

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii

Wydział Lekarski II

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Dorota Zozulińska-Ziółkiewicz

Katarzyna Borucka

**OCENA MIKROKRAŻENIA ZA POMOCĄ LASEROWEJ PRZEPLYWOMETRII
DOPPLEROWSKIEJ U CHORYCH NA CUKRZYCĘ TYPU 1**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Bogna Wierusz-Wysocka

Poznań 2014

Serdeczne podziękowania dla

Pani Profesor Bogny Wierusz-Wysockiej

za poświęcony czas, cenne rady oraz wsparcie

naukowe przy realizacji pracy.

Wszystkim Koleżankom i Kolegom z Kliniki

dziękuję za udzieloną pomoc i pozytywną motywację
oraz wspianą atmosferę, w której mogę pracować.

Dziękuję moim Najbliższym

za wyrozumiałość, cierpliwość i wsparcie.

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE	6
WSTĘP	9
1. Wprowadzenie	9
2. Mikrokrążenie	10
2.1. Budowa mikrokrążenia i jego funkcja w organizmie	10
2.2. Zmiany zachodzące w mikrokrążeniu pod wpływem hiperglikemii	11
2.3. Mikrokrążenie skóry	14
3. Ocena funkcji mikrokrążenia	14
3.1. Metody służące do oceny mikrokrążenia	14
3.2. Laserowa przepływometria dopplerowska	20
3.3. Testy prowokacyjne służące do oceny reaktywności naczyń mikrokrążenia	21
CEL PRACY	25
MATERIAŁ I METODY	26
1. Grupa badana	26
2. Badanie przedmiotowe	26
3. Badania laboratoryjne	27
4. Ocena obecności przewlekłych powikłań cukrzycy o charakterze mikroangiopatii	28
5. Ocena perfuzji w skórze za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej	29
6. Analiza statystyczna wyników	31
WYNIKI	32
1. Charakterystyka grupy badanej	32
2. Ocena powtarzalności zastosowanej metody	34
3. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z grupą kontrolną	35

4. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 po wyłączeniu osób ze stwierdzonymi powikłaniami choroby, nadciśnieniem tętniczym, palących papierosy, zażywających leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz statyny z grupą kontrolną	36
5. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii i bez powikłań z uwzględnieniem perfuzji w skórze	38
6. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z wartością glikemii w momencie rozpoczęcia badania ≤ 140 mg/dl i powyżej 140 mg/dl	40
7. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z wartością hemoglobiny glikowanej $\leq 7,5\%$ i powyżej 7,5%	41
8. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia	43
9. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 stosujących dodatkowo leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny i statyn z pacjentami nie zażywającymi leków z tych grup	45
10. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 palących papierosy z niepalącymi	47
11. Porównanie kobiet i mężczyzn z cukrzycą typu 1	49
12. Podsumowanie wyników	50
OMÓWIENIE WYNIKÓW	51
WNIOSKI	63
STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM	64
STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM	67
PIŚMIENNICTWO	70
SPIS TABEL	82

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE

ACE-I	inhibitory konwertazy angiotensyny
Ach	acetylocholina
AGEs	zaawansowane produkty glikacji białek
BMI	wskaźnik masy ciała
CChN	cukrzycowa choroba nerek
ChNS	choroba niedokrwienna serca
CRP	białko C-reaktywne
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
EDIC	Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications
EDC	Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study
eGFR	oszacowany wskaźnik filtracji kłębuszkowej
GLUT-2	białko transportujące glukozę
HbA1c	glikowana hemoglobina
HDL	lipoproteiny o dużej gęstości
ICAM	międzykomórkowa molekula adhezyjna
IFIT	intensywna czynnościowa insulinoterapia
IL	interleukina
IQR	rozstęp międzykwartyłowy
LDF	laserowa przepływometria dopplerowska
LDI	obrazowanie metodą laserowej przepływometrii dopplerowskiej
LDL	lipoproteiny o małej gęstości
LTB4	leukotrien B4

LTH	reakcja przekrwienia na miejscowe ogrzewanie
MAPK	kinaza białkowa aktywowana mitogenem
MPO	mieloperoksydaza
MRI	obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego
NAD	dinukleotyd nikotynamido-adeninowy
NADP	fosforan dinukleotydu nikotynamido-adeninowego
NADPH	zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynamido-adeninowego
NF_κB	czynnik jądrowy kappa B
NMR	jądrowy rezonans magnetyczny
NO	tlenek azotu
O₂⁻	anion ponadtlenkowy
OCT	optyczna tomografia koherencyjna
OGTT	doustny test tolerancji glukozy
PAF	czynnik aktywujący płytki krwi
PAI-1	inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu-1
PGI₂	prostacyklina
PKC	kinaza białkowa C
PMN	granulocyty obojętne
PORH	pookluzyjna reakcja przekrwienia
PU	jednostki perfuzji
RAGE	receptory dla AGEs
RR_{sk}	ciśnienie tętnicze krwi skurczowe
RR_{rozk}	ciśnienie tętnicze krwi rozkurczowe

SNP	nitroprusydek sodu
TCH	cholesterol całkowity
TG	trójglicerydy
TGF	tkankowy czynnik wzrostu
TNF	czynnik martwicy guza
TXA₂	tromboksan A ₂
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VCAM	naczyniowa molekula adhezyjna
VEGF	naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu
WHR	wskaźnik talia-biodro

WSTĘP

1. Wprowadzenie

Odkrycie i zastosowanie insuliny, wprowadzenie coraz nowocześniejszych leków przeciwdziałających hiperglikemii i jej negatywnym skutkom oraz poprawa opieki diabetologicznej przyczyniły się do znacznego wydłużenia życia chorych na cukrzycę. Za zwiększoną śmiertelność w tej grupie osób odpowiedzialne są przewlekłe powikłania zarówno o charakterze mikroangiopatii jak i makroangiopatii [1]. Wiodącą przyczyną zwiększonej śmiertelności wśród chorych na cukrzycę typu 1 są choroby układu sercowo-naczyniowego [2]. Pomimo, że częstość ich występowania uległa zmniejszeniu stanowią one przyczynę 31% zgonów mężczyzn oraz 27% zgonów kobiet z cukrzycą typu 1 [3]. Podstawowym zadaniem w opiece nad chorym na cukrzycę jest indywidualizacja strategii i celów leczenia prowadząca do poprawy kontroli metabolicznej. Tylko wówczas istnieje szansa zmniejszenia ryzyka rozwoju powikłań, przede wszystkim o charakterze mikroangiopatii [4,5,6]. U większości chorych z cukrzycą typu 1 zaleca się leczenie metodą intensywnej czynnościowej insulinoterapii (IFIT), która daje możliwość najlepszego odwzorowania dobowego rytmu sekrecji insuliny. Pozwala ona na elastyczne dostosowanie leczenia do sposobu żywienia i aktywności pacjenta. Badania udowodniły skuteczność tej metody leczenia w zmniejszeniu nie tylko ryzyka wystąpienia, ale także progresji cukrzycowej choroby nerek [7] i retinopatii [8]. U części pacjentów z cukrzycą typu 1 (40-60% w zależności od kryteriów rozpoznania) wkrótce po rozpoczęciu terapii insuliną, występuje zjawisko częściowej remisji, charakteryzujące się wyraźnym zmniejszeniem zapotrzebowania na insulinę egzogenną. Zachowana u nich nawet w niewielkim stopniu sekrecja insuliny daje szansę na lepsze wyrównanie metaboliczne cukrzycy oraz zmniejsza ryzyko rozwoju powikłań o charakterze mikroangiopatii cukrzycowej [9]. Niestety, pomimo postępów w leczeniu nadal nie udaje się całkowicie wyeliminować ich rozwoju. Pisarczyk-Wiza i wsp. wykazali, że w populacji z ponad 20-letnim wywiadem cukrzycy typu 1 tylko jedna osoba na dziesięć ma szansę uniknąć powikłań o charakterze mikroangiopatii [10]. Wiadomo obecnie, że duże znaczenie w ich patogenezie ma nie tylko aktualne wyrównanie metaboliczne, ale także skuteczne leczenie cukrzycy od samego początku rozpoznania. Zjawisko „pamięci hiperglikemii” odpowiedzialne jest bowiem za rozwój przewlekłych powikłań choroby nawet w okresie dobrej kontroli metabolicznej, a wartości hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) w pierwszym roku leczenia są czynnikiem prognostycznym wyrównania metabolicznego w późniejszym

okresie [11,12]. U pacjentów z cukrzycą typu 1 wykazano, że przewlekłe powikłania o charakterze makroangiopatii ujawniają się klinicznie zazwyczaj po wystąpieniu powikłań mikroangiopatycznych [13], a szczególnie nefropatii cukrzycowej [14]. Niezwykle ważnym zadaniem jest odpowiednia edukacja chorych. W badaniach Araszkievicz A. i wsp. osoby z większą wiedzą na temat cukrzycy od początku choroby, po 11-letnim okresie obserwacji, charakteryzowały się mniejszą grubością kompleksu intima-media, będącego markerem subklinicznej miażdżycy i makroangiopatii [15].

2. Mikrokrążenie

2.2 Budowa mikrokrążenia i jego funkcja w organizmie

Mikrokrążenie stanowi istotną składową układu krążenia, zlokalizowaną między jego częścią tętniczą a żylną. Zbudowane jest z naczyń o średnicy poniżej 150 μm : naczyń włosowatych, tętniczek, drobnych żyłek, małych naczyń chłonnych, zespoleń tętniczo-żylnych. Stanowią one około 99% całkowitej liczby naczyń krwionośnych. Tętniczka doprowadzająca krew do jednostki mikrokrążenia ma przekrój ok. 100 μm . Odchodzi od niej naczynia przedwłosowate o średnicy 10-20 μm , których ściany zawierają okrężnie ułożone komórki mięśniowe. Pełnią one rolę zwieraczy naczyń przedwłosowatych i regulują przepływ przez włosniczkę. Naczynia tętnicze i żyłne połączone są za pomocą metarterioli, od których odchodzi sieć naczyń włosowatych i zespolenia tętniczo-żyłne. Umożliwiają one ominięcie sieci włosniczek. Ściany zespolień są unerwione przez włókna współczulne, a skurcz znajdujących się tam mięśni zamyka ich światło. W następstwie, krew przepływa przez zespolenia tętniczo-żyłne z pominięciem wymiany odżywczej. Odgrywa to ważną rolę w termoregulacji, gdyż zespolenia te znajdują się głównie w dystalnych częściach ciała. Całkowita powierzchnia naczyń włosowatych wynosi około 300 m^2 , ale w spoczynku otwarte jest tylko 25% spośród nich. Ściana naczyń włosowatych zbudowana jest z jednej warstwy komórek śródbłonna oraz z łącznotkankowej błony podstawnej. Ich średnica wynosi 5-10 μm a długość około 750 μm . Włosniczki pełnią rolę selektywnej bariery. Wielkość dyfuzji zależy od przepuszczalności ściany, rozkładu ciśnień oraz powierzchni wymiany, czyli liczby naczyń, przez które przepływa krew. Wielkość powierzchni wymiany związana jest ze stanem zwieraczy przedwłosniczkowych, które podlegają regulacji hormonalnej, metabolicznej i nerwowej. W narządach o intensywnej przemianie materii tętniczki są słabo unerwione (tylko w minimalnym stopniu reagują na bodźce nerwowe), a w regulacji przepływu najważniejszą rolę odgrywa ujemne

sprężenie zwrotne zależne od stężeń metabolitów w danej tkance, regulujące skurcz toniczny mięśniówki gładkiej naczyń. Proces autoregulacji przepływu tkankowego jest zależny od substancji produkowanych w komórkach śródbłonka: naczyniorozszerzających {tlenek azotu (NO) i prostacyklina (PGI₂)} oraz naczynioskurczowych (endotelina i śródbłonkowy czynnik zwężający naczynia). Konsekwencją upośledzenia funkcji śródbłonka w następstwie hiperglikemii, nadciśnienia tętniczego czy przewlekłego procesu zapalnego są zaburzenia czynności zaopatrywanego narządu.

Skóra i mięśnie szkieletowe cechują się stosunkowo niskim metabolizmem spoczynkowym, dlatego dominującą rolę w regulacji przepływu w ich mikrokrążeniu pełnią pozazwojowe włókna układu współczulnego. Odpowiadają one za sprawną regulację termiczną. Przepływ krwi w naczyniach mikrokrążenia charakteryzują dwa prawa: efekt Fahraeusa i efekt Fahraeusa-Lindquista. Efekt Fahraeusa umożliwia redystrybucję przepływu erytrocytów do środka naczynia co zwiększa prędkość przesuwania się krwinek czerwonych w stosunku do osocza i prowadzi do zmniejszenia hematokrytu w drobnych naczyniach obwodowych. Efekt Fahraeusa-Lindquista wiąże się z kolei z obniżeniem lepkości krwi w miarę zmniejszania przekroju naczynia. Obydwa te efekty związane są z obecnością na powierzchni śródbłonka warstwy zbudowanej z glikokaliks: glikozaminoglikanów i zaabsorbowanych białek. Jej obecność uniemożliwia przepływ elementów morfotycznych krwi i osocza w bezpośredniej bliskości ściany naczyniowej, co reguluje wrażliwość śródbłonka na czynniki mechaniczne oraz moduluje dyfuzję i interakcję komórek śródbłonka i elementów morfotycznych krwi, zwłaszcza leukocytów w naczyniach mikrokrążenia [16,17].

