.

Analizę zależności pomiędzy parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wyszczególnionych ze względu na medianę czasu trwania choroby przedstawia tabela 23.

W grupie kontrolnej stwierdzono istotną korelację pomiędzy TcPO₂_baza a stężeniem cholesterolu frakcji HDL oraz ujemną korelację pomiędzy TcPO₂_zero a stężeniem HbA1c.

W podgrupie pacjentów z cukrzycą, których czas trwania choroby był krótszy analiza wykazała istotną statystycznie korelację pomiędzy wartością TTR a stężeniem CRP i kreatyniny, oraz ujemną korelację TTR z GFR. Ponadto w grupie pacjentów chorujących krócej stwierdzono istotną korelację pomiędzy SLOPE a poziomem GFR. W podgrupie pacjentów z dłuższym czasem trwania choroby stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy TTR a poziomem GFR oraz TSH (Tabela 24).

Tabela 19 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne (Coverage) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej

Parametr biochemiczny	Grupa Kontrolna						DM1- A						DM1- B					
	Coverage_B		Coverage_P		Coverage_V		Coverage_B		Coverage_P		Coverage_V		Coverage_B		Coverage_P		Coverage_V	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l]	0,22	0,26	0,00	1,00	0,09	0,64	0,06	0,76	-0,07	0,73	-0,13	0,50	0,04	0,84	0,16	0,41	0,24	0,21
kreatynina w surowicy [mg/dl]	-0,19	0,34	-0,14	0,47	-0,31	0,11	-0,21	0,28	-0,31	0,11	-0,31	0,10	-0,08	0,65	-0,07	0,69	-0,28	0,12
klirens kreatyniny [ml/min.]	0,18	0,36	0,06	0,75	0,28	0,15	0,30	0,12	0,24	0,23	0,37	0,05	0,12	0,50	0,06	0,74	0,31	0,08
TSH [mIU/l]	0,02	0,91	-0,32	0,09	0,01	0,96	0,14	0,52	-0,01	0,95	0,11	0,60	0,22	0,22	0,25	0,16	0,21	0,23
ft4 [pmol/L]	0,23	0,24	-0,01	0,97	0,23	0,24	0,05	0,83	0,31	0,14	0,16	0,47	-0,19	0,27	-0,24	0,17	-0,09	0,61
HbA1c [%]	0,18	0,35	0,19	0,34	-0,21	0,30	-0,14	0,45	-0,32	0,07	-0,21	0,24	0,21	0,24	0,22	0,21	0,17	0,33
cholesterol całkowity [mg/dl]	-0,06	0,76	-0,11	0,58	-0,43	0,03	0,10	0,63	0,16	0,45	0,32	0,12	-0,01	0,94	0,14	0,43	0,05	0,78
cholesterol LDL [mg/dl]	-0,05	0,79	-0,15	0,46	-0,40	0,04	-0,15	0,47	0,00	0,99	0,05	0,82	-0,17	0,32	0,04	0,82	-0,10	0,58
cholesterol HDL [mg/dl]	-0,12	0,55	-0,01	0,96	-0,22	0,27	0,27	0,21	0,38	0,06	0,49	0,02	0,07	0,67	0,08	0,64	0,14	0,44
trójglicerydy [mg/dl]	0,18	0,36	-0,12	0,55	0,16	0,42	-0,18	0,40	-0,11	0,60	-0,34	0,11	0,19	0,28	0,30	0,09	0,31	0,07
albuminuria [mg/dl]	nie oznaczano albuminurii						-0,16	0,47	0,09	0,69	-0,03	0,90	-0,05	0,80	0,10	0,57	-0,05	0,77

Parametr biochemiczny	Grupa Kontrolna						DM1- A						DM1- B					
	ΔCoverage_P		ΔCoverage_V		Reaktywność Kapilar		ΔCoverage_P		ΔCoverage_V		Reaktywność Kapilar		ΔCoverage_P		ΔCoverage_V		Reaktywność Kapilar	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l]	-0,07	0,74	0,09	0,67	-0,09	0,65	-0,08	0,68	-0,20	0,30	-0,08	0,69	0,10	0,62	0,12	0,53	0,10	0,62
kreatynina w surowicy [mg/dl]	-0,05	0,81	-0,23	0,26	-0,03	0,88	-0,10	0,62	-0,07	0,72	-0,11	0,59	-0,03	0,86	-0,01	0,94	-0,04	0,80
klirens kreatyniny [ml/min.]	-0,02	0,93	0,21	0,29	-0,06	0,75	-0,03	0,89	0,04	0,85	0,00	0,99	0,03	0,87	0,08	0,67	0,04	0,82
TSH [mIU/l]	-0,22	0,27	0,02	0,90	-0,24	0,22	-0,08	0,72	0,03	0,90	-0,07	0,76	0,04	0,80	0,11	0,52	0,07	0,71
ft4 [pmol/L]	-0,28	0,16	-0,17	0,39	-0,29	0,13	0,29	0,17	0,13	0,54	0,30	0,16	-0,18	0,30	0,12	0,51	-0,20	0,26
HbA1c [%]	-0,01	0,96	-0,33	0,09	0,02	0,93	-0,20	0,26	-0,13	0,48	-0,23	0,21	0,01	0,95	-0,14	0,43	0,01	0,95
cholesterol całkowity [mg/dl]	-0,10	0,61	-0,36	0,07	-0,08	0,70	0,03	0,90	0,19	0,38	0,00	0,99	0,05	0,79	0,05	0,79	0,04	0,84
cholesterol LDL [mg/dl]	-0,17	0,38	-0,38	0,053	-0,15	0,46	0,13	0,55	0,12	0,58	0,09	0,68	0,14	0,44	0,05	0,80	0,12	0,49
cholesterol HDL [mg/dl]	0,18	0,37	-0,04	0,83	0,19	0,33	-0,04	0,86	0,26	0,21	-0,04	0,86	-0,02	0,89	0,13	0,47	-0,04	0,84
trójglicerydy [mg/dl]	-0,35	0,07	-0,07	0,73	-0,35	0,07	0,13	0,53	-0,26	0,22	0,15	0,49	0,08	0,67	0,15	0,41	0,08	0,66
albuminuria [mg/dl]	nie oznaczano albuminurii						0,21	0,34	0,16	0,48	0,23	0,29	0,06	0,75	-0,28	0,13	0,09	0,63

Tabela 20 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi reaktywność mikrokrążenia skórniego (ΔCoverage i reaktywność kapilar) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej

Tabela 21 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne (Distance) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej

Parametr biochemiczny	Grupa Kontrolna						DM1- A						DM1- B					
	Distance_B		Distance_P		Distance_V		Distance_B		Distance_P		Distance_V		Distance_B		Distance_P		Distance_V	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l]	0,10	0,60	-0,15	0,46	-0,05	0,81	-0,07	0,71	-0,02	0,91	0,03	0,87	-0,02	0,90	0,02	0,90	0,04	0,85
kreatynina w surowicy [mg/dl]	0,34	0,08	0,33	0,09	0,45	0,02	0,16	0,40	0,21	0,29	0,19	0,34	0,28	0,10	0,02	0,92	0,10	0,59
klirens kreatyniny [ml/min.]	-0,45	0,02	-0,16	0,41	-0,52	0,01	-0,17	0,40	-0,07	0,74	-0,24	0,22	-0,34	0,05	-0,01	0,94	-0,15	0,39
TSH [mIU/l]	0,05	0,81	0,13	0,50	-0,18	0,37	-0,11	0,62	-0,17	0,44	-0,18	0,39	-0,11	0,53	-0,16	0,38	-0,16	0,37
fT4 [pmol/L]	-0,07	0,72	-0,06	0,76	0,13	0,53	-0,10	0,64	-0,27	0,21	-0,27	0,20	0,18	0,32	0,15	0,40	0,20	0,26
HbA1c [%]	-0,32	0,09	-0,05	0,81	0,03	0,88	0,18	0,32	0,42	0,02	0,29	0,10	-0,13	0,47	0,09	0,61	-0,05	0,76
cholesterol całkowity [mg/dl]	0,16	0,43	0,17	0,39	0,44	0,02	-0,27	0,21	-0,25	0,24	-0,23	0,29	0,10	0,58	-0,06	0,72	0,05	0,76
cholesterol LDL [mg/dl]	0,13	0,52	0,31	0,10	0,42	0,03	-0,02	0,92	-0,07	0,76	0,05	0,82	0,24	0,17	-0,01	0,96	0,16	0,37
cholesterol HDL [mg/dl]	0,24	0,21	-0,04	0,85	0,17	0,41	-0,25	0,23	-0,19	0,36	-0,32	0,12	-0,15	0,40	0,01	0,94	-0,08	0,64
trójglicerydy [mg/dl]	-0,08	0,68	-0,07	0,72	0,03	0,88	0,03	0,87	-0,04	0,85	0,28	0,19	-0,02	0,90	-0,09	0,61	-0,10	0,57
albuminuria [mg/dl]	nie oznaczano albuminurii						0,19	0,37	0,06	0,77	0,37	0,08	0,03	0,85	0,11	0,56	0,25	0,16

Tabela 22 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne (Δ Distance) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej.

Parametr biochemiczny	Grupa Kontrolna				DM1- A				DM1- B			
	Δ Distance_P		Δ Distance_V		Δ Distance_P		Δ Distance_V		Δ Distance_P		Δ Distance_V	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l]	-0,24	0,21	-0,10	0,60	-0,01	0,96	0,15	0,45	0,01	0,97	0,04	0,82
kreatynina w surowicy [mg/dl]	0,05	0,82	0,07	0,72	-0,03	0,88	-0,01	0,94	-0,07	0,69	0,00	0,99
klirens kreatyniny [ml/min.]	0,14	0,46	-0,04	0,85	0,09	0,65	-0,01	0,96	0,11	0,53	-0,02	0,91
TSH [mIU/l]	0,03	0,89	-0,25	0,21	-0,03	0,88	-0,02	0,94	0,04	0,82	-0,13	0,47
ft4 [pmol/L]	0,01	0,97	0,08	0,67	-0,16	0,46	-0,20	0,36	0,06	0,75	0,21	0,23
HbA1c [%]	0,27	0,16	0,33	0,09	0,21	0,25	0,11	0,55	0,18	0,32	0,15	0,42
cholesterol całkowity [mg/dl]	0,13	0,50	0,29	0,14	0,02	0,94	-0,03	0,89	-0,04	0,82	-0,02	0,93
cholesterol LDL [mg/dl]	0,32	0,09	0,26	0,20	-0,04	0,84	0,00	1,00	-0,17	0,35	-0,08	0,66
cholesterol HDL [mg/dl]	-0,23	0,23	0,08	0,68	-0,06	0,79	-0,09	0,67	0,22	0,22	0,03	0,85
trójglicerydy [mg/dl]	-0,04	0,85	-0,03	0,90	0,06	0,79	0,20	0,34	-0,04	0,82	-0,02	0,92
albuminuria [mg/dl]	nie oznaczano albuminurii				-0,02	0,94	0,14	0,51	-0,01	0,94	0,30	0,09

Tabela 23 . Zależność pomiędzy parametrami charakteryzującymi prześkórne ciśnienie tętna a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej.

Parametr biochemiczny	Grupa Kontrolna								DM1- A								DM1- B							
	TcPO ₂ _baza		TcPO ₂ _zero		TTR		SLOPE		TcPO ₂ _baza		TcPO ₂ _zero		TTR		SLOPE		TcPO ₂ _baza		TcPO ₂ _zero		TTR		SLOPE	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CRP [mg/l]	0,12	0,55	0,05	0,82	0,21	0,29	0,04	0,83	0,12	0,52	0,32	0,09	0,39	0,03	-0,31	0,1	0,23	0,24	-0,3	0,12	0,13	0,5	-0,08	0,68
kreatynina w surowicy [mg/dl]	-0,1	0,61	0,04	0,84	-0,08	0,68	0,12	0,53	0,01	0,96	-0,13	0,51	0,41	0,03	-0,31	0,11	-0,31	0,07	0,22	0,22	-0,33	0,06	0,24	0,16
klirens kreatyniny [ml/min.]	-0,09	0,65	0,03	0,86	-0,003	0,99	-0,16	0,43	-0,03	0,89	0,01	0,98	-0,50	0,01	0,42	0,03	0,33	0,06	-0,13	0,46	0,39	0,02	-0,31	0,07
TSH [mIU/l]	-0,36	0,06	0,16	0,42	0,09	0,66	-0,18	0,37	-0,24	0,26	-0,04	0,86	-0,11	0,6	-0,08	0,71	0,32	0,07	-0,16	0,36	0,36	0,04	-0,2	0,25
fT4 [pmol/L]	-0,11	0,57	0,23	0,25	-0,07	0,72	-0,01	0,95	-0,23	0,271	0,04	0,87	0,08	0,71	-0,18	0,41	-0,05	0,77	0,14	0,42	-0,05	0,77	0,05	0,79
HbA1c [%]	0,11	0,56	-0,48	0,01	-0,03	0,89	0,17	0,39	0,01	0,95	0,22	0,23	0,05	0,8	-0,07	0,71	-0,06	0,74	-0,26	0,14	0,17	0,34	-0,12	0,51
cholesterol całkowity [mg/dl]	0,06	0,75	0,02	0,91	-0,02	0,91	0,11	0,59	-0,06	0,76	0,09	0,68	0,02	0,92	-0,23	0,28	-0,19	0,27	0,01	0,97	0,02	0,9	-0,07	0,69
cholesterol LDL [mg/dl]	-0,07	0,71	0,01	0,94	-0,03	0,86	0,07	0,74	-0,19	0,36	-0,02	0,93	0,02	0,92	-0,3	0,16	-0,17	0,33	0,03	0,87	0,06	0,73	-0,1	0,59
cholesterol HDL [mg/dl]	0,45	0,02	-0,03	0,88	-0,03	0,87	0,33	0,08	-0,18	0,4	0,01	0,95	0,16	0,45	-0,31	0,14	-0,21	0,22	-0,03	0,88	-0,11	0,52	-0,01	0,95
trójglicerydy [mg/dl]	-0,29	0,13	0,17	0,39	0,09	0,66	-0,28	0,15	0,31	0,14	0,22	0,31	0,07	0,75	0,27	0,21	0,18	0,32	-0,02	0,91	0,20	0,26	-0,12	0,51
albuminuria [mg/dl]	nie oznaczano albuminurii								0,09	0,69	-0,11	0,61	0,40	0,06	-0,07	0,75	0,09	0,64	-0,18	0,33	-0,13	0,46	0,16	0,37

5 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokążeńie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu.

