

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY



Lek. Adrian Stefański

Katedra i Klinika Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Narkiewicz

**OCENA MIKROKRAŻENIA SIATKÓWKOWEGO U MŁODYCH
DOROSŁYCH Z CUKRZYCĄ TYPU 1**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

PROMOTOR: Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Narkiewicz

PROMOTOR POMOCZNICZY: dr n. med. Jacek Wolf

Gdańsk 2019

SPIS TREŚCI

SPIS TREŚCI	I
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	IV
I. WPROWADZENIE	6
1. Cukrzyca	6
1.1. Definicja i klasyfikacja	6
1.2. Historia badań nad cukrzycą	7
1.3. Epidemiologia i patogenezę	9
1.4. Patomechanizm powikłań cukrzycy	10
2. Mikrokrążenie siatkówkowe	12
3. Metody oceny mikrokrążenia siatkówkowego	14
3.1. Badanie oftalmoskopem	14
3.2. Laserowa przepływometria dopplerowska i skaningowa laserowa przepływometria dopplerowska	15
II. CELE PRACY	16
III. CHARAKTERYSTYKA BADANEJ GRUPY	17
IV. PROTOKÓŁ BADANIA	19
V. METODY BADAWCZE WYKORZYSTANE W PRACY	21
5.1. Kwestionariusz badawczy	21
5.2. Pomiar ciśnienia tętniczego i tętna	22
5.3. Heidelberg Retina Flowmeter	23

5.4. Analiza statystyczna	26
VI. WYNIKI	27
6.1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy	27
6.2. Wyniki badania ankietowego.....	29
6.3. Ocena parametrów pomiaru ciśnienia tętniczego i tętna	31
6.4. Ocena parametrów naczyniowych w badaniu SLDF	35
6.4.1. Charakterystyka zmiennych pomocniczych uzyskanych w badaniu SLDF	35
6.4.2. Zależność pomiędzy morfologią naczyń siatkówki i siatkówkowym przepływem krwi.....	36
6.4.3. Ocena morfologii naczyń siatkówkowych wyrażonych parametrem WLR w badanych grupach	38
6.4.4. Ocena siatkówkowego oporu naczyniowego.....	41
6.4.5. Ocena przepływu siatkówkowego	43
VII. Dyskusja wyników	45
7.1. Przepływ siatkówkowy w cukrzycy	46
7.2. Zjawisko hiperfiltracji narządowej	49
7.3. Wpływ hiperglikemii na układ sercowo-naczyniowy	51
7.4. Zmiany strukturalne w mikrokrażeniu siatkówkowym w różnych stanach chorobowych.....	56
7.5. Ocena siatkówkowego oporu naczyniowego.....	58
7.6. Ocena parametrów ciśnienia tętniczego i akcji serca	60
7.7. Analiza badania ankietowego	64

VIII. PODSUMOWANIE WYNIKÓW	66
IX. WNIOSKI	67
X. STRESZCZENIE	68
XI. SUMMARY	73
PIŚMIENNICTWO	77
SPIS TABEL	84
SPIS RYSUNKÓW	85
KWESTIONARIUSZE WYKORZYSTANE W BADANIU	86

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ABPM – ang. *ambulatory blood pressure monitoring* – ambulatoryjny pomiar ciśnienia tętniczego

AFFPIA - ang. *automatic full field analysis of perfusion images*; automatyczna analiza obrazów perfuzji

AU – ang. *arbitrary units*; jednostki arbitralne

BMI – ang. *body mass index*; wskaźnik masy ciała

DBP - ang. *diastolic blood pressure*; rozkurczowe ciśnienie tętnicze

DM – ang. *diabetes mellitus*; cukrzyca

eNOS – ang. *endothelial nitric oxide synthase*; śródbłonkowa syntaza tlenu azotu

ESC – ang. *European Society of Cardiology*; Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne

ESH – ang. *European Society of Hypertension*; Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego

GFR - ang. *glomerular filtration rate*; wielkość przesączania kłębuszkowego

HbA1C – ang. *glycated hemoglobin*; hemoglobina glikowana

HR – ang. *heart rate*; częstość akcji serca

HRF – ang. *Heidelberg Retina Flowmeter*; przepływomierz siatkówkowy

ICD – ang. *intercapillary distance*; odległość międzykapilarna

IDDM – ang. *Insulin-dependent diabetes mellitus*; cukrzyca insulinozależna

LD – ang. *lumen diameter*; średnica światła

LDF – ang. *laser doppler flowmetry*; laserowa przepływometria dopplerowska

LDV – ang. *laser doppler velocimeter*; laserowy dopplerowski szybkościomierz

MAP – ang. *mean arterial pressure*; średnie ciśnienie tętnicze

MDRD – ang. *modification of diet in renal disease*; modyfikacja diety w chorobie nerek

MHC – ang. *major histocompatibility complex*; główny układ zgodności tkankowej

NO – ang. *nitric oxide*; tlenek azotu

OR – ang. *odds ratio*; iloraz szans

PKC – ang. *protein kinase C*; białkowa kinaza C

PP – ang. *pulse pressure*; ciśnienie tętna

PTD – Polskie Towarzystwo Diabetologiczne

RCF – ang. *retinal capillary flow*; siatkówkowy przepływ kapilarny

RVR – ang. *retinal vascular resistance*; siatkówkowy opór naczyniowy

SBP – ang. *systolic blood pressure*; skurczowe ciśnienie tętnicze

SLDF – ang. *scanning laser doppler flowmetry*; skaningowa laserowa przepływometria dopplerowska

STD – ang. *standard deviation*; odchylenie standardowe

VD – ang. *outer vessel diameter*; zewnętrzna średnica naczynia

WCSA – ang. *wall cross section area*; przekrój poprzeczny naczynia

WHO – ang. *World Health Organization*; Światowa Organizacja Zdrowia

WLR – ang. *wall-to-lumen ratio*; wskaźnik grubości ściany naczynia do jego światła

WT – ang. *wall thickness*; grubość ściany

I. WPROWADZENIE

1. Cukrzyca

1.1. Definicja i klasyfikacja

Cukrzyca jest chorobą metaboliczną, którą charakteryzuje podwyższony poziom glukozy we krwi spowodowany defektem wydzielania lub działania insuliny. Przewlekła hiperglikemia prowadzi do powikłań związanych z uszkodzeniem i zaburzeniem funkcji narządów takich jak nerki, nerwy i naczynia krwionośne. Cukrzyca dzieli się na typ 1, który związany jest ze zniszczeniem komórek β trzustki, a co za tym idzie niedoborem lub brakiem insuliny, typ 2 spowodowany insulinoopornością tkanek i upośledzonym wydzielaniem insuliny oraz cukrzycę ciążową i cukrzycę o znanej etiologii^{1,2}. Cukrzycę wg wytycznych Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (skr. PTD) rozpoznaje się na podstawie poziomu glikemii w krwi żyłnej jeżeli spełnione jest jedno z trzech kryteriów:

- przygodny poziom glikemii ≥ 200 mg/dl wraz z obecnością typowych objawów hiperglikemii.
- dwukrotny poziom glikemii na czczo ≥ 126 mg/dl
- glikemia ≥ 200 mg/dl po 120 min. w doustnym teście obciążenia glukozą².

1.2. Historia badań nad cukrzycą

Klasyczne objawy cukrzycy czyli poliurię i polidypsję stwierdzano w badaniu, i opisywano w rozprawach medycznych już w starożytności, ale kojarzono je przede wszystkim z zaburzeniem pracy nerek, i układu moczowego. Choć opisy schorzeń, które mogły by wynikać z hiperglikemii odnotowywane były chociażby w dziełach Hipokratesa czy Aureliusza Korneliusza Celsusa, to pierwszy kompletny opis pacjenta z cukrzycą znaleźć można w dziele *Leczenie chorób przewlekłych* żyjącego w II w. Arateusza z Kapadocji. W tym samym czasie pojawiły się także opisy pacjentów z cukrzycą w dziele *O umiejscowieniu chorób* Galena. W późniejszych wiekach zwracano uwagę również na słodkawy posmak moczu osób z poliurią i polidypsją. W XVIII w. angielski lekarz Matthew Dobson poprzez odparowanie moczu jako pierwszy wykazał w nim obecność cukru, a także stwierdził nadmierną jego ilość we krwi udowadniając tym samym, że cukrzyca jest chorobą ogólnoustrojową, a nie ograniczoną jedynie do układu moczowego. Pod koniec XVII w. szwajcarski lekarz Johann Brunner stwierdził występowanie objawów poliurii i polidypsji u psów, którym usunął trzustkę. Podobne eksperymenty prowadzili Oskar Minkowski i Josef von Merin pod koniec XIX w. potwierdzając zależność między uszkodzeniem trzustki, a cukrzycą. Na początku XX w. toczyły się intensywne badania nad hormonem produkowanym przez trzustkę, którego brak wydawał się u części chorych na cukrzycę przyczyną choroby. W 1916 r. rumuński naukowiec Nicolae Paulescu wyizolował z trzustki substancję, która po podaniu psom chorującym na cukrzycę normalizowała poziom glukozy. Substancję tą nazwał pankreinę. Na początku lat 20-tych XX w. swoje prace prowadzili także kanadyjscy naukowcy Frederick Grant Banting, John Macleod, Charles Best i James Collip. W 1922 r. wyizolowali związek z trzustek początkowo psów, a później cieląt i krów. Substancja została nazwana insuliną i po raz pierwszy podana 14-letniemu chłopcu 11 stycznia 1922 r. Stan chłopca zaczął się poprawiać, a poziom glukozy normalizować. Młody pacjent żył jeszcze 13 lat, zmarł w wieku 27 lat z powodu powikłań cukrzycy. Za swoje odkrycia Banting i Macleod otrzymali w 1923 r. Nagrodę Nobla w dziedzinie

medycyny. W 1951 r. brytyjscy badacze R.D. Lawrence i J. Bornstein wyróżnili dwa typy cukrzycy stwierdzając brak insuliny u młodych chorych na cukrzycę natomiast jej wysoki poziom u starszych, otyłych osób. W 1979 r. Amerykańskie Towarzystwo Diabetologiczne (ang. *American Diabetes Association*; ADA) oficjalnie wprowadziło rozróżnienie na cukrzycę insulinozależną oraz cukrzycę insulinoniezależną. Podział ten funkcjonował do roku 2003 kiedy to wprowadzono obecną klasyfikację cukrzycy³.

1.3. Epidemiologia i patogeneza

Cukrzyca jest jedną z najczęstszych chorób współczesnego społeczeństwa, a liczba chorych nią dotkniętych ciągle rośnie. Według danych *International Diabetes Federation* w 2017 roku na świecie było 425 milionów osób z cukrzycą ⁴. Dostępnych jest wiele raportów szacujących tempo wzrostu zachorowań na cukrzycę w najbliższych latach, różniących się zarówno metodologią jak i wynikami, ale wszystkie wykazują bardzo szybki wzrost liczby osób, które zachorują na cukrzycę w przeciągu najbliższych lat ⁴⁻⁶. We wspomnianych raportach nie rozgranicza się liczby chorych na osoby dotknięte typem 1 i typem 2 cukrzycy, ale szacuje się, że pacjenci z cukrzycą typu 1 stanowią ok 7-12% tej populacji ⁵. W Polsce chorobowość cukrzycy typu 1 szacuje się na 0,3%, a zapadalność stale rośnie ¹. Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *WHO World Health Organization*) cukrzyca typu 1 charakteryzuje się deficytem ilości endogennej insuliny. Przyczyna powstawania tego typu cukrzycy nie jest dostatecznie poznana, jednakże stwierdza się występowanie czynników genetycznych jak np. zmiany w *locus* określany IDDM1 na chromosomie 6 w głównym układzie zgodności tkankowej (ang. *MHC Major Histocompatibility Complex*) oraz autoimmunologicznych. Autoantygeny mogą pojawić się w skutek zetknięcia z czynnikiem wywołującym jak wirus, białka mleka krowiego lub toksyny. Prowadzi to do aktywacji limfocytów T, które m. in. wytwarzają cytokiny (np. interleukina 2) i limfocytów B produkujących autoprzeciwciała ^{1,7}.

1.4. Patomechanizm powikłań cukrzycy

Cukrzyca jest jednym z najistotniejszych samodzielnych czynników powstawania i progresji chorób układu sercowo-naczyniowego prowadząc do niedokrwiennej choroby serca, udaru mózgu, przewlekłej choroby nerek, nieurazowej amputacji kończyn i ślepoty ^{4,8}. W ujęciu patofizjologicznym, zarówno powikłania mikroangiopatyczne, jak i makroangiopatyczne związane są ze stresem oksydacyjnym oraz rozwojem miażdżycy. Kluczowym mechanizmem przeciwdziałającym aterogenezie jest produkcja i wydzielanie tlenku azotu (ang. NO *nitric oxide*), wytwarzanego przez śródbłonkową syntazę tlenku azotu (ang. eNOS *endothelial nitric oxide syntase*). NO powoduje wazodylatację w skutek aktywacji cyklazy guanylanowej komórek mięśniówki naczyń. Przewodzi on także sygnały komórkowe, które powstrzymują płytki krwi i leukocyty przed interakcją ze śródbłonkiem naczyń oraz hamuje proliferację komórek mięśniówki naczyń. Niedobór NO powoduje z kolei zwiększoną aktywność czynników prozapalnych powodując adhezję leukocytów ⁹. Opisane mechanizmy prowadzą do tworzenia się komórek piankowatych, odgrywających ważną rolę w procesie powstawania blaszki miażdżycowej ^{9,10}. W osób z hiperglikemią dochodzi do produkcji reaktywnych anionów nadtlenkowych, które dezaktywują NO do formy nadtlenoazotowej, będącej silnym utleniaczem, powodując tym samym uszkodzenie tkanek ¹¹. Produkcja NO jest również stymulowana przez insulinę dzięki zwiększonej aktywności eNOS w skutek aktywacji 3-kinazy fosfatydylinozytolu i kinazy Akt. W związku z powyższym stwierdzono zmniejszone wytwarzanie NO u pacjentów z insulinoopornością w przebiegu cukrzycy typu 2. Podobny efekt może także występować u pacjentów z cukrzycą typu 1 w związku ze zmniejszoną ilością lub brakiem endogennej insuliny. U pacjentów z cukrzycą typu 2 stwierdzono nie tylko obniżoną odpowiedź na endogenny NO, ale także większą ilość krążących wolnych kwasów tłuszczowych, które zaburzają funkcję śródbłonka poprzez produkcję wolnych rodników czy białkowej kinazy C (ang. PKC *Protein Kinase C*) co powoduje obniżoną aktywność eNOS. Komórki mięśniówki gładkiej wykazują też większą tendencję do apoptozy w zmianach

miażdżycowych co zwiększa ryzyko pęknięcia blaszki miażdżycowej⁹. Powyższe mechanizmy mogą występować w całym układzie tętniczym, a zmiany przeważnie powstają najpierw w naczyniach o małej średnicy.

2. Mikrokrążenie siatkówkowe

Naczynia siatkówki pod względem budowy i funkcji są bardzo zbliżone do innych układów naczyniowych w organizmie np. do krążenia mózgowego i wieńcowego. Siatkówka jest unaczyniona przez tętnicę środkową siatkówki oraz przez naczyniówkę. Naczynia wywodzące się z tętnicy środkowej siatkówki mają wewnętrzną barierę krew-tkanka nerwowa. Naczynia te nie są unerwione przez eferentne włókna nerwowe poza astrocytami i perycytami, które regulują przepływ w kapilarach. Pełnią one głównie funkcje odżywcze dla tkanki nerwowej. Przepływ krwi w naczyniówce osiąga jedne z najwyższych wartości w organizmie natomiast różnica utlenowania krwi pomiędzy naczyniami tętniczymi i żylnymi wynosi zaledwie ok. 4% i jest 10-krotnie niższa niż pomiędzy naczyniami siatkówki.

Pień tętniczy i pień żylny uchodzą w tarczy nerwu wzrokowego, która położona jest nosowo od plamki żółtej. Gałązki tętnicze biegną w kierunku skroniowym górnym i dolnym oraz nosowym górnym i dolnym. W badaniu dna oka ich obraz jest jaśniejszy od żyłek i wydają się one od nich cieńsze (Rycina 1). Układ naczyń jest zmienny osobniczo, a niektóre jego cechy jak długość prolongacji czy kąt bifurkacji mogą być uwarunkowane genetycznie ¹².

Wyjątkowa dostępność tętnic siatkówki pozwala ocenić *in vivo* występowanie zmian patologicznych i jest wykładnikiem stopnia uszkodzenia naczyń w pozostałych narządach. Stwierdzenie patologii w mikrokrążeniu siatkówkowym pozwala na wczesne wykrycie nieprawidłowości w układzie tętniczym, mogących świadczyć o zaburzeniach w częściach układu krążenia mniej dostępnych badaniu np. układzie nerwowym ¹³. Stwierdzenie tych zmian może być jednym z najwcześniejszych symptomów uszkodzenia narządów wyprzedzając np. pojawienie się proteinurii ^{14,15}. Do oceny mikrokrążenia siatkówkowego można zastosować wiele metod zarówno nieinwazyjnych jak badanie oftalmoskopem dna oka lub skaningową laserową przepływometrię dopplerowską (ang. SLDF *scanning laser doppler flowmetry*) lub inwazyjną arteriografię. Stosowane metody różnią się dostępnością i dokładnością pomiaru oraz umożliwiają ocenę zróżnicowanych parametrów morfologicznych i funkcjonalnych naczyń.



Rycina 1. Obraz tętniczki i żyły siatkówkowej w badaniu skaningowej laserowej przepływometrii dopplerowskiej.

3. Metody oceny mikrokrążenia siatkówkowego

3.1. Badanie oftalmoskopem

Pierwszym narzędziem umożliwiającym ocenę dna oka był skonstruowany przez niemieckiego lekarza i fizyka Hermana von Helmholtza oftalmoskop. Urządzenie powstało w 1851 roku i składało się z układu luster, dzięki którym możliwa była ocena dna oka. Choć badanie było mało dokładne i podlegało wielu ograniczeniom, umożliwiało choć w niewielkim stopniu stwierdzenie patologii krążenia siatkówkowego w przebiegu licznych chorób ¹⁶. W ciągu ponad półtora wieku zasada działania oftalmoskopu w zasadzie się nie zmieniła, współczesne urządzenia posiadają jednakże sprawniejszy układ optyczny, a ich główną zaletą jest możliwość wykonania wstępnego badania przy łóżku chorego lub w gabinecie lekarskim. Przy użyciu oftalmoskopu możliwa jest m. in. ocena stopnia angiopatii nadciśnieniowej w oparciu o skalę utworzoną w 1939 roku przez Keitha, Wagnera i Barkera ¹⁷. Bardziej zaawansowaną formą oceny dna oka jest badanie w lampie szczelinowej. Umożliwia ona dość wnikliwą ocenę naczyń siatkówki dzięki zastosowaniu specjalnych soczewek. Stosuje się ją np. w przypadku stwierdzenia nieprawidłowości podczas badania oftalmoskopem celem dokładniejszej oceny układu naczyniowego. Wadą badania w lampie szczelinowej jest konieczność posiadania specjalistycznego sprzętu oraz rozszerzenia źrenicy przy użyciu substancji farmakologicznych celem lepszego uwidocznienia struktur siatkówki, co może być przeciwwskazane np. u osób ze stwierdzoną jaskrą ¹⁸.

3.2. Laserowa przepływometria dopplerowska i skaningowa laserowa przepływometria dopplerowska

W latach 70-tych XX-go wieku opracowano metodę nazwaną laserową przepływometrią dopplerowską (ang. LDF *laser doppler flowmetry*). Metoda ta polega na ocenie odbicia światła od przemieszczających się w naczyniach erytrocytów w odniesieniu do stałej powierzchni skóry. Jako źródło światła stosuje się laser helowo-neonowy o długości fali 633-780 nm. W związku z brakiem możliwości zastosowania do pomiaru jednostek fizjologicznych, wynik badania podaje się w jednostkach arbitralnych (ang. AU *arbitrary units*). Metodę tę stosuje się celem nieinwazyjnej oceny krążenia w skórze, pod paznokciem lub jamie ustnej, ale również można ją zastosować do śródoperacyjnych badań np. serca lub nerek ¹⁹. Metoda badania wymaga pozostawiania badanej powierzchni w całkowitym bezruchu, w przeciwnym razie mogą powstawać artefakty zaburzające odczyt. Ponadto choroby ogólnoustrojowe jak np. nadciśnienie tętnicze lub stan zapalny mogą interferować w uzyskany wynik pomiaru ²⁰. W latach 90-tych rozbudowano możliwości powyższej techniki poprzez dodanie do badanych parametrów oceny efektu dopplera w naczyniach, dzięki czemu możliwa stała się nieinwazyjna ocena przepływu w krążeniu siatkówkowym. Istotną zaletą tej metody badawczej jest możliwość wykonywania pomiarów bez konieczności farmakologicznego rozszerzenia źrenicy co wyklucza wpływ leków na przepływ w mikrokrażeniu.

II. CELE PRACY

Cukrzyca jest jednym z najważniejszych czynników ryzyka występowania chorób układu sercowo-naczyniowego oraz uszkodzenia wielu narządów. Dokładne zrozumienie mechanizmów zaburzających funkcję i strukturę układu tętniczego w przebiegu cukrzycy stwarza możliwość skuteczniejszego zapobiegania występowania jej powikłań. Ocena mikrokrażenia siatkówkowego pozwala, z dużym prawdopodobieństwem, ocenić stan naczyń krwionośnych w całym organizmie. Większość dostępnej literatury skupia się na ocenie powikłań naczyniowych u pacjentów obciążonych cukrzycą typu 2. Znacznie mniej badań prowadzonych było w grupie pacjentów z pierwszym typem cukrzycy. Dostępne prace opisujące zaburzenia w mikrokrażeniu pochodzą przede wszystkim z badań oceniających funkcję krążenia nerkowego, natomiast w zakresie uszkodzeń naczyń siatkówki skupiały się one przede wszystkim na ocenie dna oka pod kątem zaburzeń okulistycznych. Metoda SLDF stosowana była dotąd do oceny parametrów mikrokrażenia siatkówkowego u różnych pacjentów, umożliwiając ocenę występowania zmian u osób obciążonych np. nadciśnieniem tętniczym, niewydolnością nerek lub po przebytym udarze niedokrwiennym mózgu.

Według naszej wiedzy ocena zmian w mikrokrażeniu siatkówkowym z zastosowaniem metody SLDF u chorych na cukrzycę typu 1, stanowi oryginalny wkład w światowe badania nad patogenezą powikłań cukrzycy.

Dlatego też za cele pracy przyjęto wyjaśnienie następujących zagadnień:

1. Ocenę przepływu i budowy tętniczek mikrokrażenia siatkówkowego u pacjentów z cukrzycą typu 1.
2. Ocenę nasilenia zmian mikrokrażenia siatkówkowego w zależności od czasu trwania cukrzycy.