2.2 Zmiany zachodzące w mikrokrążeniu pod wpływem hiperglikemii

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań ustalono, że hiperglikemia i metabolity przemiany glukozy powstające w następstwie jej nadmiaru odpowiedzialne są za rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy. Powikłania te dzielone są tradycyjnie na obejmujące małe naczynia oraz mikrokrążenie (mikroangiopatia), duże naczynia (makroangiopatia) oraz nerwy (neuropatia). W warunkach hiperglikemii dochodzi do powstawania niekorzystnych zmian w komórkach śródbłonka oraz elementach morfotycznych krwi, szczególnie granulocytach obojętnochłonnych. Komórki te zaopatrzone są w układ białek transportujących (GLUT 2). Skutkuje to brakiem ujemnego sprężenia zwrotnego podczas transportu glukozy do wnętrza komórek. W tym wypadku

ponadfizjologiczne stężenia glukozy powodują nasilenie jej metabolizmu wewnątrzkomórkowego z zaburzeniem czynności mitochondriów [18]. Dochodzi również do aktywacji szlaków metabolicznych, biorących udział w patogenezie przewlekłych powikłań cukrzycy. Należą do nich: szlak poliolozy, szlak prowadzący do powstawania produktów późnej glikacji białek (AGEs), szlak aktywujący kinazę białkową C (PKC) oraz szlak heksozaminy [19,20]. Aktywacja układu kinazy białkowej C pod wpływem produkowanego w zwiększonej ilości w warunkach nadmiaru glukozy diacyloglicerolu wywiera niekorzystny efekt na funkcjonowanie komórki. Prowadzi do zmniejszenia produkcji tlenu azotu oraz zwiększenia produkcji endoteliny 1. Konsekwencją tych zaburzeń jest przewaga czynników naczynioskurczowych nad naczyniorelaksacyjnymi. Aktywacja kinazy białkowej C indukuje wzrost syntezy tkankowego czynnika wzrostu β (TGF β), stymulującego produkcję fibronektyny i kolagenu IV, co prowadzi do pogrubienia błony podstawnej, rozplemu mezangium i zwężenia naczyń włosowatych. Kolejnym efektem kinazy białkowej C jest wzrost stężenia inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1) oraz prozapalnego jądrowego czynnika transkrypcyjnego kappa B (NF κ B). Prowadzi to do zahamowania fibrynolizy, nasilenia krzepnięcia oraz uruchomienia w obrębie ściany naczyniowej kaskady zjawisk typowych dla przewlekłej reakcji zapalnej. Kinaza białkowa C aktywuje ponadto oksydazę NAD(P)H, prowadząc do wzrostu ilości wolnych rodników [21]. W przypadku ponadfizjologicznych stężeń glukozy dochodzi również do nasilonej nieenzymatycznej glikacji białek. W następstwie tej reakcji powstają początkowo wczesne produkty glikacji (ketoaminy), a następnie nieodwracalne pośrednie i zaawansowane produkty glikacji białek. Proces ten odpowiedzialny jest za zmianę budowy i funkcji białek strukturalnych, receptorowych, transportowych i enzymatycznych. Wykazano również, że glikacja białek mitochondrialnego łańcucha oddechowego zmienia długotrwale czynność tych komórek i prowadzi do zjawiska określanego mianem „pamięci hiperglikemii” [22]. AGEs działając poprzez swoiste receptory (RAGE) doprowadzają do aktywacji komórek śródbłonna, monocytów, makrofagów i komórek mezangium. Konsekwencją tego procesu jest produkcja prozapalnych cytokin (IL-1, TNF α , IL-6) i toksycznych pochodnych tlenu oraz aktywacja czynników transkrypcyjnych [23]. Kolejnym aktywowanym w warunkach nadmiaru glukozy szlakiem jest szlak heksozaminy. Odpowiedzialny jest on za gromadzenie w komórkach urydynodwufosfo-N-acetyloglukozaminy (UDP-GlcNAc), co prowadzi do zmiany ich struktury molekularnej. Przemiana heksozaminowa poprzez modyfikację czynników transkrypcyjnych, białek jądrowych, strukturalnych i cytozolu wpływa na ekspresję genów, wzrost i podział

komórek, aktywność i strukturę cytoszkieletu. Przyczynia się również do wzrostu produkcji cytokin prozapalnych (PAI-1), tkankowych czynników wzrostu (TGF α , TGF β 1) oraz macierzy pozakomórkowej [24]. Uruchomienie tych alternatywnych szlaków metabolicznych prowadzi do zmniejszenia stosunku NAD⁺/NADH. Wywołuje to stan określany jako „metaboliczna hipoksja” [25]. Prowadzi to z kolei do zwiększonej produkcji wolnych rodników tlenowych i rozwój „stresu oksydacyjnego”. Nadmiar aktywnych form tlenu wywołuje oksydację i peroksydację lipidów, fragmentację białek, kwasów nukleinowych a także inaktywację wielu enzymów. Procesy te indukują dysfunkcję śródbłonna i doprowadzają do nasilenia adhezji leukocytów i płytek krwi do jego powierzchni. Istotną rolę w nasileniu stresu oksydacyjnego odgrywają również granulocyty obojętnochłonne (PMN). Aktywacja tych komórek zwiększa ich zdolność do adhezji, agregacji, migracji przez ścianę naczynia oraz ukierunkowanego ruchu. Zapoczątkowuje to kaskadę zjawisk charakterystycznych dla reakcji zapalnej. Dodatkowo pobudzone granulocyty są źródłem aktywnych form tlenu, cytokin prozapalnych, tromboksanu A₂ (TXA₂), leukotrienu B₄ (LTB₄) oraz czynnika aktywującego płytki (PAF) [26]. Pod wpływem stymulacji PMN uwalniają ze swoich ziarnistości mieloperoksydazę (MPO), elastazę, katepsyny, proteinazę i lizozym. Rozwijający się subkliniczny stan zapalny prowadzi do przebudowy ściany naczyniowej, czego konsekwencją jest pogorszenie przepływu w mikrokrążeniu oraz hipoksja tkanek [27]. Będąca następstwem m.in. hiperglikemii zaburzona interakcja między komórkami odpowiedzi zapalnej a śródbłonkiem, stanowi podłoże rozwoju naczyniowych powikłań cukrzycy [28,29].

U pacjentów z cukrzycą, przed klinicznym ujawnieniem się powikłań mikroangiopatycznych, dochodzi w pierwszej kolejności do szeregu zmian czynnościowych w obrębie mikrokrążenia [30,31,32]. Obserwuje się wówczas zwiększony przepływ krwi w mikrokrążeniu, rozszerzenie kapilar, zaburzenia reaktywności ściany naczyń oraz upośledzenie usuwania produktów przemiany materii z tkanek. Zmiany zachodzące na tym etapie choroby mają jeszcze charakter odwracalny. Dopiero długotrwałe oddziaływanie hiperglikemii prowadzi do rozwoju zmian strukturalnych warunkujących pogrubienie błony podstawnej, proliferację komórek mięśni gładkich naczyń, zwiększenie filtracji, powstawanie mikrozakrzepów i mikrozawałów [33].

2.3 Mikrokrazenie skóry

Stosunkowo łatwo dostępne badaniu jest mikrokrazenie skóry. Składa się ono z dwóch splotów: powierzchniowego, leżącego na głębokości 400-500 μm i głębokiego, znajdującego się na głębokości 1,9 mm od powierzchni skóry. W kierunku warstwy podstawnej odchodzą od splotu powierzchniowego pętle kapilar o średnicy 10 μm . Oba sploty połączone są ze sobą za pomocą wstępujących arterioli i zstępujących żyłek, między którymi występują anastomozy tętniczo – żyłne najliczniej obecne w obrębie palców, nosa, warg i uszu. Biorą one udział w regulacji temperatury poprzez szybkie zmiany przepływu krwi. Najgłębiej położona tkanka podskórna, pełniąca rolę izolacji termicznej i działająca ochronnie w sposób mechaniczny, unaczyniona jest przez pary tętniczek wstępujących i żyłek zstępujących [34,35]. Większość naczyń mikrokrazenia w skórze (85-90%) uczestniczy w termoregulacji, a tylko 10-15% stanowią odżywcze naczynia włosowate. Prawidłowa wartość przepływu przez mikrokrazenie skóry wynosi około 250 $\text{ml/m}^2/\text{min}$. Odpowiedź wazodylatacyjna po ogrzaniu ma charakter dwuetapowy: początkowo następuje szybki wzrost przepływu, potem jego umiarkowany spadek. W drugiej fazie rozkurcz naczyń zachodzi powoli i osiąga plateau po 25-30 min [36]. W wysokiej temperaturze przepływ w skórze może wzrastać do 2000 $\text{ml/m}^2/\text{min}$. Natomiast przy spadku przepływu poniżej 30 $\text{ml/m}^2/\text{min}$ dochodzi do trwałego uszkodzenia skóry. Zasadniczym czynnikiem regulującym perfuzję skórną jest stymulacja autonomiczna. Stężenie gazów we krwi, aktywność hormonów czy ciśnienie tętnicze mają w tym zakresie drugorzędne znaczenie. W skórze owłosionej obecne są zakończenia układu sympatycznego zarówno o charakterze naczyniorozkurczowym jak i naczynioskurczowym. Skóra nieowłosiona posiada tylko unerwienie naczynioskurczowe.

3. Ocena funkcji mikrokrazenia

3.1. Metody służące do oceny mikrokrazenia

Aktualnie dostępnych jest cały szereg nieinwazyjnych metod służących do oceny mikrokrazenia w skórze. Jednak do tej pory żadna z nich stosowana samodzielnie nie uzyskała powszechnej akceptacji jako klinicznie przydatnej do oceny ryzyka rozwoju przewlekłych powikłań u chorych na cukrzycę.

Kapilaroskopia (Capillaroscopy)

Metoda pozwala na analizę morfologii kapilar i mikrokrążenia w czasie rzeczywistym w obrazie mikroskopowym. Ocenę przeprowadza się w zakresie wałów paznokciowych rąk i stóp. Jest to stosunkowo prosta, powtarzalna i czuła metoda. Zasadniczą jej wadą jest mała głębokość penetracji tkanek [37].

Wideokapilaroskopia (Videocapillaroscopy)

Jest to wariant klasycznej kapilaroskopii, w którym oceny pętli włosniczkowych dokonuje się za pomocą specjalnej ruchomej głowicy wyposażonej w źródło światła i kamerę. Metoda umożliwia uzyskanie większych powiększeń, przesyłanie obrazu do monitora i jego komputerową analizę oraz archiwizację. Wizualizacja mikrokrążenia, głównie wału paznokciowego, następuje w czasie rzeczywistym. Ocenie podlegać może jednak każda okolica ciała (skóra i błony śluzowe) [38].

Obie powyższe metody znajdują szerokie zastosowanie w diagnostyce zmian w mikrokrążeniu zachodzących w przebiegu wielu chorób, np. choroby Raynaud'a [39] i twardziny układowej [40]. Przydatne są również do oceny zaburzeń mikrokrążenia rozwijających się w przebiegu cukrzycy. Zaobserwowano bardziej kręty przebieg oraz poszerzenie pętli naczyń u chorych na cukrzycę w porównaniu do osób zdrowych. Zmiany były bardziej nasilone u osób z dłuższym czasem trwania choroby oraz obecnością przewlekłych powikłań [41,42].

Optyczna tomografia koherencyjna (OCT, Optical coherence tomography)

Metoda ta oparta jest na interferencji światła z tkankami. W celu uzyskania obrazu światło emitowane przez szerokopasmowe diody superluminescencyjne rozdzielane jest na dwie wiązki. Jedną z nich jest wiązką próbki a druga wiązką referencyjną. W celu uzyskania kolorowego obrazu przestrzennego pomiary powtarzane są na różnej głębokości tkanek. Dzięki zastosowaniu tej metody można uzyskać obraz wysokiej rozdzielczości, wyraźnie rozgraniczający poszczególne warstwy ściany naczynia [43]. Zaletą metody jest łatwość użycia, względna niezależność wyniku od badającego, możliwość oceny indywidualnego przepływu w naczyniach mikrokrążenia i wykonywania pomiarów ciągłych. Badaniem objęta jest jednak stosunkowo mała powierzchnia, a ogromna ilość gromadzonych danych wydłuża znacznie czas obliczeniowy i uzyskanie powtarzalnego wyniku. Metoda ta znalazła dotychczas zastosowanie w diagnostyce łuszczycy, ocenie wad

naczyniowych np. naczynek, ocenie rozległości uszkodzenia tkanek w procesie gojenia ran, ocenie zmian w budowie ściany naczyń oraz blaszki miażdżycowej, a także w ocenie przednich części oka oraz siatkówki [44,45]. U chorych z cukrzycą technika ta stosowana jest między innymi do oceny dna oka, w szczególności okolicy plamki. Wykazano, że u chorych na cukrzycę typu 2 bez stwierdzonej retinopatii centralna grubość plamki była mniejsza niż u zdrowych. Różnica ta nie była jednak istotna statystycznie [46]. Lee i wsp. także oceniali grubość błony naczyniowej oka u chorych na cukrzycę, stwierdzając, że jest ona istotnie statystycznie cieńsza w grupie chorych ze zmianami o charakterze retinopatii [47]. Araszkiwicz i wsp. , w swoich badaniach z zastosowaniem optycznej koherentnej tomografii do oceny grubości siatkówki u chorych z cukrzycą typu 1, stwierdzili cieńszą siatkówkę w okolicy plamki oraz mniejszą grubość warstwy włókien nerwowych i komórek zwojowych siatkówki u osób z typem 1 choroby powikłanej retinopatią. Neurodegeneracja siatkówki związana była ściśle z czasem trwania choroby [48].

Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI, Magnetic resonance imaging)

Metoda opiera się na zjawisku jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR). Dodatkowo można ją uzupełnić przez podanie środka kontrastowego, co umożliwia uzyskanie obrazów naczyń krwionośnych [49]. Problemem jest jednak długi czas potrzebny do uzyskania obrazu. Dlatego też metoda ta jest bardziej użyteczna dla rejestrowania stanu spoczynkowego niż przemijającej odpowiedzi układu krążenia na zastosowane testy prowokacyjne. Z kolei jej zaletą jest dobre kontrastowanie tkanek miękkich oraz duża głębokość penetracji. Niestety badania te są kosztowne a tym samym ich dostępność ograniczona. Wartość prognostyczna tej metody oceny mikrokrazenia nie została potwierdzona w badaniach klinicznych. Dokładne zobrazowanie poszczególnych warstw skóry być może pozwoli w przyszłości na ocenę progresji zmian zachodzących w procesach chorobowych lub starzenia [50].

Ortogonalna polaryzacja spektralna (Orthogonal spectral polarization)

Metoda ta wykorzystuje spolaryzowane światło o długości fali 548 nm, które ulega odbiciu od badanej tkanki. Światło rozproszone przez powierzchniowe warstwy narządu blokowane jest przez powtórna polaryzację. Natomiast światło wracające z głębszych warstw skóry nie ulega polaryzacji. Analiza komputerowa ruchu krwinek umożliwia ocenę perfuzji, średnicy naczyń oraz gęstości kapilar. Badanie wykonuje się w okolicy podjęzykowej, w skórze noworodków lub na powierzchni narządów wewnętrznych w

czasie zabiegów chirurgicznych. Badanie jest jednak czasochłonne a wyniki są podatne na artefakty oraz uzależnione od wartości ciśnienia tętniczego i ruchomości badanych powierzchni. Pomiar mają charakter jakościowy [51]. U chorych z cukrzycą typu 1, Nieuwdorp i wsp. oceniając warstwę glikokaliks w okolicy podjęzykowej, wykazali zmniejszoną jego objętość w porównaniu z grupą osób zdrowych. Zmiany te były bardziej nasilone wśród chorych z obecnością mikroalbuminurii [52].

Żyłna pletyzmografia okluzyjna (Venous occlusion plethysmography)

Badanie z zastosowaniem tej metody polega na pomiarze zmian objętości kończyny po zatrzymaniu odpływu żylnego, co doprowadza do zmiany ciśnienia hydrostatycznego w naczyniach. Pozwala na ocenę przepływu krwi i przepuszczalności naczyń w obrębie mięśni szkieletowych kończyn. Technika ta jest czasochłonna i wymaga kompleksowej kalibracji. Wynik wrażliwy jest na zakłócenia związane z ruchem, a niskie ciśnienie rozkurczowe utrudnia jego interpretację. Zaletą tej metody z kolei jest uzyskiwanie wyniku w wartościach bezwzględnych [53]. Hoffman i wsp., dokonując pomiaru przepływu krwi na przedramieniu w spoczynku i po okresie 5-minutowej okluzji u chorych na cukrzycę typu 1 bez powikłań choroby wykazali, że w grupie z gorszym wyrównaniem metabolicznym choroby (HbA_{1C} powyżej 8.3%) wartości pookluzyjnego przepływu są niższe niż w grupie z lepszym wyrównaniem. Wskazywać to może na upośledzoną funkcję śródbłonna [54].