W podgrupach pacjentów z cukrzycą różniących się czasem trwania cukrzycy oraz w grupie kontrolnej przeprowadzono analizę korelacji pomiędzy parametrami opisującymi mikrokążeńie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu (Tabela 24).

Analiza korelacji obejmowała parametry kapilaroskopowe i opisujące przezskórne ciśnienie tlenu w warunkach spoczynkowych, w trakcie i po teście PORH.

W grupie kontrolnej oraz w podgrupie pacjentów z krócej trwającą cukrzycą nie wykazano istotnej zależności pomiędzy parametrami opisującymi mikrokążeńie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu.

Natomiast w grupie pacjentów z dłużej trwającą cukrzycą wykazano istotne ujemne korelacje pomiędzy Coverage_P i reaktywnością kapilar oraz TcPO₂_zero oraz istotnie dodatnie korelacje pomiędzy Distance_P i TcPO₂_zero.

Tabela 24 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wyszczególnionych ze względu na medianę czasu trwania choroby.

Grupa kontrolna- K								
	TcPO ₂ _baza		TcPO ₂ _zero		TTR		SLOPE	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Coverage_B [%]	0,06	0,77	-0,03	0,88	0,30	0,12	-0,26	0,18
Coverage_P [%]	0,16	0,42	-0,13	0,52	0,29	0,14	-0,11	0,58
ΔCoverage_P [%]	0,06	0,78	-0,08	0,70	-0,01	0,96	0,10	0,60
Reaktywność kapilar	0,08	0,69	-0,08	0,67	0,03	0,89	0,09	0,65
Distance_B [μm]	-0,04	0,83	0,07	0,72	-0,03	0,87	0,08	0,69
Distance_P [μm]	-0,16	0,42	0,02	0,93	-0,04	0,84	-0,01	0,94
ΔDistance_P [μm]	-0,18	0,37	-0,14	0,46	-0,03	0,87	-0,09	0,67
Podgrupa pacjentów z czasem trwania cukrzycy - A < 4.65 lat								
Coverage_B [%]	-0,07	0,68	-0,12	0,49	-0,21	0,24	0,08	0,65
Coverage_P [%]	-0,02	0,90	-0,06	0,73	0,01	0,95	0,02	0,92
ΔCoverage_P [%]	0,21	0,25	0,15	0,40	0,24	0,17	0,01	0,95
Reaktywność kapilar	0,22	0,22	0,18	0,33	0,23	0,20	0,03	0,87
Distance_B [μm]	0,13	0,48	0,12	0,49	0,03	0,85	0,14	0,43
Distance_P [μm]	-0,14	0,44	-0,10	0,59	-0,10	0,57	-0,02	0,93
ΔDistance_P [μm]	-0,16	0,37	-0,15	0,41	-0,27	0,13	0,09	0,63
Podgrupa pacjentów z czasem trwania cukrzycy - B ≥ 4.65 lat								
Coverage_B [%]	0,08	0,66	-0,09	0,62	-0,14	0,43	0,14	0,41
Coverage_P [%]	0,33	0,05	-0,43	0,01	-0,03	0,89	0,20	0,25
ΔCoverage_P [%]	0,30	0,08	-0,33	0,05	0,11	0,53	0,06	0,74
Reaktywność kapilar	0,32	0,07	-0,37	0,03	0,11	0,55	0,06	0,74
Distance_B [μm]	0,02	0,93	-0,01	0,94	-0,08	0,66	0,12	0,50
Distance_P [μm]	0,01	0,94	0,42	0,02	-0,06	0,75	0,05	0,79
ΔDistance_P [μm]	-0,10	0,59	0,31	0,07	-0,05	0,79	-0,02	0,91

6 Dyskusja

Obecnie dzięki postępom w edukacji i leczeniu cukrzycy typu 1 klasyczne powikłania mikro- i makroangiopatyczne nie ujawniają się we wczesnym okresie trwania cukrzycy. Wyzwaniem dla wielu badaczy jest zidentyfikowanie nieprawidłowości w strukturze i funkcji mikrokrążenia, które mogą poprzedzać jawne klinicznie powikłania naczyniowe.

Kuryliszyn-Moskal i wsp. (127) wykazali związek między zmianami w kapilaroskopii a występowaniem powikłań mikroangiopatycznych między innymi nefropatii cukrzycowej. Wśród pacjentów z zaawansowanymi zmianami w mikrokrążeniu skórnym nefropatię stwierdzono u 70,6%. Wśród chorych ze zmianami umiarkowanymi - nefropatię rozpoznano u 45,5% pacjentów, natomiast wśród uczestników ze zmianami łagodnymi jedynie 12,5% pacjentów miało nefropatię.

W kolejnych badaniach Kuryliszyn-Moskal i wsp. (38,128) także wykazali korelację pomiędzy nasileniem zmian w obrazie kapilaroskopowym a obecnością mikroangiopatii cukrzycowej. Wśród pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową 59% uczestników prezentowało zaawansowane zmiany naczyń włosowatych natomiast wśród pacjentów bez mikroangiopatii zmiany te obserwowano u 13% badanych. Odmienne wyniki uzyskano wśród pacjentów bez mikroangiopatii cukrzycowej, bo w tej grupie u 33% badanych nie wykazano zmian w kapilaroskopii, u kolejnych 33% badanych obserwowano zmiany łagodne, zmiany umiarkowane u 21%, a jedynie u 13% uczestników zmiany zaawansowane. W badaniach Hosking i wsp. (129) stwierdzili wśród pacjentów z mikroalbuminurią większą ilość obszarów beznaczyniowych w kapilaroskopii.

Wiodącym tematem rozprawy doktorskiej była ocena mikrokrążenia skórnego w grupie dzieci nie przyjmujących innych leków poza insuliną, wolnych od klasycznych mikroangiopatii. W tym celu zaprojektowano badanie, które mogło wskazać drogę badań powikłań innych niż klasyczne tj. retinopatii, neuropatii czy nefropatii, być może je wyprzedzających. Zaplanowano je przy użyciu badań oceniających łatwo dostępne obszary mikrokrążenia, jak wał paznokciowy, czy skóra na przedramieniu, które pozwalają wiarygodnie oznaczyć stopień dysfunkcji śródbłonna co odzwierciedla się w zaburzeniach funkcji mikrokrążenia.

Większość badań dostępnych w literaturze dotyczy dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 2. Badanie realizowane w rozprawie doktorskiej zostało zaprojektowane specjalnie z myślą o dzieciach z cukrzycą typu 1.

Grupa badana

Najczęstszą chorobą autoimmunologiczną związaną z cukrzycą typu 1 w dzieciństwie jest autoimmunologiczne zapalenie tarczycy, celiakia i autoimmunologiczne zapalenie żołądka. W kryteriach wyłączenia zawarto m.in. obecność autoimmunologicznej choroby tarczycy. Wpływ autoimmunologicznego zapalenia tarczycy na mikrokrążenie skóry u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1 był przedstawiony jedynie w pracy opublikowanej w 2019 roku w *Microvascular Research* (111). Raport Pazos-Moura i wsp. (49) dostarczyli dane kapilaroskopowe dotyczące zmian w mikrokrążeniu skóry u dorosłych pacjentów z chorobami tarczycy bez procesu autoimmunologicznego. Badacze stwierdzili, że w niewielkiej grupie pacjentów bez cukrzycy, u których zdiagnozowano niedoczynność tarczycy lub nadczynność tarczycy, prędkość przepływu krwi włosniczkowej w PORH powróciła do poziomu jak w grupie kontrolnej jak tylko pacjenci osiągnęli eutyreozę.

Weiss i wsp. (130) również wykazali zależność między przepływem w mikrokrażeniu skórnym a dysfunkcją tarczycy. Badacze dokonali rejestracji przepływów w mikrokrażeniu skórnym z wykorzystaniem laserowej przepływometrii dopplerowskiej i wykazali zmniejszenie przepływu kapilarnego wśród chorych z niedoczynnością tarczycy oraz analogicznie zwiększenie przepływu wśród pacjentów z nadczynnością tarczycy. W przeciwieństwie do poprzedniej grupy badaczy normalizację parametrów LDF w stanie eutyreozy wykazano jedynie u pacjentów z nadczynnością tarczycy.

Bajuk i wsp. (131) zaobserwowali, że nadczynność tarczycy wywołwana przez chorobę Gravesa-Basedowa odwracalnie oddziałuje na mikrokrażenie skóry mierzone za pomocą dopplerowskiego dopływu światła laserowego, prawdopodobnie zwiększając zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych. Dokładny mechanizm, dzięki któremu niedoczynność tarczycy wpływa na funkcję śródbłonna, również nie jest jasny. Wykazano, że miażdżycowe czynniki ryzyka takie jak hipercholesterolemia, zaburzenia hemostatyczne i hiperhomocysteinemia przyczyniają się do dysfunkcji śródbłonna w niedoczynności tarczycy (132–134). Postuluje się, że dysfunkcja śródbłonna w zapaleniu tarczycy Hashimoto może wystąpić w wyniku zapalenia (135). Taddei i wsp. (136) stwierdzają, że u pacjentów z subklinicznym autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy, przewlekłe zapalenie powoduje dysfunkcję śródbłonna i upośledzoną dostępność tlenu azotu przez szlak zależny od COX-2 prowadzący do zwiększonej produkcji stresu oksydacyjnego.

W grupie dzieci do 18 roku życia nie można wykluczyć wpływu zmian hormonalnych wynikających z procesu dojrzewania, które mają wpływ na mikrokrażenie skóry. Jest to poparte obserwacją Mihora i wsp. (137), którzy zaobserwowali, że niedoczynność tarczycy wywołuje subtelne zmiany niektórych parametrów hemodynamicznych w mikrokrażeniu skóry, co implikuje zmienioną funkcję śródbłonna i zmienioną reaktywność współczulną. Autorzy wykazali zmianę reaktywności mikrounaczynienia skóry u pacjentów z niedoczynnością tarczycy w porównaniu do grupy kontrolnej. Badacze zastosowali metodę laserowej przepływometrii dopplerowskiej z wykorzystaniem 4-minutowego miejscowego chłodzenia skóry oraz PORH (po 3 minutowej okluzji tętnicy ramiennej).

Ostatecznie na podstawie naszych wcześniejszych badań (111) wykazano, iż obecność autoimmunologicznego zapalenia tarczycy znacznie pogarsza funkcję mikrokrażenia skóry u pacjentów z cukrzycą typu 1 bez powikłań. Proces ten jest niezależny od wieku pacjenta, czasu trwania cukrzycy i wieku wystąpienia cukrzycy.

Wybór metod badawczych

W obecnej pracy podjęto zadanie oceny struktury i funkcji mikrokrążenia u dzieci z cukrzycą typu 1 przy wykorzystaniu badania kapilaroskopowego, które zostało przeprowadzone 3-krotnie: w warunkach podstawowych, po zakończeniu testu przekrwienia czynnego (PORH) i po przekrwieniu biernym (VO). W badaniach wykorzystałam metodę ilościowej oceny obrazu kapilaroskopowego opisaną w Pracowni Fizjologii Klinicznej i zaprezentowaną w *Diabetes Care* (92). Jednocześnie zastosowałam przezskórny pomiar ciśnienia tlenu rejestrowany na przedramieniu w warunkach podstawowych, podczas oraz po teście PORH.

W poprzednim badaniu dotyczącym dorosłych pacjentów z DM1 (137) do oceny funkcji mikrokrążenia skóry zastosowano kapilaroskopię i infuzję L-argininy. Do badania na pacjentach pediatrycznych została wybrana kapilaroskopia z zastosowaniem nioselektywnych bodźców, takich jak test PORH i test okluzji żyłnej (VO) z powodu braku zgody rodziców na przeprowadzenie procedur inwazyjnych, czyli infuzji L-argininy. To podejście zostało również wybrane przez innych autorów w badaniach mikrokrążenia u pacjentów z cukrzycą (138–141). Podstawowym mechanizmem odpowiedzialnym za następstwa testu przekrwienia czynnego jest *shear stress* i jego następstwa (104). Funkcja mikrokrążenia z wykorzystaniem kapilarnej rekrutacji skóry podczas pookluzyjnego reaktywnego przekrwienia jest związana z zależnym od śródbłonka rozszerzeniem naczyń na poziomie prekapilar (105,106), w którym pośredniczy odruch aksonalny, czynnik hiperpolaryzujący pochodzący od śródbłonka. Tlenek azotu nie odgrywa roli w rekrutacji kapilarnej podczas PORH (109,110). Maksymalną gęstość kapilarną skóry oceniano za pomocą okluzji żyłnej, o której wiadomo, że zwiększa zawartość krwinek czerwonych w naczyniach włosowatych, podczas gdy rekrutacja kapilarna była testowana podczas PORH (112).

Kapilaroskopia w ocenie mikrokrążenia skórniego

Upośledzenie czynności śródbłonka w cukrzycy typu 1 (DM1) prowadzi do charakterystycznych powikłań mikronaczyniowych, takich jak retinopatia, neuropatia lub nefropatia (142). Wszystkie te powikłania można uznać za postępujące pogorszenie funkcji i struktury naczyń włosowatych.

Badając obecnie stan mikrokrążenia obwodowego za pomocą kapilaroskopii stwierdziłam, iż dzieci chorujące na cukrzycę typu 1 mają mniejszą gęstość kapilar wyrażaną jako powierzchnię zajętą przez kapilary w stosunku do dzieci zdrowych (Coverage). Mniejsza powierzchnia zajęta przez kapilary występowała zarówno w warunkach spoczynkowych, jak również po zadziałaniu bodźców: testu PORH i testu VO. Pacjenci z cukrzycą typu 1 wykazywali również mniejszą reakcję na test VO w stosunku do wartości spoczynkowej, czyli maksymalną gęstość kapilarną skóry. Oznacza to, iż młodzi pacjenci z cukrzycą typu 1 bez powikłań mikroangiopatycznych charakteryzują się mniejszą rezerwą kapilarną.