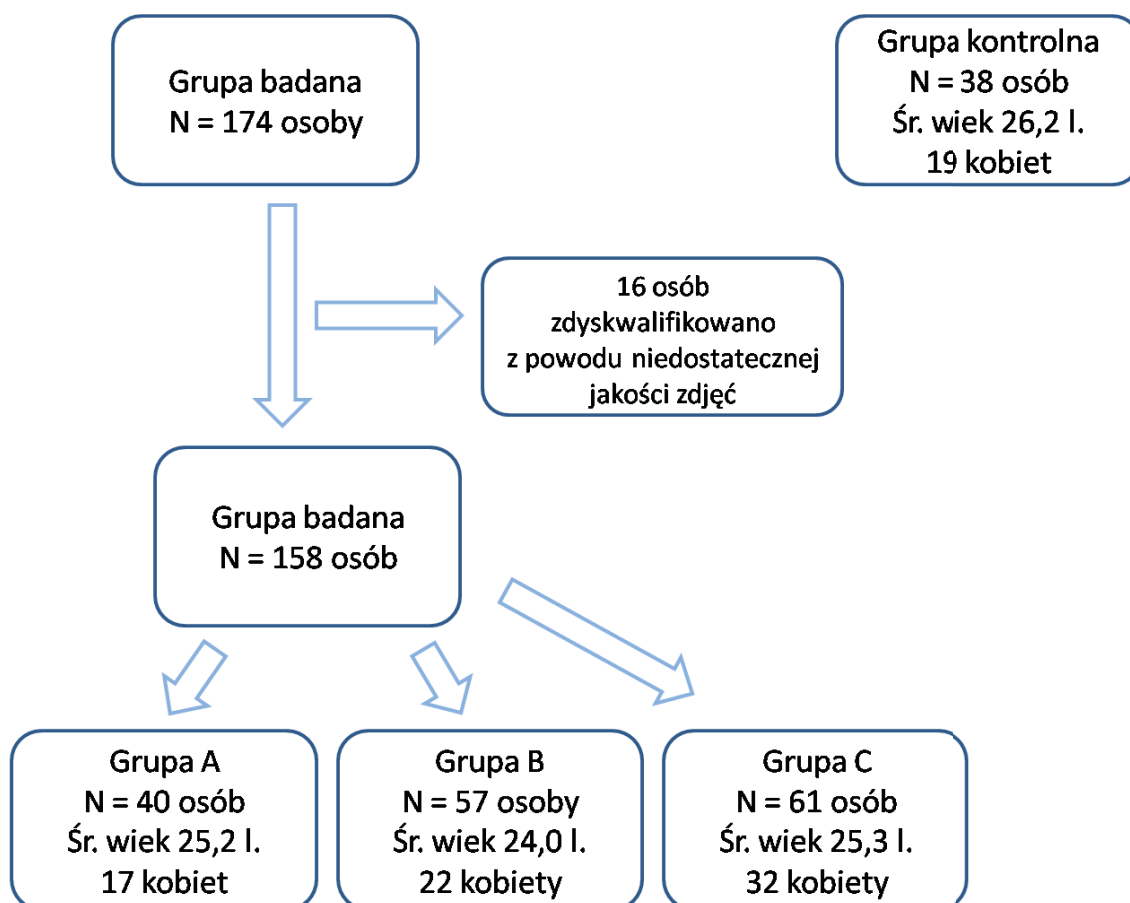
III. CHARAKTERYSTYKA BADANEJ GRUPY

Protokół niniejszego badania został zatwierdzony przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKBBN/420/2012).

Do badania zakwalifikowano 174 pacjentów z cukrzycą typu 1. Uczestnicy byli rekrutowani spośród pacjentów hospitalizowanych w Klinice Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku oraz osób będących pod opieką Regionalnego Centrum Diabetologii. Wszystkie osoby objęte badaniem po uzyskaniu wyczerpującej informacji odnośnie istoty badania, zastosowanych metod badawczych, a także sposobu gromadzenia danych wyraziły pisemną świadomą zgodę na udział w badaniu. Do grupy kontrolnej włączono 38 osób zbliżonych pod kątem płci i wieku, bez rozpoznanej uprzednio cukrzycy. Z analizy wyłączono 16 osób (9,2%) z powodu niedostatecznej jakości zdjęć uzyskanych podczas badania. Pacjentów z cukrzycą typu 1 podzielono na trzy grupy w zależności od czasu trwania cukrzycy:

- Grupa A – czas trwania cukrzycy do 1 roku (cukrzyca *de novo*) ,
- Grupa B – czas trwania cukrzycy >1 roku, ale ≤10 lat
- Grupa C – czas trwania cukrzycy >10 lat.

Do grupy A zakwalifikowano 40 osób (17 kobiet; 43%), średni wiek $25,2 \pm 5,1$ lat, do grupy B: 57 osób (22 kobiety; 39%), średni wiek $24,0 \pm 4,9$ lat, a do grupy C: 61 pacjentów (32 kobiety; 53%), średni wiek $25,3 \pm 5,0$ lat. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 38 osób (19 kobiet; 50%), u których nie stwierdzono cukrzycy, średni wiek $24,8 \pm 3,6$. Schemat rekrutacji uczestników badania przedstawiono na rycinie 2.



Rycina 2. Schemat podziału pacjentów na grupy badane.

W grupie A 7 osób paliło papierosy (17,5%;), a w grupie B 3 osoby (5,3%), natomiast ani jedna osoba w grupie C. Badanie przeprowadzono w czasie przynajmniej 72 godzin od wypalenia przez uczestnika ostatniego papierosa. Choć u żadnej z badanych osób nie stwierdzono nadciśnienia tętniczego, 2 osoby w grupie B (3,5%) i 3 w grupie C (4,9%) przyjmowały w małej dawce inhibitor konwertazy angiotensyny (enalapril 5mg lub ramipril w dawce 2,5mg lub 5 mg) jako lek nefroprotekcyjny. W grupie kontrolnej żadna z osób nie była aktywnym palaczem tytoniu i nie przyjmowała leków hipotensyjnych.

IV. PROTOKÓŁ BADANIA

Do badania włączono pacjentów z cukrzycą typu 1 przebywających w Klinice Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii lub będących pod opieką Regionalnego Centrum Diabetologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku. Pacjentów z cukrzycą *de novo* kwalifikowano na podstawie obniżonego poziomu peptydu C lub obecności przeciwciał charakterystycznych dla cukrzycy typu 1 (przeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego, przeciwciała przeciwwyspowe lub przeciwciała przeciwinsulinowe), pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy stanowiły osoby leczone w Regionalnym Centrum Diabetologii z postawionym w przeszłości rozpoznaniem cukrzycy typu 1.

Protokół badania wykluczał włączenie do badania osób:

- Z innym typem cukrzycy
- Ze stwierdzoną chorobą sercowo-naczyniową

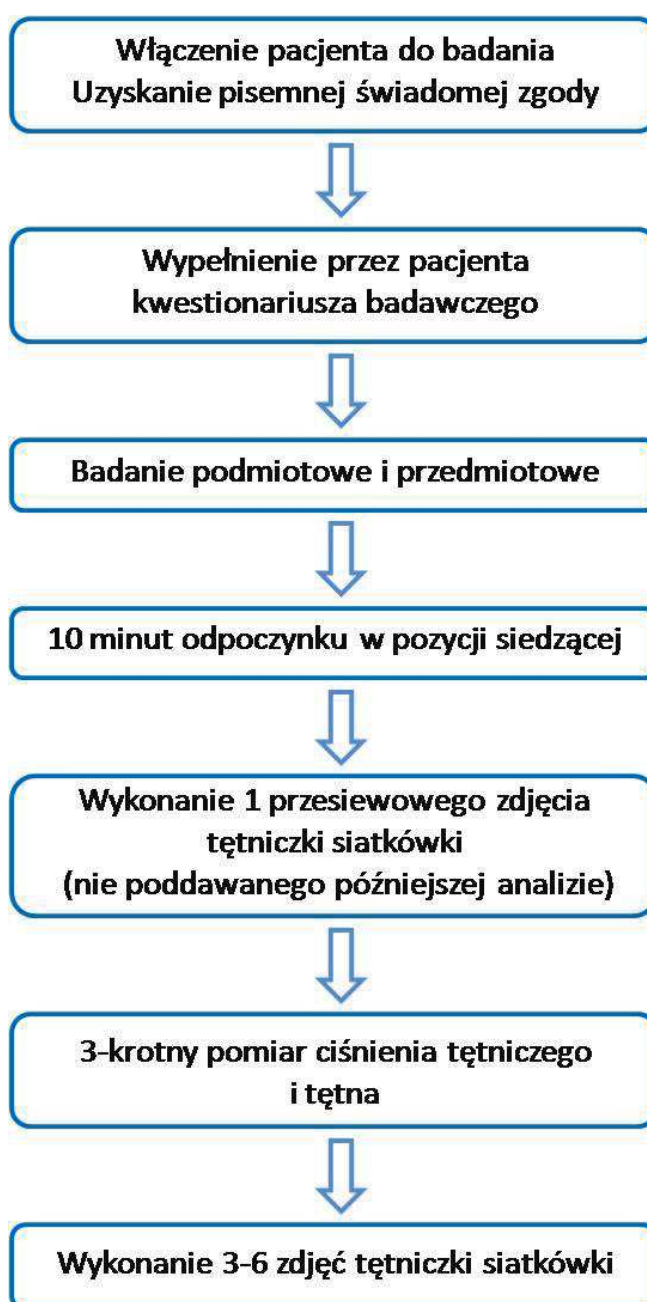
W protokole badawczym przewidziano następujące procedury:

- Badanie podmiotowe i przedmiotowe z uwzględnieniem pomiarów antropometrycznych
- Wypełnienie przez pacjenta kwestionariusza badawczego
- Ocena ciśnienia tętniczego i pulsu w gabinecie lekarskim
- Badanie SLDF przy użyciu aparatu *Hidelberg Retina Flowmeter*

Badanie dna oka prawego przeprowadzano w godzinach porannych pomiędzy godziną 8:00 a 12:00, po 10 minutowym odpoczynku w pozycji siedzącej, w pomieszczeniu o temperaturze powietrza 20-22 °C ²¹. U każdej osoby wykonano 1 próbne zdjęcie siatkówki celem prezentacji przebiegu badania i eliminacji czynnika stresowego. Zdjęcie próbne nie było poddawane późniejszej analizie. Następnie wykonywano 3-krotny pomiar skurczowego ciśnienia tętniczego (ang. *SBP systolic blood pressure*), rozkurczowego ciśnienia tętniczego (ang. *DBP diastolic blood pressure*) oraz tętna (ang. *HR heart pulse rate*). Pomiarów przeprowadzano na tętnicy ramiennej przy użyciu aparatu Omron M6 w odstępach

3-minutowych. W badaniu fizykalnym nie stwierdzono występowania arytmii. Wszystkie pomiary ciśnienia tętniczego mierzono zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego ²². Następnie wykonywano 3-6 zdjęć dna oka wybierając odcinek tętniczki skroniowej o prostym przebiegu, niestykający się z naczyniem żylnym, leżący w odległości ok. 2 mm od tarczy nerwu wzrokowego.

Schemat przebiegu badania przedstawiono na rycinie 3.



Rycina 3. Schemat badania.

V. METODY BADAWCZE WYKORZYSTANE W PRACY

5.1. Kwestionariusz badawczy

Przed wykonywaniem pomiarów pacjent otrzymywał do wypełnienia kwestionariusz badawczy. W kwestionariuszu przeznaczonym dla pacjentów z cukrzycą *de novo* (załącznik 1) pytania dotyczyły czasu trwania cukrzycy, występowania objawów typowych dla hiperglikemii (poliuria, polidypsja, pogorszenie ostrości widzenia), a także występowania ostrych powikłań pod postacią hipoglikemii lub kwasicy ketonowej. Ponadto kwestionariusz obejmował pytania dot. obecności innych chorób autoimmunologicznych oraz czy cukrzyca typu 1 lub inna choroba autoimmunologiczna występowała w rodzinie. Pacjenci z wieloletnią cukrzycą (załącznik 2) odpowiadali na pytania dotyczące czasu trwania cukrzycy, występowania ostrych oraz przewlekłych powikłań cukrzycy (nefropatii, neuropatii i retinopatii), jak również występowania w rodzinie pacjenta cukrzycy typu 1 lub innych chorób autoimmunologicznych.

5.2. Pomiar ciśnienia tętniczego i tętna

Do pomiaru ciśnienia tętniczego metodą oscylometryczną wybrano aparat OMRON M6, który spełnia kryteria walidacyjne Brytyjskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego²³. Jest to ciśnieniomierz oscylometryczny produkcji japońskiej, mierzący ciśnienie tętnicze w zakresie 0-299 mmHg oraz częstość tętna 40-180/min.²⁴.

Metoda oscylometryczna jest jedną z najprostszych i najczęściej stosowanych metod nieinwazyjnego pomiaru ciśnienia tętniczego. Metoda określa zmiany ciśnienia w mankiecie założonym na ramię pacjenta, powstające w skutek rozchodzenia się fali tętna. Przy pomocy wyżej wymienionej metody określa się SBP i DBP. Wyniki pomiaru ciśnienia tętniczego i tętna były uśredniane z 3 wykonanych pomiarów.

Średnie ciśnienie tętnicze (ang. MAP *mean arterial pressure*) wyliczano na podstawie równania:

$$MAP = \frac{(SBP - DBP)}{3} + DBP$$

Ciśnienie tętna (ang. PP *pulse pressure*) obliczano na podstawie równania:

$$PP = SBP - DBP$$

5.3. Heidelberg Retina Flowmeter

Wprowadzenie aparatu *Heidelberg Retina Flowmeter* (skr. HRF) umożliwiło rozbudowanie metody LDF o ocenę morfologii tętniczek siatkówki. Używa się do tego celu współczynnika grubości ściany naczynia do średnicy jego światła (ang. WLR *wall-to-lumen ratio*). Do oceny powyższych parametrów stosowane jest odbicie światła poprzez elementy morfotyczne przepływającej krwi z zastosowaniem efektu Dopplera. Technicznie, podczas rejestracji najczęściej wykorzystuje się falę o długość 670 nm, jednakże standard metody dopuszcza także inne długości fali (np. 780 nm)¹². W trakcie badania możliwa jest ocena naczyń dowolnego obszaru siatkówki, niemniej zwykle analizuje się obszar w odległości 2-3 mm od tarczy nerwu wzrokowego, najczęściej górną tętnicę skroniową oka prawego. W rzadkich przypadkach anomalii anatomicznych alternatywnie można ocenić mikrokążenie w innym obszarze. W czasie 2 sekund aparat wykonuje 63 zdjęcia tkanki o objętości 2560 μm x 640 μm x 300 μm , a następnie uśrednia obraz do dwuwymiarowej przestrzeni na głębokości 300 μm . Rozdzielczość obrazu stanowi kwadrat o boku 10 μm odpowiadający wartości 1 piksela^{14,15,25}. Następnie przeprowadza się analizę pełnych pól obrazów perfuzji przy użyciu programu komputerowego AFFPIA (ang. *Automatic Full Field Analysis of Perfusion Images*). Program znajduje i kasuje piksele, które zostały nieprawidłowo naświetlone – zbyt ciemne lub prześwieczone oraz umożliwia zaznaczenie linii powstałych w trakcie ruchów gałek ocznych podczas badania tzw. sakkad²⁶. Opisywana metoda stwarza możliwości oceny wielu parametrów. Poczynając od danych dotyczących przepływu (prędkość przepływu oraz objętość przepływającej krwi) po ocenę budowy tętniczki lub gęstości utkanka naczyń krwionośnych. Wyjątkowo wiarygodnym i powtarzalnym parametrem o potencjale klinicznym, który oceniany jest przy użyciu SLDF jest stosunek grubości ściany naczynia do jego światła (WLR). Ze względu na ogromne zróżnicowanie średnicy naczyń krążenia siatkówkowego, niemożliwe jest porównywanie bezwzględnych wartości średnicy naczynia lub grubości jego ściany pomiędzy różnymi pacjentami. Dzięki zastosowaniu WLR możliwa staje się ocena tak istotnych

parametrów jak grubość ściany naczynia i średnica jego światła w różnych grupach badanych i wzajemne porównywanie tych wartości, niezależnie od odległości miejsca pomiaru od tarczy nerwu wzrokowego, a co za tym idzie bezwzględnej średnicy naczynia ^{12,14,15,27}. Jednym z najnowszych parametrów jakie można oceniać przy zastosowaniu HRF jest odległość międzykapilarna (skr. ICD *intercapillary distance*) określająca średnią odległość punktu na dnie oka od najbliższej leżącego od niego naczynia. Dzięki temu możliwa jest ocena gęstości utkania naczyń krwionośnych w mikrokrażeniu i oporu naczyniowego ²⁸.

W trakcie badań pomiary wykonywano w zacienionym pomieszczeniu celem większego, fizjologicznego rozszerzenia źrenicy, nie stosowano sztucznego rozszerzenia źrenicy przy użyciu substancji aktywnych.

Wszystkie zdjęcia zostały sprawdzone przez badacza z wieloletnim doświadczeniem w wykonywaniu pomiarów SLDF (JMH), zdjęcia o nieakceptowalnej jakości zostały wyłączone z analizy (n=70, 8,3%). W związku z obecnością zaćmy lub niemożnością utrzymania gałki ocznej w bezruchu, co uniemożliwiało wykonanie zdjęcia o odpowiedniej jakości z badania wyłączono ostatecznie 16 osób (9,2%). Parametry takie jak siatkówkowy przepływ kapilarny (ang. *retinal capillary flow*; RCF), średnica światła (ang. *lumen diameter*; LD), zewnętrzna średnica naczynia (ang. *outervessel diameter*; VD) zostały zmierzone podczas badania, natomiast WLR został wyliczony według równania:

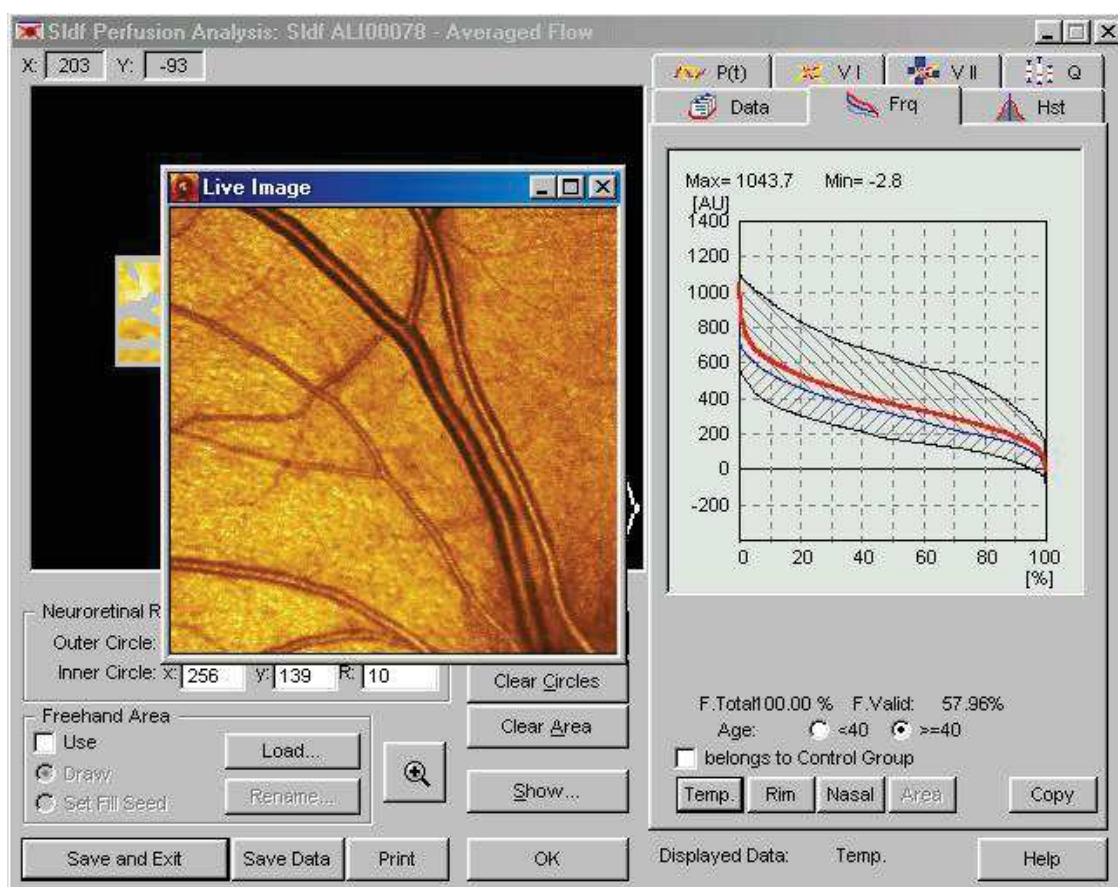
$$WLR = \frac{(VD - LD)}{LD}$$

Siatkówkowy opór naczyniowy (ang. *retinal vascular resistance*; RVR) wyliczano jako iloraz średniego ciśnienia tętniczego i przepływu siatkówkowego według równania:

$$RVR = \frac{MAP}{RCF}$$

Parametry z wszystkich pomiarów u każdego uczestnika zostały następnie uśrednione do 1 wartości. Na rycinie 4 przedstawiono przykładowy pomiar RCF przy użyciu HRF.

Nie analizowano różnic w wartościach parametrów takich jak VD, LD czy pole przekroju poprzecznego, ponieważ są to bezwzględne wartości uzyskiwane w trakcie badania i w związku z możliwie różną odległością miejsca pomiaru od tarczy nerwu wzrokowego mogą nie być one powtarzalne pomiędzy grupami.



Rycina 4. Przykładowe badanie przepływu siatkówkowego przy użyciu aparatu HRF (*Heidelberg Retina Flowmeter*).

5.4. Analiza statystyczna

Dane surowe zgromadzono w arkuszu kalkulacyjnym MS Excel (Microsoft; licencja GUMed). W analizie danych wykorzystano pakiet statystyczny Statistica v. 10 (Statsoft PL; licencja GUMed). Hipotezę o rozkładzie normalnym sprawdzano w oparciu o test Shapiro-Wilka. W zależności od spełnienia wymaganych założeń testowania hipotez (bądź jego braku), zastosowano testy parametryczne i nieparametryczne (jednoczynnikowa ANOVA, ANOVA Kruskala-Wallisa). Ponadto, celem opisanie współzależności pomiędzy zmiennymi ciągłymi obliczono współczynniki korelacji (Pearson'a i rang Spearman'a). W analizie wieloczynnikowej przeprowadzono regresję wieloraką modelując zmienne określające kluczowe parametry siatkówki (WLR, RCF). Porównania licznosci w tabelach wielodzielczych wykonano z zastosowaniem testu Chi-kwadrat. Za istotne uznano wyniki przy poziomie wnioskowania statystycznego $< 0,05$.