Tkankowa fotometria odbiciowa (Tissue reflectance spectrophotometry)

Metoda ta wykorzystuje rejestrację światła odbitego w spektrum określonej długości fali, charakterystycznej dla hemoglobiny utlenowanej (543 nm i 577 nm) i odtlenowanej (556 nm). Dzięki tej technice można określić wysycenie hemoglobiny tlenem i jej stężenie w kapilarach. Badanie wykonuje się najczęściej na powierzchni skóry oraz błony śluzowej żołądka. Metoda fotometrii jest stosunkowo prosta w użyciu. Pomiar mogą być wykonywane wielokrotnie w krótkim czasie, a uzyskiwany wynik wyrażony jest w jednostkach absolutnych. Wadą tej techniki badawczej jest uzależnienie uzyskiwanych wyników od obecności innych chromoforów tkankowych np. melaniny i cytochromów [51]. U palaczy oraz u osób z ciemną karnacją wykazano istotne statystycznie różnice w pookluzyjnej hiperemii reaktywnej. Nie zaobserwowano jej natomiast u osób chorych na cukrzycę [55].

Spektroskopia bliskiej podczerwieni (Near infrared spectroscopy)

Jest to metoda wykorzystująca światło podczerwone o długości fali 750-1000 nm. Jest ono częściowo absorbowane przez chromofory, np. hemoglobinę, mioglobinę, a częściowo rozpraszane. Ze względów praktycznych technologia ta może być podzielona na dwie grupy: nieabsorpcyjną, umożliwiającą np. monitorowanie prędkości przepływu krwi w mikrokrażeniu [56] oraz absorpcyjną, pozwalającą określić stopień utlenowania i odżywienia tkanek w badanym obszarze mikrokrażenia. Początkowo tę metodę wykorzystywano w okresie okołoperacyjnym do oceny dużych obszarów, zwłaszcza mózgu np. w czasie endarterektomii tętnic szyjnych. Ostatnie badania wskazują jednak, że może być ona przydatna również do oceny powierzchniowych tkanek, np. skóry. Ocenę reakcji mikrokrażenia oraz zaopatrzenia mięśni szkieletowych w tlen przeprowadzono u chorych poddawanych hemodializie. De Blasi i wsp. wykazali, że hemodializa wywołuje istotne zmiany w reaktywności mikrokrażenia oraz w stężeniu hemoglobiny w tkankach, niezależnie od obecności cukrzycy. U chorych z cukrzycą modyfikuje ona dodatkowo przepływ krwi, a także utlenowanie tkanek oraz szybkość metabolizmu [57]. Metoda ta, chociaż jest łatwa w użyciu, to jednak nie mierzy wartości absolutnych. Znając stopień pochłaniania fal można tylko pośrednio wyliczyć średnią saturację hemoglobiny.

Fotopletyzmografia (Photoplethysmography)

Metoda ta służy do oceny zmiany objętości krwi. Polega na pomiarze małych wahań w zakresie intensywności odbitego światła w podczerwieni, związanych ze zmianami perfuzji tkankowej. Fotopletyzmografia ma zbliżone właściwości do laser dopplera w zakresie głębokości penetracji tkanek i zdolności do rozpraszania wiązki światła. Stopień absorpcji wiązki jest zależny od objętości krwi w badanej tkance, a objętość ocenianej tkanki jest odwrotnie proporcjonalna do zarejestrowanego sygnału [58]. Metoda jest stosunkowo tania i prosta w użyciu, nie wymaga wysoce doświadczonego zespołu badawczego. Pozwala jednak tylko na ocenę punktową funkcji mikrokrażenia, a uzyskiwany wynik nie jest podany w jednostkach absolutnych. Wykorzystywana może być w diagnostyce miażdżycy zarostowej tętnic kończyn dolnych, ponieważ pozwala na ocenę obwodowego mikrokrażenia [59,60]. Umożliwia ona między innymi pomiar ciśnienia krwi na paluchu, dzięki czemu można ocenić wskaźnik paluch - ramię u chorych na cukrzycę [61].

Termografia (Thermography)

Jest to metoda, dzięki której można stworzyć dwuwymiarową mapę temperatury skóry. Służy ona do pośredniej oceny przepływu krwi, nie ma jednak prostej zależności między tymi parametrami [58]. Zaletą techniki termografii jest łatwość jej użycia, dobra rozdzielczość uzyskiwanego wyniku oraz fakt, że nie wymaga specjalnie wyszkolonego personelu. Do jej wad należy wysoki koszt kamery rejestrującej zmiany temperatury oraz możliwość dokonywania pomiarów jedynie w warstwach powierzchniowych. Termografia może być wykorzystywana w wielu schorzeniach, które wywierają wpływ na stan mikrokrążenia skóry [62]. Sivanandam i wsp. wykazali jej przydatność diagnostyczną dla rozpoznawania powikłań naczyniowych w cukrzycy typu 2. U osób chorych na cukrzycę wykazano bowiem istotnie statystycznie niższą temperaturę w poszczególnych regionach skóry w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy wartością hemoglobiny glikowanej a temperaturą. Ponadto, u osób z początkowym stadium owrzodzeń neuropatycznych na stopie rejestrowano wyższą temperaturę w porównaniu z chorymi bez tego powikłania [63].

Przejskórny pomiar prężności tlenu (Transcutaneous oxygen measurements)

Metoda umożliwia ocenę podaży tlenu do skóry. Sonda (elektroda) umieszczana na skórze ma wbudowany element grzewczy, a pomiarów dokonuje się zazwyczaj po ogrzaniu do 40-45⁰C. Elektroda składa się z centralnej katody oraz zewnętrznej anody. Przestrzeń między nimi wypełniona jest roztworem elektrolitu, a całość pokryta przepuszczalną dla tlenu membraną. Po wywołaniu przez ogrzanie miejscowego przekrwienia skóry, oceniana jest ilość tlenu dyfundującego przez tkankę. Wartości wyrażane są w milimetrach słupa rtęci (mmHg). Metoda jest stosunkowo tania i prosta w użyciu. Umożliwia ona jednak tylko pośrednią ocenę perfuzji. Problemem stwarza też zależność wyniku od budowy anatomicznej i reakcji na podgrzewanie w różnych rejonach skóry. Technika ta znajduje zastosowanie w ocenie niedokrwienia kończyn dolnych u pacjentów z miażdżycą zarostową tętnic. Ułatwia określenie poziomu amputacji, postępu w gojeniu ran, skuteczności terapii hiperbarycznej oraz skuteczności procedur rewaskularyzacyjnych. Stężenie tlenu poniżej 20 mmHg koreluje z wydłużeniem czasu hospitalizacji i ryzykiem powstania zakażeń przyrannych u osób z zespołem stopy cukrzycowej [38,64].

3.2. Laserowa przepływometria dopplerowska

Laserowa przepływometria dopplerowska (LDF, Laser doppler flowmetry) jest metodą umożliwiającą rejestrację przepływów w mikrokrążeniu skóry w czasie rzeczywistym. Wykorzystuje ona monochromatyczne światło o długości fali około 780 nm i częstotliwości 10 Hz do 19 kHz, które penetrując przez tkanki oddziałuje z elementami statycznymi i poruszającymi się krwinkami. Analizie podlega fala odbita, której zmiana częstotliwości jest proporcjonalna do liczby i szybkości poruszających się krwinek. Pomiarów dokonać można na powierzchni różnych narządów. Najczęściej wykorzystuje się ją do oceny mikrokrążenia w skórze, błonie śluzowej żołądka i jamy ustnej. Zaletą metody jest łatwość jej zastosowania, brak konieczności specjalistycznego szkolenia osoby wykonującej badania oraz krótki czas pomiaru. Wiązka światła penetruje jedynie na głębokość 1-1,5 mm. Pigmentacja powoduje, że głębokość wnikania wiązki światła oraz odczyt wiązki odbitej mogą ulegać zmianie. Ponadto ocena przepływu ograniczona jest do małego obszaru.

Rossi sugeruje, że funkcjonowanie mikrokrążenia w skórze jest odbiciem stanu ogólnego organizmu z uwzględnieniem chorób towarzyszących [65]. Cohn i wsp. wykazali natomiast, że zaburzenia mikrokrążenia mogą być substytutem uszkodzenia śródbłonka naczyń wieńcowych [66]. Laserowa przepływometria dopplerowska wykorzystywana jest do oceny mikrokrążenia w skórze w wielu zespołach chorobowych, w tym w cukrzycy, w przewlekłej niewydolności żylniej, w posocznicy, w przewlekłej niewydolności nerek, w nadciśnieniu tętniczym, w chorobach układowych tkanki łącznej. Podczas analizy trudności sprawia wrażliwość na zmieniające się warunki w trakcie badania. Można je zniwelować przez wykonanie testów prowokacyjnych np. pomiar przepływu w fazie reaktywnego przekrwienia wywołanego kontrolowanym niedokrwieniem, ogrzewaniem skóry lub pod wpływem jontoforezy substancji wazoaktywnych np. acetylocholinę czy nitroprusydku sodu. Roustit i wsp. wykazali powtarzalność metody oceniając perfuzję na opuszcze palca po zastosowaniu okluzji, miejscowego ogrzewania lub stresu psychicznego [67]. Škrha i wsp. wykazali, że uzupełniając badanie o markery dysfunkcji śródbłonka, np. oznaczenie E-selektyny, można wykazać wczesne zmiany zachodzące w mikrokrążeniu u chorych na cukrzycę typu 1 [68].

Obrazowanie perfuzji metodą laser dopplera (LDI, Laser doppler perfusion imaging)

Badanie wykonywane jest za pomocą urządzenia bezdotykowego. Przewagą nad przepływometrią dopplerowską jest możliwość oceny perfuzji na większym obszarze. Stosując tę metodę uzyskuje się barwną mapę perfuzji badanego obszaru. Technika ta jest jeszcze stosunkowo mało poznana. Wykazano już jednak, że jest ona szczególnie przydatna do oceny głębokości oparzeń [69]. Tibrićá i wsp. sugerują, że ta metoda wykazuje większą powtarzalność uzyskiwanych wyników niż opisywana poprzednio laserowa przepływometria [70]. Uzupełniona o jontoforezę roztworu acetylocholinyl i ntoprusydku sodu wykorzystana została przez Katza i wsp. Na podstawie przeprowadzonych badań wysunęli oni hipotezę, że pierwotnie odpowiedzialna za pogorszenie funkcji mikrokręzenia w skórze u chorych na cukrzycę typu 1 jest reakcja niezależna od śródbłónka [71].

3.3 Testy prowokacyjne służące do oceny reaktywności naczyń mikrokręzenia

Opisane powyżej nieinwazyjne metody służące do oceny mikrokręzenia w skórze mogą zostać uzupełnione o testy prowokacyjne odzwierciedlające reaktywność naczyń.

Bodźce temperaturowe.

Mikrokręzenie w skórze odpowiedzialne jest za utrzymanie stałej temperatury ciała. Narażenie na zimno powoduje reakcję prowadzącą do ograniczenia przepływu i zatrzymywania ciepła. Ogrzewanie wywołuje reakcję odwrotną, prowadzącą do zwiększenia perfuzji i utraty ciepła przez skórę. Reakcje te podlegają kontroli układu współczulnego. Testy z zastosowaniem bodźca temperaturowego są dosyć łatwe do przeprowadzenia. W przeprowadzonych dotąd badaniach wykazano upośledzenie reakcji na miejscowe ogrzewanie u osób z cukrzycą typu 1 z początkowym stadium powikłań o charakterze mikroangiopatii [68,72].

Bodźce oddechowe.

Próba Valsalwy jest dobrze poznany i opisanym sposobem stymulacji mikrokręzenia. Efektem jej wykonania są wielofazowe zmiany, zarówno mechaniczne jak i wynikające z pobudzenia autonomicznego układu nerwowego. Wzrost ciśnienia w klatce piersiowej i aorcie prowadzi początkowo do bradykardii, czego następstwem jest zmniejszenie objętości krwi powracającej do serca oraz zmniejszenie rzutu serca.

Wywołuje to spadek ciśnienia w aorcie i wyrównawcze przyspieszenie rytmu serca. Po osiągnięciu prawidłowego powrotu żylnego w kolejnej fazie dochodzi do szybkiego wzrostu rzutu serca i ciśnienia tętniczego oraz spadku częstości pracy serca. Próba ta jest łatwa w wykonaniu, ale odpowiedź może być zróżnicowana [73].

Próba głębokiego oddychania pobudza układ nerwowy współczulny i powoduje przejściowe zmniejszenie perfuzji w skórze. Test ten daje zadowalającą powtarzalność wyników, ale są one wrażliwe na temperaturę badanego regionu skóry. U chorych na cukrzycę typu 2 odpowiedź na próbę głębokiego oddychania jest upośledzona w porównaniu do obserwacji u osób zdrowych [74].

Praca mięśni.

Skurcz mięśni wywołuje przyspieszenie czynności serca i wzrost ciśnienia tętniczego poprzez układ nerwowy współczulny. U osób ze stwierdzoną neuropatią cukrzycową w teście z zastosowaniem dynamometru odpowiedź ta jest nieobecna [75]. Próba pionizacji w następstwie przesunięcia krwi do kończyn dolnych i redukcji objętości krwi krążącej, uruchamia odpowiedź układu współczulnego. W efekcie dochodzi do przyspieszenia czynności serca i wzrostu oporu obwodowego. Jest przydatna do monitorowania czynności układu krążenia i sprawności autonomicznego układu nerwowego. Khodabandehlou i wsp. stosując metodę laserowej przepływometrii dopplerowskiej wykazali upośledzenie odpowiedzi w próbie pionizacji u chorych na cukrzycę [76].

Testy psychiczne.

Próby z zastosowaniem stresora psychicznego wywołują odpowiedź ze strony układu krążenia za pośrednictwem centralnego układu nerwowego. Bodziec w postaci nieprzyjemnych obrazów, dźwięków bądź zadań, na które udzielić należy odpowiedzi, uruchamia kaskadę zdarzeń skutkującą wzrostem częstości rytmu serca oraz zwężeniem naczyń krwionośnych skóry. Trudności sprawiać może dobranie bodźca o odpowiedniej intensywności. Wśród osób chorujących na cukrzycę Stansberry i wsp. stwierdzili pogorszenie odpowiedzi ze strony mikrokrążenia na zastosowany stres psychiczny, w porównaniu z grupą zdrowych osób [77].

Okluzja naczyń.