Badania reaktywności mikrokrążenia skóry w odpowiedzi na zastosowanie testów PORH i VO w grupie dzieci z cukrzycą typu 1 zarówno bez jak i z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy z użyciem kapilaroskopii ilościowej zostały opisane przeze mnie w pracy „The impact of autoimmune thyroiditis on skin microcirculation in children with non-complicated type 1 diabetes mellitus” (111). Wcześniejsze prace opisywały jedynie mikrokrążenie skóry u dorosłych i / lub dzieci z cukrzycą typu 1 ale przy zastosowaniu jakościowej a nie ilościowej oceny kapilaroskopii wału paznokciowego (38,128,129,143).

Niektóre doniesienia wskazują na związek między nieprawidłowościami stwierdzonymi w obrazie kapilarnym a kliniczną manifestacją mikroangiopatii w przebiegu cukrzycy. Jednak przedstawione wnioski nie są spójne (38,128,143,144). Gasser (143) stwierdził, że przepływ krwi przez palce oceniany za pomocą wideokapilaroskopii w warunkach spoczynku i ponownie po lokalnym ochłodzeniu nie pozwala na odróżnienie zdrowych uczestników od pacjentów z cukrzycą typu 1. Forst (144) udowodnił, że pacjenci z cukrzycą typu 1 z neuropatią obwodową nie mają istotnie zmienionego przepływu krwi przez naczynia kapilarne po stymulacji acetylocholiną. Kuryliszyn-Moskal i wsp. (38,128) stwierdzili, że stopień zaawansowania zmian w morfologii naczyń włosowatych ocenianych kapilaroskopią koreluje z kontrolą metaboliczną i obecnością przewlekłych powikłań w przebiegu cukrzycy typu 1. W grupie 106 pacjentów z cukrzycą typ 1 zmiany w badaniu kapilaroskopowym obserwowano u 81% chorych. U pacjentów z cukrzycą bez zmian o charakterze mikroangiopatii obraz w kapilaroskopii był prawidłowy albo występowały niewielkie zmiany, natomiast u pacjentów z cukrzycą oraz rozpoznaną mikroangiopatią w kapilaroskopii dominowały zmiany zaawansowane (38). Tibiriça i wsp. (140) zaobserwowali, że rekrutacja kapilarna podczas testu PORH (% wzrostu średniej gęstości naczyń włosowatych, MCD) w palcach była znacznie wyższa w grupie kontrolnej niż u pacjentów z cukrzycą. Po teście przekrwienia biernego, zwiększenie MCD było znacznie większe w grupie kontrolnej w porównaniu z cukrzycą. Pazos-Moura i wsp. (145) zaobserwowali morfologię i gęstość naczyń włosowatych u dorosłych pacjentów z cukrzycą oraz u zdrowych osób, stosując wideokapilaroskopię i nie wykazali różnic w gęstości naczyń włosowatych pomiędzy grupami.

Czas trwania cukrzycy

Wielu badaczy podejmowało w dyskusji zagadnienie wpływu czasu trwania cukrzycy na pojawienie się powikłań cukrzycowych. W świadomości wielu lekarzy jest powszechny pogląd, iż im dłużej trwa cukrzyca tym więcej powikłań mikro- i makroangiopatycznych można stwierdzić u pacjenta. W celu oceny wpływu czasu trwania cukrzycy na strukturę i funkcję mikrokrażenia podzieliłam badaną grupę dzieci z cukrzycą według mediany czasu trwania cukrzycy na podgrupę A z czasem trwania <4,65 lat i podgrupę B z czasem trwania $\geq 4,65$ lat. Analizując wielkość parametrów charakteryzujących mikrokrażenie skórne stwierdziłam, iż wyodrębnione w ten sposób podgrupy pacjentów nie różnią się w ilościowej ocenie kapilar, zarówno w warunkach spoczynkowych jak i w odpowiedzi na przeprowadzane testy przekrwienia czynnego i biernego (PORH i VO). Zdrowe dzieci charakteryzowały się większą gęstością kapilar (Coverage) zarówno w warunkach spoczynkowych, jak i po testach w porównaniu z dziećmi chorującymi na cukrzycę. Różnice te ujawniały się w pełni po uwzględnieniu parametrów różnicujących podgrupy czyli wieku metrykalnego, stężenia lipidów i hormonów tarczycy.

W badanej grupie dzieci z cukrzycą w wieku od 10,9 do 18 lat, bez klasycznych powikłań mikroangiopatycznych, nie wykazałam, aby czas trwania cukrzycy wiązał się z nasileniem zmian w mikrokrażeniu skórnym charakteryzowanym parametrami kapilaroskopowymi.

Ocena obrazów kapilaroskopowych przeprowadzona w obecnym badaniu była analizą ilościową, opartą na gęstości kapilar i odległości między nimi. Doniesienia innych badaczy oparte są głównie na ocenie jakościowej obrazu kapilaroskopowego. Kamińska-Winciorek i wsp. (146) w badaniach z wykorzystaniem wideokapilaroskopii w grupie 145 dzieci w wieku 4-18 lat z cukrzycą typ 1 rozpoznaną,

co najmniej od roku zauważyli przede wszystkim zwiększenie liczby kapilar naczyńowych, zaburzenia ich rozmieszczenia, a także obecność zmienionych, wydłużonych naczyń włosowatych. Autorzy opisali istotny statystycznie wzrost liczby kapilar naczyńowych wraz z czasem trwania cukrzycy. Opisano także związek między wiekiem badanych dzieci a liczbą naczyń. U dzieci z dłuższym czasem trwania cukrzycy, a także w grupie dzieci starszych – powyżej 12 lat w porównaniu do młodszej grupy częściej obserwowano nieregularną morfologię naczyń włosowatych w postaci m.in. zmiany długości naczyń, kapilar krętych, krzacastych, poszerzonych, megakapilar lub pętli Raynauda. Wraz z czasem trwania cukrzycy częściej występowały zaburzenia rozmieszczenia naczyń - wzrostowi liczby kapilar towarzyszyła zwiększona liczba pętli Raynauda, kapilar wydłużonych, czy naczyń włosowatych dziwnych. Cisto i wsp. (147) badali grupę dzieci z cukrzycą typ 1 w wieku 4-17 lat. Autorzy w ocenie kapilaroskopowej najczęściej opisywali naczynia włosowate o krętym, wężykowatym przebiegu, o kształcie przypominającym ślimaka. Zmiany mikrokrażenia skórno obserwowano już u małych dzieci i nie zależą one od wieku zachorowania, natomiast pogłębiają się w czasie trwania choroby. Badacze stwierdzili wyraźne nasilenie zmian w kapilaroskopii wraz z czasem trwania cukrzycy. Również Kuryliszyn-Moskal i wsp. (127) w swoich badaniach wykazali korelację pomiędzy czasem trwania cukrzycy a obecnością zmian w obrazie kapilaroskopowym. W grupie 50 pacjentów z cukrzycą w przedziale wiekowym 16 – 67 lat wykazali, iż u chorych w porównaniu do grupy kontrolnej występuje zwiększona ilość kapilar krętych, redukcja gęstości naczyń włosowatych a także poszerzenie szczytu i ramienia żylnego pętli naczyniowej. Stwierdzili, iż u pacjentów z najdłuższym czasem trwania cukrzycy i zaawansowaniem narządowym zmiany w kapilaroskopii były najbardziej nasilone (127). W kolejnych badaniach Kuryliszyn-Moskal i wsp. (38,128,148) potwierdzili dodatnią korelację między czasem trwania cukrzycy a obecnością zmian w kapilaroskopii. U pacjentów z najdłuższym czasem trwania choroby $20,3 \pm 10,2$ lat obserwowano zaawansowane zmiany w kapilaroskopii, u chorych z krótszym czasem trwania cukrzycy $15,7 \pm 10,8$ lat występowały umiarkowane nieprawidłowości. Wśród uczestników badania z najkrótszym czasem trwania cukrzycy $12,63 \pm 10,9$ lat w obrazie kapilaroskopowym dominowały niewielkie zmiany.

Hosking i wsp. (129) którzy przebadali grupę 26 pacjentów z cukrzycą typ 1 w wieku 8-18 lat stwierdzili wśród uczestników badania z dłuższym czasem trwania cukrzycy istotne zmiany gęstości kapilar naczyńowych, u tych dzieci częściej występowały także mikrotętniaki oraz obszary beznacyniowe. Pazos-Moura i wsp. (145) w mieszanej grupie pacjentów zarówno z cukrzycą typ 1 jak i typ 2 przy użyciu wideokapillaroskopii obserwowali częściej zmiany morfologii kapilar (pętłe kapilarne kręte i poszerzone). Naczynia włosowate z charakterystycznym *nodular apical elongation* występowały u pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy. Autorzy natomiast nie wykazali różnic w gęstości naczyń włosowatych u pacjentów z cukrzycą w porównaniu do grupy kontrolnej. Badacze jednak nie przedstawili tych danych oddzielnie dla pacjentów z cukrzycą typu 1.

Fahrig i wsp. (149) w badaniu w grupie dorosłych z cukrzycą typu 2 wykazali, iż ani leczenie ani czas trwania choroby nie miały żadnego wpływu na zmiany mikroskopowe naczyń włosowatych. Tibirić i wsp. (140) u osób dorosłych z niepowikłaną cukrzycą typu 1 w wieku $27,1 \pm 10,6$ lat z czasem trwania choroby wynoszącym 10 (1; 45) lat nie wykazali istotnej korelacji między funkcją kapilarną skóry a czasem trwania cukrzycy. Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy wnioskowali, że pacjenci z cukrzycą typu 1, chociaż nie wykazują rozrzedzenia kapilarnego skóry, wykazują zmiany mikrokrażenia skórno charakteryzujące się brakiem rezerwy kapilarnej. Wyniki moich badań pokrywają się

częściowo z wynikami Tibirićá i wsp. (140). W moich badaniach w grupie kontrolnej obserwowano istotnie gęstsze obszary naczyniowe w porównaniu z całą grupą cukrzycową. Również po podziale grupy chorych stwierdziłam gęstsze istotnie obszary (Coverage_B) w podgrupie chorującej krócej w porównaniu z grupą kontrolną. Podgrupa pacjentów chorująca dłużej różniła się z grupą kontrolną parametrem Coverage_B na granicy istotności statystycznej ($p=0,06$). Może to wskazywać na zjawisko rozrzedzenia kapilar występujące w grupie pacjentów z cukrzycą.

Tooke i wsp. (150) wykazali zaburzenia autoregulacji naczyń mikrokrążenia w zależności od czasu trwania u pacjentów z cukrzycą typu 1. Wykorzystano w tym celu wideokapillaroskopię oraz laserową przepływometrię dopplerowską w spoczynku oraz w teście okluzyjnym. Badacze obserwowali niewielkie zaburzenia autoregulacji naczyń mikrokrążenia u pacjentów z cukrzycą trwającą krócej niż rok, u chorych z cukrzycą trwającą ponad 10 lat zaburzenia te były istotne.

Trapp i wsp. (151) analizując badania kapilaroskopowe w grupie 48 pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 nie wykazali zmian dotyczących morfologii oraz liczby i gęstości kapilar naczyniowych wśród chorych w porównaniu do grupy kontrolnej. Neubauer-Geryk i wsp. (92) oceniając mikrokrążenie skórne za pomocą kapilaroskopii oraz infuzji L-argininy w grupie dorosłych pacjentów z cukrzycą typ 1 stwierdzili wyraźną ujemną zależność pomiędzy reaktywnością kapilar naczyniowych a wiekiem zachorowania oraz brak takiej korelacji z czasem trwania cukrzycy. Grupa chorych ze średnim wiekiem zachorowania powyżej 19 lat, czyli z krótszym czasem trwania choroby cechowała się niższą reaktywnością naczyń mikrounaczynienia skórno w porównaniu do grupy pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy. Również Gasser i wsp. (143) nie potwierdzili różnicy pomiędzy pacjentami z cukrzycą typ 1 a grupą kontrolną. Badacze dokonali oceny mikrokrążenia za pomocą wideokapillaroskopii w spoczynku oraz po zastosowaniu miejscowego chłodzenia skóry nie wykazując zależności między gęstością i morfologią kapilar a czasem trwania cukrzycy. Ladeia i wsp. (152) wykazali, że funkcja śródbłonna oceniana za pomocą FMD i testu PORH u dzieci z cukrzycą w wieku od 7 do 18 lat z czasem trwania cukrzycy <5 lat nie ulegała zmianie.

Przedstawione przez badaczy wyniki i wnioski na temat funkcji i/lub struktury mikrokrążenia skórno u pacjentów z cukrzycą typu 1 mogą być wynikiem różnej metodologii badania, cech antropometrycznych badanej grupy, czasu trwania choroby i obecności klasycznych powikłań.

Wiek badanych i płeć

Wpływ wieku na gęstość naczyń włosowatych skóry został opisany przez kilku autorów (141,153–155). Badacze zaobserwowali znaczne zmniejszenie pętli naczyniowej skóry u starszych osób w porównaniu z osobami młodszymi (153,154). Piotto i wsp. (155) stwierdzili istotny wzrost gęstości włócnikowej z wiekiem w grupie 100 zdrowych osób w wieku od 5 do 18 lat. Schlager i wsp. (156) wykazali także wpływ wieku i płci na wynik testu PORH. W grupie 896 dzieci i młodzieży (4,3 - 18.1 lat) zauważono, że w okresie dorastania PORH jest funkcją wieku. U starszych dzieci reaktywność mikrokrążenia była w znacznym stopniu zależna od płci, natomiast u młodszych dzieci badacze nie obserwowali różnic płci. U uczestników płci męskiej wyjściowa perfuzja, biologiczne zero i szczytowa perfuzja były wyższe niż u uczestników płci żeńskiej.

Badane przeze mnie grupy: kontrolna i z cukrzycą typu 1 nie różniły się między sobą wiekiem metrykalnym. Jednakże analiza korelacji wykazała, iż w grupie pacjentów z cukrzycą nie występuje stwierdzana w grupie kontrolnej istotna ujemna korelacja $\Delta\text{Coverage}_V$ z wiekiem. Natomiast wykazałam zjawisko zależnego od wieku rozrzedzenia kapilar w grupie cukrzycowej.