VI. WYNIKI

6.1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy

Na podstawie przeprowadzonego badania podmiotowego i przedmiotowego, a także dostępnej dokumentacji i wyników laboratoryjnych do badania zakwalifikowano 174 pacjentów chorych na cukrzycę typu 1. Z grupy tej, wyłączono 16 osób, z powodu niewystarczającej jakości uzyskanych zdjęć siatkówki (1 osoba z cukrzycą *de novo*, 6 osób z pośrednim czasem trwania choroby i 9 osób z przynajmniej 10-letnim czasem trwania cukrzycy).

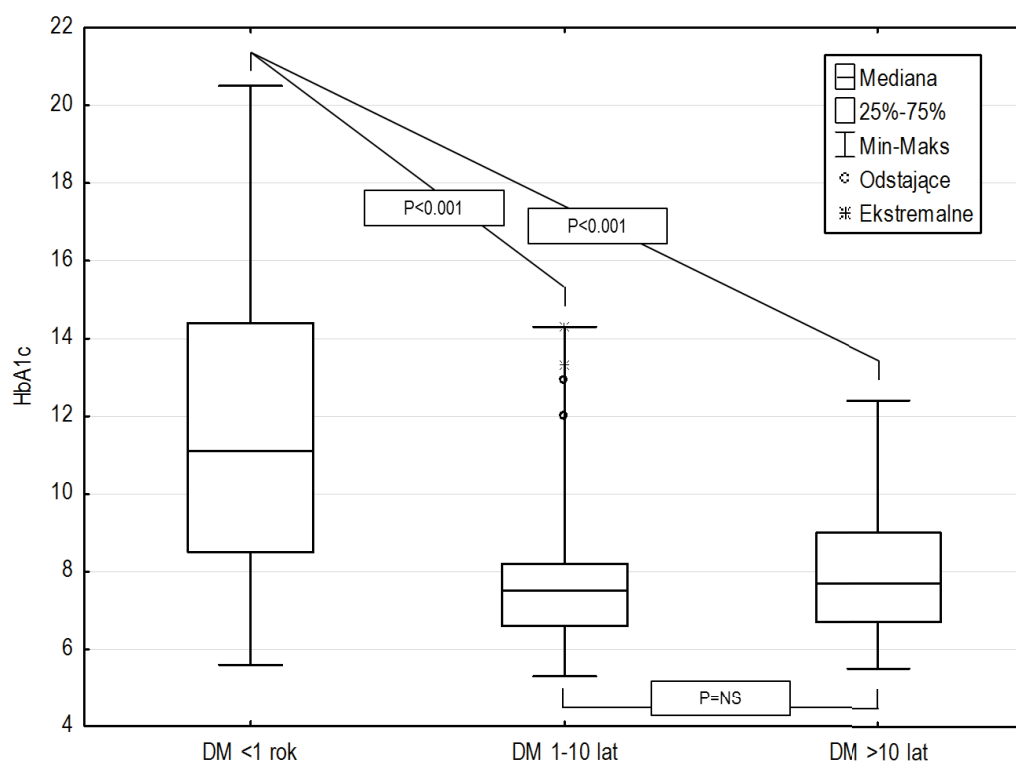
Pomiędzy grupami pacjentów i grupą kontrolną nie stwierdzono istotnych różnic wieku lub BMI.

Wartości HbA1C były istotnie wyższe u pacjentów z cukrzycą *de novo* natomiast w grupie B i C były one porównywalne względem siebie (rycina 5).

Tabela 1. Porównanie wybranych parametrów klinicznych w badanych grupach. Test ANOVA jednoczynnikowa.

	Grupa kontrolna	Grupa A	Grupa B	Grupa C
	Średnia ± Odch. standardowe			
Czas trwania DM (lata)	-	0,0 ± 0,0	5,4 ± 2,7*	15,6 ± 4,3*^
Wiek (lata)	24,75 ± 3,6	25,20 ± 5,1	24,00 ± 4,9	25,26 ± 5,0
BMI (kg/m ²)	23.9 ±4.1	21.5 ±2.7	22.8 ± 4.1	23.5 ± 3.5
Palenie papierosów n (%)	0 (0)	7 (17,5)	3 (5,3)	0 (0)

Grupa A – czas trwania cukrzycy < 1 rok; Grupa B – czas trwania cukrzycy 1-10 lat; Grupa C - czas trwania cukrzycy > 10 lat; DM – cukrzyca (ang. *diabetes mellitus*); BMI (ang. *body mass index*) – indeks masy ciała; *p < 0,001 vs grupa A; ^p < 0,001 vs grupa B (testy post-hoc Tukeya). Bezpośrednie porównanie średnich wartości BMI testem t-Studenta dla par niepowiązanych pomiędzy grupami C i A wykazało różnicę (P=0,01).



Rycina 5. Porównanie wartości HbA1c pomiędzy badanymi grupami chorych z cukrzycą typu 1.
Test Kruskala-Wallisa; $P < 0.001$.

6.2. Wyniki badania ankietowego

Ankiety wypełniło 29 na 40 osób wśród pacjentów z cukrzycą trwającą < roku, 52 na 57 w pośród pacjentów ze średnim czasem trwania cukrzycy i 56 na 61 w grupie osób z cukrzycą trwającą > 10 lat (odpowiednio 72,5%, 91,2% i 91,8%). W zależności od czasu trwania cukrzycy odnotowano różnice w proporcji pacjentów u których wystąpiła w przeszłości kwasica ketonowa – w grupie pacjentów z cukrzycą *de novo* było to 6 osób na 29 (20,7%), natomiast w kolejnych grupach 21 na 52 i 27 na 56 chorych (odpowiednio 40,3% i 48,2%). U znacznej większości pacjentów z dłuższym niż rok czasem trwania cukrzycy występowały w wywiadzie epizody hipoglikemii. Zarówno w grupie pacjentów z czasem trwania do 10 lat jak i dłużej trwającej choroby, odsetek wyniósł odpowiednio 94% i 93%. Natomiast wśród pacjentów z krótkim czasem trwania choroby wystąpienie hipoglikemii deklarowała niemal połowa osób (48,3%). Pośród pacjentów z dłużej trwającą cukrzycą występowały także częściej inne choroby autoimmunologiczne (najczęściej autoimmunologiczne zapalenie tarczycy). W grupie pacjentów z cukrzycą *de novo* było to 13,8%, wśród osób z cukrzycą trwającą 1-10 lat - 21,2%, natomiast w grupie osób z >10 letnim wywiadem cukrzycowym - 30,4%. Wśród osób w kolejnych grupach w zależności od czasu trwania cukrzycy stwierdzano wyższy odsetek pacjentów z rodzinnym występowaniem cukrzycy typu 1 i innych chorób autoimmunologicznych. Jedynie pacjenci w grupie najdłuższego wywiadu cukrzycowego podawali niższy odsetek członków rodziny z chorobami autoimmunologicznym w porównaniu do pacjentów ze średnim czasem trwania cukrzycy (19,2% pacjentów z wywiadem rodzinnym w kierunku występowania chorób autoimmunologicznych w porównaniu do 14,3% pacjentów z przynajmniej 11-letnim wywiadem cukrzycy). Omawiane dane szczegółowe przedstawiono w tabeli nr 2.

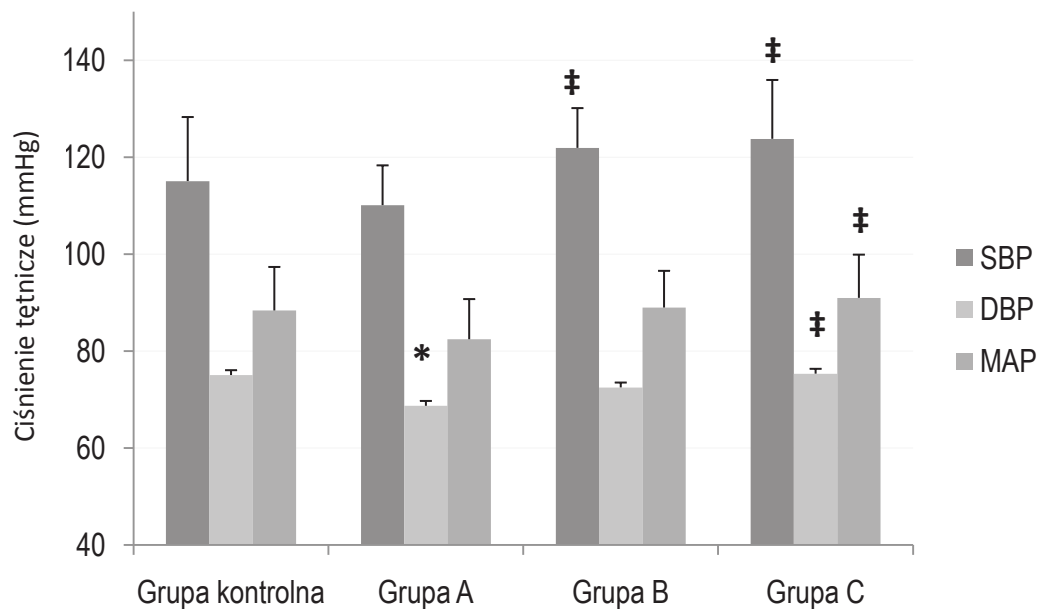
Tabela 2. Podsumowanie odpowiedzi na pytania zawarte w ankiecie dedykowanej pacjentom z cukrzycą typu 1.

PYTANIE ANKIETOWE	GRUPA A	GRUPA B	GRUPA C
Kwasica ketonowa w wywiadzie	6 / 29 osób (20,7%)	21 / 52 osoby (40,3%)	27 / 56 osób (48,2%) *
Hipoglikemia w wywiadzie	14 / 29 osób (48,3%)	49 / 52 osoby (94,2%)	52 / 56 osób (92,9%) *
Inna choroba autoimmunologiczna u pacjenta	4 / 29 osób (13,8%)	11 / 52 osoby (21,2%)	17 / 56 osób (30,4%)
Cukrzyca typu 1 w rodzinie pacjenta	1 / 29 osób (3,4%)	7 / 52 osoby (13,5%)	10 / 56 osób (17,9%)
Inna choroba autoimmunologiczna w rodzinie pacjenta	4 / 29 osób (13,8%)	10 / 52 osoby (19,2%)	8 / 56 osób (14,3%)

Grupa A – czas trwania cukrzycy < 1 rok; Grupa B – czas trwania cukrzycy 1-10 lat; Grupa C czas trwania cukrzycy > 10lat. * $p < 0.05$, test Chi-kwadrat

6.3. Ocena parametrów pomiaru ciśnienia tętniczego i tętna

Przed wykonaniem zdjęć naczyń siatkówki u wszystkich uczestników badania przeprowadzono trzykrotny pomiar ciśnienia tętniczego i tętna wg kryteriów opisanych w protokole. Na rycinie 6 przedstawiono szczegółowe różnice w zakresie skurczowego, rozkurczowego i średniego ciśnienia tętniczego krwi odnotowane pomiędzy grupami. Pacjenci z najdłuższym wywiadem cechowali się najwyższym ciśnieniem skurczowym w całej grupie chorych na cukrzycę.



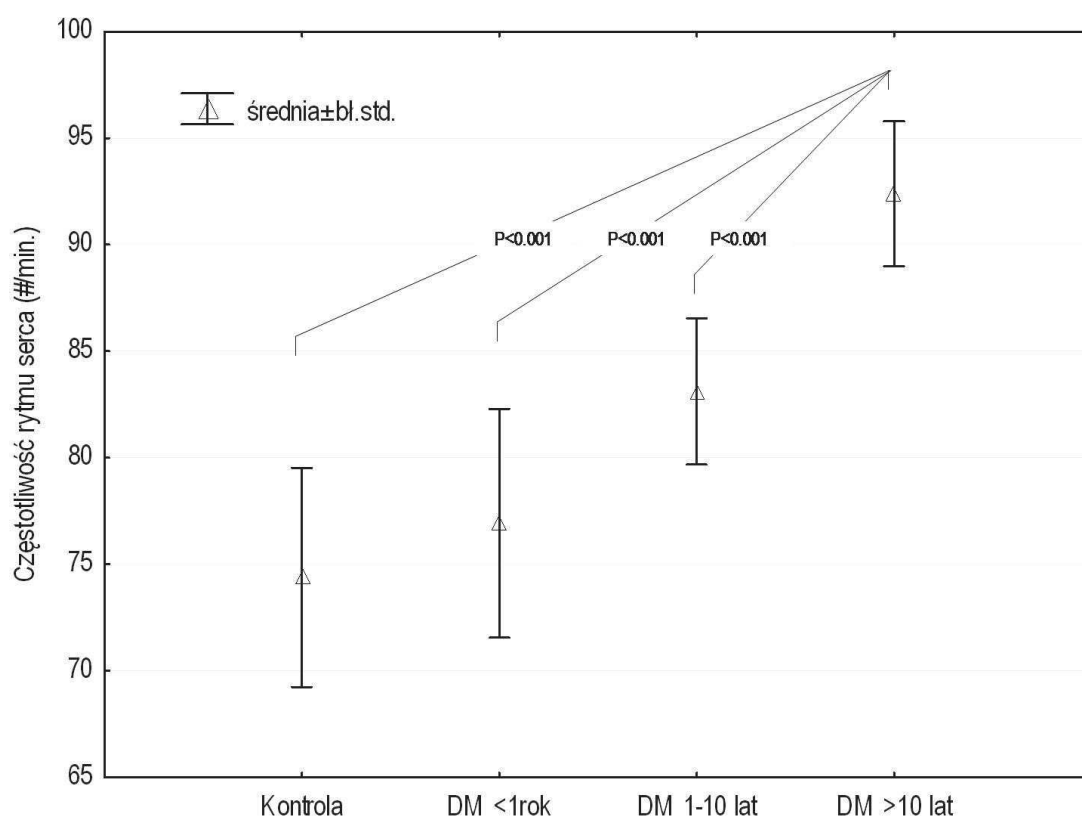
Rycina 6. Wyniki skurczowego, rozkurczowego i średniego ciśnienia tętniczego krwi w badanych grupach (wartości średnie z odchyleniem standardowym).

Grupa A – czas trwania cukrzycy < 1 rok; Grupa B – czas trwania cukrzycy 1-10 lat; Grupa C czas trwania cukrzycy > 10 lat; SBP (ang. *systolic blood pressure*) – skurczowe ciśnienie krwi; DBP (ang. *diastolic blood pressure*) – rozkurczowe ciśnienie krwi;

* $p < 0,05$ vs grupa kontrolna;

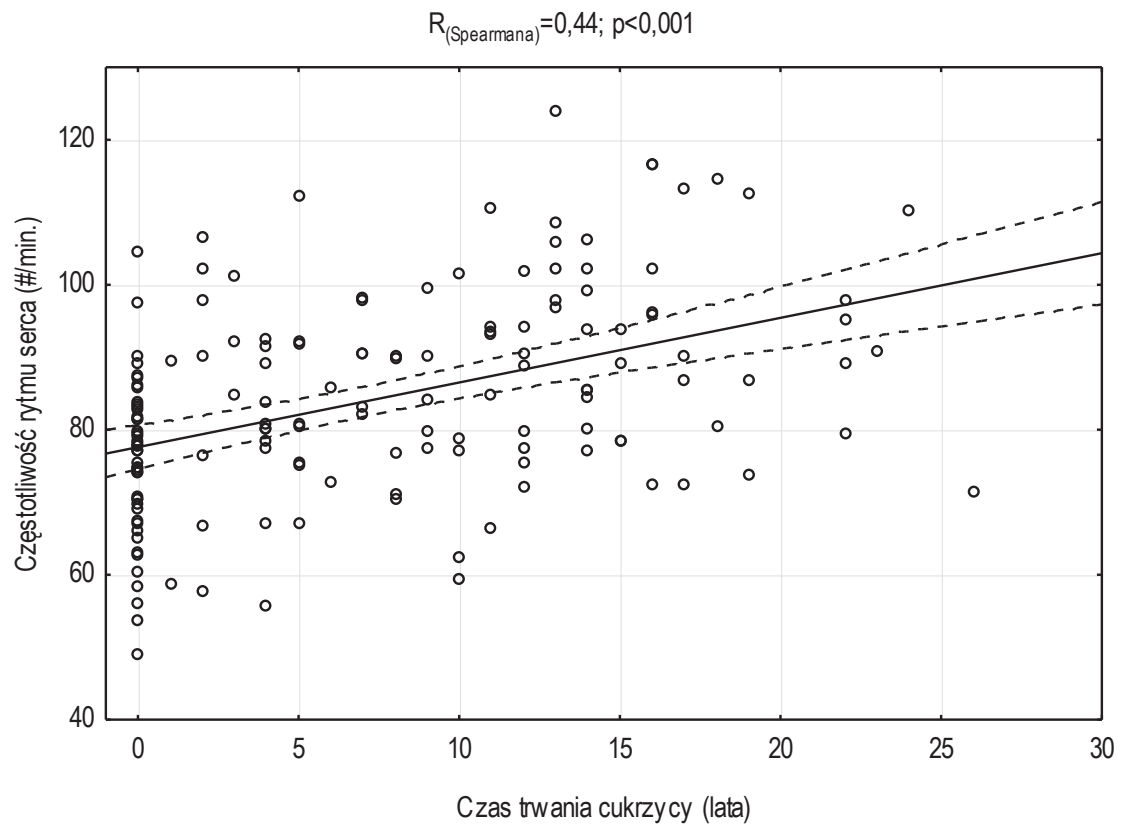
‡ $p < 0,05$ vs grupa A.

Częstotliwość rytmu serca była najwyższa w grupie pacjentów z najdłuższym wywiadem cukrzycy (ryc. 7). W grupie pacjentów z cukrzycą częstotliwość rytmu serca uwarunkowana była czasem trwania choroby (ryc. 8). Wszystkie dane numeryczne zmiennych hemodynamicznych przedstawiono w tabeli 3. Analiza zmiennej HR względem wyrównania metabolicznego cukrzycy (HbA1c) nie wykazała istotnych zależności, zarówno w całej grupie chorych na cukrzycę, jak i w poszczególnych podgrupach.



Rycina 7. Porównanie wartości częstotliwości rytmu serca pomiędzy badanymi grupami w teście jednoczynnikowa ANOVA $p < 0,001$ dla modelu.

Wartości p testów post hoc (Tukey) $< 0,05$ zaznaczono na rycinie.



Rycina 8. Rozrzut wartości częstotliwości rytmu serca względem czasu trwania cukrzycy.

Wartość zero na osi odciętych oznacza cukrzycę trwającą <1 roku.

Tabela 3. Porównanie zmiennych hemodynamicznych pomiędzy grupami. Test ANOVA jednoczynnikowa.

	Grupa kontrolna	Grupa A	Grupa B	Grupa C
	Średnia ± Odch. standardowe			
SBP (mmHg)	115,0 ±13,2	110,1 ±12,1	121,9±9,7 ^	123,8 ±15,7‡
DBP (mmHg)	75,0 ±8,2	68,7 ±7,7*	72,5±7,7	75,3 ±8,4‡
MAP (mmHg)	88,4 ±9,0	82,4 ±8,3	88,8± 7,4	91,3 ± 9,1‡
PP (mmHg)	40,0 ±10,1	41,4 ±9,4	49,4 ±8,3*	48,4 ±14,5*
HR (bpm)	74,4±12,8	76,9±9,2	83,1±12,9	92,4 ±13,7*‡†

Grupa A – czas trwania cukrzycy < 1 rok; Grupa B – czas trwania cukrzycy 1-10 lat; Grupa C czas trwania cukrzycy > 10 lat; SBP (ang. *systolic blood pressure*) – skurczowe ciśnienie krwi; DBP (ang. *diastolic blood pressure*) – rozkurczowe ciśnienie krwi; MAP (ang. *mean arterial pressure*) – średnie ciśnienie tętnicze; PP (ang. *pulse pressure*) – ciśnienie tętna; HR (ang. *heart rate*) – częstość akcji serca; bpm (ang. *beats per minute*) – liczba uderzeń serca na minutę;

* p <0,05 vs grupa kontrolna;

^ p <0,05 grupa B vs grupa A;

‡ p <0,05 grupa C vs grupa A;

† p < 0,05 grupa C vs grupa B.

6.4. Ocena parametrów naczyniowych w badaniu SLDF

6.4.1. Charakterystyka zmiennych pomocniczych uzyskanych w badaniu SLDF

W tabeli 4 przedstawiono wyniki zmiennych pomocniczych uzyskanych w trakcie badania SLDF, które wykorzystywane są w algorytmach obliczeniowych oceny hemodynamiki i morfologii naczyń siatkówki. Zmienne te nie podlegają odrębnej interpretacji klinicznej.

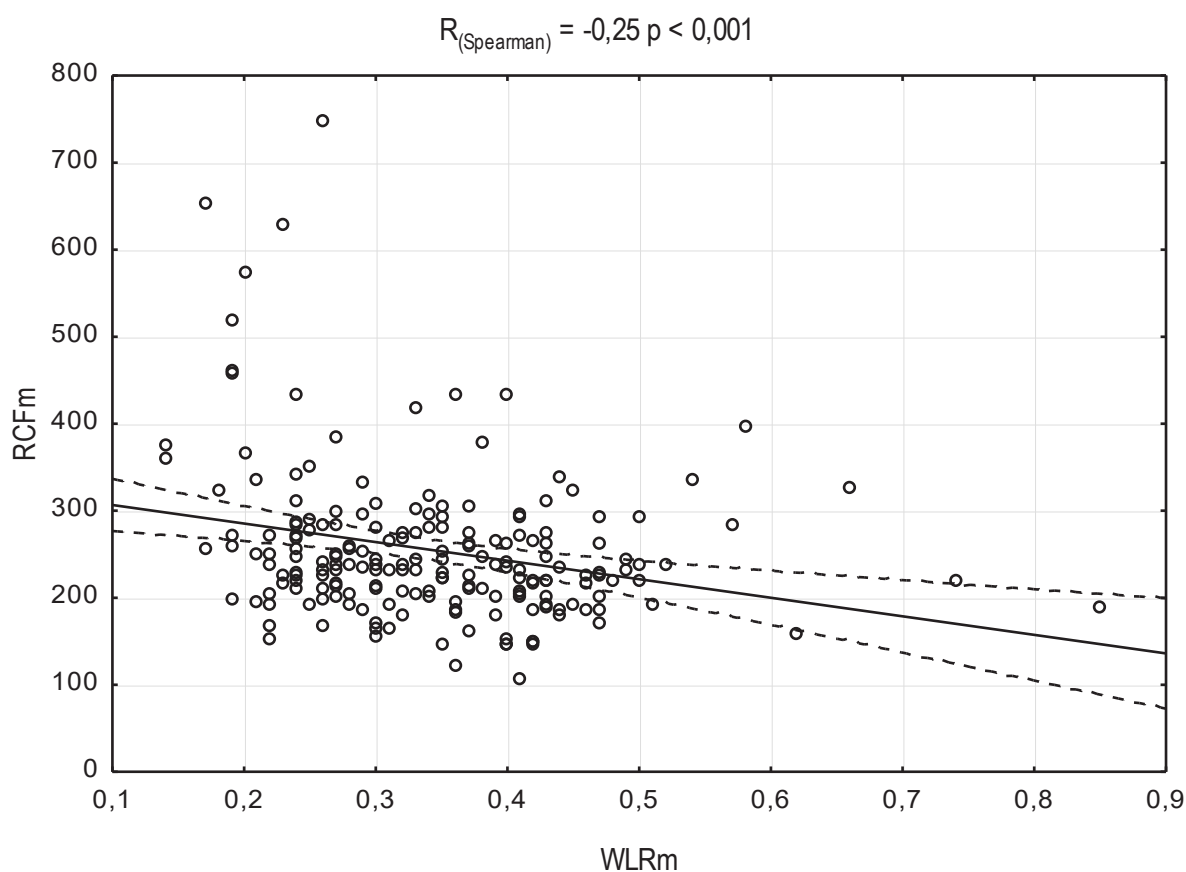
Tabela 4. Porównanie parametrów pomocniczych oceny naczyń i przepływu siatkówkowego w badaniu SLDF. Test jednoczynnikowa ANOVA.