Zastosowanie czasowej okluzji naczyń doprowadzające do ograniczenia dopływu krwi do badanego obszaru mikrokrążenia umożliwia nam ocenę reakcji przekrwiennej następującej po zwolnieniu okluzji. Można w ten sposób dokonać pomiaru zarówno czasu potrzebnego do osiągnięcia maksymalnego przekrwienia jak i szczytowych wartości perfuzji. U osób z cukrzycą typu 2 i typu 1 upośledzenie maksymalnej pookluzyjnej reakcji przekrwiennej wiąże się z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii i makroangiopatii [78,68].

Jontoforeza substancji wazoaktywnych.

Substancjami najczęściej stosowanymi w badaniach reaktywności naczyń są acetylocholina (Ach) i nitroprusydek sodu (SNP). Acetylocholina pozwala ocenić reakcję zależną od funkcji śródbłonka, natomiast nitroprusydek sodu, reakcję niezależną od śródbłonka. W wielu przeprowadzonych do tej pory badaniach stwierdzono, że obie te reakcje są upośledzone u chorych na cukrzycę typu 1 [79,71,68].

Na wyniki uzyskiwane za pomocą opisanych metod badawczych i prób prowokacyjnych ma wpływ wiele czynników. Należą do nich: wiek chorych, płeć oraz faza cyklu miesięczkowego u kobiet [80], uwarunkowania genetyczne, obecność chorób zaburzających funkcję mikrokrążenia [81,72], stosowanie substancji naczynioaktywnych (np. palenie tytoniu, alkohol) [82,83], ćwiczenia fizyczne [84,85], niepokój lub stres [58,86]. Dlatego też niezwykle istotne jest zachowanie identycznych warunków badania. W pomieszczeniu, w którym dokonywane są analizy należy kontrolować temperaturę i wilgotność powietrza, unikać bezpośrednich przeciągów i źródeł światła [58]. Ważne jest również zachowanie odpowiedniego odstępu od ostatniego posiłku, unikanie gorącej kąpieli, ćwiczeń fizycznych czy stosowania substancji natłuszczających skórę lub talku w poddawanej ocenie okolicy. W celu ograniczenia stresu choremu należy dać czas na aklimatyzację, zapewnić komfortowe warunki otoczenia i wytłumaczyć, na czym polega badanie [58,87,88]. Protokół badania powinien być ściśle przestrzegany. W przypadku powtarzania badań w kolejnych dniach należy wykonywać je w tej samej okolicy skóry oraz o tej samej porze dnia. Badania powinny być wykonywane przez tę samą osobę, aby uniknąć zmienności wynikającej ze zmiany badającego [89]. Uwzględnienie powyższych czynników oraz zachowanie porównywalnych warunków badania ma wpływ na powtarzalność uzyskiwanych wyników.

Przy obecnym postępie wiedzy oraz dostępności metod diagnostycznych rozpoznawanie przewlekłych powikłań cukrzycy dopiero w momencie ich klinicznego ujawnienia wydaje się zbyt późne. Aktualnie poszukuje się narzędzi, które pozwolą na rozpoznanie zmian w mikrokrążeniu na bardzo wczesnym etapie. Umożliwiłoby to zidentyfikowanie pacjentów zagrożonych ryzykiem rozwoju mikroangiopatii w krótkim czasie. Poprawa kontroli glikemii, eliminacja współistniejących czynników ryzyka oraz motywacja chorych dałyby szansę na zatrzymanie i/lub częściowe odwrócenie funkcjonalnych zmian w mikrokrążeniu. W związku z tym postanowiono ocenić przydatność metody laserowej przepływometrii dopplerowskiej do oceny zmian w mikrokrążeniu u chorych z cukrzycą typu 1 bez zaawansowanych powikłań schorzenia.

CEL PRACY

Cel główny

Ocena funkcji mikrokrążenia za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej u chorych na cukrzycę typu 1.

Cele szczegółowe

1. Ocena wpływu dodatkowych czynników takich jak: palenie papierosów, stosowanie leków z grupy ACE-I i statyn oraz współistniejące nadciśnienie tętnicze na funkcję mikrokrążenia u osób z typem 1 cukrzycy.
2. Ocena funkcji mikrokrążenia u osób z początkowymi stadiami powikłań o charakterze mikroangiopatii.
3. Ocena wpływu aktualnego wyrównania glikemicznego na przepływy w mikrokrążeniu.

MATERIAŁ I METODY

1. Grupa badana

Badaniem objęto grupę 152 pacjentów z cukrzycą typu 1, w tym 78 mężczyzn i 74 kobiety, w wieku od 22 do 35 lat, hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w latach 2012 -2013. Grupę kontrolną stanowiły 52 zdrowe osoby dobrane pod względem płci i wieku do grupy badanej.

Kryteria wyłączenia z badania stanowiły:

1. Czas trwania choroby poniżej 5 lat.
2. Cukrzyca typu 2 i klasy 3
3. Jawne powikłania makroangiopatyczne
4. Zaawansowane powikłania mikroangiopatyczne
5. Ostre powikłania cukrzycy
6. Wskaźnik masy ciała powyżej 35 kg/m²
7. Nieprawidłowe wyniki TSH oraz wolnych postaci tyroksyny i trójiodotyroniny
8. Cięża

Jako kryterium wyłączenia z badania przyjęto czas trwania cukrzycy typu 1 poniżej 5 lat, ponieważ prowadzenie badań przesiewowych w kierunku przewlekłych powikłań naczyniowych schorzenia zaleca się dopiero po upływie tego okresu czasu.

Osoby biorące udział w badaniu zostały poinformowane o jego celu oraz wyraziły na nie świadomą zgodę. Projekt badania uzyskał zgodę Komisji ds. Etyki i Badań Naukowych przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu (uchwała nr 148/13).

2. Badanie przedmiotowe

W grupie osób z typem 1 cukrzycy zebrano dane z wywiadu dotyczące: czasu trwania choroby, sposobu jej leczenia, chorób towarzyszących, pobieranych leków oraz palenia papierosów.

Dokonano oceny danych antropometrycznych obejmujących: pomiar wzrostu i masy ciała z obliczeniem wskaźnika masy ciała (BMI), pomiar obwodu pasa i obwodu bioder wraz z obliczeniem wskaźnika talia-biodro (WHR) oraz pomiar ciśnienia tętniczego krwi skurczowego i rozkurczowego (dwukrotny pomiar za pomocą

sfigmomanometru metodą Korotkowa, w pozycji siedzącej, po 5- minutowym odpoczynku). Oceniono dobowe zapotrzebowanie na insulinę (j/kg mc/dobę).

3. Badania laboratoryjne.

W celu wykonania badań laboratoryjnych pobrano 10 ml krwi żyłnej. Badania wykonane zostały w laboratorium Szpitala Miejskiego im. F Raszei w Poznaniu.

Ocenione parametry:

- a) Wartość hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (norma: 4,8-6,5%)
- b) Średnia wartość glikemii z trzech pomiarów: na czczo o godzinie 6:00 rano, 2 godziny po śniadaniu oraz o godzinie 3:00 w nocy
- c) Parametry morfologii krwi, w tym wartość hemoglobiny (Hb), hematokrytu (Ht), liczbę krwinek czerwonych (RBC), liczbę krwinek białych (WBC) metodą standardową (normy laboratoryjne: Hb: K: 12-16 g/dl; 7,5-9,9 mmol/l, M: 14-18 g/dl; 8,7-11,2 mmol/l, Ht: K: 37-47%; 0,37-0,47 l/l, M: 40-50%; 0,41-0,54 l/l, RBC: K: 3,5-5,2 mln/ul, M: 4,2-5,4 mln/ul, WBC: 3,8-10 tys/ul)
- d) Parametry gospodarki lipidowej (stężenie cholesterolu całkowitego - TCH, frakcji HDL cholesterolu, frakcji LDL cholesterolu i trójglicerydów w surowicy) metodą standardową (normy laboratoryjne: TCH: 130-200 mg/dl; 3,3-5,2 mmol/l, HDL: M: 35-70 mg/dl; 0,9-1,8 mmol/l, HDL: K: 45-80 mg/dl; 1,1-2,0 mmol/l, LDL: 60-130 mg/dl; 1,5-3,4 mmol/l, TG: 30-150 mg/dl; 0,3-1,7 mmol/l)
- e) Stężenie białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy wysoce czułą metodą z użyciem zestawu HITACHI 717 (norma < 5,0 mg/l)
- f) Wydalanie albumin z moczem metodą immunoturbidymetryczną: wskaźnik albumina/kreatynina (norma < 30 ug/mg kreatyniny/dobę), albuminuria (norma < 30 mg/dobę)
- g) Funkcja nerek: stężenie w surowicy kreatyniny, norma: K < 0,9 mg/dl, M < 1,2 mg/dl i obliczono oszacowany wskaźnik filtracji kłębuszkowej (eGFR) wg Modification of Diet in Renal Disease Study Equation (MDRD) norma: 90-120 ml/min/1,73 m².

4. Ocena obecności przewlekłych powikłań cukrzycy o charakterze mikroangiopatii

Dokonano oceny obecności przewlekłych powikłań cukrzycy o charakterze mikroangiopatii. Z badania wykluczono osoby ze stwierdzonymi zaawansowanymi powikłaniami o charakterze mikroangiopatii, za które przyjęto: obecność retinopatii cukrzycowej nieproliferacyjnej umiarkowanej lub ciężkiej, retinopatii proliferacyjnej lub makulopatii cukrzycowej, cukrzycowej choroby nerek (CChN) w stadium 3 i wyżej (eGFR poniżej 59 ml/min/1,73 m²), jawnej klinicznie neuropatii cukrzycowej.

Ocena retinopatii cukrzycowej

Wykonano ocenę oftalmoskopową dna oka po uprzednim rozszerzeniu źrenicy. Retinopatię cukrzycową rozpoznawano przy stwierdzeniu co najmniej jednego mikroaneuryzmatu w obu oczach. Zastosowano klasyfikację retinopatii cukrzycowej według American Academy of Ophthalmology z podziałem na: retinopatię nieproliferacyjną: łagodną, umiarkowaną i ciężką, retinopatię proliferacyjną oraz makulopatię cukrzycową [90].

Ocena cukrzycowej choroby nerek (CChN)

Dokonywano oceny wydalania albumin z moczem na podstawie 12-godzinnej zbiórki moczu, z równoczesnym oznaczeniem wskaźnika albumina/kreatynina w porannej porcji moczu. Za zwiększoną albuminurię uznawano wydalanie albumin z moczem od 30 do 300 mg na dobę w dwóch z trzech zbiórek moczu oraz wskaźnik albumina/kreatynina > 30 mg/g w porannej próbce moczu. Cukrzycową chorobę nerek rozpoznawano u osób ze zwiększoną albuminurią i 10-letnim czasem trwania cukrzycy lub krótszym przy współwystępowaniu retinopatii [91]. CChN podzielono na stadia na podstawie wyniku oszacowanego wskaźnika filtracji kłębuszkowej: stadium 1 (eGFR ≥ 90 ml/min/1,73 m²), stadium 2 (eGFR 60 – 89 ml/min/1,73 m²), stadium 3 (eGFR 30 – 59 ml/min/1,73 m²), stadium 4 (eGFR 15-29 ml/min/1,73 m²) i stadium 5 (eGFR <15 ml/min/1,73 m² lub leczenie dializami).

Ocena neuropatii cukrzycowej

Oceny neuropatii cukrzycowej dokonywano badając czucie dotyku za pomocą monofilamentu Semmesa-Weinsteina o ucisku 10g, czucie wibracji za pomocą

kamertonu (128MHz) i neurotesiomietru, czucie temperatury za pomocą walca z metalową i plastikową końcówką (Tiptherm) oraz badając odruch skokowy.

Cukrzycową neuropatię rozpoznawano na podstawie obecności dwóch lub więcej z czterech składowych: obecność objawów neuropatii, brak odruchu skokowego, zaburzenie czucia dotyku i/ lub wibracji.

Dokonano również oceny neuropatii w zakresie autonomicznego układu nerwowego z zastosowaniem programu ProsciCard III. W tym celu oceniano zmienność rytmu serca: w warunkach spoczynku po 15-minutowym odpoczynku w pozycji leżącej, podczas testu głębokiego oddychania, próby Valsalvy oraz po pionizacji. Neuropatię autonomiczną układu sercowo-naczyniowego rozpoznawano na podstawie nieprawidłowości w dwóch z czterech wykonywanych testów.

5. Ocena perfuzji w skórze za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej

Dla oceny mikrokrążenia w skórze wykorzystano metodę laserowej przepływometrii dopplerowskiej (LDF). Pomiarów dokonano z zastosowaniem urządzenia PERIFLUX 5000 (Perimed, Sztokholm, Szwecja).

Aparat wyposażony jest w jednostki do analizy fali wiązki świetlnej PF 5010 LDPM Unit, regulacji i pomiaru temperatury PF 5020 Temp Unit oraz monitorowania i regulacji ciśnienia w mankiecie PF 5050 Pressure Unit. Badania dokonywano za pomocą dwufunkcyjnej głowicy grzejnej Angled Small Thermostatic Laser Doppler Probe 457 emitującej wiązkę światła o długości fali 780 nm, częstotliwości 10 Hz do 19 kHz i czasie trwania impulsu 0,1 s. Analizie podlegała fala odbita o częstotliwości 32 Hz. Głowicę mocowano do skóry za pomocą przezroczystych dwustronnych plastrów firmy Perimed.

Urządzenie kalibrowano zgodnie z zaleconą przez producenta procedurą, z zastosowaniem wystandaryzowanego koloidu zawierającego cząsteczki lateksu (Refill Motility Standard PF 1001, Perimed, Szwecja).

Na miejsce pomiaru wybrano podeszwową powierzchnię palucha stopy. Badanie przeprowadzano w pozycji leżącej na plecach, w temperaturze pomieszczenia $21^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, po okresie 15 minutowego odpoczynku w pozycji leżącej. Wykonywano dwa testy czynnościowe: test pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH, post-occlusive reactive hyperemia) oraz test reakcji przekrwiennej na miejscowe ogrzewanie (LTH, local thermal hyperemia). W tym celu po początkowym okresie 30 sekund rejestracji przepływu spoczynkowego dokonywano rejestracji przepływu w odpowiedzi na

zaciśnięcie mankieta na paluchu do wartości 200 mmHg przez okres 30 sekund i wyznaczano zero biologiczne. Następnie mierzono przez kolejne 30 sekund reakcję przekrwienną w odpowiedzi na rozluźnienie mankieta. W kolejnym etapie badania chory pozostawał w spoczynku przez 10 minut, aby uzyskać stabilizację przepływu do poziomu podstawowego. Po tym okresie następowała rejestracja linii bazowej przez okres 2 minut, a następnie podgrzewanie tkanki do temperatury 44⁰ C przez okres 4 minut i rejestracja przez 1 minutę przepływu w odpowiedzi na ogrzewanie. U wszystkich chorych oceniono również ciśnienie tętnicze krwi skurczowe na paluchu. W tym celu wykonano trzy pomiary ciśnienia tętniczego po napełnieniu mankieta do 200 mmHg, z których urządzenie wyliczało wartość średnią. Wartości przepływu przedstawiono w umownej skali jednostek perfuzji (PU – Perfusion Units). Spośród zarejestrowanych parametrów do dalszej analizy wybrano w teście PORH: perfuzję spoczynkową, wartość szczytową perfuzji, procentowy przyrost perfuzji, obszar okluzji jednosekundowej, wyliczono parametr odwierciedlający szybkość wzrastania perfuzji w czasie jako stosunek wartości szczytowej perfuzji do czasu jej osiągnięcia. W teście LTH do dalszej analizy wybrano: perfuzję spoczynkową, perfuzję końcową oraz procentowy przyrost perfuzji.