Wyodrębnione podgrupy pacjentów z cukrzycą zależnie od czasu trwania choroby różniły się między sobą wiekiem metrykalnym. Dlatego też dalsze porównania parametrów kapilaroskopowych przeprowadziłam również z uwzględnieniem różnic wiekowych. Uwzględnienie tego parametru wykazało dodatkowe różnice pomiędzy badanymi podgrupami pacjentów z cukrzycą a grupą kontrolną w zakresie zmiany parametru Coverage podczas testu przekrwienia biernego ($\Delta\text{Coverage}_V$). Uwzględnienie wieku metrykalnego oraz profilu lipidowego i stężenia hormonów tarczycy ujawniło ponadto różnice wartości Coverage w warunkach spoczynkowych pomiędzy podgrupą chorującą krócej a zdrową ($p < 0,001$) oraz pomiędzy podgrupą chorującą dłużej a zdrową ($p = 0,06$). W badanej grupie osób nie stwierdziłam wpływu płci na wielkość parametrów kapilaroskopowych.

Kontrola metaboliczna

W literaturze dyskutuje się wyniki badań przedstawiających zależność między zaawansowaniem zmian mikrokrążenia i wyrównaniem metabolicznym cukrzycy (38,143,144). Opublikowane raporty na temat związku między parametrami mikronaczyniowymi skóry a kontrolą metaboliczną w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 nie są zgodne (92,129,138,140,141,157). Niektóre badania wykazały, że reaktywność mikrokrążenia skóry była niezależna od stanu metabolicznego opisanego przez poziom HbA1c (92,140,141). Podczas gdy Jorneskog i wsp. (138) w grupie dorosłych pacjentów z cukrzycą bez powikłań wykazali istotne różnice w przepływie naczyń włosowatych pomiędzy pacjentami ze złą i dobrą kontrolą metaboliczną niezależnie od czasu trwania cukrzycy. Inni badacze wykazali albo zwiększenie wyjściowej perfuzji związanej z HbA1c $> 7,5\%$ w grupie dorosłych (157) albo brak różnic w początkowej perfuzji pomiędzy uczestnikami z cukrzycą typu 1 a kontrolą (158).

Kamińska-Winciorek i wsp. (146) również zauważyli związek pomiędzy liczbą i morfologią kapilar naczyńiowych a średnimi wartościami HbA1c. Wraz ze wzrostem rocznych wartości HbA1c obserwowano wzrost nieprawidłowych kapilar naczyńiowych, w tym pętli Raynauda. Im wyższa była średnia roczna wartość HbA1c tym większa liczba pętli Raynauda w obrazie kapilaroskopowym. Kuryliszyn-Moskal i wsp. (127) także wykazali związek pomiędzy stopniem zaawansowania zmian w mikrokrążeniu skórnym a kontrolą metaboliczną. Do oceny zmian w kapilaroskopii autorzy zaproponowali własną skalę uwzględniającą ilość pętli naczyńiowych w 1mm, morfologię oraz odsetek naczyń o zmienionej morfologii, ocenę perfuzji oraz podścieliska. Zmiany opisane w powyższej skali, jako zaawansowane występowały najczęściej u pacjentów z wartościami HbA1c $> 7,5\%$ w porównaniu do pozostałych chorych z wartościami Hb A1c $< 6,5\%$ oraz $6,5\% - 7,5\%$. Badacze wykazali zaawansowane zmiany w kapilaroskopii aż u 72,8 % wśród pacjentów z wartością HbA1c $> 7,5\%$, zdecydowanie mniejsze zmiany występowały w pacjentów z wartościami HbA1c $< 7,5\%$. Hosking i wsp. (129) wykazali, że zmiany w mikrounaczynieniu są w znacznym stopniu związane z wyższymi obecnymi wynikami HbA1c. W grupie pacjentów z wyższymi aktualnymi wartościami HbA1c ($\geq 8\%$) częściej obserwowano miejscowe mikrokrwawienia, świadczące o wczesnym uszkodzeniu naczyń włosowatych.

W moim badaniu podgrupy pacjentów z cukrzycą, które różniły się czasem trwania choroby, nie różniły się poziomem hemoglobiny glikowanej. W podgrupie pacjentów chorującej dłużej zarejestrowano większą ilość hipoglikemii łagodnych w ciągu ostatniego miesiąca. Analiza zależności pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne a poziomem HbA1c wykazała, że jedynie wartość Distance_P korelowała z poziomem hemoglobiny glikowanej w podgrupie pacjentów z krótszym czasem trwania choroby. Żaden inny parametr opisujący obraz kapilaroskopowy nie korelował istotnie z poziomem HbA1c w żadnej z analizowanych podgrup. Podobne wnioski przynosi badanie Gassera i wsp. (143), którzy nie wykazali zależności pomiędzy stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy a parametrami kapilar naczyniowych. Również Neubauer-Geryk (9) w swoich badaniach na grupie dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 1 nie wykazała zależności między reaktywnością naczyń mikrokrążenia skórniego a kontrolą metaboliczną opisaną przez wartość HbA1c.

Wydaje się, że można stwierdzić, iż wyrównanie poziomu glikemii, prezentowane jako wskaźnik HbA1c, nie odzwierciedla wpływu na strukturę i funkcję kapilar skórnych. Pełna informacja o dynamice wyrównania glikemii w okresie choroby byłaby cenną informacją dla wyjaśnienia różnic w parametrach opisujących mikrokrążenie.

Badana przeze mnie grupa pacjentów z cukrzycą charakteryzowała się istotnie wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego i trójglicerydów w porównaniu z grupą kontrolną. Dalsze analizy wykazały, iż podgrupa pacjentów chorująca dłużej na cukrzycę różniła się od grupy kontrolnej istotnie wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i trójglicerydów. Również podgrupa pacjentów chorująca dłużej na cukrzycę miała istotnie wyższe stężenie cholesterolu frakcji LDL i trójglicerydów w porównaniu do podgrupy pacjentów chorującej krócej. Różnice w stężeniach składowych lipidogramu utrzymywały się również po uwzględnieniu wieku metrykalnego badanych osób. Badając zależność pomiędzy stężeniem lipidów a parametrami kapilaroskopowymi w badanych podgrupach stwierdziłam istotne zależności w grupie kontrolnej oraz w podgrupie pacjentów z krócej trwającą cukrzycą. Gęstość kapilar po teście przekrwienia biernego (Coverage_V) korelowała ujemnie, zaś odległość pomiędzy kapilarami (Distance_V) dodatnio z stężeniem cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL. Natomiast w podgrupie chorującej krócej wykazano również istotną dodatnią korelację Coverage_V jednakże z frakcją HDL cholesterolu całkowitego. W oparciu o uzyskane wyniki wydaje się, że nie można wykluczyć wpływu całkowitego stężenia cholesterolu, cholesterolu frakcji LDL i triglicerydów na pogorszenie funkcji śródbłonna, a co za tym idzie na parametry odzwierciedlające mikrokrążenie skórne czyli na uzyskane wyniki w przebiegu testów PORH i VO.

Podobnie Kuryliszyn-Moskal i wsp. (127) w swoich badaniach analizowali wpływ wyrównania metabolicznego, w tym stężenia lipidów na obraz kapilaroskopowy. Badacze stwierdzili dodatnią korelację pomiędzy stężeniem poszczególnych frakcji cholesterolu a nasileniem zmian w kapilaroskopii. U pacjentów z zaawansowanymi zmianami w porównaniu do pacjentów z łagodnymi zmianami w kapilaroskopii stwierdzono wyższe wartości cholesterolu całkowitego $208,4 \pm 44,2$ mg / dl vs. $169,7 \pm 26,3$ mg / dl a także wyższe wartości cholesterolu LDL $132,8 \pm 35$ mg/dl vs. $102,3 \pm 22,7$ mg/dl.

W badaniach Neubauer-Geryk (9) wśród pacjentów z cukrzycą typ 1 wyjściowe parametry mikrouczynienia skóry nie korelowały z wartościami cholesterolu całkowitego a także frakcji HDL i LDL. Wykazano natomiast ujemną zależność pomiędzy reaktywnością naczyń mikrokrążenia skóry a stężeniem cholesterolu frakcji LDL.

Przezkórne ciśnienie tlenu

Przezkórne ciśnienie tlenu ($TcPO_2$) jest uznanym parametrem odzwierciedlającym funkcję mikrokrążenia. $TcPO_2$ jest dobrze znany i szeroko stosowany w ocenie przepływu krwi i utlenowania w mikrokrążeniu skóry. Na ciśnienie tlenu w tkankach wpływa wiele czynników, takich jak przepływ krwi (159), ciśnienie tlenu w tętnicach (160) i przetoki tętniczo-żyłne (163).

Przezkórny pomiar ciśnienia tlenu pozwala na najbardziej bezpośrednią ocenę czynnościową mikrokrążenia poprzez pomiar utlenowania tkanek. W ostatnich latach praktyczna wartość $tcPO_2$ w badaniach przesiewowych w kierunku chorób naczyniowych została dobrze udokumentowana (31,164), przewidywania poziomu amputacji (165), trwałość wykonywanych przeszczepów skóry (34) oraz kwalifikacja do tlenoterapii w komorze hiperbarycznej (34).

W obecnym badaniu dokonywano ciągłego pomiaru przezkórnego ciśnienia tlenu w warunkach podstawowych, podczas testu PORH i po nim. Pomiar przezkórnego ciśnienia tlenu został przeprowadzony przy temperaturze elektrody $43^\circ C$ umieszczonej na przedramieniu. Pomiar przezkórnego ciśnienia tlenu prezentowany w piśmiennictwie różnił się zastosowaną temperaturą elektrody badawczej - od $37^\circ C$ (166), $43^\circ C$ (167), przez $43.5^\circ C$ (168), $44^\circ C$ (124) do $45^\circ C$ (125,169). Stosowano również różne umiejscowienie elektrody: grzbiet stopy (124,167–169) czy też ramię lub przedramię (125). W badaniu Lagerkvista wartość $TcPO_2$ uzyskana u zdrowych dzieci i młodzieży wynosiła 81 (65-97) mmHg (125), podczas gdy w naszym badaniu wartość $TcPO_2$ zarejestrowana na ramionach osób kontrolnych na początku badania wynosiła 56,3 (18,6-81.1) mmHg. Różnicę między uzyskanymi wynikami można wytłumaczyć innym położeniem elektrod i wyższą temperaturą stosowaną w badaniu Lagerkvista ($45^\circ C$).

W moich badaniach wykazałam, iż parametry opisujące przezkórne ciśnienie tlenu nie różniły się pomiędzy grupą kontrolną a grupą pacjentów z cukrzycą typu 1. Ponadto parametry charakteryzujące ciśnienie przezkórne tlenu w warunkach spoczynkowych, w czasie oraz po teście PORH nie były zależne od wieku metrykalnego w obu grupach. Podgrupa pacjentów z dłuższą trwającą cukrzycą charakteryzowała się wyższą wartością $TcPO_{2_zero}$ w porównaniu do grupy o krótszym czasie trwania oraz do grupy kontrolnej. Różnice te zanikały po uwzględnieniu wieku, stężenia lipidów i hormonów tarczycy. Wyniki powyższe wskazują, iż czas trwania cukrzycy nie wpływa na wielkość przezkórnego ciśnienia tlenu ani też na charakter zmian tego ciśnienia podczas testu PORH.

Należy zauważyć, iż analiza zależności pomiędzy parametrami lipidowymi i HbA1c a parametrami opisującymi $tcPO_2$ wykazała, że istnieje istotna zależność tylko w grupie kontrolnej. Wartość $tcPO_{2_zero}$ korelowała ujemnie z HbA1c zaś dodatnio ze stężeniem HDL cholesterolu całkowitego.

Przeprowadzone porównania upoważniają do stwierdzenia, że HbA1c nie jest parametrem reprezentacyjnym wskazującym na uszkadzające działanie hipoglikemii czy hiperglikemii na obszar naczyniowy.

Większość opublikowanych badań, które wykorzystują metodę pomiaru przezkórnego ciśnienia tlenu była przeprowadzona u pacjentów z obecnością powikłań mikro- i/lub makroangiopatycznych. Fagher i wsp. (170) wykazali, że niski $tcPO_2$ jest niezależnym wskaźnikiem prognostycznym dla rocznej śmiertelności wśród pacjentów z cukrzycą typu 2 i owrzodzeniem stopy cukrzycowej. Badania niektórych autorów wykazały, że wielkość $tcPO_2$ zmniejsza się w cukrzycy. Wyniki te pokrywają się ze współwystępowaniem neuropatii i mogą poprzedzać jej pojawienie się. Zimny i wsp. (169) sugerowali, że pomiar $tcPO_2$ może być przydatny do identyfikacji pacjentów z cukrzycą zagrożonych neuropatią stopy.

Badanie przeprowadzono na grupie pacjentów z cukrzycą typu 2 i wykonano na stopie w 45°C. Głównym osiągnięciem tego badania było stwierdzenie, że $tcPO_2$ jest znacząco zmniejszone u pacjentów z cukrzycą typu 2 z czynnikami ryzyka zespołu stopy cukrzycowej w porównaniu do pacjentów z cukrzycą bez takich czynników ryzyka, jak również u osób bez cukrzycy.

De Meijer i wsp. (167) wykazali, że pacjenci z cukrzycą typu 1 i typu 2 bez objawów neuropatii mieli istotnie niższe wartości $tcPO_2$. Sugerowali oni, że pomiary $tcPO_2$ u pacjentów z cukrzycą mogą być przydatne do wykrywania subklinicznych zaburzeń mikronaczyniowych. W tym badaniu nie było różnicy między grupą kontrolną a cukrzycą typu 1. Gdy chorych na cukrzycę typu 1 i typu 2 połączono w jedną grupę, stwierdzono istotne różnice między wartościami $tcPO_2$ w grupach chorych na cukrzycę i bez cukrzycy. Badacze nie wykazali istotnego związku $tcPO_2$ z czasem trwania cukrzycy (167). Ewald i wsp. (166) przeprowadzili badania u dzieci z cukrzycą poniżej 15 lat. Wykazali oni nieprawidłową odpowiedź poniedokrwienną u dzieci z cukrzycą. Przeskórny pomiar ciśnienia tlenu dokonano za pomocą elektrody tlenowej w 37°C podczas testu PORH. Badania przeprowadzono przed wprowadzeniem do leczenia insuliny, po 1, 6, 12 i 24 miesiącach po postawieniu diagnozy. Okazało się, że po dwóch latach cukrzycy reaktywność naczyniowa była znacznie niższa niż w grupie kontrolnej. Przeprowadzona przez Ewalda analiza wielokrotnej regresji liniowej wykazała, że wydalanie glukozy z moczem, stężenie glukozy w osoczu, hemoglobina glikowana, stężenie trójglicerydów i cholesterolu całkowitego w surowicy a także czas trwania cukrzycy i dawka insuliny na kg masy ciała razem wyjaśniały 54% zmienności reaktywności naczyń. Ewald doszedł do konkluzji, że zmniejszonej reaktywności naczyniowej u dzieci chorych na cukrzycę nie można wytłumaczyć zwykłymi parametrami samego kontrolowania węglowodanów.