	Grupa kontrolna	Grupa A	Grupa B	Grupa C
	Średnia ± Odch. standardowe			
VD (μm)	111,7 ±13,3	112,6 ±14,1	109,9 ±15,2	113,4 ± 13,6
LD (μm)	84,5 ±9,3	86,9 ±9,1	84,4 ±11,7	80,8 ± 10,0
WT (μm)	13,7 ±4,5	13,0 ± 4,9	12,8 ±3,3	16,3 ±4,0*^‡
WCSA (μm ²)	4273±1740	4122±1948	3958±1403	5036,2±1707‡

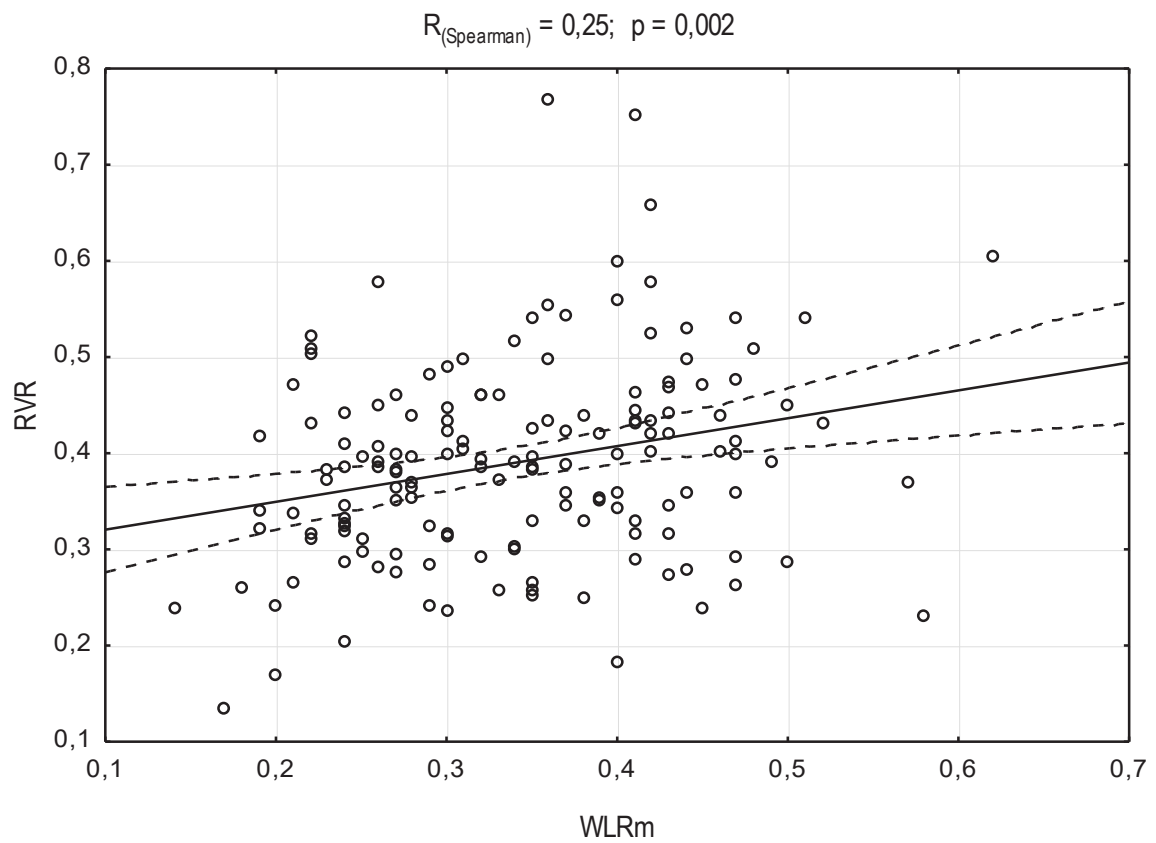
Grupa A – czas trwania cukrzycy < 1 rok; Grupa B – czas trwania cukrzycy 1-10 lat; Grupa C czas trwania cukrzycy > 10lat; VD (ang. *outer vessel diameter*) - zewnętrzna średnica naczynia; LD (ang. *lumen diameter*) - średnica światła; WT (ang. *wall thickness*) – grubość ściany; WCSA (ang. *wall cross section area*) – przekrój poprzeczny naczynia; * p< 0,05 vs gr. kontrolna; ^ p <0,05 grupa A vs grupa C; ‡ p< 0,05 grupa B vs grupa C.

6.4.2. Zależność pomiędzy morfologią naczyń siatkówki i siatkówkowym przepływem krwi

W badanej grupie pacjentów z cukrzycą, stwierdzono odwrotną zależność pomiędzy morfologią naczyń siatkówki i przepływem siatkówkowym (WLR vs RCF; Rycina 9) oraz zgodną zależność pomiędzy morfologią i oporem naczyń siatkówki (WLR vs RVR; Rycina 10).



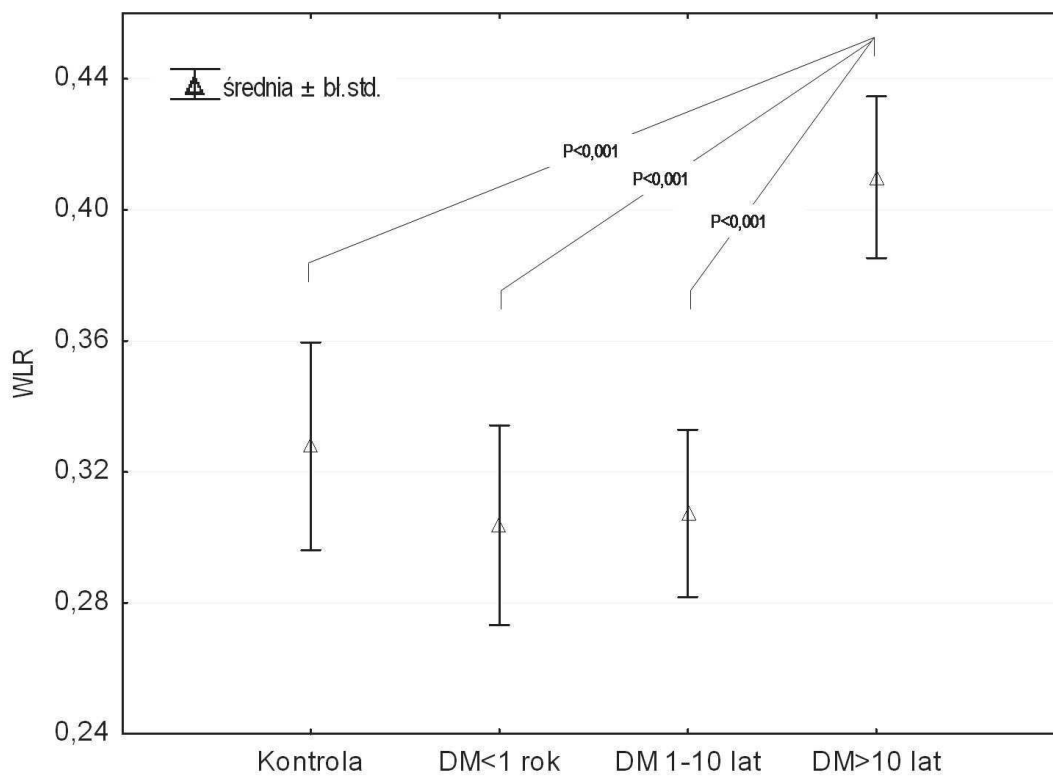
Rycina 9. Zależność pomiędzy przepływem siatkówkowym (RCF), a morfologią naczyń siatkówki opisanych wskaźnikiem grubości ściany naczynia do jego światła (WLR).



Rycina 10. Zależność pomiędzy oporem siatkówkowym (RVR), a morfologią naczyń siatkówki opisanych wskaźnikiem grubości ściany naczynia do jego światła (WLR).

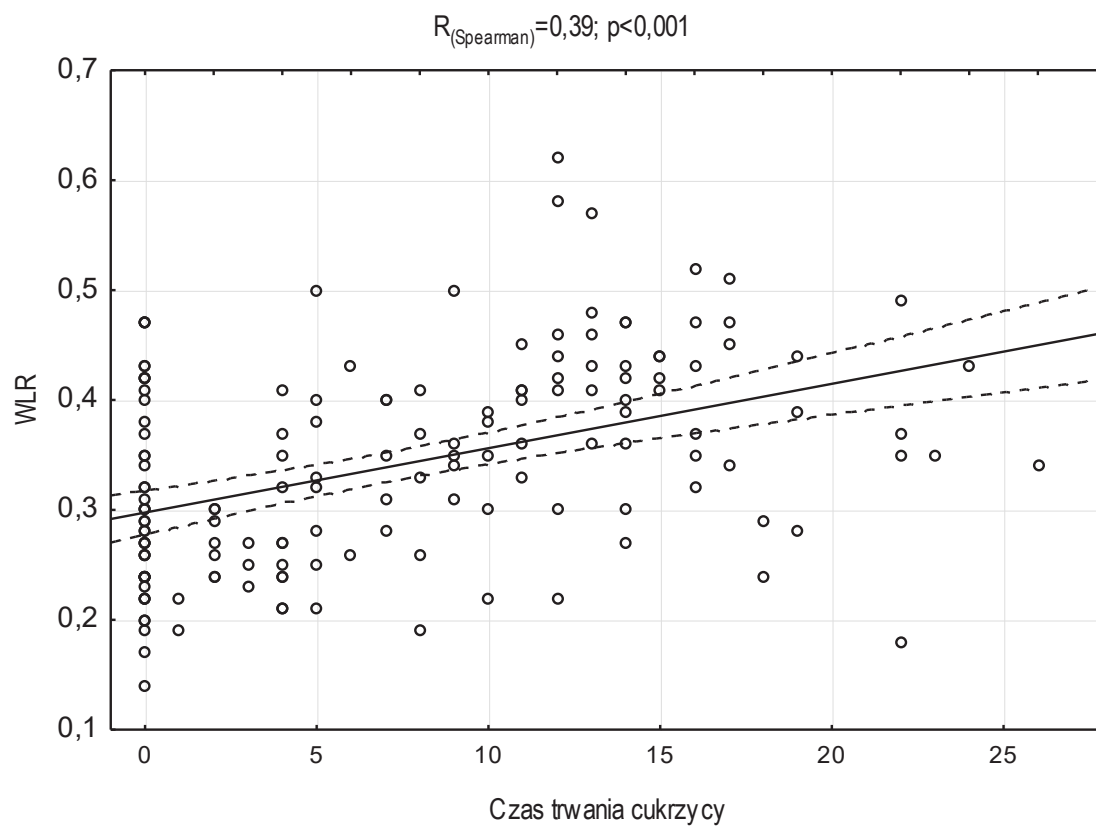
6.4.3. Ocena morfologii naczyń siatkówkowych wyrażonych parametrem WLR w badanych grupach

Parametr WLR był najwyższy u pacjentów z ponad 10-letnim wywiadem cukrzycy (Rycina 11; test ANOVA jednoczynnikowa; $P < 0,001$ dla modelu). Różnice pomiędzy pozostałymi grupami nie wykazywały istotności statystycznej.



Rycina 11. Wartości WLR w badanych grupach.

Wartości p testów post hoc (Tukey) $< 0,05$ zaznaczono na rycinie.



Rycina 12. Rozrzut wartości WLR względem czasu trwania cukrzycy.

Tabela 5. Regresja wieloraka. Zmienna objaśniana: WLR; $R^2_{\text{modelu}}=0,40$; $P<0,001$

	β	Bł.std. β	-95%PU	+95%PU	Wartość P
Wyraz wolny					0,04
Wiek	-0,05	0,13	-0,31	0,20	0,69
Płeć	0,04	0,15	-0,26	0,34	0,79
BMI	-0,14	0,13	-0,39	0,11	0,27
HbA1c	0,16	0,14	-0,14	0,45	0,29
SBP	0,00	0,14	-0,28	0,28	0,99
Palenie papierosów	-0,20	0,15	-0,50	0,10	0,18
Czas trwania cukrzycy t. 1	0,64	0,13	0,38	0,90	<0,001

β – współczynnik β , PU – przedział ufności; Bł. std. β – błąd standardowy β , BMI (ang. *body mass index*)

– indeks masy ciała; HbA1c – hemoglobina glikowana; SBP (ang. *systolic blood pressure*) – skurczowe ciśnienie krwi;

Wprowadzenie do modelu zmiennych określających rozkurczowe ciśnienie tętnicze, średnie ciśnienie tętnicze lub ciśnienie tętna w miejsce zmiennej opisującej skurczowe ciśnienie tętnicze nie zmienia sensu wyniku.

Tabela 6. Regresja wieloraka. Zmienna objaśniana: WLR (z wyłączeniem grupy pacjentów z T1DM <1 roku); $R^2=0,36$ $P=0,01$

	β	Bł.std. β	-95%PU	+95%PU	Wartość P
Wyraz wolny					0,66
Wiek	-0,05	0,17	-0,40	0,29	0,77
Płeć	0,14	0,22	-0,31	0,59	0,53
BMI	-0,18	0,19	-0,58	0,21	0,34
HbA1c	0,08	0,17	-0,26	0,42	0,64
SBP	0,12	0,20	-0,30	0,53	0,57
Palenie papierosów	-0,03	0,15	-0,34	0,29	0,85
Czas trwania cukrzycy t.1	0,66	0,15	0,35	0,97	<0,001

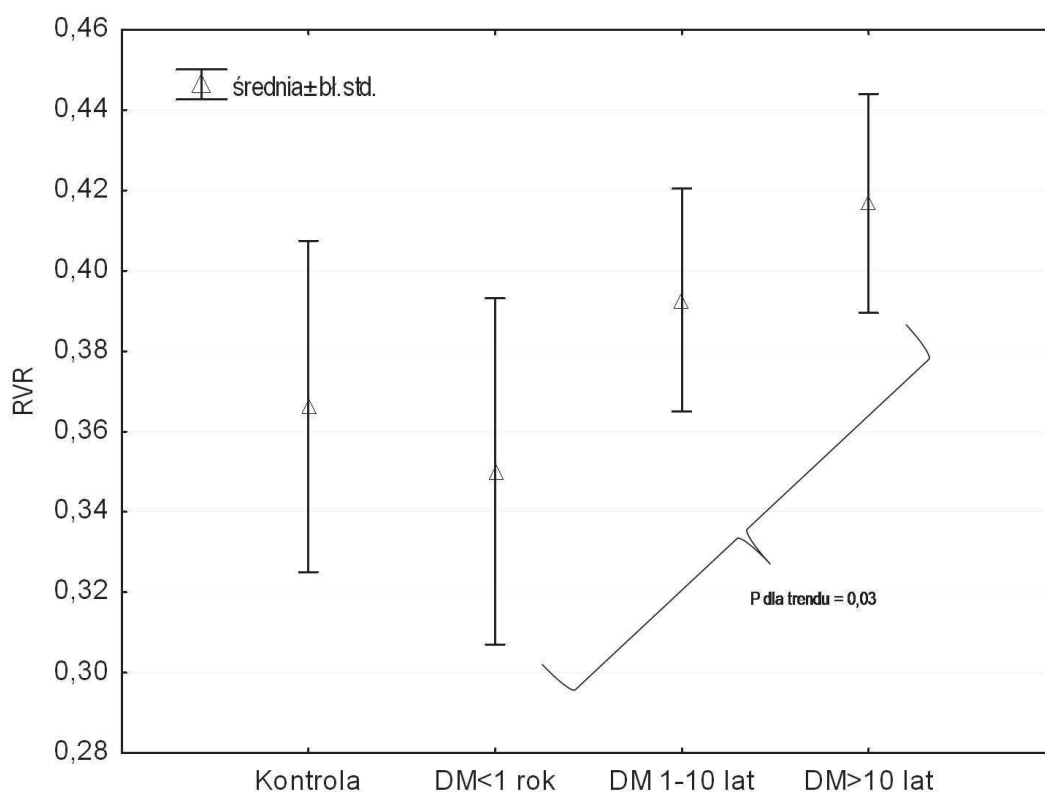
β – współczynnik β , PU – przedział ufności; Bł. std. β – błąd standardowy β , BMI (ang. *body mass index*)

– indeks masy ciała; HbA1c – hemoglobina glikowana; SBP (ang. *systolic blood pressure*) – skurczowe ciśnienie krwi;

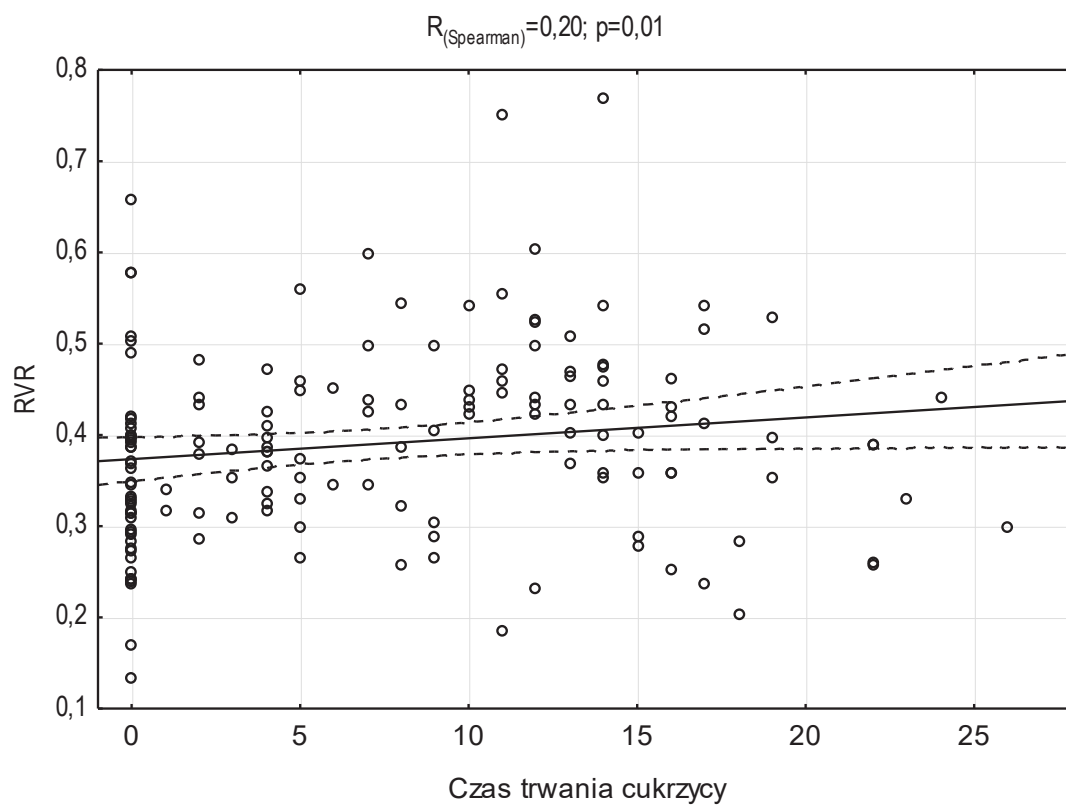
Wprowadzenie do modelu zmiennych określających rozkurczowe ciśnienie tętnicze, średnie ciśnienie tętnicze lub ciśnienie tętna w miejsce zmiennej opisującej skurczowe ciśnienie tętnicze nie zmienia sensu wyniku.

6.4.4. Ocena siatkówkowego oporu naczyniowego

Porównanie siatkówkowego oporu naczyniowego (RVR) między grupami nie wykazało istotnych różnic. Zaznaczył się jednakże istotny trend wzrostu siatkówkowego oporu w zależności od czasu trwania cukrzycy (analiza z wyłączeniem grupy kontrolnej; dla trendu $p = 0,03$) (rycina 13). W analizie regresji jednoczynnikowej obserwowano zgodną zależność pomiędzy zmienną opisującą opór naczyniowy mikrokrażenia siatkówki i czasem trwania cukrzycy (ryc. 14).



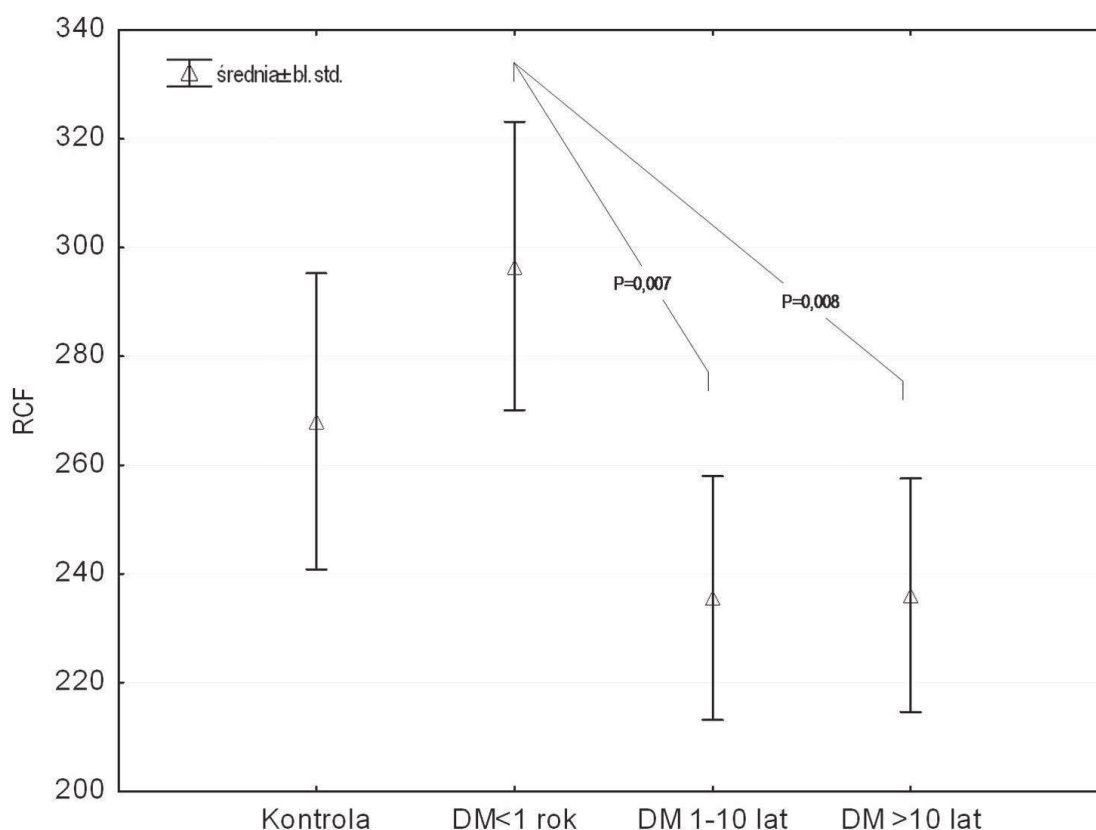
Rycina 13. Porównanie wartości zmiennej RVR pomiędzy badanymi grupami. Test jednoczynnikowa ANOVA $p < 0,03$ dla modelu.