Osoby badane zostały poinformowane, aby bezpośrednio przed badaniem powstrzymały się od picia kawy, palenia papierosów, intensywne ćwiczeń fizycznych. Badanie wykonywane było po minimum czterogodzinnej przerwie od spożycia ostatniego posiłku.

W związku z dużą ilością czynników mających wpływ na uzyskiwane za pomocą stosowanej metody wyniki, w pierwszym etapie przeprowadzono badanie pilotażowe mające na celu ocenę powtarzalności metody (rozdział wyniki tabela 3).

6. Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną przeprowadzono z zastosowaniem programu Statistica PL wersja **10** . W pilotażowej ocenie powtarzalności pomiarów wykorzystano test kolejności par Wilcoxon'a. W grupie tej spełnione było założenie wstępne zgodności zbioru różnic ocenianych parametrów z rozkładem normalnym.

Ocenę różnic pomiędzy grupą badaną i kontrolną oraz pomiędzy podgrupami osób z cukrzycą przeprowadzono z zastosowaniem testów nieparametrycznych, ze względu na niespełnienie założenia zgodności porównywanych parametrów z rozkładem normalnym. W przypadku zmiennych ilościowych do porównań wykorzystano test U Manna-Whitney'a. Różnice w zakresie danych jakościowych oceniono testem dokładnym Fishera. Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartylowe (IQR) lub jako liczebności i procenty. Za znamienne statystycznie przyjęto wartość $p < 0,05$.

Jako kryterium podziału grupy badanej na osoby z lepszym i gorszym wyrównaniem glikemicznym cukrzycy przyjęto wartość hemoglobiny glikowanej 7,5%, która wynikała z uzyskanej dla tego parametru mediany.

WYNIKI

1. Charakterystyka grupy badanej

Do badania zakwalifikowano 152 chorych z cukrzycą typu 1, w tym 78 mężczyzn i 74 kobiety w wieku średnio 28 (22-35) lat, ze średnim czasem trwania cukrzycy 9 (7-13) lat. Wartość HbA1c wynosiła 7,3 (6,6-8,6)%. W badanej grupie u 15% ocenianych pacjentów stwierdzono nadciśnienie tętnicze, 26% osób paliło papierosy, 15% stosowało preparaty inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE-I), a 3% statyny. Dobowa dawka insuliny wynosiła średnio 0,43 j/kg mc/dobę. W badanej grupie u 24 osób (16%) stwierdzono obecność powikłań o charakterze mikroangiopatii w stadium początkowym, w tym retinopatię nieproliferacyjną łagodną u 19 osób (13%) oraz nieprawidłowe wyniki dwóch z czterech testów oceniających neuropatię autonomiczną układu sercowo-naczyniowego u 6 osób (4%). Wyniki przedstawiono w **tabeli 1**.

Grupę kontrolną stanowiły 52 zdrowe osoby dobrane pod względem płci i wieku do grupy osób z cukrzycą. Wyniki przedstawiono w **tabeli 2**.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna grupy badanej. Mediana (IQR), n (%).

Oceniane zmienne	Mediana (IQR), n (%)
N	152
Płeć M/K (n)	78/74
Wiek [lata]	28 (22 – 35)
Czas trwania cukrzycy [lata]	9 (7 -13)
BMI [kg/m ²]	24 (22 – 26)
WHR kobiety	0,78 (0,74-0,82)
WHR mężczyźni	0,87 (0,81-0,92)
RR skurczowe [mmHg]	130 (120 – 135)
RR rozkurczowe [mmHg]	80 (74 – 85)
HbA1c [%]	7,3 (6,6 – 8,6)
Średnia glikemia na czczo [mg/dl]	142 (112 – 176)
Średnia glikemia 2h po posiłku [mg/dl]	161 (133 – 194)
Średnia glikemia nocna [mg/dl]	125 (103 – 151)
CRP [mg/l]	0,91 (0,45 – 1,95)
eGFR [ml/min/1.73m ²]	102 (90 – 114)
Cholesterol całkowity [mg/dl]	183 (161 – 208)
LDL-cholesterol [mg/dl]	106 (89 – 131)
HDL-cholesterol [mg/dl]	65 (56 – 76)
Trójglicerydy [mg/dl]	75 (55 – 106)
Nadciśnienie tętnicze n (%)	23 (15)
Powikłania mikroangiopatyczne n (%)	24 (16)
Palenie tytoniu n (%)	39 (26)
ACE-I n (%)	23 (15)
Statyny n (%)	5 (3)

Tabela 2. Porównanie grup badanej i kontrolnej.

	Grupa badana	Grupa kontrolna	P
N	152	52	
Płeć M/K (n)	78/74	27/25	1,0
Wiek [lata]	28 (22 – 35)	28 (25 – 32)	0,69

Grupy porównano wykorzystując test U Manna-Whitneya i test dokładny Fishera. Wartości przedstawiono jako liczebności lub jako mediany i rozstępy międzykwartylowe (IQR).

2. Ocena powtarzalności zastosowanej metody

W celu oceny powtarzalności zastosowanej metody badawczej w grupie 30 osób chorych na cukrzycę dokonano oceny mikrokrążenia w skórze za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej w dwóch kolejnych dniach. Badanie wykonywano w tych samych warunkach otoczenia oraz o tej samej porze dnia.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy wynikami kolejnych pomiarów żadnego z ocenianych parametrów, zarówno w teście pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH), jak i w teście reakcji przekrwiennej na miejscowe ogrzewanie (LTH). Wyniki przedstawiono w **tabeli 3**.

Tabela 3. Ocena powtarzalności metody dzień po dniu.

O		1. Pomiar	2. Pomiar	P
K	n 30			
L				
U	Perfuzja spoczynkowa [PU]	16 (8-26)	32 (17-56)	0,061
Z	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	73 (60-117)	105 (64-153)	0,092
J	Przyrost perfuzji [%]	606 (198-1120)	968 (430-1603)	0,12
A	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	339 (144-504)	393 (185-743)	0,37
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	81 (20-135)	61 (23-103)	0,16
T	Perfuzja początkowa [PU]	15 (8-35)	30 (9-66)	0,17
E	Perfuzja końcowa [PU]	242 (187-342)	287 (217-375)	0,44
M				
P	Przyrost perfuzji [%]	1631 (536-2778)	1040 (419-2078)	0,10
44°				

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartylowe (IQR). Porównania wykonano przy pomocy testu kolejności par Wilcoxon.

3. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z grupą kontrolną.

W badanej grupie osób z cukrzycą stwierdzono istotnie niższe wartości perfuzji spoczynkowej w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej [18 (10-46) vs 38 (10-99) PU, $p=0,006$]. W teście PORH u osób z cukrzycą zaobserwowano istotnie niższą wartość szczytowej perfuzji [82 (56-134) vs 127 (67-236) PU, $p=0,002$] oraz istotnie niższy procentowy przyrost perfuzji [424 (143-929) vs 853 (210-2132) PU, $p=0,021$]. Chorzy z cukrzycą charakteryzowali się istotnie wolniejszym przyrostem perfuzji wyrażonym stosunkiem wartości szczytowej perfuzji do czasu jej osiągnięcia w porównaniu z osobami zdrowymi [28 (14-59) vs 43 (19-129) PU/s, $p=0,021$]. W teście LTH chorzy z cukrzycą cechowali się istotnie niższą perfuzją końcową w porównaniu z osobami zdrowymi [260 (187-337) vs 342 (223-430) PU, $p=0,002$]. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Porównanie wyników perfuzji w skórze chorych z cukrzycą typu 1 z osobami zdrowymi.

		Kontrola	DM	P
O K L U Z J A	Perfuzja spoczynkowa [PU]	38 (10 – 99)	18 (10 – 46)	0,006
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	127 (67 – 236)	82 (56 – 134)	0,002
	Przyrost perfuzji [%]	853 (210 – 2132)	424 (143 – 929)	0,021
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	348 (125 – 657)	326 (153 – 597)	0,922
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	43 (19 – 129)	28 (14 – 59)	0,021
	T E M P 44 ⁰	Perfuzja początkowa [PU]	28 (12 – 94)	20 (9 – 71)
Perfuzja końcowa [PU]		342 (223 – 430)	260 (187 – 337)	0,002
Przyrost perfuzji [%]		909 (303 – 1859)	1110 (349 – 2056)	0,649

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR). Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

4. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 po wyłączeniu osób ze stwierdzonymi powikłaniami choroby, nadciśnieniem tętniczym, palących papierosy, zażywających leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz statyny z grupą kontrolną.

Z grupy osób z cukrzycą typu 1 wykluczono osoby z rozpoznawanymi już powikłaniami o charakterze mikroangiopatii, z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym, palących papierosy, zażywających leki z grupy ACE-I i statyn i porównano uzyskane wyniki perfuzji w skórze z wynikami osób zdrowych po wyłączeniu palących papierosy. W teście PORH u osób z cukrzycą stwierdzono istotnie niższe wartości perfuzji spoczynkowej [14 (8-28) vs 38 (10-99) PU, $p=0,001$], wartości szczytowej perfuzji [73 (56-112) vs 127 (66-234) PU, $p=0,001$], procentowego przyrostu perfuzji [306 (113-682) vs 853 (188-2230) %, $p=0,001$] oraz istotnie wolniejszy przyrost perfuzji [24 (16-42) vs 43 (19-124) PU/s, $p=0,011$]. W teście LTH osoby chorujące na 1 typ cukrzycy charakteryzowały się istotnie niższą wartością perfuzji spoczynkowej [15 (8-36) vs 28 (11-89) PU, $p=0,013$] oraz perfuzji końcowej [243 (177-325) vs 327 (222-422) PU, $p=0,003$]. Różnice w obu porównywanych grupach wykazywały silniejszą istotność statystyczną niż w przypadku porównania całej grupy osób z cukrzycą typu 1 z osobami z grupy kontrolnej. Wyniki przedstawiono w **tabeli 5**.

Tabela 5. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 po wyłączeniu osób ze stwierdzonymi powikłaniami choroby, nadciśnieniem tętniczym, palących papierosy, zażywających leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz statyn z grupą kontrolną.

O K L U Z J A		Kontrola	DM	P
	n (%)	50	81	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	38 (10 – 99)	14 (8 – 28)	0,001
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	127 (66 – 234)	73 (56 – 112)	0,001
	Przyrost perfuzji [%]	853 (188 – 2230)	306 (113 – 682)	0,001
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	348 (127 – 657)	344 (206 – 590)	0,634
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	43 (19 – 124)	25 (16 – 42)	0,011
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	28 (11 – 89)	15 (8 – 36)	0,013
	Perfuzja końcowa [PU]	327 (222 – 422)	243 (177 – 325)	0,003
	Przyrost perfuzji [%]	909 (304 – 1794)	1633 (611– 2278)	0,057

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR). Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney’a.

5. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii i bez powikłań.

Chorzy z typem 1 cukrzycy z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii charakteryzowali się znamienne dłuższym czasem trwania choroby [14 (10-16) vs 8 (7-12) lat, $p < 0,001$], wyższym wskaźnikiem BMI [25,3 (23-28,5) vs 24 (22-26) kg/m^2 , $p = 0,036$] oraz gorszym wyrównaniem metabolicznym [HbA1c 7,9 (7,1-8,6) vs 7,2 (6,4-8,5) %, $p = 0,020$]. W teście PORH stwierdzono w tej grupie chorych istotnie wyższą perfuzję spoczynkową [47 (17-87) vs 17 (10-38) PU, $p = 0,004$], wartość szczytową perfuzji [114 (91-212) vs 79 (55-122) PU, $p = 0,002$] oraz wyższy procentowy przyrost perfuzji [560 (377-2040) vs 359 (137-854) %, $p = 0,026$]. W teście LTH grupa chorych z obecnością powikłań charakteryzowała się znamienne wyższą perfuzją początkową [50 (15-124) vs 19 (9-66) PU, $p = 0,042$] z jednocześnie niższym procentowym przyrostem perfuzji [553 (183-1414) vs 1400 (400-2149) %, $p = 0,039$]. Wyniki przedstawiono w **tabeli 6**.

Tabela 6. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii i bez powikłań.

O K L U Z J A		DM bez powikłań	DM z powikłaniami	P
	n (%)	127 (84)	24 (16)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	17 (10 – 38)	47 (17 – 87)	0,004
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	79 (55 – 122)	114 (91 – 212)	0,002
	Przyrost perfuzji [%]	359 (137 – 854)	560 (377 – 2040)	0,026
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	330 (160 – 582)	358 (62 – 1163)	0,712
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	27 (14 – 52)	47 (12 – 99)	0,226
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	19 (9 – 66)	50 (15 – 124)	0,042
	Perfuzja końcowa [PU]	260 (185- 340)	292 (217 – 348)	0,341
	Przyrost perfuzji [%]	1400 (400 – 2149)	553 (183 – 1414)	0,039

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR).

Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

6. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z wartością glikemii w momencie rozpoczęcia badania ≤ 140 mg/dl i powyżej 140 mg/dl.

Chorzy z cukrzycą typu 1 z glikemią bezpośrednio przed badaniem powyżej 140 mg/dl w porównaniu z osobami z glikemią ≤ 140 mg/dl charakteryzowali się wyższą wartością ciśnienia skurczowego [130 (120-135) vs 125 (120-130) mmHg, $p=0,011$], ciśnienia rozkurczowego [80 (75-85) vs 80 (70-80) mmHg, $p=0,004$] oraz trójglicerydów [78 (60-111) vs 67 (50-85) mg/dl, $p=0,031$]. W ocenie mikrokrążenia za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej nie stwierdzono natomiast istotnej statystycznie różnicy w żadnym z badanych parametrów, zarówno w teście PORH jak i w teście LTH. Wyniki przedstawiono w **tabeli 7**.

Tabela 7. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z wartością glikemii w momencie rozpoczęcia badania ≤ 140 mg/dl i powyżej 140 mg/dl.

O K L U Z J A		DM glikemia ≤ 140	DM glikemia >140	P
	n (%)	52 (37)	87 (63)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	18 (11 – 46)	18 (11 – 50)	0,787
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	86 (57 – 140)	83 (57 – 140)	0,988
	Przyrost perfuzji [%]	425 (152 – 830)	473 (142 – 1047)	0,848
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	376 (160 – 715)	289 (158 – 562)	0,319
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	28 (14 – 53)	28 (14 – 70)	0,599
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	19 (8 – 66)	21 (9 – 92)	0,513
	Perfuzja końcowa [PU]	266 (205 – 338)	264 (185 – 344)	0,781
	Przyrost perfuzji [%]	1156 (414 – 2442)	971 (289 – 2040)	0,327

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR). Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

7. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z wartością hemoglobiny glikowanej $\leq 7,5\%$ i powyżej $7,5\%$.