Breuer i wsp. (171) przeprowadzili badanie u pacjentów z cukrzycą typu 1, trwającą od kilku tygodni do 30 lat (mediana 6,0 lat) i średnią wartością HbA1c 8,9%. Przeskórne ciśnienie tlenu było rejestrowane w okolicy podobojczykowej i na grzbiecie stopy. Na podstawie wskaźników perfuzji badacze wykazali zmniejszone $tcPO_2$ związane z cukrzycą typu 1. Nawet pacjenci z cukrzycą trwającą krócej niż 1 rok, bez jakichkolwiek wykładników mikroangiopatii różnili się znacznie od osób z grupy kontrolnej. Obserwacje Breuera potwierdzają możliwość wystąpienia zaburzeń funkcjonalnych mikrokrążenia u pacjentów z cukrzycą, poprzedzających jakiegokolwiek zmiany strukturalne.

Wykazano, iż obniżony poziom $tcPO_2$ może korelować z gorszą kontrolą cukrzycy. W badaniu lino i wsp. (168) wykazali, że $tcPO_2$ u chorych na cukrzycę typu 2 było istotnie zmniejszone w grupie ze słabo kontrolowaną chorobą (HbA1c > 9%) w porównaniu z grupą kontrolną bez cukrzycy i dobrze kontrolowaną cukrzycą.

Badanie Railtona i wsp. (172) jest jedynym badaniem wykorzystującym PORH w ocenie $tcPO_2$ u dorosłych (insulinozależnych) pacjentów z cukrzycą. Niedokrwienna odpowiedź w ramieniu po zamknięciu mankieta, mierzona przez przeskórne ciśnienie tlenu w temperaturze 37°C, była istotnie niższa u dorosłych pacjentów z cukrzycą z HbA1c 5,6% -8,7%. Według autorów wyniki te mogą odzwierciedlać nieprawidłowy przepływ krwi włosniczkowej u pacjentów z cukrzycą. Badacze nie znaleźli korelacji między wartościami $tcPO_2$ a HbA1c. Należy podkreślić, że badana grupa to były osoby dorosłe w zakresie wiekowym 18-39 lat z dużym przedziałem czasu trwania cukrzycy – od roku do 19 lat. W badaniu tym nie stwierdzono korelacji $tcPO_2$ z wiekiem chorych na cukrzycę ani wiekiem młodych osób z grupy kontrolnej. Badacze też nie wykazali różnicy wielkości $tcPO_2$ w zależności od płci (172).

W badaniu Jorgensen i wsp. (173) u młodych dorosłych z cukrzycą typ 1 bez towarzyszącej jawnej mikroangiopatii wykorzystano metodę przezskórnego pomiaru prężności tlenu przed i po 5 minutach okluzji tętnicy ramiennej. Zastosowano czas okluzji dłuższy niż w moim protokole badawczym. Badacze zauważyli, że oceniane wartości korelują ze stopniem wyrównania glikemii. Wśród pacjentów z wartościami HbA1c $\leq 9,5\%$ oceniane wartości przezskórnego pomiaru ciśnienia tlenu były porównywalne z grupą kontrolną. Natomiast u pacjentów z wartościami HbA1c $\geq 12,5\%$ obserwowano istotne nieprawidłowości w pomiarze przezskórnego ciśnienia tlenu w odpowiedzi na 5 minutowe niedokrwienie.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wykazałam brak wpływu płci na parametry $tcPO_2$ w grupie chorych na cukrzycę jak również w grupie kontrolnej. Podobne wyniki uzyskali Rodrigues i wsp. (174), którzy porównali $tcPO_2$ między grupami mężczyzn i kobiet. Natomiast badanie przeprowadzone przez Orensteina i wsp. (175) na zdrowych ochotnikach wykazało, że kobiety miały znacznie wyższe $tcPO_2$ niż mężczyźni.

Przeprowadzone analizy zależności pomiędzy TTR i SLOPE a parametrami zapalnymi oraz oceniającymi funkcję nerek w podgrupach pacjentów z cukrzycą typ 1 różniących się czasem trwania cukrzycy nie pozwalają na jednoznaczne wnioski. Zależności te mogą mieć charakter przypadkowy, jednakże hipoteza zależności pomiędzy funkcją nerek i/lub procesem zapalnym a funkcją mikrokrążenia opisywaną przy użyciu przezskórnego ciśnienia tlenu w odpowiedzi na bodziec jakim jest reaktywne przekrwienie czynne wymaga wyjaśnienia w znacznie większym materiale badawczym.

Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu.

Zaplanowane badania dotyczą czynnościowej oceny mikrokrążenia obwodowego za pomocą kapilaroskopii i przezskórnego pomiaru ciśnienia parcjalnego tlenu u dzieci z cukrzycą typu 1. Oceniając zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu analizowano wyłącznie parametry związane z testem przekrwienia czynnego, gdyż te badania wykonywane były jednocześnie.

Badając symultanicznie dwa różne obszary naczyniowe, chciałam odpowiedzieć na pytanie czy możliwa jest ocena jednego z nich i wnioskowanie na tej podstawie o funkcji drugiego obszaru naczyniowego.

Ocena korelacji pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrążenie wału paznokciowego a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu wykazała brak zależności między parametrami opisującymi oba łożyska naczyniowe zarówno w grupie kontrolnej, jak i podgrupie pacjentów o krótszym czasie trwania cukrzycy.

Natomiast w grupie pacjentów z cukrzycą, którzy chorowali dłużej stwierdziłam ujemną korelację pomiędzy Coverage_P i reaktywnością kapilar a $tcPO_{2_zero}$.

W mojej opinii wyniki powyższych analiz potwierdzają, iż u pacjentów chorujących na cukrzycę krócej badanie wielu obszarów dostarcza lepszej charakterystyki o strukturze i funkcji mikrokrążenia, gdyż początek zaburzeń nie odbywa się jednocześnie we wszystkich naczyniach. U pacjentów chorujących dłużej możliwe jest wnioskowanie o zaburzeniach mikrokrążenia obwodowego na podstawie badania jednego obszaru naczyniowego, np. kapilar wałów paznokciowych bądź przezskórnego ciśnienia tlenu.

Przedstawione w rozprawie wyniki badań wskazują na potencjalną wartość informacji płynących z analizy zmian przezskórnego ciśnienia tlenu oraz badania kapilaroskopowego, zarówno w warunkach spoczynkowych, w czasie okluzji, jak i po niej (PORH). Jednakże naturalnym ograniczeniem tego badania jest fakt, iż badanie jest przekrojowe. Przeprowadzenie badania retrospektywnego obejmującego kilka lat trwania cukrzycy typu 1 byłoby szansą na ustalenie wartości prezentowanych metod dla wykazania objawów dysfunkcji mikrokrążenia poprzedzających wystąpienie klasycznych wykładników mikroangiopatii.

7 Wnioski

1. Stan mikrokrążenia skórniego ocenianego przy użyciu kapilaroskopii różni się istotnie statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a grupą dzieci z cukrzycą typu 1 bez jawnych klinicznie powikłań naczyniowych. Różnica ta występuje zarówno w warunkach spoczynkowych, jak również po przekrwieniu reaktywnym czynnym, jak i przekrwieniu biernym. Różnica ta występuje również po uwzględnieniu wieku metrykalnego, jak również od stężenia lipidów i hormonów tarczycy.
2. W grupie pacjentów pediatrycznych z cukrzycą typu 1 bez powikłań mikroangiopatycznych czas trwania choroby nie miał wpływu na funkcję i strukturę mikrokrążenia skórniego ocenianą przy użyciu kapilaroskopii i przezskórnego ciśnienia tlenu.
3. U młodych dzieci z krótko trwającą cukrzycą typu 1 nie stwierdzono zależności pomiędzy badanymi parametrami mikrokrążenia skórniego i przezskórnym ciśnieniem tlenu.
4. U młodych dzieci z dłużej trwającą cukrzycą typu 1 wykazano zależność pomiędzy badanymi parametrami mikrokrążenia skórniego i przezskórnym ciśnieniem tlenu.

8 Streszczenie

Celem pracy była ocena struktury i funkcji mikrokrążenia obwodowego za pomocą kapilaroskopii i przezskórnego pomiaru ciśnienia parcjalnego tlenu u dzieci z cukrzycą typu 1 w warunkach spoczynkowych oraz pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH) i teście okluzyjnym (VO). Dodatkowo analizowano parametry charakteryzujące mikrokrążenie skórne przy użyciu wybranych metod w zależności od czasu trwania, stopnia wyrównania metabolicznego cukrzycy oraz wybranych markerów biochemicznych.

Analiza objęła 67 chorych na cukrzycę typu 1 (DM1) w wieku od 10 do 18 lat nie przyjmujących statyn i innych leków wpływających na układ sercowo-naczyniowy oraz 28 subiektywnie zdrowych ochotników dobranych po względem płci i wieku do grupy badanej. Zastosowana metodologia badawcza została zaakceptowana przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy GUMed (decyzje NKBBN/277/2014 z 08.07.2014r. oraz NKBBN/277-512/2016 z dnia 05.12.2016 r.)

Krew do badań laboratoryjnych pobierano od osób pozostających na czczo z żyły odłokciowej. Wykonano następujące badania: hemoglobina glikowana, lipidogram, białko C-reaktywne, TSH, fT4, kreatyninę w surowicy, w grupie pacjentów z cukrzycą wykonano także badanie moczu – poranną próbkę moczu pobrano w celu oznaczenia stężenia albuminy w moczu. Według formuły Bedside Schwartz wyliczono klirens kreatyniny.

Wykonano badanie kapilaroskopowe na palcach dłoni oraz badanie przezskórnego pomiaru prężności tlenu na przedramieniu pacjenta kończyny niedominującej. Kapilaroskopia podczas badania wykonywana była trzy razy: po 20 minutach odpoczynku w pozycji siedzącej, po wywołaniu przekrwienia czynnego 4-minutowym wcześniejszym uciskiem ramienia mankietem sfigmomanometru ciśnieniem przekraczającym o 50 mmHg ciśnienie skurczowe pacjenta (PORH) oraz po 2 minutowym przekrwieniu biernym wywołanym uciskiem ramienia mankietem sfigmomanometru ciśnieniem 60 mmHg (VO).

Wyznaczano następujące parametry charakteryzujące mikrokrążenie skórne: średni odstęp między kolejnymi kapilarami (Distance), proporcje pomiędzy powierzchnią zajęta przez kapilary a całkowitą powierzchnią analizowanych rzędów kapilar (Coverage). Wskaźniki te określono dla warunków podstawowych oraz po każdym z wykonanych testów. Zapis przezskórnego ciśnienia tlenu odbywał się w warunkach podstawowych, podczas i po teście PORH. Określono następujące parametry z zapisu przezskórnego ciśnienia tlenu: TcPO₂_baza - średnia wartość tcPO₂ w ciągu 60 sekund przed początkiem PORH, TcPO₂_zero - średnia wartość tcPO₂ w ciągu 60 sekund przed końcem PORH, SLOPE - zostało określone jako stosunek tcPO₂_diff i TTR, gdzie: TcPO₂_diff - różnica między TcPO₂_baza i TcPO₂_zero; TTR - czas potrzebny do osiągnięcia wartości podstawowej po okluzji.

Pacjenci z cukrzycą mieli statystycznie wyższe TSH i niższe stężenie fT4 w porównaniu z grupą kontrolną. Zarówno w grupie kontrolnej jak i grupie z cukrzycą typu 1. wartości TSH jak i fT4 mieściły się w zakresie normy. Wartości Coverage w warunkach podstawowych, po teście PORH i po VO oraz zmiana Coverage w wyniku testu VO w grupie kontrolnej były istotnie wyższe niż w DM1, zaś odległość pomiędzy kapilarami po teście VO i zmiana odległości w wyniku testu VO były istotnie większe w grupie DM1. TcPO₂_zero była istotnie wyższe w grupie DM1.

Podgrupy pacjentów z cukrzycą wydzielone ze względu na medianę czasu trwania cukrzycy różniły się pomiędzy sobą wiekiem metrykalnym, stężeniem lipidów i hormonów tarczycy. Porównanie parametrów charakteryzujących obraz kapilaroskopowy oraz przezskórne ciśnienie tlenu zarówno

w warunkach spoczynkowych, jak i po teście PORH czy VO nie wykazało istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupami pacjentów z cukrzycą różniących się czasem trwania choroby. Nie wykazano także różnic pomiędzy podgrupami po uwzględnieniu zmiennych różnicujących obie podgrupy. Natomiast w grupie pacjentów z dłuższą trwającą cukrzycą wykazano istotne ujemne korelacje pomiędzy wartością Coverage po teście PORH i reaktywnością kapilar oraz $TcPO_{2_zero}$ oraz istotnie dodatnie korelacje pomiędzy odległością pomiędzy kapilarami po teście PORH i $TcPO_{2_zero}$.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziłam, iż stan mikrokrążenia skórniego ocenianego przy użyciu kapilaroskopii różni się istotnie statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a grupą dzieci z cukrzycą typu 1. Różnica ta występuje zarówno w warunkach spoczynkowych, jak również po przekrwieniu reaktywnym czynnym, jak i przekrwieniu biernym. Różnica ta jest zależna zarówno od wieku metrykalnego, jak również od stężenia lipidów i hormonów tarczycy. Ponadto w grupie pacjentów pediatrycznych z cukrzycą typu 1 bez powikłań mikroangiopatycznych czas trwania choroby nie miał wpływu na funkcję i strukturę mikrokrążenia skórniego ocenianą przy użyciu kapilaroskopii i przezskórnego ciśnienia tlenu. U dzieci z krótko trwającą cukrzycą typu 1 nie stwierdzono związku pomiędzy badanymi parametrami mikrokrążenia skórniego i przezskórnym ciśnieniem tlenu, natomiast u dzieci z dłuższą trwającą cukrzycą typu 1 wykazano związek pomiędzy badanymi parametrami mikrokrążenia skórniego i przezskórnym ciśnieniem tlenu.