Rycina 14. Rozrzut wartości oporu siatkówkowego (RVR) względem czasu trwania cukrzycy.

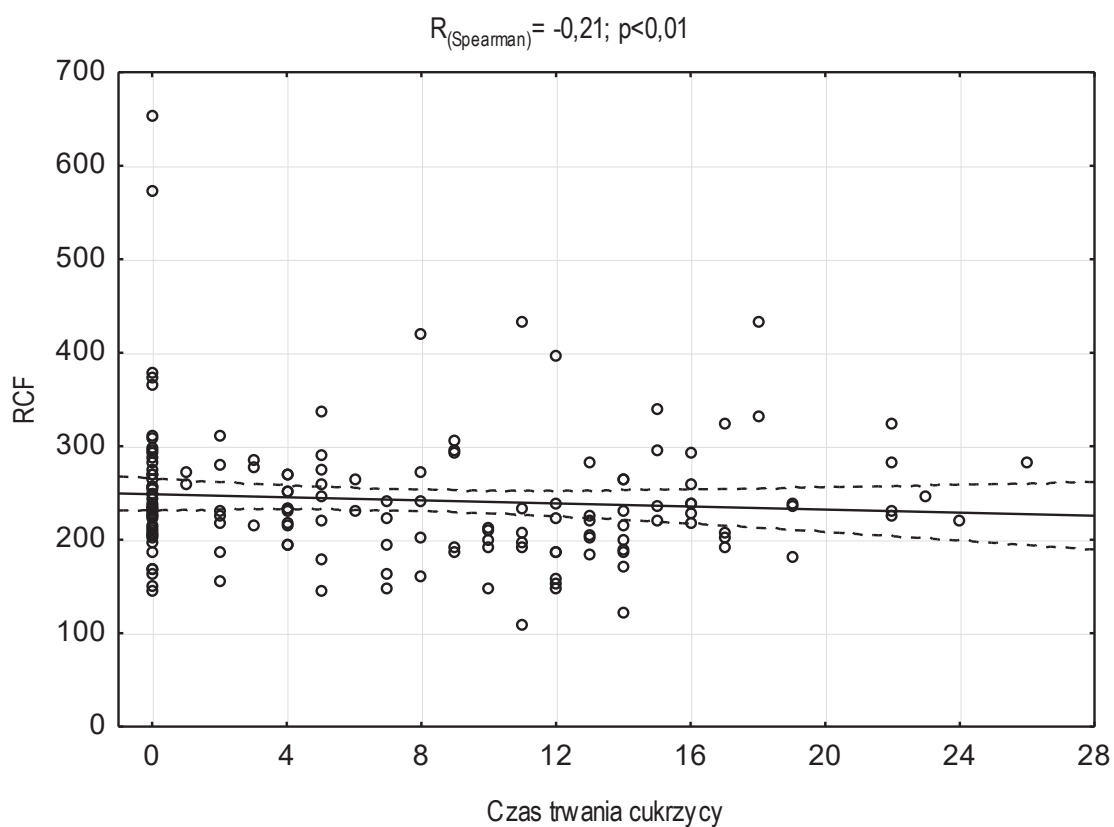
6.4.5. Ocena przepływu siatkówkowego

Pomimo, że w porównaniach wielokrotnych nie wykazano istotnych różnic wartości RCF grupy kontrolnej vs wartości pacjentów z cukrzycą typu 1 to odnotowano trend tych zmian pomiędzy grupami. Pacjenci z najkrótszym wywiadem chorobowym mieli jednocześnie najwyższe wartości przepływów siatkówkowych; grupa kontrolna pośrednie, a chorzy z wieloletnim wywiadem cukrzycowym (czas powyżej roku) cechowali się najniższymi przepływami w mikrokrogu oka (test Kruskala-Wallisa; $P=0,0013$ dla trendu); Ryc. 15 oraz ryc. 16. Ponadto, jedynie w grupie pacjentów z cukrzycą de novo wykazano bezpośrednią dodatnią korelację wartości przepływów siatkówkowych (RCF) z wartością HbA1c (tabela 7).



Rycina 15. Porównanie przepływów siatkówkowych (RCF) pomiędzy badanymi grupami w teście jednoczynnikowa ANOVA $p = 0,001$ dla modelu.

Wartości p testów post hoc (Tukey) $<0,05$ zaznaczono na rycinie.



Rycina 16. Rozrzut wartości przepływu siatkówkowego (RCF) względem czasu trwania cukrzycy.

Tabela 7. Współczynniki korelacji rang Spearmana dla zmiennej przepływu siatkówkowego (RCF) i HbA1c w zależności od czasu trwania cukrzycy typu 1.

	R	Wartość p
Wszyscy pacjenci	0,17	0,04
Pacjenci z T1DM <1 roku	0,42	0,02
Pacjenci z T1DM 1-10 lat	-0,08	0,56
Pacjenci z T1DM >10 lat	0,00	0,96

T1DM - cukrzyca typu 1, R – współczynnik korelacji.

VII. DYSKUSJA WYNIKÓW

W oparciu o wyniki przedstawionego badania należy podkreślić dwie obserwacje, których dotychczas nie publikowano. Po pierwsze, chorzy na cukrzycę typu 1 jedynie w najwcześniejszym okresie schorzenia (<1 roku) wykazują cechy zwiększonego przepływu kapilarnego (RCF) w krążeniu siatkówkowym, co udokumentowano w badaniu skaningowej laserowej przepływometrii dopplerowskiej (SDLF). Objaw ten jest nieobecny u osób z wieloletnim wywiadem cukrzycy typu 1. Po drugie, pacjenci chorzy na cukrzycę typu 1 po 10 latach trwania schorzenia wykazują cechy subklinicznej przebudowy drobnych naczyń siatkówkowych, których istota polega na pogrubieniu ściany naczyń przy jednoczesnym zmniejszeniu ich światła. Zmiany morfologii naczyń siatkówki (WLR), zależą ściśle od czasu trwania cukrzycy typu 1 co potwierdzono w analizach jedno-, i wieloczynnikowych z uwzględnieniem płci, wieku, BMI, ciśnienia skurczowego, poziomu HbA1c i czasu trwania schorzenia.

7.1. Przepływ siatkówkowy w cukrzycy

Wartości przepływu siatkówkowego w cukrzycy, dostępne w literaturze, bardzo różnią się pomiędzy sobą zarówno ze względu na zastosowaną metodykę prowadzonych badań (pomiar przepływów przy użyciu różnej aparatury) jak i znacznego zróżnicowania badanych pacjentów pod kątem wieku i czasu trwania cukrzycy oraz występowania u nich powikłań cukrzycy w szczególności obecności i stopnia zaawansowania retinopatii.

Lorenzi i wsp. oceniali przepływ siatkówkowy przy użyciu LDF na grupie 33 osób z cukrzycą typu 1 i 31 osób bez cukrzycy. Pacjenci obciążeni cukrzycą byli starsi o ok. 5 lat w stosunku do osób biorących udział w badaniu własnym, a średni czas trwania cukrzycy wynosił u nich 8,8 lat. Pomiedzy pacjentami z cukrzycą a grupą kontrolną wykazano istotne różnice jedynie w odniesieniu do poziomu glikemii i HbA1c, nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w odniesieniu do średnicy naczynia, prędkości krwi czy samego przepływu ²⁹. W naszym badaniu również nie stwierdziliśmy istotnych różnic pomiędzy pacjentami ze średnim czasem trwania cukrzycy i osobami bez wywiadu chorobowego, ale należy podkreślić, że w obu przypadkach w naszym badaniu brały udział osoby młodsze, natomiast u osób z cukrzycą *de novo* i czasem trwania cukrzycy dłuższym niż 10 lat, występowały różnice w przepływach. Ponadto w naszym badaniu zastosowaliśmy inną metodę pomiaru co również może mieć wpływ na uzyskane wyniki.

Wydaje się, że wielkość przepływu siatkówkowego zależy bezpośrednio od poziomu glukozy we krwi. Pemp i wsp. oceniali przepływy siatkówkowe u 20 pacjentów z cukrzycą typu 1 i 20 osób bez cukrzycy. Przepływy oceniano przy użyciu laserowego dopplerowskiego szybkościomierza (ang. *laser doppler velocimeter* - LDF). Przepływ u osób z cukrzycą był istotnie wyższy niż u zdrowych uczestników (odpowiednio 53 ± 16 $\mu\text{l}/\text{min}$ i 43 ± 16 $\mu\text{l}/\text{min}$; $p = 0,034$). Następnie u pacjentów z cukrzycą podano insulinę obniżając średni poziom glukozy z $9,3 \pm 1,7$ do $5,3 \pm 0,5$ mmol/l ($p = 0,001$). Po wykonaniu kolejnych pomiarów przepływu u tych pacjentów, średnie wartości wynosiły 49 ± 15 $\mu\text{l}/\text{min}$ ($p = 0,003$). Autorzy podkreślali,

że wprawdzie, wartości prędkości przepływu po interwencji były wyższe niż w grupie kontrolnej ($49 \pm 15 \mu\text{l/min}$ vs $43 \pm 16\mu\text{l/min}$), to testowana różnica przestała być istotna względem kontroli ($P=\text{NS}$)³⁰. Podobne obserwacje opisał Grunwald i wsp. którzy także oceniali przepływ przy pomocy laserowego dopplerowskiego szybkościomierza stwierdzając spadek przepływu siatkówkowego po normalizacji glikemii u pacjentów z cukrzycą przed i po podaniu insuliny. Nasze dane uzyskane przy pomocy innych narzędzi badawczych w porównaniu do prac Grunwalda i wsp. oraz Pemp i wsp., wpisują się w opisane zależności. Pomimo, że metodyka naszego eksperymentu nie obejmowała bezpośrednich pomiarów glikemii przed pomiarem przepływów siatkówkowych to w grupie pacjentów z najkrótszym wywiadem cukrzycy w której HbA1c było najwyższe odnotowano także najwyższe przepływy w mikrokrażeniu siatkówki i ściśle, dodatnią korelację pomiędzy wielkością przepływu siatkówkowego (RCF) i HbA1c (im wyższy poziom HbA1c tym większy przepływ siatkówkowy). Co ciekawe, korelacji pomiędzy tymi zmiennymi nie obserwowano u pacjentów z ustalonym wyrównaniem metabolicznym (stabilny HbA1c) w przypadku dłuższego wywiadu cukrzycy typu 1. Fakt, że opisane zależności uwidocznily się jedynie w grupie pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 może być uwarunkowany największą dynamiką zmian HbA1c w czasie, wtórną do inicjacji terapii hipoglikemizującej.

Grunwald i wsp. zwracają uwagę, że u pacjentów z cukrzycą dochodzi do zaburzonej autoregulacyjnej odpowiedzi naczyń na występujące warunki hemodynamiczne w krążeniu³¹. Podobne wnioski można wysnuć z badań dynamicznych oceniających mikrokrażenie siatkówkowe. W testach ze stymulacją błyskającym światłem stwierdzono, że nawet relatywnie młodzi pacjenci z cukrzycą typu 1 bez retinopatii wykazują mniejszą wazodylatację siatkówkową w porównaniu do grupy kontrolnej (zwiększenie średnicy tętniczek po stymulacji błyskającym światłem odpowiednio o 2,7% i 4,4%; $p=0,023$)³².

Nguyen i wsp. oceniali przepływy siatkówkowe przy użyciu metody SLDF u pacjentów z cukrzycą typu 1, spośród których 32 osoby nie miały stwierdzonej retinopatii, u 11 osób była

ona stwierdzona, ale nie była leczona, natomiast 33 osoby przebyły w przeszłości zabieg panfotokoagulacji z powodu retinopatii. Grupę kontrolną stanowiły 44 osoby bez cukrzycy. W tak zdefiniowanym eksperymencie, najwyższe przepływy siatkówkowe zarejestrowano w grupie osób z leczoną retinopatią i były to wartości istotnie różniące się w porównaniu do chorych na cukrzycę bez retinopatii jak i grupy kontrolnej. Stwierdzono ponadto trend dla przepływu krwi rosnącego od najniższych wartości w grupie kontrolnej ($200,9 \pm 55,0$) do najwyższych u pacjentów po przebytym leczeniu fotokoagulacją ($253,1 \pm 89,9$). Należy jednakże zwrócić uwagę, że w opisanym badaniu udział brały osoby w znacznie starszym wieku niż w naszej obserwacji oraz ze zdecydowanie dłuższym wywiadem cukrzycowym (w cytowanym badaniu średni czas trwania cukrzycy uczestników wahał się pomiędzy grupami od 22 do 34 lat) ³³.

U badanych przez nas pacjentów nie ocenialiśmy występowania retinopatii. O ile można założyć, zgodnie z dostępną literaturą, że w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 w chwili rozpoznania prawdopodobnie retinopatia nie występowała, o tyle u pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy nie jesteśmy w stanie określić częstości jej występowania i stopnia zaawansowania. Trudno zatem określić wpływ obecności i stopnia zaawansowania retinopatii na uzyskane przez nas wyniki zwłaszcza u pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy.

7.2. Zjawisko hiperfiltracji narządowej

W przeprowadzonym badaniu, przepływ siatkówkowy w grupie chorych na cukrzycę typu 1 *de novo*, istotnie przewyższał wartości rejestrowane w odniesieniu do pacjentów z czasem trwania cukrzycy >1 roku, a także >10 lat. Wartości przepływu siatkówkowego w grupie kontrolnej były wyższe w porównaniu do pacjentów z przynajmniej dwuletnim wywiadem cukrzycowym, ale różnica była istotna dopiero w stosunku do grupy z wywiadem ponad dziesięcioletnim. Ten fenomen może być podobny do zjawiska hiperfiltracji, które obserwuje się u pacjentów z cukrzycą czy nawet stanami przedcukrzycowymi.

Okada i wsp. opublikowali w 2011 roku wyniki badania, które zostało przeprowadzone w prefekturze Aichi w Japonii. W badaniu wzięło udział 99 140 osób, w wieku 20 do 89 lat, u których oceniano filtrację kłębuszkową (eGFR – ang. estimated glomerular filtration rate) wyliczaną w oparciu o wzór MDRD (ang. *modification of diet in renal disease*). Po uwzględnieniu w analizach złożonych wieku, płci, skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi oraz poziomu glikemii na czczo, jedyną istotną odnotowaną różnicą pomiędzy osobami z hiperfiltracją i prawidłowym poziomem przesączania kłębuszkowego było stężenie glikemii w surowicy. Iloraz szans wystąpienia hiperfiltracji kłębuszkowej wynosił 1,22 (95% CI 1,12-132) u osób z glikemią 100-109 mg/dl, 1,53 (95% CI 1,37 – 1,71) dla glikemii 110-125 mg/dl oraz 2,81 (95% CI 2,58 – 3,06) dla pacjentów z cukrzycą tj. glikemią >125 mg/dl ³⁴.

Szacuje się, że zjawisko hiperfiltracji definiowane jako GFR w zakresie 120 do 150 ml/min/1,73m², może dotyczyć 5-40% pacjentów z cukrzycą typu 2. Patogeneza tego zjawiska nie jest do końca poznana, aczkolwiek zwraca się uwagę na czynniki cewkowe i kłębuszkowe ³⁵. Proces ten łączy się także ze zwiększonym ciśnieniem wewnątrz-kłębuszkowym prowadząc w konsekwencji do cukrzycowej choroby nerek ^{35,36}. Zjawisko hiperfiltracji nerkowej poprzedza następczą przyspieszoną redukcją przesączania kłębuszkowego co klinicznie manifestuje się postępującym uszkodzeniem nerek. Obserwowana zatem w przebiegu choroby normalizacja przesączania kłębuszkowego jest jedynie stanem przejściowym wynikającym z dalszego

uszkodzenia nefronów. Co ciekawe, proces uszkodzenia funkcji nerek przebiega bardziej gwałtownie u pacjentów, u których rejestruje się hiperfiltrację w początkowej fazie choroby. Bjornstad i wsp. oceniali występowanie hiperfiltracji i gwałtownie postępującego obniżania filtracji kłębuszkowej (spadek GFR większy niż $3 \text{ mL/min/1,73 m}^2$) u 646 pacjentów z cukrzycą typu 1. U pacjentów z wyjściowo stwierdzoną hiperfiltracją kłębuszkową iloraz szans gwałtownego spadku GFR wynosił 5,00 (95% CI 3,03 – 8,25) ³⁶.

Obserwowany w naszym badaniu największy przepływ siatkówkowy skojarzony z cukrzycą *de novo* może być uwarunkowany analogicznym patomechanizmem jak opisywane powyżej zjawisko hiperfiltracji nerkowej. Należy jednak pamiętać, że istotny wpływ może tu mieć także opisywane zjawisko zwiększonego przepływu siatkówkowego u pacjentów z hiperglikemią, gdyż ta właśnie grupa osób biorących udział w badaniu miała istotnie wyższy poziom glikozydacji hemoglobiny w porównaniu do pacjentów z wieloletnim wywiadem cukrzycowym.

7.3. Wpływ hiperglikemii na układ sercowo-naczyniowy

Zarówno cukrzyca typu 1 jak i cukrzyca typu 2 jest czynnikiem ryzyka chorobowości sercowo-naczyniowej, co jednoznacznie udokumentowano w licznych badaniach i metaanalizach wyników badań. Wykazano także, że już podwyższony poziom glukozy u pacjentów bez rozpoznanej cukrzycy jest istotnym czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych.

Couthinho i wsp. opublikowali w 1999 roku na łamach *Diabetes Care* wyniki metaanalizy 20 badań, w których łącznie wzięło udział prawie 96 000 osób bez stwierdzonej wcześniej cukrzycy. Średni czas obserwacji wynosił 12,4 lat, a u uczestników badań wystąpiło łącznie 3707 incydentów sercowo-naczyniowych. W badaniach oceniano poziom glikemii na czczo lub po obciążeniu glukozą, a w przypadku 4 badań przygodny poziom glukozy. Następnie autorzy porównywali ryzyko sercowo-naczyniowe u osób z poziomem glukozy na czczo 6,1 mmol/l oraz 2 godz. po obciążeniu glukozą 7,8 mmol/l w odniesieniu do wzorcowego poziomu glukozy, który wynosił 4,2 mmol/l. Względne ryzyko wynosiło odpowiednio 1,33 (95% CI 1,06 – 1,67) oraz 1,58 (95% CI 1,19 – 2,10). Następnie w celu wykluczenia potencjalnego włączenia do analiz osób z nierozpoznaną cukrzycą, do kolejnej analizy włączono jedynie badania, w których poziom glikemii na czczo znajdował się w przedziale 6,1 do 7,8 mmol/l, a 2 godz. po obciążeniu glukozą 7,8 do 11,1 mmol/l. Analiza ta pozwoliła uwidocznić trend zależności pomiędzy podwyższonym poziomem glikemii, a występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych ($p = 0,056$) oraz istotną zależność pomiędzy poziomem glikemii 2 godz. po obciążeniu, a ryzykiem sercowo-naczyniowym ($p < 0,001$)³⁷.

W badaniu *Reykjavik Prospective Study* Sarwar i wsp. przebadali 18 569 osób, u których zbadano poziom glikemii na czczo oraz po obciążeniu glukozą. W trakcie średnio 23,5 letniej obserwacji odnotowano 4 664 incydenty sercowo-naczyniowe w obserwowanej grupie. W porównaniu do osób z poziomem glikemii $< 5,6$ mmol/l ryzyko względne (ang. *hazard ratio*,

HR) choroby wieńcowej u uczestników obserwacji, których stwierdzono poziom glikemii na czczo 5,6-6,1 mmol/l wynosiło 1,08 (95% CI 0,87 – 1,33), u osób z poziomem glikemii 6,1-7,0 mmol/l HR wynosiło 1,27 (95% CI 0,96 – 1,68), natomiast u osób z wyjściowym poziomem glukozy > 7,0 mmol/l HR było 2,37 (95% CI 1,79 – 3,14). Autorzy przeprowadzili także meta-analizę 26 badań prospektywnych, w których oceniono występowanie incydentów sercowo-naczyniowych w kontekście stwierdzanych: (1) wartości glikemii na czczo, (2) glikemii po obciążeniu glukozą lub (3) poziomem HbA1c w surowicy. Z analizy wyłączono osoby z rozpoznaną cukrzycą lub poziomem glikemii > 7,0 mmol/l. Autorzy wykazali, że względne ryzyko sercowo-naczyniowe wynosiło 1,06 (95% CI 1,00 – 1,12) dla 1 mmol/l podwyższonego poziomu glukozy na czczo; 1,05 (95% CI 1,03 – 1,07) dla 1 mmol/l podwyższonego poziomu glukozy w teście obciążenia oraz 1,20 (95% CI 1,10 – 1,31) dla wyższego o 1,0% stężenia HbA1c.

Cytowane powyżej badania sugerują, że prawidłowe lub nieznacznie podwyższone poziomy glikemii związane są z niewielkim wpływem na wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych. Ryzyko to jednakże wzrasta wraz z wyższymi poziomami glukozy we krwi³⁸.

Podobne dane uzyskali autorzy metaanalizy 102 badań prospektywnych opublikowanej w 2010 roku w czasopiśmie *Lancet*, w której łączna liczba obserwowanych wynosiła 698 782 osób biorących udział w badaniach oceniających naczyniowe czynniki ryzyka, u których jednakże w chwili włączania do badania nie stwierdzono przebytego zawału serca, dławicy piersiowej lub udaru. Uczestnicy, u których nie rozpoznano wyjściowo cukrzycy współczynnik ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej wynosił 1,11 (95% CI 1,04 – 1,18) u osób z poziomem glikemii 5,6 – 6,1 mmol/L; 1,17 (95% CI 1,08 – 1,26), a u osób z poziomem glikemii ≥ 7 mmol/L – 1,76 (95% CI 1,56 – 2,03). U pacjentów z rozpoznaną wcześniej cukrzycą współczynnik ryzyka dla choroby wieńcowej wynosił 1,61 (95% CI 1,42 – 1,82) dla pacjentów z zadowalającą kontrolą choroby (poziomem glukozy < 7mmol/l), natomiast 2,36 (95% CI 2,02 – 2,76) dla chorych na cukrzycę z poziomem glikemii > 7 mmol/l⁸.