Chorzy z gorszym wyrównaniem metabolicznym cukrzycy z HbA1c powyżej $7,5\%$ byli młodsi [25 (20-33) vs 31 (25-35) lat, $p=0,001$], charakteryzowali się mniejszą masą ciała [67 (58-81) vs 76,5 (64,5-86) kg, $p=0,018$], większym dobowym zapotrzebowaniem na insulinę [0,48 (0,37-0,59) vs 0,41 (0,33-0,48) j/kg mc/dobę, $p=0,009$], wyższą wartością trójglicerydów [84 (60-146) vs 70 (53-95) mg/dl, $p=0,007$] oraz wyższą wartością krwinek białych [6,8 (5,5-8,2) vs 5,8 (5,0-6,7) tys/ μ l, $p=0,001$]. W teście PORH stwierdzono w tej grupie chorych istotnie większy procentowy przyrost perfuzji [482 (176-1717) vs 332 (137-785) %, $p=0,019$]. W pozostałych ocenianych za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej parametrach nie zarejestrowano znamienych różnic pomiędzy grupami z gorszym i lepszym wyrównaniem metabolicznym choroby. Wyniki przedstawiono w **tabeli 8**.

Tabela 8. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z wartością hemoglobiny glikowanej $\leq 7,5\%$ i powyżej $7,5\%$.

O K L U Z J A		DM HbA1c$\leq 7.5\%$	DM HbA1c$> 7.5\%$	P
	n (%)	87 (58)	64 (42)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	17 (9 – 36)	21 (11 – 64)	0,074
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	78 (56 – 116)	91 (59 – 157)	0,111
	Przyrost perfuzji [%]	332 (137 – 785)	482 (176 – 1717)	0,019
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	339 (179 – 616)	264 (112 - 586)	0,163
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	24 (13 – 52)	34 (14 – 83)	0,318
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	17 (9 – 58)	22 (9 – 113)	0,153
	Perfuzja końcowa [PU]	264 (193 – 328)	252 (181 – 356)	0,918
	Przyrost perfuzji [%]	1413 (415 – 2165)	863 (183 – 1995)	0,091

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR).

Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

8. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia.

Chorzy z typem 1 cukrzycy i współistniejącym nadciśnieniem tętniczym charakteryzowali się istotnie większą masą ciała [86 (79-96) vs 69 (60-80) kg, $p < 0,001$], wyższym wskaźnikiem BMI [26 (25-29,4) vs 23,8 (21,7-25,5) kg/m^2 , $p < 0,001$], wyższą wartością wskaźnika talia/biodra WHR [0,87 (0,81-0,90) vs 0,81 (0,77-0,87), $p = 0,012$], lepszym wyrównaniem metabolicznym choroby – niższym HbA1c [6,8 (6,0-8,1) vs 7,4 (6,6-8,7) %, $p = 0,038$] oraz niższą wartością cholesterolu HDL [59 (53-74) vs 66 (57-78) mg/dl, $p = 0,047$]. W grupie chorych obciążonych dodatkowo nadciśnieniem tętniczym w teście PORH stwierdzono znamienne wyższą wartość perfuzji spoczynkowej [38 (17-68) vs 17 (10-42) PU, $p = 0,026$] oraz wyższy procentowy przyrost perfuzji [814 (449-1668) vs 359 (142-827) %, $p = 0,021$]. W pozostałych ocenianych parametrach mikrokrążenia nie zarejestrowano istotnych statystycznie różnic między tymi grupami. Wyniki w **tabeli 9**.

Tabela 9. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia.

O K L U Z J A		DM bez HA	DM z HA	P
	n (%)	129 (85)	23 (15)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	17 (10 – 42)	38 (17 – 68)	0,026
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	82 (57 – 126)	113 (53 – 164)	0,265
	Przyrost perfuzji [%]	359 (142 – 827)	814 (449 – 1668)	0,021
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	333 (161 – 598)	235 (116 – 596)	0,472
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	27 (14 – 52)	47 (12 – 93)	0,206
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	19 (8 – 65)	49 (10 – 96)	0,132
	Perfuzja końcowa [PU]	253 (179 – 334)	297 (245 – 342)	0,287
	Przyrost perfuzji [%]	1221 (364 – 2149)	595 (154 – 1835)	0,144

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR).

Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

9. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 stosujących dodatkowo leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny i statyn z pacjentami nie zażywającymi leków z tych grup.

Chorzy z cukrzycą typu 1 zażywający dodatkowo leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz statyn nie byli liczni. Charakteryzowali się oni istotnie wyższym wskaźnikiem BMI [26 (25-29) vs 24 (22-26) kg/m², p<0,001], wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego skurczowego [135 (130-145) vs 130 (120-135) mmHg, p<0,001] i rozkurczowego [80 (80-90) vs 80 (70-85) mmHg, p=0,013] oraz niższą wartością frakcji HDL cholesterolu [58 (53-68) vs 66 (58-78) mg/dl, p=0,017]. W teście PORH rejestrowano w tej grupie znamienne wyższe wartości perfuzji spoczynkowej i procentowego przyrostu perfuzji. W pozostałych ocenianych parametrach nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy tymi grupami. Wyniki przedstawiono w **tabeli 10**.

Tabela 10. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 stosujących dodatkowo leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny i statyn z pacjentami nie zażywającymi leków z tych grup.

O K L U Z J A		DM bez leków	DM leki	P
	n (%)	129 (85)	23 (15)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	17 (10 – 42)	23 (17 – 68)	0,038
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	82 (57 – 122)	113 (53 – 164)	0,215
	Przyrost perfuzji [%]	362 (138 – 846)	812 (279 – 1656)	0,040
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	330 (161 – 596)	261 (116 – 836)	0,902
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	27 (14 – 53)	42 (12 – 88)	0,395
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	18 (8 – 65)	38 (14 – 96)	0,060
	Perfuzja końcowa [PU]	253 (178 – 328)	298 (245 – 349)	0,120
	Przyrost perfuzji [%]	1221 (364 – 2165)	595 (154 – 1724)	0,110

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartylowe (IQR). Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

10. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 palących papierosy z niepalącymi.

Osoby z typem 1 cukrzycy palące papierosy charakteryzowały się znamienne wyższym wskaźnikiem talia/biodra WHR [0,86 (0,80-0,91) vs 0,81 (0,76-0,87), $p=0,024$], wyższą wartością ciśnienia skurczowego [130 (125-135) vs 125 (120-130) mmHg, $p=0,013$]. W trakcie hospitalizacji u chorych palących papierosy stwierdzano istotnie wyższe średnie wartości glikemii w profilu dobowym w tym glikemii na czczo (162 vs 139 mg/dl, $p=0,004$), glikemii 2 godziny po posiłku (183 vs 158 mg/dl, $p=0,023$) oraz glikemii w godzinach nocnych (139 vs 124 mg/dl, $p=0,016$). Grupa chorych palących papierosy charakteryzowała się również gorszymi parametrami lipidowymi. Stwierdzono u nich bowiem znamienne wyższe wartości cholesterolu całkowitego (194 vs 183 mg/dl, $p=0,024$), cholesterolu LDL (121 vs 108 mg/dl, $p=0,007$), trójglicerydów (114 vs 81 mg/dl, $p=0,001$) oraz niższe wartości cholesterolu HDL (62 vs 70 mg/dl, $p=0,005$). Chorzy palący papierosy mieli również w badaniu morfologii krwi istotnie wyższe wartości białych krwinek (7,2 vs 6,2 tys/ μ l, $p=0,001$) oraz hemoglobiny (14,9 vs 14,2 g/dl, $p=0,006$). W ocenie mikrokrążenia w teście PORH chorzy palący papierosy charakteryzowali się istotnie statystycznie wyższą perfuzją spoczynkową [36 (16-88) vs 16 (9-32) PU, $p=0,001$], wyższą wartością szczytową perfuzji [106 (64-210) vs 80 (56-120) PU, $p=0,042$] oraz wyższym procentowym przyrostem perfuzji [628 (291-2168) vs 359 (135-813) %, $p=0,010$]. W teście LTH osoby palące wykazywały znamienne wyższą wartość perfuzji początkowej [84 (10-167) vs 16 (9-51) PU, $p=0,005$], ale istotnie niższy procentowy przyrost perfuzji [364 (104-1759) vs 1413 (429-2149) %, $p=0,001$]. Wyniki przedstawiono w tabeli 11.

Tabela 11. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 palących papierosy z niepalącymi.

O K L U Z J A		DM niepalący	DM palący	P
	n (%)	113 (74)	39 (26)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	16 (9 – 32)	36 (16 – 88)	0,001
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	80 (56 – 120)	106 (64 – 210)	0,042
	Przyrost perfuzji [%]	359 (135 – 813)	628 (291 – 2168)	0,010
	Obszar hyperemii jedn. sek. [PU/s]	347 (161 – 608)	210 (116 – 533)	0,122
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	25 (12 – 51)	35 (20 – 129)	0,055
	T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	16 (9 – 51)	84 (10 – 167)
	Perfuzja końcowa [PU]	258 (179 – 327)	293 (213 – 374)	0,189
	Przyrost perfuzji [%]	1413 (429 – 2149)	364 (104 – 1759)	0,001

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartyłowe (IQR).

Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

11. Porównanie kobiet i mężczyzn z cukrzycą typu 1.

Badaną grupę pacjentów podzielono ze względu na płeć. Mężczyźni z cukrzycą typu 1 byli starsi [32 (25-35) vs 25 (22-32) lata, $p < 0,001$], charakteryzowali się wyższym wskaźnikiem BMI [25 (24-27) vs 23 (21-25) kg/m^2 , $p < 0,001$], wyższą wartością ciśnienia tętniczego skurczowego [130 (130-140) vs 120 (115-130) mmHg, $p < 0,001$], lepszym wyrównaniem metabolicznym [HbA1c 7,1 (6,2-8,1) vs 7,5 (6,8-8,7) %, $p = 0,012$] oraz niższą wartością frakcji HDL cholesterolu [62 (53-71) vs 69 (59-86) mg/dl, $p < 0,001$]. W teście PORH oraz w teście LTH obserwowano u mężczyzn znamienne wyższe wartości wszystkich ocenianych parametrów za wyjątkiem obszaru hiperemii jednosekundowej oraz procentowego przyrostu perfuzji w LTH, które były wyższe u kobiet. Wyniki przedstawiono w **tabeli 12**.

Tabela 12. Porównanie kobiet i mężczyzn z cukrzycą typu 1.

O K L U Z J A		DM kobiety	DM mężczyźni	P
	n (%)	74 (49)	78 (51)	
	Perfuzja spoczynkowa [PU]	13 (8 – 27)	23 (16 – 78)	0,001
	Wartość szczytowa perfuzji [PU]	77 (56 – 106)	89 (58 – 164)	0,019
	Przyrost perfuzji [%]	275 (100 – 562)	635 (252 – 1733)	0,001
	Obszar hiperemii jedn. sek. [PU/s]	355 (199 – 744)	257 (114 – 508)	0,032
	Wartość szczytowa perfuzji/czas [PU/s]	23 (12 – 35)	36 (16 – 82)	0,035
T E M P 44°	Perfuzja początkowa [PU]	11 (7 – 24)	39 (15 – 114)	0,001
	Perfuzja końcowa [PU]	223 (168 – 306)	297 (235 – 360)	0,001
	Przyrost perfuzji [%]	1793 (689 – 2805)	605 (194 – 1724)	0,001

Wyniki przedstawiono jako mediany i rozstępy międzykwartylowe (IQR).

Porównania wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitney'a.

Tabela 13. Podsumowanie wyników w teście PORH

	DM vs kontrola	Powikłania vs bez powikłań	>140 vs ≤140 mg/dl	HbA1c>7,5 vs ≤7,5%	HA vs bez HA	Leki vs bez leków	Palący vs niepalący	Mężczyźni vs kobiety
Perfuzja spoczynkowa	↓ w DM	↑ w powikłaniach	ns	ns	↑ w HA	↑ przy lekach	↑ u palących	↑ mężczyźni
Wartość szczytowa perfuzji	↓ w DM	↑ w powikłaniach	ns	ns	ns	ns	↑ u palących	↑ mężczyźni
Przyrost perfuzji	↓ w DM	↑ w powikłaniach	ns	↑ przy HbA1c >7,5	↑ w HA	↑ przy lekach	↑ u palących	↑ mężczyźni
Obszar hyperemii jedn. sek.	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	Ns	↓ mężczyźni
Wartość szczytowa perfuzji/czas	↓ w DM	ns	ns	ns	ns	ns	Ns	↑ mężczyźni

Tabela 14. Podsumowanie wyników w teście LTH.

	DM vs kontrola	Powikłania vs bez powikłań	>140 vs ≤140 mg/dl	HbA1c>7,5 vs ≤7,5%	HA vs bez HA	Leki vs bez leków	Palący vs niepalący	Mężczyźni vs kobiety
Perfuzja spoczynkowa	↓ w DM	↑ w powikłaniach	ns	ns	ns	Ns	↑ u palących	↑ mężczyźni
Perfuzja końcowa	↓ w DM	ns	ns	ns	ns	Ns	ns	↑ mężczyźni
Przyrost perfuzji	ns	↓ w powikłaniach	ns	ns	ns	ns	↓ u palących	↓ mężczyźni

↓ - istotnie statystycznie niższa

↑ - istotnie statystycznie wyższa

ns – nieistotna statystycznie różnica

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Dzięki odkryciu insuliny naturalny przebieg cukrzycy typu 1 uległ zasadniczej zmianie. Ze śmiertelnej choroby zmieniła się ona w schorzenie przewlekłe. Jednakże w następstwie jej dłużejtrwałego przebiegu, problemem klinicznym stał się rozwój przewlekłych powikłań choroby prowadzących do kalectwa lub przedwczesnej śmierci. Zasadniczą przyczyną zgonów wśród osób z typem 1 cukrzycy są choroby układu sercowo-naczyniowego, a zwłaszcza choroba niedokrwienna serca (ChNS) [92]. W badaniu Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications (EDC), w trakcie 10-letniego okresu obserwacji chorych z cukrzycą typu 1 z czasem trwania schorzenia około 28 lat, choroba niedokrwienna serca była przyczyną 59% zgonów [93]. W pierwszych dziesięciu latach trwania choroby nie obserwuje się jednak zwiększonej częstości występowania powikłań o charakterze makroangiopatii [94]. Dopiero po upływie tego okresu czasu wpływ cukrzycy typu 1 na częstość powikłań sercowo-naczyniowych i śmiertelność jest zbliżony do obserwowanej w populacji osób z typem 2 schorzenia [95].