9 Summary

The aim of the study was to assess the structure and function of peripheral microcirculation with the use of capillaroscopy and transcutaneous oxygen pressure measurement in children with type 1 diabetes mellitus in resting conditions and during post-occlusive reactive hyperaemia (PORH) and occlusion test (VO). Additionally, the parameters characterizing skin microcirculation were analyzed using selected methods depending on the duration, diabetes metabolic compensation and selected biochemical markers.

The analysis included 67 patients with type 1 diabetes mellitus (DM1) aged 10 to 18 years who did not take statins or any other medications affecting the cardiovascular system and 28 healthy subjects matched by sex and age to the study group. The implemented research methodology was accepted by the Independent Bioethical Committee for Scientific Research at GUMed (decisions of NKBBN / 277/2014 of 08/07/2014 and NKBBN / 277-512 / 2016 of 05/12/2016)

Blood sampled for laboratory tests was obtained from the basilic vein. The following tests were performed: glycosylated hemoglobin, lipidogram, C-reactive protein, TSH, fT4, serum creatinine and, in the group of patients with diabetes, urinalysis (the morning urine sample was taken to determine urine albumin levels). Creatinine clearance was calculated according to the Bedside Schwartz formula. A capillaroscopic examination was performed on fingers and a transcutaneous oxygen pressure measurement was taken on the nondominant forearm.

During the examination, capillaroscopy was performed three times: after 20 minutes of rest in a sitting position, after induction of active hyperemia achieved through applying pressure with a sphygmomanometer cuff inflated to a pressure exceeding patient's systolic blood pressure by 50 mmHg for 4 minutes (PORH), and after a 2-minute passive congestion induced by applying pressure on the arm with a sphygmomanometer cuff inflated to a pressure of 60 mmHg (VO).

The following parameters characterizing the skin microcirculation were determined: average distance between successive capillaries (distance), the ratio between the surface occupied by the capillaries and the total surface area of the analyzed capillary rows (coverage). These parameters were determined for basal conditions and after each of the performed tests. The transcutaneous oxygen pressure was recorded under basal conditions, both during and after the PORH test. The following parameters were determined from the transcutaneous oxygen pressure recording: TcPO₂_base - the average tcPO₂ value measured within 60 seconds prior to starting PORH, TcPO₂_zero - the average tcPO₂ value within 60 seconds before ending PORH, SLOPE - was defined as the ratio tcPO₂_diff and TTR, where: TcPO₂_diff - difference between TcPO₂_base and TcPO₂_zero; TTR - time needed to reach the basic value after occlusion.

Patients with diabetes had statistically higher TSH and lower fT4 levels compared to the control group. In both the control and type 1 diabetes group, TSH and fT4 values were within the normal range. Coverage values in basal conditions after the PORH test and after VO, as well as coverage change following the VO test were significantly higher in the control group, while the distance between capillaries after VO test and distance change in the VO test were significantly higher in the DM1 group. TcPO₂_zero was significantly higher in the DM1 group.

The subgroups of patients with diabetes, established on the basis of their median diabetes duration, differed in chronological age, lipid levels and thyroid hormones. The comparison of the

capillaroscopic and transcutaneous oxygen pressure parameters in resting conditions as well as after the PORH and VO tests did not show statistically significant differences between the subgroups. Additionally, there were no differences between the subgroups after taking into account the variables differentiating both subgroups. However, in the group of patients with long-lasting diabetes, significant negative correlations were observed between Coverage value following the PORH test and capillary reactivity with TcPO₂_zero. Furthermore, significant positive correlations between the distance after the PORH and TcPO₂_zero test were demonstrated.

Based on my research, I found that there is a statistically significant difference in skin microcirculation assessed by capillaroscopy between the control group and the DM1 group. This difference is present both in resting conditions, as well as after applying reactive hyperemia and passive congestion. It is dependent on both age and lipid and thyroid hormone concentration. Moreover, in the group of pediatric type 1 diabetic patients without microvascular complications, the duration of the disease had no effect on the function and structure of the skin microcirculation assessed by the use of capillaroscopy and transcutaneous oxygen pressure. In children with short-standing type 1 diabetes, no relationship was found between the examined skin microcirculation and transcutaneous oxygen pressure parameters, while in children with long-standing type 1 diabetes the relationship between the skin microcirculation and transcutaneous oxygen pressure parameters was demonstrated.

10 Spis tabel

Tabela 1 Nieinwazyjne metody oceny mikrokrążenia (9).....	20
Tabela 2 Charakterystyka chorych na cukrzycę	27
Tabela 3 Charakterystyka grupy kontrolnej	28
Tabela 4 Porównanie wieku, płci i danych antropometrycznych u chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej.....	32
Tabela 5 Porównanie parametrów lipidogramu u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.....	34
Tabela 6 Porównanie parametrów charakteryzujących funkcję nerek i tarczycy oraz stan zapalny u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.	34
Tabela 7 Porównanie wartości ciśnienia tętniczego i częstości akcji serca u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.	35
Tabela 8 Porównanie parametrów mikrokrążenia skórniego u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej w warunkach podstawowych oraz po testach PORH i VO	36
Tabela 9 Charakterystyka parametrów $tcPO_2$ u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.....	37
Tabela 10 Analiza korelacji pomiędzy wiekiem metrykalnym a parametrami kapilaroskopowymi u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.	38
Tabela 11 Analiza korelacji pomiędzy wiekiem metrykalnym a przezskórnym ciśnieniem tlenu u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.....	40
Tabela 12 Porównanie grupy kontrolnej oraz grup pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby	41
Tabela 13 Wartość hemoglobiny glikowanej w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.....	42
Tabela 14 Porównanie parametrów lipidogramu w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.	42
Tabela 15 Porównanie wyników badań laboratoryjnych w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby	43

Tabela 16 Porównanie wartości ciśnienia tętniczego w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby	44
Tabela 17 Porównanie parametrów kapilaroskopowych w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.	45
Tabela 18 Porównanie $tcPO_2$ w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wydzielonych ze względu na medianę czasu trwania choroby.	46
Tabela 19 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrazenie skórne (Coverage) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej	48
Tabela 20 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi reaktywność mikrokrazenia skórniego (Δ Coverage i reaktywność kapilar) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej	49
Tabela 21 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrazenie skórne (Distance) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej	50
Tabela 22 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrazenie skórne (Δ Distance) a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej.	51
Tabela 23 Zależność pomiędzy parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu a wyrównaniem metabolicznym i wybranymi parametrami biochemicznymi w badanych podgrupach pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej.	52
Tabela 24 Zależność pomiędzy parametrami opisującymi mikrokrazenie skórne a parametrami charakteryzującymi przezskórne ciśnienie tlenu w grupie kontrolnej oraz podgrupach pacjentów z cukrzycą wyszczególnionych ze względu na medianę czasu trwania choroby.	54

11 Spis rycin

Rysunek 1 Jednostka mikrokążenia -za zgodą (9).....	10
Rysunek 2 Przykładowy wynik analizy obrazów kapilaroskopowych (badania własne).	30
Rysunek 3 Zapis pomiaru TcPO ₂ podczas testu PORH	31
Rysunek 4 Rozkład stadiów dojrzałości płciowej ocenianej wg skali Tannera w badanych grupach	33
Rysunek 5 Porównanie zależności pomiędzy Δ Coverage_V a wiekiem metrykalnym u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.....	39
Rysunek 6 Porównanie zależności pomiędzy Distance_B a wiekiem metrykalnym u chorych na cukrzycę oraz w grupie kontrolnej.....	39

12 Bibliografia

1. <https://idf.org/our-network/regions-members/europe/members.html>.
2. Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2014;114(2):245–51.
3. Głowińska-Olszewska B, Jamiołkowska M, Polkowska A, Peczyńska J, Łuczyński W, Peczyńska J, i in. Epidemiology of diabetes type 1 in children aged 0-14 in Podlasie Province in years 2005-2012. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. 2017;22(1):15–20.
4. Nathan DM. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: Overview. *Diabetes Care*. 2014;37(1):9–16.
5. Nardlik K, Cichocka E, Gumprecht J. Obraz kliniczny cukrzycy typu 1 u osób dorosłych. *Cukrzyca*. W: Sieradzki J, redaktor. *Cukrzyca*. Gdansk: Via Medica; 2015. s. 240–6.
6. IJzerman RG, De Jongh RT, Beijk MAM, Van Weissenbruch MM, Delemarre-van De Waal HA, Serné EH, i in. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest*. 2003;33(7):536–42.
7. Guyton A, Hall J. Chapter 16. The Microcirculation and Lymphatic System: Capillary Fluid Exchange, Interstitial Fluid, and Lymph Flow. W: *Textbook of medical physiology*. Twelve. Philadelphia: Saunders; 2006. s. 181–94.
8. Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HAJ. Microcirculation in hypertension: A new target for treatment? *Circulation*. 2001;104(6):735–40.
9. Neubauer-Geryk J. Czynnościowa ocena mikrokrążenia obwodowego za pomocą kapi-laroskopii i tesu infuzji L-argininy a występowanie angiopatii u chorych na cukrzycę typu 1. *Rozprawa habilitacyjna Gdański Uniwersytet Medyczny*. 2012;18–20.
10. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad JJ, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, i in. Impaired tissue per-fusion a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation*. 2008;118(9):968–76.
11. Mulvany MJ, Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiol Rev*. 2017;70(4):921–61.
12. Hoffmann M, Neubauer-Geryk, Jolanta Kozera G, Bieniaszewski L. Przeskórny pomiar prężności tlenu w ocenie stanu mikrokrążenia. *Forum Med Rodz*. 2017;11:80–88.
13. Pries AR., Werner J. Physiology of microcirculation. W: Struijker-Boudier HAJ, Ambro-sio G, redaktorzy. *Microcirculation and cardiovascular disease*. London: Lippincott Wil-liams&Wilkins; 2000. s. 15–30.
14. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. Structural Autoregulation of Terminal Vascular Beds: Vascular Adaptation and Development of Hypertension. *Hypertension*. 1999;33(1):153–61.

15. Knotzer H, Hasibeder WR. Microcirculatory function monitoring at the bedside - A view from the intensive care. *Physiol Meas*. 2007;28(9):R65-86.
16. Chebbi R. Dynamics of blood flow: modeling of the Fåhræus–Lindqvist effect. *J Biol Phys*. 2015;41(3):313–26.
17. Boudier H, Le Noble J, Messing MW, Huijberts MS, Le Noble FA, Van Essen H. The microcirculation and hypertension. *J Hypertens*. 2006;10(Sup 7):S147-156.
18. Klonizakis M, Lingam K, Manning G, Donnelly R. Characterising the time-course of microvascular vasodilator responses in humans using laser doppler fluximetry and iontophoresis. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2011;63(1):115–8.
19. Shamim-Uzzaman QA, Pfenninger D, Kehrer C, Chakrabarti A, Kacirotti N, Rubenfire M, i in. Altered cutaneous microvascular responses to reactive hyperaemia in coronary artery disease: a comparative study with conduit vessel responses. *Clin Sci (Lond)*. 2002 ;103(3):267-73.
20. Donaghue KC, Chiarelli F, Trotta D, Allgrove J, Dahl-Jorgensen K. Microvascular and macrovascular complications associated with diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2009;10(12):195–203.
21. Le Dorze M, Legrand M, Payen D, Ince C. The role of the microcirculation in acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*. 2009;15(6):503–8.
22. De Backer D, Donadello K, Favory R. Link between coagulation abnormalities and microcirculatory dysfunction in critically ill patients. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2009;22(2):150–4.
23. Ito H. No-reflow phenomenon in patients with acute myocardial infarction: Its pathophysiology and clinical implications. *Acta Medica Okayama*. 2009; 63(4):161-8.
24. Antonios TFT, Singer DRJ, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension*. 1999;33(4):998–1001.
25. Rizzoni D, Porteri E, Boari GEM, De Ciuceis C, Sleiman I, Muiesan ML, i in. Prognostic Significance of Small-Artery Structure in Hypertension. *Circulation*. 2003;108(18):2230–5.
26. Guiducci S, Distler O, Distler JHW, Matucci-Cerinic M. Mechanisms of vascular damage in SSc - Implications for vascular treatment strategies. *Rheumatology*. 2009;47(5):v18-20.
27. Mohammed I, Nonas SA. Mechanisms, Detection, and Potential Management of Microcirculatory Disturbances in Sepsis. *Critical Care Clinics*. 2010; 26(2):393-408.
28. Seal JB, Gewertz BL. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann Vasc Surg*. 2005;19(4):572–84.
29. Braverman IM. The cutaneous microcirculation. *J Investig Dermatology Symp Proc*. 2000;5(1):3–9.
30. Fife CE, Smart DR, Sheffield PJ, Hopf HW, Hawkins G, Clarke D. Transcutaneous oximetry in clinical practice: consensus statements from an expert panel based on evidence. *Undersea Hyperb Med*. 2009;36(1):43–53.