Wiedza dotycząca ryzyka sercowo-naczyniowego w cukrzycy typu 1 oparta jest przede wszystkim na wynikach badania *Diabetes Control and Complications Trial* (skr. DCCT). DCCT było badaniem przeprowadzonym w latach 1983 do 1993 mającym na celu zbadanie hipotezy dotyczącej zapobiegania wystąpienia powikłań cukrzycy lub ich opóźnieniu w związku z agresywniejszą kontrolą glikemii poprzez intensyfikację leczenia. W badaniu wzięło udział 1 441 osób z cukrzycą typu 1, które zostały następnie randomizowane do jednej z dwóch grup: grupy z terapią konwencjonalną (CON) oraz z terapią intensywną (INT), której celem było uzyskanie poziomów glikemii możliwie bezpiecznych i zbliżonych do wartości prawidłowych. Pacjenci, u których stwierdzono nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię lub chorobę układu sercowo-naczyniowego nie byli włączani do badania. Uczestników podzielono dodatkowo na grupę pierwotnej interwencji (osoby bez rozpoznanej retinopatii i z utratą albuminy <40 mg/24h) oraz wtórnej interwencji (pacjenci z retinopatią i dopuszczalnym wydalaniem albuminy <200mg/24h). Celem tego podziału było sprawdzenie czy intensyfikacja leczenia u osób bez retinopatii wpłynie na uniknięcie lub opóźnienie jej wystąpienia, a u pacjentów z już stwierdzoną retinopatią zapobiegnie jej progresji. Średni czas obserwacji w badaniu wynosił 6,5 roku. Średni poziom HbA1c w grupie INT wyniósł 7,2% (nie udało się uzyskać u wszystkich pacjentów zakładanego poziomu 6,05% aczkolwiek u 44% osób osiągnięto ten cel przynajmniej raz w trakcie badania), podczas gdy w grupie CON utrzymał się na wyjściowym poziomie 9,1%. Po zakończeniu badania pacjentom zaproponowano udział w wieloletnim badaniu obserwacyjnym nazwanym *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (skr. EDIC). U osób z grupy CON zintensyfikowano leczenie do standardów z grupy INT³⁹.

W trakcie pierwszych 3 lat obserwacji w badaniu DCCT stwierdzono niewielką różnicę pomiędzy grupami w odniesieniu do występowania retinopatii. Dopiero w kolejnych latach obserwowano opóźnienie wystąpienia retinopatii, a na koniec badania u osób w grupie INT występowała 76% (p <0,001) redukcja ryzyka wystąpienia retinopatii cukrzycowej w porównaniu do osób z grupy CON. U pacjentów z retinopatią, którzy byli intensywnie leczeni

obserwowano 56% ($p < 0,001$) zmniejszenie ryzyka progresji uszkodzenia siatkówki. Ponadto stwierdzono u tych pacjentów 47% redukcję wystąpienia retinopatii proliferacyjnej oraz 26% zmniejszenie ryzyka wystąpienia obrzęku plamki, a także 61% redukcję ryzyka rozwinięcia poważnej retinopatii nieproliferacyjnej. Po 10-letniej obserwacji EDIC nadal występowało 53% ($p < 0,001$) zmniejszenie ryzyka dalszej progresji retinopatii u pacjentów pierwotnie włączonych do grupy INT⁴⁰.

W trakcie EDIC oceniano także grubość kompleksu intima-media (ang. *intima-media thickness; IMT*) mierzonego w obrębie tętnicy szyjnej wspólnej. Po roku obserwacji nie stwierdzano różnic w zakresie IMT pomiędzy pacjentami z cukrzycą w porównaniu do pacjentów z grupy kontrolnej, bez wywiadu cukrzycowego, natomiast po 6-ciu latach trwania badania takie różnice były już obecne. Co ważne, obserwowano także różnice pięcioletniej progresji grubości kompleksu intima-media u pacjentów, zakwalifikowanych do 2 grup terapeutycznych DCCT tj. INT vs CON. W grupie pacjentów intensywnie leczonych średnie zwiększenie grubości kompleksu wynosiło 0,032 mm, podczas gdy w grupie CON wynosiło ono aż 0,046 mm (średnia różnica pomiędzy grupami wynosiła 0,013 mm). Ponowna ocena IMT po 12-tu latach od rozpoczęcia obserwacji DCCT potwierdziła istotne różnice pomiędzy pacjentami z grupy INT i CON, choć zdecydowanie zmniejszyła się ona w stosunku do wyników po 6-ciu latach EDIC w związku z większym przyrostem kompleksu intima-media w grupie INT⁴¹. Wieloletnia obserwacja pacjentów z DCCT/EDIC wykazała także istotne różnice pomiędzy całkowitą liczbą incydentów sercowo-naczyniowych (zawał serca lub udar mózgu niezakończony zgonem, zgon z przyczyny sercowo-naczyniowej, subkliniczny zawał serca, zmiany niedokrwienne w teście wysiłkowym lub istotne zwężenie tętnicy wieńcowej w koronarografii lub konieczność wykonania plastyki wieńcowej lub zabiegu naczyniowego) w obu grupach badanych. Po 17-tu latach w grupie INT wystąpiło 46 incydentów sercowo-naczyniowych wśród 31 osób. Dla porównania wśród pacjentów pierwotnie randomizowanych do grupy CON było to 98 incydentów u 52 pacjentów. Ryzyko wystąpienia incydentu sercowo-

-naczyniowego w grupie INT vs CON wynosiło 0,38 vs 0,80 ($p = 0,007$). Intensywna terapia w trakcie DCCT obniżała ryzyko wystąpienia jakiejkolwiek choroby sercowo-naczyniowej o 42%, a zgonu z przyczyny sercowo-naczyniowej lub zawału serca czy udaru mózgu niezakończonych zgonem o 57% ^{41,42}. Powyższe wyniki wskazują, że pierwotnie agresywniejsza terapia przeciwhiperglikemiczna, a co za tym idzie niższe wartości glikemii, skutkuje zmniejszeniem ryzyka wystąpienia miażdżycy oraz incydentów sercowo-naczyniowych w przyszłości.

W odniesieniu do powyższych wyników, zwłaszcza braku różnic pomiędzy grupami po roku trwania EDIC autorzy zwracają uwagę na fakt, iż występowanie zmian miażdżycowych, zwłaszcza u relatywnie młodych pacjentów włączonych do DCCT wymaga wieloletniego odkładania się produktów końcowych glikozylacji ⁴³. Częstość występowania powikłań mikroangiopatycznych była wyraźnie niższa u pacjentów z lepszą kontrolą cukrzycy, a ich wystąpienie było wyraźnie związane z utrzymującymi się podwyższonymi poziomami glikemii, nie były natomiast związane z większą zmiennością w poziomach glukozy ⁴⁴.

Opisane powyżej wyniki są zgodne z obserwacją uzyskaną w badaniu stanowiącym podstawę rozprawy doktorskiej. Zwiększony WLR stwierdzaliśmy dopiero u pacjentów z wieloletnim wywiadem cukrzycowym, natomiast u pacjentów z mniej niż dziesięcioletnim czasem trwania choroby wartość tego parametru była zbliżona do wyników w grupie kontrolnej.

7.4. Zmiany strukturalne w mikrokrążeniu siatkówkowym w różnych stanach chorobowych

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono podwyższone wyniki WLR u pacjentów z ponad dziesięcioletnim wywiadem cukrzycy w porównaniu do osób z krótszym czasem trwania choroby i zdrowych uczestników grupy kontrolnej. W licznych pracach wskazywano na związek między zmianami w małych tętniczkach, a podwyższonym ryzykiem sercowo-naczyniowym i uszkodzeniem narządowym^{45–47}. W badaniach u pacjentów obciążonych nadciśnieniem tętniczym wykazano istotną korelację pomiędzy ciśnieniem tętniczym krwi a WLR tętniczek siatkówki. Ritt i wsp. badali osoby normotensyjne i z nieleczonym nadciśnieniem stosując metodę SLDF. WLR był wyższy u pacjentów z nieleczonym nadciśnieniem i wynosił $0,36 \pm 0,1$ w porównaniu do osób bez nadciśnienia $0,28 \pm 0,1$ ($p = 0,028$). Zarówno ciśnienie skurczowe jak i rozkurczowe wykazywało związek z podwyższonym WLR. Nie stwierdzono natomiast różnic w przepływie siatkówkowym (odpowiednio 334 ± 84 AU i 340 ± 57 AU, $p = 0,739$). Możliwą przyczyną zwiększonego WLR u pacjentów z nadciśnieniem może być przerost hipertroficzny warstwy mięśniówki naczynia i/lub jego remodeling¹⁴. Wpływ na powyższą sytuację może mieć także brak równowagi pomiędzy wzrostem, a apoptozą komórek w związku z włóknieniem i stanem zapalnym powodującym zmiany strukturalne w przebiegu nadciśnienia⁴⁸. Zmiany te wydają się być adaptacją mającą na celu utrzymanie optymalnego napięcia ściany naczynia. Pierwotnie fizjologiczna reakcja w związku z przewlekłym narażeniem na podwyższone ciśnienie tętnicze, prowadzi do nieprawidłowej reakcji ściany tętnic i naczyniowych powikłań nadciśnienia¹⁴.

Podobne wyniki opisywał Salvetti i wsp., który również badał osoby z prawidłowym ciśnieniem tętniczym oraz pacjentów z leczonym i nieleczonym nadciśnieniem. WLR był istotnie niższy u osób bez nadciśnienia ($0,23 \pm 0,13$) w stosunku do pacjentów z leczonym pierwotnym nadciśnieniem ($0,29 \pm 0,18$ $p = 0,009$). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic między pacjentami z leczonym i nieleczonym nadciśnieniem ($0,29 \pm 0,18$ vs. $0,28 \pm 0,18$;

$p = 0,7$). WLR tętniczek siatkówki był istotnie związany z ciśnieniem skurczowym i ciśnieniem tętna zarówno w pomiarach gabinetowych jak i w ocenie 24-godzinnej ⁴⁹. Podwyższony WLR w krążeniu siatkówkowym wykazano także u pacjentów z pierwotnym hiperaldosteronizmem, guzem chromochłonnym lub po udarach mózgu ^{50–52}. Inne badania wskazują z kolei, że WLR ściśle koreluje np. ze sztywnością tętnic w badaniu fali tętna zarówno u pacjentów z nadciśnieniem jak i normotensyjnych ⁵³.

U pacjentów włączonych do badania wartości ciśnienia tętniczego znajdowały się w prawidłowym zakresie. Nie mniej jednak, pacjenci z dłuższym wywiadem cukrzycy mieli istotnie wyższe skurczowe, rozkurczowe oraz średnie ciśnienie tętnicze w porównaniu do pacjentów z cukrzycą *de novo*, a także osób z grupy kontrolnej choć nie stwierdzono w tym przypadku istotności statystycznej.

7.5. Ocena siatkówkowego oporu naczyniowego

Do oceny mikrokrążenia siatkówkowego stosuje się od wielu lat liczne parametry oceniające zarówno ich funkcję jak i strukturę. Do tej pory jednakże nie oceniano u pacjentów z cukrzycą oporu naczyniowego w krążeniu siatkówkowym. Z badań prowadzonych w innych jednostkach chorobowych, przede wszystkim w nadciśnieniu tętniczym, wiemy, że zmiany w naczyniowym oporze obwodowym świadczą o uszkodzeniu narządowym⁵⁴. Akima i wsp. oceniali obwodowy opór naczyniowy u pacjentów z chorobą wieńcową lub kardiomiopatią stwierdzając istotny spadek oporu naczyniowego w trakcie wykonywania wysiłku na bieżni ($p < 0,01$). Zmiana wartości oporu obwodowego korelowała ze zmianą wartości parametrów wyrzutowych lewej komory jak np. frakcja wyrzutowa⁵⁵. Zwiększony opór naczyniowy występuje również u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca⁵⁶, a u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym występuje obwodowa wazokonstrykcja⁵⁷. Matthys i wsp. badali natomiast obwodowy opór naczyniowy u pacjentów z cukrzycą typu 1 stwierdzając, że w porównaniu do osób bez cukrzycy u tych chorych występuje wyższy opór naczyniowy oraz mniejszy jego spadek w trakcie wysiłku fizycznego⁵⁸.

Wydaje się, że opór naczyniowy może być również zwiększony w krążeniu siatkówkowym w związku z przebudową naczyń i pogrubianiem mięśniówki ściany lub postępującymi zmianami miażdżycowymi. Ocena siatkówkowego oporu naczyniowego naraża jednak na pewnych problemów technicznych. Kannenkeril i wsp. zaproponowali ocenę RVR wyliczając iloraz średniego ciśnienia tętniczego uzyskanego podczas pomiaru ciśnienia tętniczego krwi na tętnicy ramiennej do siatkówkowego przepływu kapilarnego. W swojej pracy opisali, iż wspomniany parametr jest istotnie wyższy u pacjentów z pierwszym stopniem nadciśnienia tętniczego niż u zdrowych osób (odpowiednio $0,41 \pm 0,13$ i $0,31 \pm 0,06$; $p < 0,001$). U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym stwierdzono również istotnie niższy RCF (302 ± 95 vs. 319 ± 63 ; $p = 0,023$) oraz wyższe ciśnienie skurczowe, rozkurczowe i MAP. Nie stwierdzono istotnych różnic w WLR pomiędzy grupami, ale wystąpiła istotna korelacja pomiędzy RVR i WLR

($r = 0,271$, $<0,001$). W związku z powyższym autorzy sugerują, że RVR może być ważnym wskaźnikiem remodelingu w krążeniu siatkówkowym. Należy jednakże podkreślić, że pacjenci z nadciśnieniem byli średnio o niemal 12 lat starsi niż osoby zdrowe (odpowiednio $52,9 \pm 11,9$ vs. $41,1 \pm 11,5$, $p < 0,001$) co może mieć wpływ na uzyskane wyniki ⁵⁹.

W naszym badaniu stwierdziliśmy najwyższe wartości RVR u pacjentów z przynajmniej jedenastoletnim wywiadem cukrzycy, u których to osób występowały również najwyższe wartości WLR. Różnice nie wykazywały istotności statystycznej gdy w obliczeniach uwzględniono grupę odniesienia, jednakże w podgrupie pacjentów chorych na cukrzycę zarysował się wyraźny trend z $p = 0,03$ (ryc. nr 13). Obserwacja ta wydaje się potwierdzać hipotezę, że parametr ten dobrze opisuje występowanie zmian strukturalnych w tętnicach mikrokrążenia siatkówkowego.

7.6. Ocena parametrów ciśnienia tętniczego i akcji serca

Nadciśnienie tętnicze występuje u pacjentów z cukrzycą częściej niż w populacji ogólnej⁶⁰. Fakt ten niekorzystnie wpływa na występowanie uszkodzeń układu sercowo-naczyniowego, które w populacji chorych na cukrzycę rozwijają się we wcześniejszych latach życia. Standardy postępowania w zakresie kontroli ciśnienia tętniczego wg PTD (2018) obligują, aby pacjenci z cukrzycą osiągnęli ciśnienie tętnicze $< 140/90$ mmHg². Należy podkreślić, że osiągnięcie hipotensyjnych celów terapeutycznych u pacjentów z cukrzycą jest trudniejsze w praktyce w porównaniu do pacjentów wolnych od zaburzeń węglowodanowych⁶¹. Fakt ten ma niebagatelne znaczenie w świetle najnowszych europejskich wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC, *European Society of Cardiology*) i Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (ESH, *European Society of Hypertension*), które zaostrzyły wartości docelowe ciśnienia tętniczego dla większości chorych na cukrzycę w wieku do 65 r. ż. ($<130/80$ mmHg)⁶¹. W niniejszej rozprawie opieraliśmy ocenę ciśnienia tętniczego i tętna jedynie na podstawie pomiarów gabinetowych w odróżnieniu do większości dostępnych badań, w których u pacjentów z cukrzycą typu 1 oceniano wartości ciśnienia tętniczego i tętna poprzez 24-godzinny pomiar ambulatoryjny – ABPM (ang. *ambulatory blood pressure monitoring*). Ponadto jedynie niewielka liczba badań przeprowadzona była u dorosłych z cukrzycą typu 1, z których większość odnosi się do dzieci i młodzieży ze średnim wiekiem niższym o ok. 10 lat od badanej przez nas populacji.

Pietrzak i wsp. oceniali ciśnienie tętnicze i jego relację do masy ciała i otyłości u dzieci z cukrzycą typu 1. Średni wiek pacjentów wynosił $14,8 \pm 2,4$ lat z czasem trwania cukrzycy $6,1 \pm 4,2$ lat. Średnie SBP wynosiło 118 ± 15 a DBP 70 ± 10 . Autorzy wykazali korelację SBP i DBP z BMI i wiekiem, a w przypadku DBP również czasem trwania cukrzycy⁶⁰. De Oliveira i wsp. oceniali natomiast wpływ niedostatecznego wyrównania cukrzycy na kontrolę ciśnienia tętniczego i występowania stanu przednadciśnieniowego. Wykazali oni, że w grupie pacjentów z wyższym HbA1C ($11,6 \pm 3,1$ vs $9,7 \pm 2$) występowało istotnie wyższe ciśnienie tętnicze zarówno

SBP jak i DBP (odpowiednio $122,6 \pm 6,9/77,0 \pm 10,6$ mmHg vs $107,9 \pm 7,3/66,4 \pm 5,5$ mmHg). Należy jednak podkreślić, że pacjenci z wyższym ciśnieniem tętniczym byli starsi i mieli istotnie dłuższy czas trwania cukrzycy (analogicznie: $13,3 \pm 1,2$ vs $12,8 \pm 1,2$ oraz $7,5 \pm 3,8$ vs $5,3 \pm 3,6$) ⁶². W powyższej obserwacji pacjenci byli młodszy w porównaniu do osób biorących udział w naszym badaniu, u których jednakże również zaobserwowaliśmy tendencję do wyższych wartości SBP i DBP w odniesieniu do czasu trwania cukrzycy.

Klein i wsp. oceniali ciśnienie tętnicze zarówno gabinetowe jak i w ABPM u pacjentów z cukrzycą typu 1, których średni wiek wynosił $31,3 \pm 9,3$ lat, a czas trwania cukrzycy $11,2 \pm 4,7$ lat. W tej grupie pacjentów SBP i DBP były znacznie wyższe w stosunku do opisywanych poprzednio i wynosiły $119,8 \pm 12$ mmHg dla SBP i $70,68,2$ mmHg dla DBP ⁶³. Wartości te są bardziej zbliżone do obserwowanych w naszej grupie pacjentów z dłuższym, zwłaszcza ponad dziesięcioletnim czasem trwania choroby. Odmienne wyniki uzyskali z kolei da Costa-Rodrigues i wsp. którzy stwierdzili u normotensyjnych pacjentów w wieku powyżej 30 lat i kilkunastoletnim czasie trwania cukrzycy średnie SBP i DBP na poziomie $\sim 113/72$ mmHg ⁶⁴, które to wartości zbliżone są do obserwowanych w naszym badaniu u pacjentów z czasem trwania cukrzycy < 1 roku. Należy tutaj podkreślić, że w naszym badaniu u pacjentów z cukrzycą *de novo* obserwowaliśmy niższe wartości SBP i DBP w porównaniu do pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy, co może być uwarunkowane różnymi czynnikami patogenetycznymi np. niedostatecznym nawodnieniem pacjentów, u których w związku z wysoką hiperlgikemią dochodziło do odwodnienia w mechanizmie nasilonej poliurii. Mogło to wynikać również z zaangażowania różnych złożonych mechanizmów morfologicznych (przebudowa naczyń) i neuro-hormonalnych odpowiedzialnych za wyższe ciśnienie obserwowane w wieloletniej cukrzycy, czy wyższej wartości BMI pacjentów z wieloletnią cukrzycą (bezpośrednie porównanie wartości BMI testem t-Studenta dla par niepowiązanych; $P=0,01$; legenda tab. 1).

Yang i wsp. oceniali ciśnienie tętnicze u pacjentów z cukrzycą typu 1, u których występowała lub nie hiperfiltracja nerkowa. Średni wiek pacjentów wynosił ok. 22 lata

ze średnim czasem trwania cukrzycy ok 15 lat. SBP i DBP były istotnie wyższe u pacjentów z występującą hiperfiltracją w porównaniu do osób z prawidłowymi wartościami GFR ($117\pm2/67\pm1$ vs $111\pm2/64\pm1$). W grupie chorych z hiperfiltracją stwierdzono również istotnie wyższą średnią częstotliwość rytmu serca ($HR=76\pm1/\text{bpm}$ vs $67\pm1/\text{bpm}$)⁶⁵. Są to wartości zbliżone do parametrów uzyskanych przez Wilsona i wsp. którzy opisywali średni $HR=74\pm11/\text{bpm}$ (vs $65\pm9/\text{bpm}$ w kontroli). W cytowanym badaniu czas trwania cukrzycy u pacjentów wynosił średnio $15,2\pm13,6$ lat, a zatem był on porównywalny do czasu trwania choroby w grupie C naszej obserwacji ($15,6 \pm 4,3$), Autorzy zwracają uwagę, że przyspieszona częstotliwość rytmu zatokowego spowodowana jest przez występującą w cukrzycy zmniejszoną modulację przywspółczulną pracy serca, która jest uwarunkowana postępującą neuropatią autonomiczną (najpierw dochodzi do zaburzeń w układzie przywspółczulnym, a w dalszym ciągu trwania cukrzycy do uszkodzenia w zakresie układu współczulnego)⁶⁶. Uzyskane przez nas wyniki HR jedynie w grupie pacjentów z cukrzycą *de novo* korespondują z dotychczas opisywanymi. Z kolei chorzy z wieloletnim wywiadem cukrzycy typu 1 w naszej obserwacji cechują się wyższym średnim HR ($83,1\pm12,9$ w grupie pacjentów z czasem trwania cukrzycy 1-10 lat oraz $92,4\pm13,7$ wśród pacjentów z > 10 letnim czasem trwania choroby), co może stanowić wykładnik bardziej zaawansowanego uszkodzenia regulacji autonomicznej układu krążenia w porównaniu do grup dotychczas opisywanych. Warto odnotować, że obserwowaliśmy wyraźną dodatnią korelację pomiędzy częstotliwością rytmu zatokowego i czasem trwania cukrzycy (ryc. 8). Z kolei analiza zmiennej HR względem wyrównania metabolicznego cukrzycy (HbA1c) nie wykazała istotnych zależności, zarówno w całej grupie chorych na cukrzycę, jak i z podziałem na podgrupy: A, B i C. Fakt ten można próbować tłumaczyć ograniczeniami badania pod postacią jednostkowego pomiaru HbA1c czy niedużą liczebnością całkowitą próby, jednakże bardziej prawdopodobnym wydaje się wpływ złożonych mechanizmów, nie podlegających kontroli w niniejszym badaniu, które prowadzą do trwałego uszkodzenia narządowego wraz z czasem trwania cukrzycy.

Kolejnym ocenionym przez nas paramterem było ciśnienie tętnia (PP). Określa się je poprzez różnicę wysokości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego. Świadczy ono pośrednio o sztywności tętnic w układzie krwionośnym⁶⁷. Podwyższona wartość PP, wyższa od 60 mmHg jest uważana za subkliniczne powikłanie nadciśnienia tętniczego i związana jest z podwyższonym ryzykiem sercowo-naczyniowym²². Potwierdzają to także badania oceniające wpływ wysokości PP na incydenty sercowo-naczyniowe u pacjentów z cukrzycą. Buda i wsp. oceniali PP u pacjentów z cukrzycą typu 2, których następnie podzielono na dwie grupy w zależności od występującej lub nie choroby sercowo-naczyniowej. Stwierdzili oni następnie, że PP w pomiarze 24-godzinny był istotnie wyższy u pacjentów ze stwierdzoną chorobą sercowo-naczyniową w porównaniu do osób bez takiego rozpoznania (odpowiednio $54,7 \pm 13,6$ vs $49,0 \pm 12,0$, $p = 0,03$). Badacze nie stwierdzili z kolei różnic w SBP lub DBP⁶⁸. Z kolei Theilade i wsp. oceniali wpływ PP na ryzyko wystąpienia incydentu sercowo naczyniowego wśród pacjentów z cukrzycą typu 1. W trakcie badania stwierdzono, że wzrost PP o 10 mm Hg wiązał się z wystąpieniem pierwszego incydentu sercowo-naczyniowego (HR 1,29 (1,02-1,62) $p=0,03$)⁶⁹. W naszym badaniu stwierdziliśmy istotne różnice w PP pomiędzy pacjentami z okresem trwania cukrzycy > 1 roku, a osobami z grupy kontrolnej. Nie występowała natomiast istotna różnica pomiędzy osobami z cukrzycą *de novo*, a pacjentami z dłuższym czasem trwania choroby, mimo że stwierdzono u nich istotnie niższe wartości ciśnienia skurczowego krwi.

7.7. Analiza badania ankietowego

Dane kwestionariuszowe miały charakter deklaracyjny i nie były weryfikowane w oparciu o dokumentację medyczną.

Według dostępnej literatury, u pacjentów z cukrzycą typu 1 istotnie częściej niż w populacji ogólnej stwierdza się występowanie innych chorób o podłożu autoimmunologicznym. W badaniu przeprowadzonym przez Gaworek i wsp. do którego włączono 219 pacjentów z cukrzycą typu 1 w wieku 18-35 lat (śr. wiek $26,2 \pm 6,4$ lat, śr. długość trwania cukrzycy wynosiła $13,9 \pm 6,6$ lat) odnotowano, że 26,9 % pacjentów jest obciążonych inną, towarzyszącą chorobą autoimmunologiczną. Najczęściej stwierdzanym schorzeniem było autoimmunologiczne zapalenie tarczycy (ch. Hashimoto) które rozpoznano u 17,4% pacjentów⁷⁰. W tym względzie, w naszym badaniu uzyskaliśmy podobne wyniki tj. ponad 23% pacjentów z cukrzycą typu 1 obciążonych było współwystępującą dodatkową chorobą autoimmunologiczną. Co więcej, obserwowaliśmy wyższy odsetek pacjentów z rozpoznaną dodatkową chorobą autoimmunologiczną w grupach z dłuższym czasem trwania cukrzycy jednakże testowana różnica ta nie osiągnęła wartości $P < 0,05$. W naszej grupie pacjentów, podobnie jak w danych literaturowych najczęściej stwierdzanymi chorobami autoimmunologicznymi były choroba Hashimoto i celiakia.⁷¹⁻⁷³

Gaworek i wsp. zwracają także uwagę na rodzinne występowanie cukrzycy typu 1 u pacjentów z tym schorzeniem, a także dodatni wywiad rodzinny w kierunku innych chorób autoimmunologicznych. Autorzy wykazali, że cukrzycą typu 1 obciążonych jest 14,6% krewnych pacjentów, a inną chorobą autoimmunologiczną 16% członków rodziny⁷⁰. Dane te są zbliżone do uzyskanych w naszej populacji pacjentów, gdzie występowanie cukrzycy typu 1 i innych chorób autoimmunologicznych stwierdziliśmy odpowiednio u 13,1%, i 16,1% krewnych.

Przeprowadzone przez nas badanie kwestionariuszowe dotyczyło także wywiadu w kierunku wystąpienia w przeszłości przynajmniej 1 epizodu hipoglikemii (definiowanej jako poziom glikemii $< 70\text{mg/dl}$ lub wystąpienie typowych objawów hipoglikemii takich jak zlewne

poty, drgawki lub zaburzenia świadomości). W dostępnej literaturze, częstość występowania hipoglikemii znacznie różni się pomiędzy badaniami. Ponadto, w większości opublikowanych badań autorzy skupiali się jedynie na epizodach ciężkiej hipoglikemii tzn. takiej, w której wystąpiły charakterystyczne objawy kliniczne lub pacjent wymagał pomocy osób trzecich. W *DCCT* oceniono, że 65% pacjentów w grupie INT i 35% w grupie CON przeżyło choć 1 epizod ciężkiej hipoglikemii ⁷⁴. W badaniu przeprowadzonym przez Tłuczykonta i wsp. oceniono, że hipoglikemia w ciągu ostatniego roku choroby, mogła dotyczyć 61% pacjentów z cukrzycą typu 1 i 34% pacjentów z cukrzycą typu 2 ⁷⁵. W uzyskanym przez nas materiale stwierdziliśmy dużo wyższy odsetek epizodów hipoglikemii (definiowanej jako wystąpienie charakterystycznych objawów cukrzycy lub poziomu glikemii $< 70\text{mg/dl}$)² niż w opisywanych badaniach. Hipoglikemia wystąpiła kiedykolwiek u niemal połowy pacjentów z cukrzycą o czasie trwania < 1 roku i u $> 90\%$ pacjentów z dłuższym czasem trwania cukrzycy. Opisaną różnicę może tłumaczyć fakt, że w naszym badaniu w przeciwieństwie do opisanych powyżej doniesień ocenialiśmy wystąpienie epizodów hipoglikemii w okresie od rozpoznania choroby.

VIII. PODSUMOWANIE WYNIKÓW

1. Czas trwania cukrzycy typu 1 determinuje wyższe wartości ciśnienia tętniczego krwi (w zakresie wartości prawidłowych) i tętna.
2. Chorzy na cukrzycę typu 1 *de novo* cechują się najwyższymi przepływami w zakresie mikrokążenia siatkówki; zjawiska tego nie obserwuje się u pacjentów z wieloletnią historią choroby.
3. U pacjentów z ponad dziesięcioletnim wywiadem cukrzycy występuje podwyższony wskaźnik grubości ściany naczynia do jego światła (WLR) w porównaniu do pacjentów z krótszym wywiadem cukrzycowym i osób bez cukrzycy.
4. Opór naczyniowy mikrokążenia siatkówkowego jest najwyższy u pacjentów z najdłuższym wywiadem cukrzycy typu 1; różnica ta jest istotna zarówno w odniesieniu do osób z cukrzycą *de novo* oraz osób z prawidłowym metabolizmem glukozy.

IX. WNIOSKI

1. Wczesny okres cukrzycy typu 1 charakteryzuje wzrost przepływu siatkówkowego – zjawisko podobne do hiperfiltracji stwierdzanej w analogicznym okresie choroby w krążeniu nerkowym. Zmiany te mogą predysponować chorych do szybszego wystąpienia zmian narządowych.
2. Wraz z czasem trwania cukrzycy, a niezależnie od wieku, dochodzi do niekorzystnej przebudowy naczyń tętniczych mikrokrażenia siatkówki pod postacią pogrubienia ich ściany czemu towarzyszy wzrost siatkówkowego oporu naczyniowego.
3. Zaburzenia funkcji i struktury mikrokrażenia siatkówkowego występują przed rozwojem nadciśnienia tętniczego u chorych z cukrzycą typu 1.

X. STRESZCZENIE

Wprowadzenie

Cukrzyca jest chorobą metaboliczną charakteryzującą się podwyższonym poziomem glukozy we krwi. Stan ten może być spowodowany nieprawidłowym wydzielaniem insuliny lub opornością tkanek na jej działanie. Wyróżnia się cukrzycę typu 1, która spowodowana jest zniszczeniem komórek β trzustki prowadzącym do niedoboru insuliny, typu 2, związaną z insulinopornością tkanek oraz cukrzycę ciążową i cukrzycę o znanej etiologii. Według danych *International Diabetes Federation* w 2017 roku na całym świecie cukrzycą dotkniętych było 425 milionów osób, a wiele raportów prognozuje dalszy bardzo szybki wzrost zachorowalności. Pacjenci z cukrzycą typu 1 stanowią 7-12% ogólnej populacji osób dotkniętych tą chorobą. Cukrzyca typu 1 charakteryzuje się deficytem endogennego wydzielania insuliny. Choć przyczyna wystąpienia tej choroby nie jest do końca poznana, zwraca się uwagę na występowanie czynników genetycznych oraz autoimmunologicznych. Czynniki wywołujące takie jak wirusy lub toksyny mogą prowadzić do powstawania autoantygenów. Cukrzyca jest jednym z głównych czynników ryzyka wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego prowadząc do uszkodzenia takich narządów jak nerki, nerwy, oko czy naczynia krwionośne. U podłoża uszkodzenia naczyń leży występowanie stresu oksydacyjnego i rozwój miażdżycy. U osób z hiperglikemią dochodzi do dezaktywacji działającego antyaterogennie tlenku azotu, co z kolei skutkuje zwiększoną aktywacją czynników prozapalnych, a finalnie do powstawania komórek piankowatych i blaszek miażdżycowych. Prowadzi to do uszkodzenia układu tętniczego, a zmiany te powstają przeważnie najpierw w naczyniach o małej średnicy.

Cele pracy

Głównym celem pracy jest określenie zmian zachodzących w mikrokrażeniu siatkówkowym u pacjentów z cukrzycą typu 1 przy zastosowaniu skaningowej laserowej przepływometrii dopplerowskiej (ang. *scanning laser doppler flowmetry* skr. SLDF).

1. Ocena przepływu i budowy tętniczek mikrokrazenia siatkówkowego u pacjentów z cukrzycą typu 1.
2. Ocena nasilenia zmian mikrokrazenia siatkówkowego w zależności od czasu trwania cukrzycy.

Materiał i metody

Do badania zrekrutowano 158 pacjentów z cukrzycą typu 1, którzy byli hospitalizowani w Klinice Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku lub przebywali pod opieką Regionalnego Centrum Diabetologii. Grupę kontrolną stanowiło 38 osób zbliżonych pod kątem płci i wieku, u których nie stwierdzono cukrzycy. Pacjentów z cukrzycą typu 1 podzielono na trzy grupy w zależności od czasu trwania cukrzycy: grupa A – czas trwania cukrzycy do 12-tu miesięcy (cukrzyca *de novo*), grupa B – czas trwania cukrzycy >1 roku, ale ≤10 lat i grupa C – czas trwania cukrzycy >10 lat. Do grupy A zakwalifikowano 40 osób (17 kobiet; 43%), średni wiek $25,2 \pm 5,1$ lat, do grupy B: 57 osób (22 kobiety; 39%), średni wiek $24,0 \pm 4,9$ lat, a do grupy C: 61 pacjentów (32 kobiety; 53%), średni wiek $25,3 \pm 5,0$ lat. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 38 osób (19 kobiet; 50%), średni wiek $24,8 \pm 3,6$. U wszystkich uczestników badania przeprowadzono badanie przedmiotowe i podmiotowe, pacjentów z cukrzycą poproszono o wypełnienie kwestionariusza związanego z objawami choroby oraz występowaniem u pacjenta i w rodzinie chorób autoimmunologicznych. U wszystkich uczestników wykonano w 3-minutowych odstępach 3 pomiary ciśnienia tętniczego i tętna na tętnicy ramiennej przy użyciu aparatu Omron M6. Pomiary uśredniono do 1 wyniku oraz wyliczono średnie ciśnienie tętnicze i ciśnienie tętna. Badanie dna oka prawego, przy użyciu aparatu *Hidelberg Retina Flowmeter*, wykonywano w godzinach porannych pomiędzy godziną 8:00 a 12:00 po 10 minutowym odpoczynku w pozycji siedzącej, w pomieszczeniu o temperaturze powietrza 20-22 °C. U każdej osoby wykonano 1 próbne zdjęcie siatkówki celem prezentacji przebiegu badania i eliminacji czynnika stresowego. Zdjęcie próbne nie było poddawane późniejszej analizie. Następnie wykonywano

3-6 zdjęć dna oka wybierając odcinek tętniczki skroniowej o prostym przebiegu, niestykający się z naczyniem żylnym, leżący w odległości ok. 2 mm od tarczy nerwu wzrokowego. Dane surowe zgromadzono w arkuszu kalkulacyjnym MS Excel (Microsoft; licencja GUMed). W analizie danych wykorzystano pakiet statystyczny Statistica v. 10 (Statsoft PL; licencja GUMed). W oparciu o test Shapiro-Wilka sprawdzano hipotezę o rozkładzie normalnym. W zależności od spełnienia wymaganych założeń testowania hipotez (bądź jego braku), zastosowano testy parametryczne i nieparametryczne (jednoczynnikowa ANOVA, ANOVA Friedman'a). Ponadto, celem opisu współzależności pomiędzy zmiennymi ciągłymi, obliczono współczynniki korelacji (Pearson'a i rang Spearman'a). W analizie wieloczynnikowej przeprowadzono regresję wieloraką modelując zmienne określające kluczowe parametry siatkówki (WLR, RCF). Za istotne uznano wyniki przy poziomie wnioskowania statystycznego $< 0,05$.

Wyniki

Pomiędzy grupami pacjentów i grupą kontrolną nie stwierdzono istotnych różnic wieku lub BMI. Wartości HbA1c były istotnie wyższe u pacjentów z cukrzycą *de novo* natomiast w grupie B i C były porównywalne względem siebie.

W badanej grupie pacjentów z cukrzycą, stwierdzono odwrotną zależność pomiędzy morfologią naczyń siatkówki i przepływem siatkówkowym (WLR vs RCF) oraz zgodną zależność pomiędzy morfologią i oporem naczyń siatkówki (WLR vs RVR). Najwyższe wartości parametru WLR stwierdzono u pacjentów z ponad 10-letnim wywiadem cukrzycy natomiast różnice pomiędzy pozostałymi grupami nie były statystycznie istotne.

Najwyższe wartości przepływu siatkówkowego (RCF) występowały wśród pacjentów z czasem trwania cukrzycy < 1 roku i różniły się istotnie w porównaniu do wyników w grupie z pośrednim i długim czasem trwania choroby (odpowiednio $p = 0,007$ i $p = 0,008$). Z kolei wartości RCF ocenione w grupie kontrolnej nie różniły się istotnie w stosunku do żadnej z grup badanych

i oscylowały mniej więcej w połowie pomiędzy wynikami w cukrzycy *de novo* i dłużej trwającej choroby.

Nie stwierdzono istotnych różnic w porównaniu siatkówkowego oporu naczyniowego (RVR) między grupami, jednakże zaznaczył się istotny trend wzrostu siatkówkowego oporu w zależności od czasu trwania cukrzycy (p dla trendu = 0,03).

Najwyższe wartości skurczowego ciśnienia tętniczego rejestrowano u pacjentów z czasem trwania cukrzycy > 10 lat. Zarówno w tej grupie pacjentów, jak i w grupie osób z pośrednim czasem trwania cukrzycy, różnice te były istotne w porównaniu do pacjentów z cukrzycą trwającą < 1 roku. Pacjenci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą cechowali się także najniższymi wartościami ciśnienia rozkurczowego, z istotnością statystyczną w porównaniu do pacjentów z ponad dziesięcioletnim wywiadem cukrzycy i osób z grupy kontrolnej. Ocena tętna spoczynkowego wykazała, że częstotliwość rytmu serca była najwyższa w grupie pacjentów z najdłuższym wywiadem cukrzycy. Kwestionariusze wypełniło odpowiednio 72,5%, 91,2% i 91,8% spośród grup pacjentów z cukrzycą. Kwasica ketonowa wystąpiła u 6 osób na 29 (20,7%) pacjentów z cukrzycą *de novo*, natomiast w kolejnych grupach 21 na 52 i 27 na 56 chorych (odpowiednio 40,3% i 48,2%). Epizody hipoglikemii wystąpiły u niemal połowy (48,3%) pacjentów z cukrzycą < 1 roku i niemal wszystkich z dłuższym czasem trwania choroby (odpowiednio 94% i 93%). Występowanie innej choroby autoimmunologicznej (najczęściej autoimmunologiczne zapalenie tarczycy) deklarowało 13,8% pacjentów w cukrzycą *de novo*, wśród osób z cukrzycą trwającą 1-10 lat - 21,2%, natomiast w grupie osób z >10 letnim wywiadem cukrzycowym - 30,4%. Wśród osób w kolejnych grupach, w zależności od czasu trwania cukrzycy, stwierdzano wyższy odsetek pacjentów z rodzinnym występowaniem cukrzycy typu 1 i innych chorób autoimmunologicznych, wyjątek stanowiła grupa pacjentów z czasem trwania cukrzycy > 10 lat, którzy deklarowali niższy odsetek członków rodziny z chorobami autoimmunologicznym w porównaniu do pacjentów z czasem trwania cukrzycy 1-10lat (odpowiednio 14,3% vs 19,2%).

Wnioski

Wczesny okres cukrzycy charakteryzuje wzrost przepływu siatkówkowego, które jest zjawiskiem podobnym do hiperfiltracji występującej w krążeniu nerkowym w analogicznym okresie trwania choroby. Może to predysponować do szybszego wystąpienia zmian narządowych. Niezależnie od wieku, wraz z czasem trwania cukrzycy dochodzi do niekorzystnych zmian strukturalnych w tętnicach siatkówki pod postacią pogrubienia ściany naczynia co prowadzi do wzrostu siatkówkowego oporu naczyniowego. Zaburzenia funkcji i struktury mikrokrażenia występują przed wystąpieniem nadciśnienia tętniczego u chorych z cukrzycą typu 1.

XI. SUMMARY

Introduction

Diabetes is a metabolic disease characterized by increased serum glucose level. This state might be caused by inappropriate insulin secretion or insulin resistance. It divides into type 1 diabetes, which is caused by β cells destruction which leads to insulin deficit; type 2 resulting from ineffective use of insulin, gestational diabetes and diabetes of known cause. According to International Diabetes Federation there were 425 million people with diabetes in 2017. Multiple reports predict a rapid increase in incidence of people with this disease. Patients with type 1 diabetes represent 7-12% of diabetic population. Type 1 diabetes is characterized by deficit of endogenous insulin secretion. Although the cause of this disease is not fully known, the occurrence of genetic and autoimmune factors is pointed out. Triggering factors like viruses or toxins might lead to formation of auto antigens. Diabetes is one of the most serious risk factors for cardiovascular diseases, among others leading to damage of such organs as kidneys, nerves, eyes, and vessels. In the basis of arteries impairment is oxidative stress and atherosclerosis. Hyperglycemia leads to deactivation of antiatherogenic nitric oxide which results in the increase of pro-inflammatory factors and finally in foam cells and atherosclerotic plaques formation. The mechanism described above leads to arteries' damage, which, in most cases, starts in vessel with a small diameter.

Aims of the study

The main aim of this study was to assess the changes that occur in retinal microcirculation among patients with type 1 diabetes using scanning laser Doppler Flowmetry.

1. Assessment of retinal blood flow and morphology of retinal arterioles among patients with type 1 diabetes
2. Assessment of changes in retinal microcirculation depending on diabetes duration.

Materials and Methods

One hundred fifty eight patients with type 1 diabetes were enrolled in the study from the Hypertension and Diabetology Clinic, and from the tertiary care Diabetes Outpatient Clinic at the University Clinical Centre in Gdańsk. A control group of 38 age-adjusted healthy volunteers with no history of diabetes were also recruited. Patients with diabetes were divided into 3 groups based on diabetes duration: group A – with diabetes length less than 1 year (*de novo* diabetes), group B – with duration of diabetes between 1 and 10 years, and group C, with > 10 years of history of the disease. 40 patients were recruited to group A (17 women; 43%) with mean age 25.2 ± 5.1 years, to group B: 57 patients (22 women 39%), mean age 24.0 ± 4.9 years and to group C: 61 patients (32 women; 53%), mean age 25.3 ± 5.0 years. 38 volunteers were recruited to control group (19 women; 50%) with mean age 24.8 ± 3.6 years. Medical history was gathered and every patient underwent a physical examination. Participants with diabetes were asked to fill in a questionnaire about the symptoms of diabetes and occurrence of autoimmune disease in patients or their families.

All participants had 3 measurements of systolic blood pressure, diastolic blood pressure and heart pulse rate taken on the brachial artery using Omron M6 in 3-minutes intervals. Mean arterial pressure and pulse pressure was calculated. All blood pressure parameters values of the 3 measurements were averaged. Fundi of right non-mydratic eyes of patients were measured using Heidelberg Retina Flowmetry in the morning between 8:00 and 12:00 after 10 minutes of rest, in a sitting position in a room with atmospheric temperature 20-22° C. In each person, a pre- test measurement was performed to eliminate white coat effect and stress impact on the final results. The pre-test images were not analyzed. Then, 3-6 images were taken over a straight temporal arteriole, lying in a distance of about 2 mm from optic disk. Obtained data were entered in MS Excel Spreadsheet (Microsoft, Medical University of Gdańsk licence). Data were analyzed using Statistica v. 10 (Statsoft PL, Medical University of Gdańsk licence). The data distributions were checked using Shapiro-Wilk

test. Depending on the fact if hypotheses were fulfilled or not, parametric and nonparametric tests (one-way ANOVA, Friedman's ANOVA) were used. Furthermore Pearson's and Speraman's correlation coefficients were calculated. In multivariate analysis multiple regressions was performed to structure the key retinal parameters (wall-to-lumen ratio – WLR, retinal capillary flow - RCF). Results with $p < 0.05$ were qualified as statistically important.

Results

No difference in age or BMI was found between patients with diabetes and the control group. HbA1C was significantly higher among patients with diabetes *de novo*, while results in group B and C were similar.

Inverse relationship between retinal arterioles morphology and retinal capillary flow (WLR vs. RCF) was detected among diabetic patients. Consistent relationship between morphology and retinal capillary resistance WLR vs. RVR) was observed. Highest WLR parameters were diagnosed among patients with >10 years of diabetes, no differences between other groups were found.