31. Ladurner R, Küper M, Königsrainer I, Löb S, Wichmann D, Königsrainer A, i in. Predictive value of routine transcutaneous tissue oxygen tension (tcPO₂) measurement for the risk of non-healing and amputation in diabetic foot ulcer patients with non-palpable pedal pulses. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2010;16(6):CR273-7.
32. Fife CE, Buyukcakir C, Otto GH, Sheffield PJ, Warriner RA, Love TL, i in. The predictive value of transcutaneous oxygen tension measurement in diabetic lower extremity ulcers treated with hyperbaric oxygen therapy: A retrospective analysis of 1144 patients. *Wound Repair Regen.* 2002;10(4):198–207.
33. Moosa HH, Peitzman AB, Makaroun MS, Webster MW, Steed DL. Transcutaneous oxygen measurements in lower extremity ischemia: effects of position, oxygen inhalation, and arterial reconstruction. *Surgery.* 1988;103(2):193–8.
34. Papa G, Spazzapan L, Pangos M, Delpin A, Arnež ZM. Compared to coverage by STSG grafts only reconstruction by the dermal substitute Integra® plus STSG increases TcPO₂ values in diabetic feet at 3 and 6 months after reconstruction. *G di Chir.* 2014;35(5–6):141–5.
35. Allen J, Oates CP, Lees TA, Murray A. Photoplethysmography detection of lower limb peripheral arterial occlusive disease: A comparison of pulse timing, amplitude and shape characteristics. *Physiol Meas.* 2005;26(5):811–21.
36. Fagrell B. Advances in microcirculation network evaluation: an update. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1995;15(1):34–40.
37. Maga P. Badania mikrokrążenia. W: *Interna Szczeklika.* Kraków; 2014. s. 129–30.
38. Kuryliszyn-Moskal, Anna Ciołkiewicz M, Dubicki A. Morfologiczne zmiany w badaniu kapilaroskopowym a kliniczny obraz zajęcia naczyń w prze-biegu chorób autoimmunologicznych: toczenia rumieniowatego układowego i cukrzycy typu 1. *Ann Acad Med Stetin.* 2010;56(1):73–9.
39. Cutolo M, Sulli A, Secchi ME, Olivieri M, Pizzorni C. The contribution of capillaroscopy to the differential diagnosis of connective autoimmune diseases. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology.* 2007; 21(6):1093-108.
40. Chojnowski MM, Felis-Giemza A, Olesińska. Capillaroscopy - A role in modern rheumatology. *Reumatologia.* 2016; 54(2):67-72.
41. Lambova SN, Müller-Ladner U. The role of capillaroscopy in differentiation of primary and secondary Raynaud's phenomenon in rheumatic diseases: A review of the literature and two case reports. *Rheumatology International.* 2009; 29(11):1263-71.
42. Cutolo M, Sulli A, Secchi ME, Paolino S, Pizzorni C. Nailfold capillaroscopy is useful for the diagnosis and follow-up of autoimmune rheumatic diseases. A future tool for the analysis of microvascular heart involvement? *Rheumatology.* 2006;45(4):iv43-6.
43. Humbert P, Sainthillier J-M, Mac-Mary S, Petitjean A, Creidi P, Aubin F. Capillaroscopy and videocapillaroscopy assessment of skin microcirculation: dermatologic and cosmetic approaches. *J Cosmet Dermatol.* 2005;4(3):153–62.

44. Ribeiro CF, Siqueira EBD, Holler AP, Fabrício L, Skare TL. Periungual capillaroscopy in psoriasis. *An Bras Dermatol.* 2012;87(4):550–3.
45. Franzeck UK, Bollinger A, Huch R, Huch A. Transcutaneous oxygen tension and capillary morphologic characteristics and density in patients with chronic venous incompetence. *Circulation.* 1984;70(5):806–11.
46. Rossi M, Carpi A. Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease. *Biomed Pharmacother.* 2004;58(8):427–31.
47. Bajer-Czajkowska A, Przemysław N. Morfometryczna analiza krążenia włosniczowego w kończynach górnych u chorych z niedokrwiennym udarem mózgu. *Udar Mózgu Probl Interdyscyplinarne.* 2005;7(1):1–9.
48. Schiavon F, Maffei P, Martini C, De Carlo E, Fais C, Todesco S, i in. Morphologic study of microcirculation in acromegaly by capillaroscopy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(9):3151–5.
49. Pazos-Moura CC, Moura EG, Breitenbach MMD, Bouskela E. Nailfold capillaroscopy in hypothyroidism and hyperthyroidism: Blood flow velocity during rest and postocclusive reactive hyperemia. *Angiology.* 1998;49(6):471–6.
50. Kamiński-Winciorek G. Wideokapilaroskopia-nowoczesna ocena pętli włosniczowych. *CX News.* 2007;1(20).
51. Gallucci F, Russo R, Buono R, Acampora R, Madrid E, Uomo G. Indications and results of videocapillaroscopy in clinical practice. *Adv Med Sci.* 2008;53(2):149–57.
52. Górka A, Rutkowska-Sak, Lidia; Musiej-Nowakowska E, Chlabicz, Sławomir ;Górski S. Wideokapilaroskopia łóżyska okołopaznokciowego – użyteczne narzędzie w diagnostyce pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów zagrożonych rozwojem przedwczesnych zmian miażdżycowych. *Postep Hig Med Dosw.* 2010;64:296–302.
53. Lahiri BB, Bagavathiappan S, Jayakumar T, Philip J. Medical applications of infrared thermography: A review. *Infrared Phys Technol.* 2012;5(4):221–35.
54. Sivanandam S, Anburajan M, Venkatraman B, Menaka M, Sharath D. Medical thermography: A diagnostic approach for type 2 diabetes based on non-contact infrared thermal imaging. *Endocrine.* 2012;42(2):343–51.
55. Zaro M, Canani L, Robinson C, Balbinot L, Achaval M. Plantar thermography is useful in the early diagnosis of diabetic neuropathy. *Clinics.* 2012;67(12):1419–25.
56. Bharara M, Cobb JE, Claremont DJ. Thermography and thermometry in the assessment of diabetic neuropathic foot: A case for furthering the role of thermal techniques. *Int J Low Extrem Wounds.* 2006;5(4):250–60.
57. Szentkuti A, Kavanagh HS, Grazio S. Infrared thermography and image analysis for biomedical use. *Periodicum Biologorum.* 2011; 113(4):385-392.
58. Anderson ME, Moore TL, Lunt M, Herrick AL. The „distal-dorsal difference”: A thermographic parameter by which to differentiate between primary and secondary Raynaud’s phenomenon. *Rheumatology.* 2007;46(3):533–8.

59. Rajan V, Varghese B, Van Leeuwen TG, Steenberg W. Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry. *Lasers Med Sci.* 2009;24(2):269–83.
60. Gryglewska B. Znaczenie mikrokrążenia w nadciśnieniu tętniczym i możliwości jego oceny na podstawie badania mikrounaczynienia skórnoego. *Art Hypertens.* 2010;14(5):395–410.
61. Stücker M, Steinberg J, Memmel U, Avermaete A, Hoffmann K, Altmeyer P. Differences in the two-dimensionally measured laser Doppler flow at different skin localisations. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2001;14(1):44–51.
62. Mnich K. Metody pomiaru przepływu krwi w organizmie człowieka. *Pr Inst Mech Górotworu PAN.* 2004;6(3–4):171–84.
63. Borucka K. Ocena mikrokrążenia za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej u chorych na cukrzycę typu 1. Uniwersytet Medyczny Poznaniu; 2014.
64. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res.* 2010;79(2):102–8.
65. Oberg P. Laser-Doppler flowmetry. *Crit Rev Biomed Eng.* 1990;18(2):125–63.
66. Brown RFR, Rice P, Bennett NJ. The use of laser Doppler imaging as an aid in clinical management decision making in the treatment of vesicant burns. *Burns.* 1998;24(8):692–8.
67. Ljung P, Bornmyr S, Svensson H. Wound healing after total elbow replacement in rheumatoid arthritis wound complications in 50 cases and laser-doppler imaging of skin microcirculation. *Acta Orthop.* 1995;66(1):59–63.
68. Rosato E, Borghese F, Pisarri S, Salsano F. Laser Doppler perfusion imaging is useful in the study of Raynaud's phenomenon and improves the capillaroscopic diagnosis. *J Rheumatol.* 2009;36(10):2257–63.
69. Lockhart JC, Ferrell WR, Egan CG, Balint P V., Sturrock RD. Metacarpophalangeal Joints in Rheumatoid Arthritis: Laser Doppler Imaging—Initial Experience. *Radiology.* 2013;220(1):257–62.
70. Tooke J. Microvascular haemodynamics in diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond).* 1986;70(2):119–25.
71. Bollinger A, Leu AJ, Hoffmann U, Franzeck UK. Microvascular changes in venous disease: An update. *Angiology.* 1997;48(1):27–32.
72. Allen J. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement. *Physiol Meas.* 2007;28(3):R1-39.
73. Borucka K, Naskręt D. W-WB. Metody oceny mikrokrążenia w skórze u pacjentów z cukrzycą. *Diabet Klin.* 2014;3(5):190–7.
74. Černý V, Turek Z, Pařízková R. Orthogonal polarization spectral imaging. *Physiol Res.* 2007;56(2):141–7.
75. Lupi O, Semenovitch I, Treu C, Bouskela E. Orthogonal polarization technique in the assessment of human skin microcirculation. *Int J Dermatol.* 2008;47(5):425–31.

76. Enfield J, Jonathan E, Leahy M. In vivo imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT). *Biomed Opt Express*. 2011;13(2(5)):1184–93.
77. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(1):98–104.
78. De Backer D, Dubois MJ. Assessment of the microcirculatory flow in patients in the intensive care unit. *Curr Opin Crit Care*. 2001;7(3):200–3.
79. Genzel-Boroviczeny O, Strotgen J, Harris AG, Messmer K CF. Orthogonal polarization spectral imaging (OPS): a novel method to measure the microcirculation in term and preterm infants transcutaneously. *Pediatr Res*. 2002;51(3):386–91.
80. Fujimoto JG. Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nat Biotechnol*. 2003;21(11):1361–7.
81. Fujimoto JG, Pitris C, Boppart SA, Brezinski ME. Optical Coherence Tomography: An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy. *Neoplasia*. 2002;2(1–2):9–25.
82. Chmielak Z. Optyczna tomografia koherentna - Czy ta metoda ma przyszłość? *Kardiologia Pol*. 2012;70(5):463.
83. Nicoară S. Optical Coherence Tomography in the Diagnosis, Monitoring and Treatment of Macular Disorders. *Int Conf Adv Med Heal Care through Technol*. 2014;251–4.
84. Ferguson-Pell M, Hagiwara S. An empirical technique to compensate for melanin when monitoring skin microcirculation using reflectance spectrophotometry. *Med Eng Phys*. 1995;17(2):104–10.
85. Harrison D, Habil M. Optical measurement of tissue oxygen saturation. *Int J Low Extrem Wounds*. 2002;1(3):191–201.
86. Lima A, Bakker J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. W: *Applied Physiology in Intensive Care Medicine 2: Physiological Reviews and Editorials*. 2012; 31(10):1316–26.
87. Lima A, Van Bommel J, Sikorska K, Van Genderen M, Klijn E, Lesaffre E, i in. The relation of near-infrared spectroscopy with changes in peripheral circulation in critically ill patients. *Crit Care Med*. 2011;39(7):1649–54.
88. Hartwig V, Marinelli M, Gargani L, Barskova T, Trivella MG, Cerinic MM, i in. Two-dimensional near infrared spectroscopic imaging of the hand to assess microvascular abnormalities in systemic sclerosis: A pilot study. *J Near Infrared Spectrosc*. 2015;23(2):59.
89. Hartwig V, Marinelli M, Rocco F, L'Abbate A. Assessment of microvascular function using near-infrared spectroscopic 2D imaging of whole hand combined with vascular occlusion test. *J Med Biol Eng*. 2016;36(1):87–95.
90. Cobb J, Claremont D. Noninvasive Measurement Techniques for Monitoring of Microvascular Function in the Diabetic Foot. *Int J Low Extrem Wounds*. 2002;1(3):161–9.
91. Hellmann M, Dorniak K DM. Ocena funkcji śródbrzońka mikrokrążenia u pacjentów ze

- schorzeniami układu sercowo-naczyniowego. *Chor Serca i Naczyń*. 2014;11(1):29–33.
92. Neubauer-Geryk J, Kozera GM, Wolnik B, Szczyrba S, Nyka WM, Bieniaszewski L. Decreased reactivity of skin microcirculation in response to L-arginine in later-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2013;36(4):950–6.
 93. Bode-Böger SM, Böger RH, Alfke H, Heinzl D, Tsikas D, Creutzig A, i in. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia: A randomized, controlled study. *Circulation*. 1996;93(1):85–90.
 94. Bode-Böger SM, Böger RH, Galland A, Tsikas D, Frölich JC. L-arginine-induced vasodilation in healthy humans: Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br J Clin Pharmacol*. 2003; 46(5):489–97.
 95. Delles C, Schneider MP, Oehmer S, Fleischmann EH, Schmieder RE. L-arginine-induced vasodilation of the renal vasculature is not altered in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(6):1836–40.
 96. Huvers FC, De Leeuw PW, Houben AJHM, De Haan CHA, Hamulyak K, Schouten H, i in. Endothelium-dependent vasodilatation, plasma markers of endothelial function, and adrenergic vasoconstrictor responses in type 1 diabetes under near-normoglycemic conditions. *Diabetes*. 2000;48(6):1300–7.
 97. Kawagishi T, Matsuyoshi M, Emoto M, Taniwaki H, Kanda H, Okuno Y, i in. Impaired endothelium-dependent vascular responses of retinal and intrarenal arteries in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(10):2509–16.
 98. Smulders RA, Stehouwer CD, Olthof CG, van Kamp GJ, Teerlink T, de Vries PM, i in. Plasma endothelin levels and vascular effects of intravenous L-arginine infusion in subjects with uncomplicated insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Sci*. 1994;87(1):37–43.
 99. Thorne S, Mullen MJ, Clarkson P, Donald AE, Deanfield JE. Early endothelial dysfunction in adults at risk from atherosclerosis: different responses to L-arginine. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(1):110–6.
 100. Giugliano D, Marfella R, Verrazzo G, Acampora R, Coppola L, Cozzolino D, i in. The vascular effects of L-arginine in humans: The role of endogenous insulin. *J Clin Invest*. 1997;99(3):433–8.
 101. Garhöfer G, Resch H, Lung S, Weigert G, Schmetterer L. Intravenous administration of L-arginine increases retinal and choroidal blood flow. *Am J Ophthalmol*. 2005;140(1):69–76.
 102. Perko D, Pretnar-Oblak J, Šabovič M, Žvan B, Zaletel M. Cerebrovascular reactivity to l-arginine in the anterior and posterior cerebral circulation in migraine patients. *Acta Neurol Scand*. 2011;124(4):269–74.
 103. Roustit M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2013; 34(7):373-84.
 104. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: A diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest*. 2005;127(6):2254–63.