Highest retinal capillary flow (RCF) was in the group of patients with < 1 year history of diabetes and we found a significant difference comparing to patients with intermediate and long duration of the disease (respectively $p = 0.007$ and $p = 0.008$). RCF measurements in control group were not significantly different comparing to other groups.

No statistical differences were found in retinal capillary resistance (RVR) between groups, but a rising trend was found for RVR due to diabetes duration (p for trend = 0.03).

Highest values of systolic blood pressure were found among patients with > 10 years of diabetes duration. Both in groups with intermediate and long diabetes duration systolic blood pressure were significantly different comparing to patients with diabetes history <1 year. By the contrast in the last group lowest values of diastolic pressure were found, being different from values in group with > 10 years of diabetes duration and control group. Heart

rate values were highest among patients with longest history of diabetes, which was different from all other groups.

Questionnaire was completed by respectively 72.5%, 91.2% and 91.8% of patient's groups. Diabetic ketoacidosis occurred in 6 out of 29 (20.7%) of patients with *de novo* diabetes, while in other groups it was diagnosed in 21 out of 52 and 27 out of 56 patients (respectively 40.3% and 48.2%). Episodes of hypoglycemia occurred in almost half (48.3%) of patients with diabetes < 1 year of duration and nearly all patients with longer history of the disease (respectively 94% and 93%).

Presence of other autoimmune disease was declared by 13.8% of patients with diabetes shorter than 1 year, 21.2% among patients with diabetes duration 1-10 years and 30.4% in group with length of the disease > 10 years. Among patients in following groups based on diabetes duration, higher percentage of family history of diabetes type 1 and other autoimmune disease was observed. Only exception present in our observation was found in group with diabetes duration > 10 years, who declared lower percentage of family members with autoimmune diseases comparing to the group with 1-10 years history of diabetes (respectively 14.3% vs. 19.2%).

Conclusions

New onset of diabetes is characterized by increase in retinal flow, which is similar to hyperfiltration observed in renal circulation in corresponding stage of the disease. This mechanism may precede the development of diabetes-mediated organ damage. Diabetes duration determines adverse structural functional changes in retinal arterioles promoting increases in wall thickness and higher retinal resistance, respectively. This phenomenon observed in type 1 diabetes mellitus is not related to the age of patients and occurs prior to the onset of clinically overt hypertension.

PIŚMIENNICTWO

1. Szczeklik A. Gajewski P. *Interna Szczeklika. Podręcznik chorób wewnętrznych.* (Medycyna Praktyczna).
2. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2018. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetol. Prakt.* **4**, 1–94 (2018).
3. Savona-Ventura C., Mogensen C.E. *Historia cukrzycy.* (Urban & Partner, 2011).
4. IDF diabetes atlas - 2017 Atlas. Available at: <http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html>.
5. Ogurtsova, K. *et al.* IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **128**, 40–50 (2017).
6. Shaw, J. E., Sicree, R. A. & Zimmet, P. Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **87**, 4–14 (2010).
7. *Global report on diabetes.* (World Health Organization, 2016).
8. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. **375**, 8 (2010).
9. Creager, M. A., Lüscher, T. F., prepared with the assistance of, Cosentino, F. & Beckman, J. A. Diabetes and Vascular Disease: Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. *Circulation* **108**, 1527–1532 (2003).
10. Boyle, J. J. Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **3**, 63–68 (2005).
11. Gebicka, L. & Didik, J. Nadtlendiozotyn jako czynnik wywołujący stres oksydacyjny. *Postępy Biochem.* **56**, (2010).
12. Harazny J.M. Badania oceniające budowę i funkcję drobnych tętniczek. w *Naciśnienie tętnicze Współczesna diagnostyka i podstawy terapii* (Medycyna Praktyczna, 2014).
13. Mimoun, L., Massin, P. & Steg, G. Retinal microvascularisation abnormalities and cardiovascular risk. *Arch. Cardiovasc. Dis.* **102**, 449–456 (2009).

14. Ritt, M. *et al.* Analysis of retinal arteriolar structure in never-treated patients with essential hypertension. *J. Hypertens.* **26**, 1427–1434 (2008).
15. Stefański, A. I., Harażny, J. & Narkiewicz, K. Nieinwazyjne metody oceny mikrokrążenia siatkówkowego. *Chor. Serca Naczyn* **14**, 333–338 (2017).
16. Pearce, J. M. S. The Ophthalmoscope: Helmholtz's Augenspiegel. *Eur. Neurol.* **61**, 244–249 (2009).
17. Chatterjee, S., Chattopadhyay, S., Hope-Ross, M. & Lip, P. L. Hypertension and the eye: changing perspectives. *J. Hum. Hypertens.* **16**, 667–675 (2002).
18. Zalewska-Żmijewska, A. & Szaflik, J. Badanie dna oka w nadciśnieniu tętniczym. w Januszewicz A. *Nadciśnienie tętnicze Współczesna diagnostyka i podstawy terapii* 55–63 (Medycyna Praktyczna).
19. Limjeerajarus C. Laser Doppler flowmetry basic principle, current clinical and research applications in dentistry. *CU Dent J* 2014; 37:123-126
20. Fredriksson, I., Fors, C. & Johansson, J. Laser Doppler Flowmetry – A Theoretical Framework. (2012).
21. Harażny, J. M., Schmieder, R. E., Welzenbach, J. & Michelson, G. Local application of tropicamide 0.5% reduces retinal capillary blood flow. *Blood Press.* **22**, 371–376 (2013).
22. Tykarski, A. *et al.* Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym — 2015 rok. *Nadciśnienie Tętnicze W Prakt.* **1**, 1–70 (2015).
23. Sphygmomanometers for Self-measurement of Blood Pressure (SBPM)
http://www.dableducational.org/sphygmomanometers/devices_2_sbpm.html#ArmTable.
24. Chahine *et al.* Validation of four devices: Omron M6 Comfort, Omron HEM-7420, Withings BP-800, and Polygreen KP-7670 for home blood pressure measurement according to the European Society of Hypertension International Protocol. *Vasc. Health Risk Manag.* **33** (2014). doi:10.2147/VHRM.S53968

25. Michelson, G., Welzenbach, J., Pal, I. & Harazny, J. Automatic full field analysis of perfusion images gained by scanning laser Doppler flowmetry. *Br. J. Ophthalmol.* **82**, 1294–1300 (1998).
26. Harazny, J. M. *et al.* New software analyses increase the reliability of measurements of retinal arterioles morphology by scanning laser Doppler flowmetry in humans: *J. Hypertens.* **29**, 777–782 (2011).
27. Michelson G., Welzenbach J., Pal. I. *et al.* Automatic full field analysis of perfusion images gained by scanning laser Doppler Flowmetry. *Br J Ophtalmol* 1998; 82 (11):1294-1300.
28. Jumar, A. *et al.* Retinal Capillary Rarefaction in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *PLOS ONE* **11**, e0162608 (2016).
29. Lorenzi, M. *et al.* Retinal haemodynamics in individuals with well-controlled type 1 diabetes. *Diabetologia* **51**, 361–364 (2008).
30. Pemp, B. *et al.* Retinal Blood Flow in Type 1 Diabetic Patients With No or Mild Diabetic Retinopathy During Euglycemic Clamp. *Diabetes Care* **33**, 2038–2042 (2010).
31. Grunwald, J. E., Riva, C. E., Brucker, A. J., Sinclair, S. H. & Petrig, B. L. Altered retinal vascular response to 100% oxygen breathing in diabetes mellitus. *Ophthalmology* **91**, 1447–1452 (1984).
32. Mandecka, A. *et al.* Abnormal retinal autoregulation is detected by provoked stimulation with flicker light in well-controlled patients with type 1 diabetes without retinopathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **86**, 51–55 (2009).
33. Nguyen, H.-T. *et al.* Retinal blood flow is increased in type 1 diabetes mellitus patients with advanced stages of retinopathy. *BMC Endocr. Disord.* **16**, (2016).
34. Okada, R. *et al.* Glomerular hyperfiltration in prediabetes and prehypertension. *Nephrol. Dial. Transplant.* **27**, 1821–1825 (2012).

35. Bjornstad, P., Cherney, D. Z., Maahs, D. M. & Nadeau, K. J. Diabetic Kidney Disease in Adolescents With Type 2 Diabetes: New Insights and Potential Therapies. *Curr. Diab. Rep.* **16**, (2016).
36. Bjornstad, P. *et al.* Rapid GFR decline is associated with renal hyperfiltration and impaired GFR in adults with Type 1 diabetes. *Nephrol. Dial. Transplant.* **30**, 1706–1711 (2015).
37. Coutinho, M., Gerstein, H. C., Wang, Y. & Yusuf, S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care* **22**, 233–240 (1999).
38. Sarwar, N. *et al.* Markers of Dysglycaemia and Risk of Coronary Heart Disease in People without Diabetes: Reykjavik Prospective Study and Systematic Review. *PLoS Med.* **7**, e1000278 (2010).
39. Nathan, D. M. & for the DCCT/EDIC Research Group. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Overview. *Diabetes Care* **37**, 9–16 (2014).
40. Aiello, L. P. & for the DCCT/EDIC Research Group. Diabetic Retinopathy and Other Ocular Findings in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study. *Diabetes Care* **37**, 17–23 (2014).
41. Lachin, J. M., Orchard, T. J., Nathan, D. M. & DCCT/EDIC Research Group. Update on cardiovascular outcomes at 30 years of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* **37**, 39–43 (2014).
42. Intensive Diabetes Treatment and Cardiovascular Disease in Patients with Type 1 Diabetes. *N. Engl. J. Med.* **353**, 2643–2653 (2005).
43. Intensive Diabetes Therapy and Carotid Intima–Media Thickness in Type 1 Diabetes Mellitus. *N. Engl. J. Med.* **348**, 2294–2303 (2003).

44. Lachin, J. M. *et al.* Association of Glycemic Variability in Type 1 Diabetes With Progression of Microvascular Outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* **40**, 777–783 (2017).
45. Rizzoni, D. *et al.* Prognostic Significance of Small-Artery Structure in Hypertension. *Circulation* **108**, 2230–2235 (2003).
46. Wong, T. Y. *et al.* Retinal microvascular abnormalities and incident stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Lancet Lond. Engl.* **358**, 1134–1140 (2001).
47. Park, J. B. & Schiffrin, E. L. Small artery remodeling is the most prevalent (earliest?) form of target organ damage in mild essential hypertension. *J. Hypertens.* **19**, 921–930 (2001).
48. Intengan, H. D. & Schiffrin, E. L. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertens. Dallas Tex 1979* **38**, 581–587 (2001).
49. Salvetti, M. *et al.* Relationship of wall-to-lumen ratio of retinal arterioles with clinic and 24-hour blood pressure. *Hypertens. Dallas Tex 1979* **63**, 1110–1115 (2014).
50. Gosk-Przybylek, M. *et al.* 7D.11: RETINAL ARTERIOLAR STRUCTURE IN PATIENTS WITH PRIMARY ALDOSTERONISM. *J. Hypertens.* **33 Suppl 1-ESH 2015 Abstract Book**, e103 (2015).
51. Prejbisz, A. *et al.* 7D.07: RETINAL ARTERIOLAR STRUCTURE IN PATIENTS WITH PHEOCHROMOCYTOMA. *J. Hypertens.* **33 Suppl 1**, e102 (2015).
52. Harazny, J. M. *et al.* Increased Wall:Lumen Ratio of Retinal Arterioles in Male Patients With a History of a Cerebrovascular Event. *Hypertension* **50**, 623–629 (2007).
53. Paini, A. *et al.* Carotid stiffness is significantly correlated with wall-to-lumen ratio of retinal arterioles: *J. Hypertens.* **36**, 580–586 (2018).
54. Folkow, B. Physiological aspects of primary hypertension. *Physiol. Rev.* **62**, 347–504 (1982).
55. Akima, T. *et al.* Systemic peripheral vascular resistance as a determinant of functional cardiac reserve in response to exercise in patients with heart disease. *Angiology* **58**, 463–471 (2007).

56. Ledoux, J., Gee, D. M. & Leblanc, N. Increased peripheral resistance in heart failure: new evidence suggests an alteration in vascular smooth muscle function. *Br. J. Pharmacol.* **139**, 1245–1248 (2003).
57. Imadojemu, V. A., Gleeson, K., Gray, K. S., Sinoway, L. I. & Leuenberger, U. A. Obstructive Apnea during Sleep Is Associated with Peripheral Vasoconstriction. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **165**, 61–66 (2002).
58. Matthys, D., Craen, M., De Wolf, D., Vande Walle, J. & Verhaaren, H. Reduced decrease of peripheral vascular resistance during exercise in young type I diabetic patients. *Diabetes Care* **19**, 1286–1288 (1996).
59. Kannenkeril, D. *et al.* Retinal vascular resistance in arterial hypertension. *Blood Press.* **27**, 82–87 (2018).
60. Pietrzak, I., Mianowska, B., Gadzicka, A., Młynarski, W. & Szadkowska, A. Blood pressure in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus--the influence of body mass index and fat mass. *Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab.* **15**, 240–245 (2009).
61. Williams, B. *et al.* [2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension]. *Kardiol. Pol.* **77**, 71–159 (2019).
62. de Oliveira, S. *et al.* Elevated glycated hemoglobin levels impair blood pressure in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabetol. Metab. Syndr.* **8**, (2016).
63. Klein, R. Relationship of Blood Pressure to Retinal Vessel Diameter in Type 1 Diabetes Mellitus. *Arch. Ophthalmol.* **128**, 198 (2010).
64. Rodrigues, T. C. *et al.* Masked hypertension, nocturnal blood pressure and retinopathy in normotensive patients with type 1 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **87**, 240–245 (2010).
65. Yang, G. K., Maahs, D. M., Perkins, B. A. & Cherney, D. Z. I. Renal Hyperfiltration and Systemic Blood Pressure in Patients with Uncomplicated Type 1 Diabetes Mellitus. *PLoS ONE* **8**, e68908 (2013).

66. Wilson, L. C. *et al.* Resting heart rate variability and exercise capacity in Type 1 diabetes. *Physiol. Rep.* **5**, e13248 (2017).
67. Laurent, S. *et al.* Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur. Heart J.* **27**, 2588–2605 (2006).
68. Buda, V. A., Ciobanu, D. M. & Roman, G. PULSE PRESSURE IS MORE RELEVANT THAN SYSTOLIC AND DIASTOLIC BLOOD PRESSURE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES AND CARDIOVASCULAR DISEASE. *Med. Pharm. Rep.* **91**, 408–413 (2018).
69. Gordin, D. *et al.* Pulse Pressure Predicts Incident Cardiovascular Disease but Not Diabetic Nephropathy in Patients With Type 1 Diabetes (The FinnDiane Study). *Diabetes Care* **34**, 886–891 (2011).
70. Goworek, M., Madej, A., Suwała, S. & Szadkowska, A. The prevalence of autoimmune diseases in patients with type 1 diabetes and in their relatives. *Clin. Diabetol.* **2**, 9–13 (2013).
71. Klenczar, K., Deja, G., Kalina-Faska, B. & Jarosz-Chobot, P. [Myasthenia gravis, Graves-Basedow disease and other autoimmune diseases in patient with diabetes type 1 - APS-3 case report, therapeutic complications]. *Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab.* **23**, 159–164 (2017).
72. Cukrzyca tom 1-2 - Jacek Sieradzki, Via Medica. Gdańsk 2016.
73. Witek, P. R., Witek, J. & Pańkowska, E. [Type 1 diabetes-associated autoimmune diseases: screening, diagnostic principles and management]. *Med. Wiek Rozwoj.* **16**, 23–34 (2012).
74. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Diabetes* **46**, 271–286 (1997).
75. Tłuczykont, M., Molsa, M., Markowicz, A. & Strojek, K. The prevalence of hypoglycemic symptoms in diabetic patients treated in outpatient conditions. *Clin. Diabetol.* **3**, 57–61 (2014).

SPIS TABEL

Tabela 1. Porównanie wybranych parametrów klinicznych w badanych grupach. Test ANOVA jednoczynnikowa.....	27
Tabela 2. Podsumowanie odpowiedzi na pytania zawarte w ankiecie dedykowanej pacjentom z cukrzycą typu 1.	30
Tabela 3. Porównanie zmiennych hemodynamicznych pomiędzy grupami. Test ANOVA jednoczynnikowa.....	34
Tabela 4. Porównanie parametrów pomocniczych oceny naczyń i przepływu siatkówkowego w badaniu SLDF. Test jednoczynnikowa ANOVA.....	35
Tabela 5. Regresja wieloraka. Zmienna objaśniana: WLR; $R^2_{\text{modelu}}=0,40$; $P<0,001$	40
Tabela 6. Regresja wieloraka. Zmienna objaśniana: WLR (z wyłączeniem grupy pacjentów z T1DM <1 roku); $R^2=0,36$ $P=0,01$	40
Tabela 7. Współczynniki korelacji rang Spearmana dla zmiennej przepływu siatkówkowego (RCF) i HbA1c w zależności od czasu trwania cukrzycy typu 1.	44

SPIS RYCIN

<i>Rycina 1. Obraz tętniczki i żyły siatkówkowej w badaniu skaningowej laserowej przepływometrii dopplerowskiej.</i>	13
<i>Rycina 2. Schemat podziału pacjentów na grupy badane.</i>	18
<i>Rycina 3. Schemat badania.</i>	20
<i>Rycina 4. Przykładowe badanie przepływu siatkówkowego przy użyciu aparatu HRF (Heidelberg Retina Flowmeter).</i>	25
<i>Rycina 5. Porównanie wartości HbA1c pomiędzy badanymi grupami chorych z cukrzycą typu 1.</i>	28
<i>Rycina 6. Wyniki skurczowego, rozkurczowego i średniego ciśnienia tętniczego krwi w badanych grupach (wartości średnie z odchyleniem standardowym).</i>	31
<i>Rycina 7. Porównanie wartości częstotliwości rytmu serca pomiędzy badanymi grupami w teście jednoczynnikowa ANOVA $p < 0,001$ dla modelu.</i>	32
<i>Rycina 8. Rozrzut wartości częstotliwości rytmu serca względem czasu trwania cukrzycy.</i>	33
<i>Rycina 9. Zależność pomiędzy przepływem siatkówkowym (RCF), a morfologią naczyń siatkówki opisanych wskaźnikiem grubości ściany naczynia do jego światła (WLR).</i>	36
<i>Rycina 10. Zależność pomiędzy oporem siatkówkowym (RVR), a morfologią naczyń siatkówki opisanych wskaźnikiem grubości ściany naczynia do jego światła (WLR).</i>	37
<i>Rycina 11. Wartości WLR w badanych grupach.</i>	38
<i>Rycina 12. Rozrzut wartości WLR względem czasu trwania cukrzycy.</i>	39
<i>Rycina 13. Porównanie wartości zmiennej RVR pomiędzy badanymi grupami. Test jednoczynnikowa ANOVA $p < 0,03$ dla modelu.</i>	41
<i>Rycina 14. Rozrzut wartości oporu siatkówkowego (RVR) względem czasu trwania cukrzycy.</i>	42
<i>Rycina 15. Porównanie przepływów siatkówkowych (RCF) pomiędzy badanymi grupami w teście jednoczynnikowa ANOVA $p = 0,001$ dla modelu.</i>	43
<i>Rycina 16. Rozrzut wartości przepływu siatkówkowego (RCF) względem czasu trwania cukrzycy.</i>	44

KWESTIONARIUSZE WYKORZYSTANE W BADANIU

KWESTIONARIUSZ BADANIA MIKROKRĄŻENIA W GAŁCE OCZNEJ

Nr badania: _____ Nr wizyty: _____ Nr zdjęć: _____

Imię i nazwisko: _____ Wiek: _____ Nr telefonu: _____

Kiedy rozpoznano u Pana/Pani cukrzycę typu 1? _____

Czy stwierdzono kiedyś u Pana/Pani podwyższony poziom cukru we krwi?

Tak ☐ Nie ☐

Czy występowało u Pana/Pani nadmierne pragnienie? Tak ☐ Nie ☐

Czy występowało u Pana/Pani nadmierne oddawanie moczu? Tak ☐ Nie ☐

Czy w ciągu ostatnich 3 miesięcy wystąpiło u Pana/Pani pogorszenie widzenia?

Tak ☐ Nie ☐

Jeżeli tak to na czym polegało? _____

Czy wystąpiła u Pana/Pani kwasica ketonowa? Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Czy występowały u Pana/Pani hipoglikemie? Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Czy stwierdzono u Pana/Pani inne choroby autoimmunologiczne? Tak ☐ Nie ☐

Jeżeli tak to jakie? _____

Czy w Pana/Pani rodzinie (rodzice, rodzeństwo, dzieci) występuje cukrzyca t.1?

Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Jeśli tak to u kogo? _____

Czy w Pana/Pani rodzinie (rodzice, rodzeństwo, dzieci) występują inne choroby autoimmunologiczne? Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Jeśli tak to jakie i u kogo? _____

Czy kiedykolwiek stwierdzono u Pana/Pani wadę wzroku?

Jeżeli tak to jaką? _____

Data i podpis _____

Załącznik 1. Kwestionariusz badawczy dla pacjentów z cukrzycą *de novo*.

KWESTIONARIUSZ BADANIA MIKROKRĄŻENIA W GAŁCIE OCZNEJ

Nr badania: _____ Nr wizyty: _____ Nr zdjęć: _____

Imię i nazwisko: _____ Wiek: ____ Nr telefonu: _____

Kiedy rozpoznano u Pana/Pani cukrzycę typu 1? _____

Czy stwierdzono kiedyś u Pana/Pani retinopatię (uszkodzenie oka)?

Tak ☐ Nie ☐

Czy występowało u Pana/Pani nefropatię (uszkodzenie nerek)? Tak ☐ Nie ☐

Czy występowało u Pana/Pani neuropatię (mrowienie, drętwienie palców)? Tak ☐

Nie ☐

Czy w ciągu ostatnich 3 miesięcy wystąpiło u Pana/Pani pogorszenie widzenia?

Tak ☐ Nie ☐

Jeżeli tak to na czym polegało? _____

Czy wystąpiła u Pana/Pani kwasica ketonowa? Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Czy występowały u Pana/Pani hipoglikemie? Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Czy stwierdzono u Pana/Pani inne choroby autoimmunologiczne? Tak ☐ Nie ☐

Jeżeli tak to jakie? _____

Czy w Pana/Pani rodzinie (rodzice, rodzeństwo, dzieci) występuje cukrzyca t.1?

Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Jeśli tak to u kogo? _____

Czy w Pana/Pani rodzinie (rodzice, rodzeństwo, dzieci) występują inne choroby

autoimmunologiczne? Tak ☐ Nie ☐ Nie wiem ☐

Jeśli tak to jakie i u kogo? _____

Czy kiedykolwiek stwierdzono u Pana/Pani wadę wzroku?

Jeżeli tak to jaką? _____

Data i podpis _____

Załącznik 2. Kwestionariusz badawczy dla pacjentów z wieloletnią cukrzycą.