105. Serné EH, Gans ROB, Ter Maaten JC, Ter Wee PM, Donker AJM, Stehouwer CDA. Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin's metabolic and vascular actions. *Cardiovasc Res.* 2001;49(1):161–8.
106. Serné EH, Stehouwer CDA, Ter Maaten JC, Ter Wee PM, Rauwerda JA, Donker AJM, i in. Microvascular function relates to insulin sensitivity and blood pressure in normal subjects. *Circulation.* 1999;99(7):896–902.
107. Mahé G, Humeau-Heurtier A, Durand S, Leftheriotis G, Abraham P. Assessment of skin microvascular function and dysfunction with laser speckle contrast imaging. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2012;5(1):155–63.
108. Cracowski JL, Roustit M. Current Methods to Assess Human Cutaneous Blood Flow: An Updated Focus on Laser-Based-Techniques. *Microcirculation.* 2016;23(5):337–44.
109. Wong BJ, Wilkins BW, Holowatz LA, Minson CT. Nitric oxide synthase inhibition does not alter the reactive hyperemic response in the cutaneous circulation. *J Appl Physiol.* 2015;95(2):504–10.
110. Cracowski J-L, Gaillard-Bigot F, Cracowski C, Sors C, Roustit M, Millet C. Involvement of cytochrome epoxygenase metabolites in cutaneous postocclusive hyperemia in humans. *J Appl Physiol.* 2013;114(2):245–51.
111. Hoffmann M, Neubauer-Geryk J, Wielicka M, Kowaleczko M, Myśliwiec M, Bieniaszewski L. The impact of autoimmune thyroiditis on skin microcirculation in children with non-complicated type 1 diabetes mellitus. *Microvasc Res.* 2019;123:68–73.
112. Antonios TF, Rattray FE, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Maximization of skin capillaries during intravital video-microscopy in essential hypertension: comparison between venous congestion, reactive hyperaemia and core heat load tests. *Clin Sci.* 1999;97(4):523–8.
113. Schlager O, Hammer A, Willfort-Ehringer A, Fritsch M, Rami-Merhar B, Schober E, i in. Microvascular autoregulation in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2012;55(6):1633–40.
114. Serné EH, Gans ROB, Ter Maaten JC, Tangelder GJ, Donker AJM, Stehouwer CDA. Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction. *Hypertension.* 2001;38(2):238–42.
115. Nazzaro P, Schirosi G, Clemente R, Battista L, Serio G, Boniello E, i in. Severe obstructive sleep apnoea exacerbates the microvascular impairment in very mild hypertensives. *Eur J Clin Invest.* 2008;38(10):766–73.
116. Fromy B, Lingueglia E, Sigaucho-Roussel D, Saumet JL, Lazdunski M. Asic3 is a neuronal mechanosensor for pressure-induced vasodilation that protects against pressure ulcers. *Nat Med.* 2012;18(8):1205–7.
117. Koitka A, Abraham P, Bouhanick B, Sigaucho-Roussel D, Demiot C, Saumet JL. Impaired Pressure-Induced Vasodilation at the Foot in Young Adults with Type 1 Diabetes. *Diabetes.* 2004;53(3):721–5.

118. Fuchs D, Dupon PP, Schaap LA, Draijer R. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser Doppler with local thermal hyperemia: A systematic review with meta-analysis. *Cardiovasc Diabetol.* 2017;16(1):11.
119. Minson CT. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J Appl Physiol.* 2010;109(4):1239–46.
120. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care.* 2016;39(1):13–22.
121. Dyck PJ. Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: Assessed in diabetics. *Muscle Nerve.* 1988;11(1):21–32.
122. Schwartz G, Munoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, i in. New Equations to Estimate GFR in Children with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(3):629–37.
123. Lam YZ, Atkinson JK. Biomedical sensor using thick film technology for transcutaneous oxygen measurement. *Med Eng Phys.* 2007;29(3):291–7.
124. Deng W, Dong X, Zhang Y, Jiang Y, Lu D, Wu Q, i in. Transcutaneous oxygen pressure (TcPO₂): A novel diagnostic tool for peripheral neuropathy in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;105(3):336–43.
125. Lagerkvist AL, Sten G, Redfors S, Holmgren D. Repeated blood gas monitoring in healthy children and adolescents by the transcutaneous route. *Pediatr Pulmonol.* 2003;35(4):274–9.
126. Kernick DP, Tooke JE, Shore AC. The biological zero signal in laser Doppler fluximetry - Origins and practical implications. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 1999;437(4):624–31.
127. Kuryliszyn-Moskal A, Zarzycki W, Dubicki A, Zonnenberg A, Górska M. A study on microvascular abnormalities in capillaroscopy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetol Doświadczalna i Klin.* 2006;6(2):98–103.
128. Kuryliszyn-Moskal A, Dubicki A, Zarzycki W, Zonnenberg A, Górska M. Microvascular abnormalities in capillaroscopy correlate with higher serum IL-18 and sE-selectin levels in patients with type 1 diabetes complicated by microangiopathy. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011;49(1):104–10.
129. Hosking SPM, Bhatia R, Crock PA, Wright I, Squance ML, Reeves G. Non-invasive detection of microvascular changes in a paediatric and adolescent population with type 1 diabetes: A pilot cross-sectional study. *BMC Endocr Disord.* 2013;5(13):41.
130. Weiss M, Milman B, Rosen B, Zimlichman R. Quantitation of thyroid hormone effect on skin perfusion by laser Doppler flowmetry. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76(3):680–2.
131. Bajuk NB, Zaletel K, Gaberšček S, Lenasi H. Hyperthyroidism induced by Graves' disease reversibly affects skin microvascular reactivity. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;61(3):459–70.
132. Kung AWC, Pang RWC, Janus ED. Elevated serum lipoprotein(a) in subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995;43(4):445–9.
133. Hussein WI, Green R, Jacobsen DW, Faiman C. Normalization of hyperhomocysteine-

- mia with L-thyroxine in hypothyroidism. *Ann Intern Med.* 1999;131(5):348–51.
134. Müller B, Tsakiris DA, Roth CB, Guglielmetti M, Staub JJ, Marbet GA. Haemostatic profile in hypothyroidism as potential risk factor for vascular or thrombotic disease. *Eur J Clin Invest.* 2001;31(2):131–7.
135. Xiang G Da, He YS, Zhao LS, Hou J, Yue L, Xiang HJ. Impairment of endothelium-dependent arterial dilation in Hashimoto's thyroiditis patients with euthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64(6):698–702.
136. Taddei S, Caraccio N, Virdis A, Dardano A, Versari D, Ghiadoni L, i in. Low-grade systemic inflammation causes endothelial dysfunction in patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(12):5076–82.
137. Mihor A, Gergar M, Gaberscek S, Lenasi H. Skin microvascular reactivity in patients with hypothyroidism. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;64(1):105–14.
138. Jörneskog G, Brismar K, Fagrell B. Pronounced skin capillary ischemia in the feet of diabetic patients with bad metabolic control. *Diabetologia.* 1998;41(4):410–5.
139. Jörneskog G, Brismar K, Fagrell B. Skin capillary circulation severely impaired in toes of patients with IDDM, with and without late diabetic complications. *Diabetologia.* 1995;38(4):474–80.
140. Tibiriçá E, Rodrigues E, Cobas RA, Gomes MB. Endothelial function in patients with type 1 diabetes evaluated by skin capillary recruitment. *Microvasc Res.* 2007;73(2):107–12.
141. Tibiriçá E, Rodrigues E, Cobas R, Gomes MB. Impairment of skin capillary recruitment precedes chronic complications in patients with type 1 diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2007;4(2):85–8.
142. Hurks R, Eisinger MJ, Goovaerts I, van Gaal L, Vrints C, Weyler J, i in. Early Endothelial Dysfunction in Young Type 1 Diabetics. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2009;37(5):611–5.
143. Gasser P, Berger W. Nailfold Videomicroscopy and Local Cold Test in Type I Diabetics. *Angiology.* 1992;43(5):395–400.
144. Forst T, Pfutzner A, Kunt T, Pohlmann T, Schenk U, Bauersachs R, i in. Skin microcirculation in patients with Type I diabetes with and without neuropathy after neurovascular stimulation. *Clin Sci.* 1998;94(3):255–61.
145. Pazos-Moura CC, Moura EG, Bouskela E, Torres-Filho IP, Breitenbach MM. Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus: morphological abnormalities and relationship with microangiopathy. *Braz J Med Biol Res.* 1987;20(6):777–80.
146. Kaminska-Winciorek G, Deja G, Polańska J, Jarosz-Chobot P. Diabetic microangiopathy in capillaroscopic examination of juveniles with diabetes type 1. *Postepy Hig Med Dosw.* 2012;30(66):51–9.
147. Cisko M, Wąsikowa R, Iwanicka Z, Wojakiewicz R, Sajewicz E. Results of capillaroscopy of nail plate in children with diabetes. *Pediatr Pol.* 1984;59:623–30.
148. Kuryliszyn-Moskal A, Zarzycki W, Dubicki A, Moskal D, Koszyła-Hojna B, Hryniewicz A. Clinical usefulness of videocapillaroscopy and selected endothelial cell activation mar-

- kers in people with Type 1 diabetes mellitus complicated by microangiopathy. *Adv Med Sci.* 2017;62(2):368–73.
149. Fahrig C, Breiting L, Heidrich H. Vital capillary microscopic findings in the nailfold of patients with diabetes mellitus. *Vasa.* 2000;29(4):258–63.
 150. Tooke JE, Lins PE, Ostergren J, Fagrell B. Skin Microvascular Autoregulatory Responses in Type I Diabetes: the Influence of Duration and Control. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1985;4(3):249–56.
 151. Trapp RG, Soler NG, Spencer-Green G. Nailfold capillaroscopy in type I diabetics with vasculopathy and limited joint mobility. *J Rheumatol.* 1986;13(5):917–20.
 152. Ladeia AM, Ladeia-Frota C, Pinho L, Stefanelli E, Adan L. Endothelial dysfunction is correlated with microalbuminuria in children with short-duration type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2005;28(8):2048–50.
 153. Hern S, Mortimer PS. Visualization of dermal blood vessels - Capillaroscopy. *Clin Exp Dermatol.* 1999; 24(6):473-8.
 154. Kelly R, Pearse R, Bull R, Leveque J, de Rigal J, Mortimer P. The effects of aging on the cutaneous microvasculature. *J Am Acad Dermatol.* 1995;33(5):749–56.
 155. Piotto DP, Sekiyama J, Kayser C, Yamada M, Len CA, Terreri MT. Nailfold videocapillaroscopy in healthy children and adolescents: Description of normal patterns. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;34(100(5)):193–9.
 156. Schlager O, Giurgea A, Hammer A, Charwat-Resl S, Margeta C, Mueller M, i in. Impact of age and gender on microvascular function. *Eur J Clin Invest.* 2014;44(8):766–74.
 157. Golster H, Hyllienmark L, Ledin T, Ludvigsson J, Sjöberg F. Impaired microvascular function related to poor metabolic control in young patients with diabetes. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2005;25(2):100–5.
 158. Khan F, Elhadd TA, Greene SA, Belch JFF. Impaired skin microvascular function in children, adolescents, and young adults with type I diabetes. *Diabetes Care.* 2000;23(2):215–20.
 159. Rendell M, Bergman T, O'Donnell G, Drobny E, Borgos J, Bonner RF. Microvascular blood flow, volume, and velocity measured by laser Doppler techniques in IDDM. *Diabetes.* 1989;38(7):819–24.
 160. Hauser CJ, Klein SR, Mehringer CM, Appel P, Shoemaker WC. Assessment of perfusion in the diabetic foot by regional transcutaneous oximetry. *Diabetes.* 1984;33(6):527–31.
 161. Bauersachs R, Shaw S, Zeidler A, Meiselman H. Red blood cell aggregation and blood viscoelasticity in poorly controlled Type 2 diabetes mellitus. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1989;9(6):935–52.
 162. Rendell M, Fox M, Knox S, Lastovica J, Kirchain W, Meiselman HJ. Effects of glycemic control on red cell deformability determined by using the cell transit time analyzer. *J Lab Clin Med.* 1991;117(6):500–4.
 163. Boulton AJM, Scarpello JHB, Ward JD. Venous oxygenation in the diabetic neuropathic

- foot: Evidence of arteriovenous shunting? *Diabetologia*. 1982;22(1):6–8.
164. Koch C, Chauve E, Chaudru S, Le Faucheur A, Jaquinandi V, Mahé G. Exercise transcutaneous oxygen pressure measurement has good sensitivity and specificity to detect lower extremity arterial stenosis assessed by computed tomography angiography. *Med (United States)*. 2016;95(36):4522.
 165. Nishio H, Minakata K, Kawaguchi A, Kumagai M, Ikeda T, Shimizu A, i in. Transcutaneous oxygen pressure as a surrogate index of lower limb amputation. *Int Angiol*. 2016;35(6):565–72.
 166. Ewald U, Tuvemo T. Reduced Vascular Reactivity in Diabetic Children and Its Relation to Diabetic Control. *Acta Paediatrica*. 1985;74(1):77–84.
 167. de Meijer VE, van't Sant HP, Spronk S, Kusters FJ, den Hoed PT. Reference value of transcutaneous oxygen measurement in diabetic patients compared with nondiabetic patients. *J Vasc Surg*. 2008;48(2):382–8.
 168. Iino K, Yoshinari M, Doi Y, Shinohara N, Iwase M, Fujishima M. Reduced tissue oxygenation and its reversibility by glycemic control in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 1997;34(3):163–8.
 169. Zimny S, Dessel F, Ehren M, Pfohl M, Schatz H. Early detection of microcirculatory impairment in diabetic patients with foot at risk. *Diabetes Care*. 2001;24(10):1810–4.
 170. Fagher K, Katzman P, Löndahl M. Transcutaneous oxygen pressure as a predictor for short-term survival in patients with type 2 diabetes and foot ulcers: a comparison with ankle–brachial index and toe blood pressure. *Acta Diabetol*. 2018;55(8):781–8.
 171. Breuer H □W M, Breuer J, Berger M. Transcutaneous oxygen pressure measurements in type I diabetic patients for early detection of functional diabetic microangiopathy. *Eur J Clin Invest*. 1988;18(5):454–9.
 172. Railton R, Newman P, Hislop J, Harrower ADB. Reduced transcutaneous oxygen tension and impaired vascular response in type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*. 1983;25(4):340–2.
 173. Jorgensen RG, Russo L, Mattioli L, Moore W V. Early detection of vascular dysfunction in type I diabetes. *Diabetes*. 1988;37(3):292–6.
 174. Rodrigues LM, Contreiras Pinto P, Leal A. Transcutaneous flow related variables measured in vivo: The effects of gender. *BMC Dermatol*. 2001;1:4.
 175. Orenstein A, Mazkereth R, Tsur H. Mapping of the human body skin with the transcutaneous oxygen pressure method. *Ann Plast Surg*. 1988;20(5):419–25.