Od wielu lat wiadomo, że zasadniczymi czynnikami ryzyka rozwoju miażdżycy u pacjentów z cukrzycą typu 1 są czas trwania choroby i obecność powikłań o charakterze mikroangiopatii [96]. Szczególnie negatywną rolę w tym zakresie przypisuje się albuminurii. Jej pojawienie się w przebiegu cukrzycy koreluje z klasycznymi czynnikami ryzyka zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych. Albuminuria, traktowana jako marker dysfunkcji śródbłonna, jest czułym wskaźnikiem zagrożenia miażdżycą. Chorzy z cukrzycą typu 1 powikłaną nefropatią mają 8-19-krotnie większe ryzyko ChNS niż osoby bez tego powikłania [97].

W badaniu DCCT/EDIC udowodniono, że hiperglikemia ma ścisły związek z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii. Wykazano w nim również skuteczność metody intensywnej czynnościowej insulinoterapii w zapobieganiu ich rozwojowi lub progresji [4]. W grupie chorych leczonych intensywnie, po 30 latach trwania cukrzycy typu 1, częstość przewlekłych powikłań wynosiła 21% dla retinopatii proliferacyjnej, 9% dla nefropatii i 9% dla chorób układu sercowo-naczyniowego. W populacji osób leczonych metodą konwencjonalną częstość tych powikłań była większa i wynosiła odpowiednio 50%, 25% i 14% [98].

Dla oceny przebiegu choroby przewlekłej konieczne jest stałe jej monitorowanie. W cukrzycy rolę wskaźnika umożliwiającego wgląd w postęp schorzenia pełni glikowana

hemoglobina (HbA_{1c}). Grauslund i wsp. wykazali bezpośredni związek jej wartości z przeżyciem chorych z około 30-letnim wywiadem cukrzycy typu 1 [99]. Wiadomo jednak, że HbA_{1c} nie jest idealnym wskaźnikiem wyrównania metabolicznego. Nie uwzględnia ona bowiem dobowej zmienności i wahań glikemii, które wywierają również negatywny wpływ na funkcję mikrokrążenia [100]. Distiller i wsp. na podstawie przeglądu badań klinicznych wykazali, że czynnikami prognozującymi długie życie osób z cukrzycą typu 1 są: dobre wyrównanie metaboliczne choroby, wysokie stężenie frakcji HDL cholesterolu, małe zapotrzebowanie na insulinę egzogenną, prawidłowa masa ciała, niepalenie tytoniu, prawidłowe wartości ciśnienia tętniczego, negatywne badanie w kierunku mikroalbuminurii po 15-20 latach trwania choroby oraz długowieczność rodziców [101].

W ostatnich latach poszukuje się narzędzi pozwalających na rozpoznanie wczesnych etapów rozwoju zaburzeń mikrokrążenia. Zmiany czynnościowe, poprzedzające powstawanie utrwalonych zmian strukturalnych są bowiem zazwyczaj odwracalne. Aktualnie, współczesna diabetologia dysponuje wieloma nieinwazyjnymi technikami badawczymi umożliwiającymi ocenę funkcji dużych naczyń krwionośnych oraz rozpoznawanie wczesnych zmian miażdżycowych. Uzyskiwane dzięki nim wyniki wskazywać mogą na stopień ryzyka sercowo-naczyniowego u osób z cukrzycą [102]. Ponadto, metody te umożliwiają monitorowanie progresji chorób układu sercowo-naczyniowego oraz skuteczności ich leczenia. Dają jednak niewielki tylko wgląd w stan naczyń mikrokrążenia odgrywających istotną rolę w rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy.

W ostatnich latach do identyfikacji zaburzeń czynności mikrokrążenia wykorzystuje się coraz częściej łożysko naczyniowe skóry. Nieprawidłowa jego reaktywność może bowiem odzwierciedlać zaburzenia systemowe, a także dać pewien wgląd w mechanizmy leżące u ich podstawy [103,104]. Dotychczas mikrokrążenie skóry oceniano między innymi w nadciśnieniu tętniczym [105], przewlekłej niewydolności serca [106] oraz w procesie starzenia się organizmu [107].

Dobrym narzędziem do oceny dynamicznych zmian zachodzących w mikrokrążeniu skóry wydaje się być laserowa przepływometria dopplerowska (LDF). Na przestrzeni ostatnich lat wielokrotnie próbowano ustalić, czy za pomocą tej metody można uzyskać wiarygodne i powtarzalne wyniki. Wątpliwości wynikały bowiem z dużego zróżnicowania unaczynienia i unerwienia poszczególnych regionów skóry. Ustalono, że powtarzalność

wyników jest największa przy badaniu opuszki palców [67]. Zwrócono również uwagę, że wiarygodne i powtarzalne wyniki uzyskać można jedynie przy prowadzeniu badań w tych samych warunkach, przy ścisłym przestrzeganiu ustalonego protokołu. Dużo wątpliwości wzbudza też wybór czynników prowokujących reakcję skurczową lub rozkurczową mikrokrążenia, a także mnogość różnych parametrów i wskaźników uzyskiwanych w czasie badania laserowej przepływometrii dopplerowskiej. Yvonne-Tee i wsp. stwierdzili, że w teście pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH) najbardziej powtarzalnym parametrem jest wartość szczytowa perfuzji oraz stosunek tej wartości do czasu jej osiągnięcia [108].

Badania własne przeprowadzano na skórze opuszki palucha. Wybór miejsca wiązał się z sugestiami innych autorów, którzy właśnie w tej okolicy uzyskiwali najbardziej powtarzalne wyniki. Wiadomo ponadto, że podeszwowa powierzchnia palucha jest miejscem, w którym stosunkowo wcześnie obserwuje się zaburzenia czucia dotyku i wibracji. W konsekwencji prowadzą one do powstawania modzeli i owrzodzeń [109]. Dla ustalenia wiarygodności metody w badaniu własnym, w dwóch następujących po sobie dniach, oceniano przepływ w naczyniach mikrokrążenia skóry u 30 chorych z cukrzycą typu 1. W żadnym przypadku, przy powtórzeniu badania, nie zarejestrowano istotnej różnicy w zakresie ocenianych parametrów. Wykazano więc, że przy zachowaniu tych samych warunków przeprowadzenia badania metodą laserowej przepływometrii dopplerowskiej u osób z cukrzycą typu 1 można uzyskać powtarzalne wyniki.

Dotychczas publikowane badania oceniające czynność mikrokrążenia skóry za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej, dotyczyły przede wszystkim chorych z cukrzycą typu 2. Analizując dane literaturowe można zauważyć, że prezentowane wyniki są praktycznie nieporównywalne. Zwraca uwagę znaczne zróżnicowanie w zakresie stosowanych protokołów badawczych, niejednorodność ocenianych grup, różne rodzaje użytych testów prowokacyjnych, a także indywidualny wybór ocenianych parametrów. Np. Jarnert i wsp. oceniali wpływ kontroli glikemii na mikrokrążenie w skórze u chorych z typem 2 cukrzycy. Do badania włączyli osoby z krótkim czasem trwania schorzenia (około 5 lat) i dobrym wyrównaniem metabolicznym (HbA_{1c} ok. 5,7%), bez powikłań sercowo-naczyniowych. Pacjentów przydzielono do dwóch grup terapeutycznych: leczenie z zastosowaniem insuliny (analogi długo- i szybko działające) bądź leków doustnych (metformina w monoterapii lub w skojarzeniu z repaglinidem). Po czteromiesięcznym okresie obserwacji zanotowano w obydwu grupach obniżenie wartości HbA_{1c} z

równoczesną poprawą funkcji mikrokrążenia, tj. z wyższymi wartościami szczytowej perfuzji w PORH oraz perfuzji końcowej w teście reakcji przekrwiennej na miejscowe ogrzewanie (LTH) [110]. Yamamoto-Suganuma i wsp. z kolei porównali wartości perfuzji w teście PORH u chorych z typem 2 cukrzycy i u osób zdrowych. Pacjenci włączeni do badania stanowili heterogenną grupę pod względem sposobu leczenia. Grupa badana charakteryzowała się niedostatecznym wyrównaniem metabolicznym, a średnia wartość HbA_{1c} wynosiła u nich 9,67%. Czas do osiągnięcia szczytowej perfuzji był u nich krótszy niż u osób zdrowych. Nie zaobserwowano natomiast istotnej różnicy pomiędzy grupami w zakresie wartości perfuzji spoczynkowej. Autorzy oceniali również pole pod krzywą perfuzji w ostatniej minucie przed wywołaniem okluzji oraz w pierwszej minucie po jej zwolnieniu. Wykazali, że PORH indeks, wyliczony jako stosunek obu tych wartości, był istotnie niższy u chorych z cukrzycą aniżeli u osób zdrowych. Jego wartość korelowała negatywnie z albuminurią i prędkością fali tętna [78].

W badaniach własnych ocenie mikrokrążenia za pomocą LDF poddano grupę chorych z cukrzycą typu 1. Grupa ta cechowała się dość dobrym wyrównaniem metabolicznym (średnia HbA_{1c} 7,3%) i obejmowała chorych bez zaawansowanych powikłań, zarówno o charakterze mikro- jak i makroangiopatii. Wykazano, że chorzy z cukrzycą typu 1 mają w porównaniu z grupą kontrolną znamienne niższe wartości perfuzji spoczynkowej oraz szczytowej w teście pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH), a także niższą wartość perfuzji końcowej w teście reakcji przekrwiennej na miejscowe ogrzewanie (LTH). Wyniki te są zgodne z obserwacjami Khana i wsp. W grupie dzieci i młodych dorosłych z cukrzycą typu 1 stwierdzili oni istotnie niższe maksymalne wartości perfuzji w teście PORH w odpowiedzi na jontoforezę acetylocholinyl (Ach) i nitroprusydku sodu (SNP) aniżeli u osób zdrowych [72]. Podobnie Jasik i wsp., w grupie 39 osób z cukrzycą typu 1, stwierdzili istotnie niższą niż u osób zdrowych wartość szczytowej perfuzji w teście PORH oraz znamienne dłuższy czas do jej osiągnięcia [111].

W badaniach własnych wykazano ponadto, że chorzy z typem 1 cukrzycy w porównaniu z osobami zdrowymi charakteryzują się istotnie niższym wskaźnikiem przyrostu perfuzji w jednostce czasu. Wskazywać to może na opóźnioną u nich reakcję rozkurczową naczyń mikrokrążenia. Odmiennie wyniki uzyskali Schlager i wsp. W grupie 58 dzieci z cukrzycą typu 1 stwierdzili znamienne wyższą wartość szczytową perfuzji w teście PORH w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Nie obserwowali jednak istotnych różnic w zakresie perfuzji spoczynkowej oraz czasie do osiągnięcia perfuzji szczytowej [112].

Podobnie Koitka i wsp. nie notowali różnicy w wielkości perfuzji spoczynkowej pomiędzy grupą dzieci z cukrzycą typu 1 a grupą kontrolną. Badania przeprowadzono jednak na znacznie mniejszej liczbie grupie chorych w porównaniu do grupy ocenianej w badaniu własnym. Dodatkowo, chorzy analizowani przez Koitka i wsp. charakteryzowali się znacznie gorszym wyrównaniem metabolicznym (średnia HbA_{1c} 9,2%) [113]. Wiele czynników może wpływać na przytoczone różnice w badaniach poszczególnych autorów. Należy np. brać pod uwagę różny przebieg początku cukrzycy, który jest zazwyczaj inny u dzieci i osób dorosłych. Im wcześniej dochodzi do zachorowania na cukrzycę typu 1, tym początek jest bardziej dynamiczny i gwałtowny. Tak więc, w okresie utajenia zaburzeń gospodarki węglowodanowej mikrokrążenie u dzieci mogło być poddawane negatywnemu wpływowi hiperglikemii przez krótszy okres czasu aniżeli u dorosłych pacjentów ocenianych w badaniach własnych. Część spośród ocenianych osób wykazywała ponadto już obecność początkowych stadiów mikroangiopatii. Mieli też nadciśnienie tętnicze oraz zażywali leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny i/lub statyn oraz palili papierosy. Po wyłączeniu ich z analizy, w teście PORH stwierdzono u pacjentów z typem 1 cukrzycy znamienne niższe niż u osób zdrowych wartości perfuzji spoczynkowej, jej wartości szczytowej oraz wolniejszy w czasie przyrost perfuzji. Stwierdzono u nich także niższe wartości perfuzji początkowej i końcowej w teście LTH. Uzyskane wyniki w wyselekcjonowanej grupie chorych z typem 1 cukrzycy dobitnie wskazują na rolę hiperglikemii i zachodzących pod jej wpływem zaburzeń biochemicznych w rozwoju dysfunkcji śródbłonna, reaktywności naczyń, oraz w przebudowie naczyń mikrokrążenia, prowadzących do rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy [19,4].

Meyer i wsp. dokonali oceny przepływów w mikrokrążeniu skóry u pacjentów z cukrzycą typu 1 i typu 2. Obie grupy chorych podzielono na podgrupy w zależności od czasu trwania choroby (powyżej i poniżej 10 lat) oraz wyrównania metabolicznego (HbA_{1c} powyżej i poniżej 7,5%). Wykazano w obydwu podgrupach chorych z cukrzycą typu 1 znamienne niższe niż u osób zdrowych wartości szczytowej perfuzji oraz dłuższy czas do jej osiągnięcia w teście PORH. Wśród pacjentów z typem 2 schorzenia zmiany te obserwowano tylko u osób z gorszym wyrównaniem metabolicznym [114]. Autorzy sugerują, że aktualne wyrównanie metaboliczne wywiera większy wpływ na reaktywność mikrokrążenia u chorych z cukrzycą typu 2 aniżeli z typem 1 schorzenia. Stwierdzili również, że krótkotrwała poprawa kontroli glikemii u pacjentów z cukrzycą nie zmienia w istotny sposób przepływów mikrokrążenia skóry [115]. Nie można wykluczyć, że w typie

1 choroby największy negatywny wpływ na reaktywność naczyń wywierają duże dobowe wahania glikemii nie znajdujące odzwierciedlenia w aktualnych wartościach HbA_{1c}.

W badaniach własnych ocenianą grupę chorych z cukrzycą typu 1 podzielono również na dwie podgrupy w zależności od aktualnego stopnia wyrównania metabolicznego schorzenia (HbA_{1c} powyżej i poniżej 7,5%). Nie wykazano znamiennej statystycznie różnicy w zakresie perfuzji spoczynkowej, jej wartości szczytowej ani prędkości przyrostu perfuzji w czasie w teście PORH. Widoczna była jednak tendencja do wyższych wartości perfuzji oraz szybszego jej przyrostu u chorych z gorszym wyrównaniem metabolicznym schorzenia. Trudności interpretacyjne stwarza dodatkowo brak danych o wcześniejszym stopniu ich wyrównania metabolicznego. Z uwagi na zjawisko pamięci hiperglikemicznej [22], bardziej obiektywne byłoby bowiem dokonanie podziału badanych w oparciu o średnią wartość HbA_{1c} z kilku wcześniejszych lat. Wskazują na to wyraźnie badania Rathsmann i wsp. Poddali oni 28-letniej obserwacji 96 osób biorących udział w Stockholm Diabetes Intervention Study (SDIS). Grupę podzielono na dwie podgrupy w zależności od modelu insulinoterapii (intensywna vs standardowa), częstości kontaktu z lekarzem prowadzącym oraz zakresu edukacji [116]. Uwzględniano średnie wartości HbA_{1c} z okresu 15 lat i ilość przeprowadzonych badań (średnio 20 wyników/osobę). Pacjenci obserwowani byli do czasu pierwszej hospitalizacji związanej z rozwinięciem zespołu stopy cukrzycowej lub do 2011 roku. Po około siedmiu latach od randomizacji dokonano oceny reaktywności mikrokrążenia skóry. Osoby leczone metodą intensywnej insulinoterapii charakteryzowały się znamienne niższą wartością HbA_{1c} oraz wyższymi wartościami przepływów po podaniu substancji wazoaktywnych. W grupie tej było też mniej przypadków retinopatii i nefropatii. Na końcu okresu obserwacji, mimo braku istotnych statystycznie różnic w wartościach HbA_{1c}, zdecydowanie więcej osób (10 vs 3) z grupy leczonej standardowo rozwinęło owrzodzenie na stopie [117]. Na podstawie doświadczeń klinicznych wiadomo, że przy leczeniu konwencjonalnym (standardowym) zdecydowanie częściej obserwuje się naprzemienne stany hipo – hiperglikemii.

Zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) i innych Towarzystw Naukowych, docelowe wartości poposiłkowych glikemii u pacjentów z cukrzycą typu 1 nie powinny przekraczać 140 mg/dl [118]. W badanej grupie własnej nie stwierdzono jednak różnic w zakresie ocenianych parametrów przepływu w obrębie mikrokrążenia pomiędzy grupą z glikemią poniżej i powyżej 140 mg/dl, mierzoną bezpośrednio przed badaniem. Nie można wykluczyć więc, że nie sama wartość glikemii,

lecz szybki jej przyrost odgrywa kluczową rolę w inicjowaniu zaburzeń mikrokrążenia. Akbari i wsp. oceniali wpływ nagłej hiperglikemii na reaktywność mikrokrążenia u zdrowych osób. W tym celu wykonywali oni doustny test obciążenia 75g glukozy (OGTT). Po upływie godziny od jej spożycia dokonywali oceny przepływu krwi w tętnicy ramiennej i w naczyniach mikrokrążenia. W tym celu wykonywali test PORH. Szczytowe przepływy w zdrowej tętnicy ramiennej były znamienne wyższe po obciążeniu glukozą niż na czczo. W teście LTH po obciążeniu glukozą perfuzja spoczynkowa w mikrokrążeniu była także wyższa, ale procentowy jej przyrost po ogrzaniu był niewielki [119]. Również Forst i wsp. stwierdzili, że u osób zdrowych po OGTT perfuzja spoczynkowa w teście LTH była wyższa niż w warunkach pozostawania na czczo [120]. W badaniach własnych zaobserwowano, że procentowy przyrost perfuzji w teście LTH u osób z wyższymi wartościami glikemii był co prawda mniejszy, ale różnica nie była istotna. Spostrzeżenia własne potwierdzają wcześniejsze sugestie o różnym zachowaniu się przepływów naczyniowych u osób zdrowych i pacjentów znajdujących się przewlekłe pod wpływem ponadfizjologicznych stężeń glukozy we krwi. Wpływ hiperglikemii na reaktywność naczyń mikrokrążenia i funkcję śródbłoka oceniali również Horova i wsp. Przeprowadzili oni badania u 16 osób z cukrzycą typu 1 w czasie zastosowania początkowo klamry euglikemicznej a następnie hiperglikemicznej prowadzącej do wzrostu glikemii o 100 mg/dl. W warunkach szybkiego przyrostu glikemii perfuzja szczytowa i prędkość przyrostu perfuzji w teście PORH były wyższe niż w warunkach normoglikemii. W teście LTH w warunkach hiperglikemii czas do osiągnięcia maksymalnej perfuzji po ogrzaniu był krótszy, a prędkość przyrostu perfuzji wyższa niż w warunkach normoglikemii. Badania te potwierdzają wcześniejsze sugestie, że pod wpływem gwałtownego wzrostu glikemii (np. wzrost glikemii poposiłkowej, duże wahania glikemii) dochodzi do rozszerzenia naczyń włosowatych i krótkotrwałej hipoksji tkankowej. Nasilenie perfuzji w tych warunkach stanowić może mechanizm kompensacyjny. Horova i wsp. wykazali ponadto odwrotną zależność między wartością szczytową perfuzji w teście PORH a stężeniem insuliny. Na tej podstawie wysunęli wniosek, że insulina może także odgrywać znaczącą rolę w regulacji perfuzji w mikrokrążeniu [121]. Forst i wsp. sugerują z kolei istotną w tym zakresie rolę C-peptydu, głównie poprzez jego wpływ na uwalnianie tlenu azotu (NO) w odpowiedzi na stymulację syntazy NO (eNOS) w komórkach śródbłoka [122].

W badaniach własnych dokonano również oceny perfuzji mikrokrążenia w dwóch grupach chorych z cukrzycą typu 1, tj. z obecnością mikroangiopatii i bez rozpoznanych początkowych jej stadiów. Grupa osób z mikroangiopatią nie była co prawda zbyt liczna, ale pozwoliła na statystyczną interpretację wyników. Chorzy z obecnością powikłań charakteryzowali się znamienne dłuższym czasem trwania cukrzycy oraz gorszym wyrównaniem metabolicznym schorzenia. Obserwacje te są zgodne z wynikami badania DCCT, które wykazało że czas trwania cukrzycy i gorsza kontrola metaboliczna są najważniejszymi czynnikami ryzyka rozwoju przewlekłych powikłań [4]. W badaniach własnych osoby z mikroangiopatią cechowały się znamienne wyższymi wartościami perfuzji spoczynkowej oraz jej wartości szczytowej, a także procentowym przyrostem w teście PORH. W teście LTH pomimo istotnie wyższej wartości perfuzji początkowej obserwowano u nich po ogrzaniu wyraźnie niższy przyrost procentowy perfuzji. Uzyskane wyniki mogą więc sugerować, że mikrokrążenie osób z typem 1 cukrzycy jest szczególnie wrażliwe na niedotlenienie wywołane okluzją, które najprawdopodobniej kompensowane jest poprzez wypełnienie krwią większej ilości naczyń włosowatych. Natomiast temperatura nie jest tak silnym czynnikiem stymulującym. Nieco inne wyniki uzyskali Škrha i jego zespół. Poddali oni ocenie pacjentów z cukrzycą typu 1 z powikłaniami i bez ich obecności. Pomiarów przepływów w mikrokrążeniu dokonywali w skórze przedramienia. W swoich badaniach u osób z cukrzycą typu 1 i mikroangiopatią wykazali niższą wartość szczytowej perfuzji oraz niższą prędkość przyrostu perfuzji w teście PORH niż u osób zdrowych. Wartości te były ponadto istotnie niższe u chorych z powikłaniami o charakterze mikroangiopatii w porównaniu z chorymi bez powikłań. W teście LTH grupa z powikłaniami charakteryzowała się też znamienne niższą wartością perfuzji początkowej. Uwidoczniono też odwrotną zależność pomiędzy wartością glikemii na czczo, HbA_{1c} a wartością szczytowej perfuzji w teście PORH i LTH [68]. Chorzy z typem 1 cukrzycy objęci tym badaniem byli starsi i charakteryzowali się dłuższym czasem trwania choroby w porównaniu z grupą osób analizowanych w badaniach własnych. Z pewnością dłuższy czas trwania choroby, a tym samym bardziej długotrwały wpływ hiperglikemii na ścianę naczyniową mikrokrążenia był przyczyną obserwowanych różnic w wynikach. Można ponadto wnioskować, że do badań własnych zostali włączeni pacjenci na wcześniejszym etapie zmian zachodzących w mikrokrążeniu skóry, to jest na etapie zwiększenia tylko przepływów w naczyniach i poszerzenia kapilar [123].

Od dawna wiadomo, że stan mikrokrążenia ulega pogorszeniu u osób palących papierosy. Dotyczy to zarówno zdrowych, jak i pacjentów z cukrzycą. Hofer i wsp. wykazali, że młode osoby z cukrzycą typu 1 palące papierosy są gorzej wyrównane metabolicznie w zakresie gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Mieli oni też znamienne wyższe niż osoby niepalące wartości HbA_{1c}, frakcji LDL cholesterolu i trójglicerydów, a niższe frakcji HDL cholesterolu. Cechowali się również wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego rozkurczowego [124]. Piłaciński i wsp. już wcześniej ujawnili, że osoby które w momencie rozpoznania cukrzycy typu 1 paliły papierosy miały mniej stabilny przebieg choroby i krótszy okres remisji [125]. Wykazano również u chorych z cukrzycą negatywny wpływ palenia papierosów na wielkość GFR [126] oraz na zwiększone ryzyko cukrzycowego obrzęku płamki w przebiegu retinopatii [127]. W badaniach własnych wykazano ponadto w grupie palaczy wyższe wartości perfuzji spoczynkowej, szczytowej oraz procentowego jej przyrostu w teście PORH. Obserwowano u nich również wyższą prędkość narastania perfuzji. W teście LTH chorzy palący papierosy charakteryzowali się istotnie wyższą wartością perfuzji początkowej przy jednocześnie niższym procentowym jej przyroście. Wskazuje to wyraźnie na zaburzoną u nich reaktywność naczyń, zwłaszcza pod wpływem temperatury. Podobne obserwacje poczynili Argacha i wsp. W swoich badaniach także wykazali upośledzoną reakcję mikrokrążenia w odpowiedzi na miejscowe ogrzewanie u zdrowych osób poddanych ekspozycji na dym tytoniowy. Upośledzona była u nich przede wszystkim późna faza tej reakcji. Jest to zrozumiałe, ponieważ nikotyna w sposób bezpośredni upośledzać może aktywność syntazy tlenku azotu [128]. Rossi i wsp. oceniając przepływy w mikrokrążeniu skóry na przedramieniu w teście PORH nie wykazali natomiast różnicy w zakresie perfuzji spoczynkowej oraz szczytowej pomiędzy zdrowymi osobami palącymi papierosy i niepalącymi. Palacze charakteryzowali się jednak znamienne dłuższym okresem powrotu perfuzji do wartości spoczynkowych. Istotne różnice uwidoczniły się dopiero po analizie poszczególnych fal spektrum zapisu sygnału uzyskanego metodą LDF [129].

Wiadomo, że wczesne zmiany patologiczne zachodzące w łożysku naczyniowym u chorych z cukrzycą typu 1 są konsekwencją współwystępowania u nich klasycznych i nietradycyjnych czynników ryzyka miażdżycy. Zalicza się do nich również nadciśnienie tętnicze [130]. W badaniach własnych wydzielono grupę pacjentów z typem 1 cukrzycy i z nadciśnieniem tętniczym. Stwierdzono u nich w teście PORH znamienne wyższe wartości perfuzji spoczynkowej i jej procentowego przyrostu w porównaniu z osobami bez

współistniejącego nadciśnienia. Farkas i wsp. w podobnej grupie pacjentów wykazali niższą odpowiedź wazodylatacyjną i związane z nią wzrost perfuzji w skórze przedramienia w odpowiedzi na jontoforezę acetylocholino. Istotnie niższy był również procentowy przyrost perfuzji w teście PORH [131]. Wyniki te nie są zgodne z uzyskanymi w badaniach własnych. Może to wynikać z różnych warunków prowadzenia badań. Farkas i wsp. oceniali bowiem mikrokązenie po 72-godzinnym okresie bez przyjmowania leków hipotensyjnych. W badaniach własnych natomiast chorzy z cukrzycą typu 1 i nadciśnieniem tętniczym otrzymywali leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny, również w dniu badania. Rossi i wsp. zaobserwowali, że terapia hipotensyjna u osób z nowo rozpoznany nadciśnieniem tętniczym pozwala przywrócić reaktywność naczyń mikrokązenia skóry do wartości obserwowanych u osób zdrowych [132]. Sieg-Dobrescu i wsp. stwierdzili z kolei, że po zaprzestaniu terapii hipotensyjnej perfuzja w skórze przedramienia w teście PORH ulega znamiennej pogorszeniu. Po ponownym włączeniu leczenia i jego kontynuacji przez okres ośmiu tygodni, wartości perfuzji w skórze w odpowiedzi na okluzję wyraźnie wzrastały [133]. W obu badaniach dla normalizacji wartości ciśnienia tętniczego stosowano leki z różnych grup, a nie tylko ACE-I.

Zaburzenia gospodarki lipidowej odgrywają istotną rolę w patogenezie przewlekłych powikłań cukrzycy. Grupa chorych w badaniach własnych charakteryzowała się korzystnym profilem lipidowym: niskimi wartościami stężenia trójglicerydów, frakcji LDL cholesterolu oraz wysokimi wartościami stężenia frakcji HDL cholesterolu. Dlatego też nie analizowano przepływów w mikrokązeniu skóry w zależności od stopnia tych zaburzeń. Ponadto, jedynie u pięciu pacjentów zachodziła konieczność stosowania statyn. Binggeli i wsp. udowodnili już wcześniej korzystny wpływ leków tej grupy na wartości perfuzji w skórze w teście PORH [134].

Na reaktywność mikrokązenia niebagatelny wpływ wywiera także płeć ocenianego pacjenta. W badaniach własnych wykazano istotne różnice perfuzji pomiędzy kobietami i mężczyznami z cukrzycą typu 1. Mężczyźni charakteryzowali się w teście PORH znamiennej wyższą perfuzją spoczynkową, wyższą wartością szczytowej perfuzji oraz jej procentową zmiennością. W porównaniu z kobietami cechowała ich również większa prędkość narastania perfuzji w czasie. W teście LTH mężczyźni prezentowali znamiennej wyższą wartość spoczynkowej i końcowej perfuzji, przy równocześnie mniejszej zmienności procentowej tego parametru. Cooke i wsp. zaobserwowali z kolei, że mężczyźni charakteryzują się znamiennej wyższymi wartościami perfuzji spoczynkowej,

ale mniejszą zmiennością ocenianych parametrów pod wpływem stosowanych bodźców [80].

Podsumowując można stwierdzić, że laserowa przepływometria dopplerowska jest prostą, bezpieczną i nieinwazyjną metodą służącą do oceny stanu mikrokrążenia w skórze. Ponadto oferuje ona powtarzalność wyników, również u chorych z typem 1 cukrzycy. Pewnym ograniczeniem badania są zastosowane testy prowokacyjne. U podłoża odpowiedzi na bodźce, jakimi w badaniu były okluzja naczyń i miejscowe ogrzewanie, leżą czynniki zarówno zależne jak i niezależne od funkcji śródbłonna. Uzyskiwana zmiana perfuzji jest więc wypadkową działania wielu czynników metabolicznych takich jak adenozyne czy adenozyntrifosforan oraz czynników śródbłonkowych, np. tlenu azotu, prostaglandyn, a także odruchów nerwowych zależnych od różnego rodzaju przekazywaczy np. noradrenaliny. Uzupełnienie zastosowanych testów o jontoforezę substancji wazoaktywnych np. acetylocholiny czy nitroprusydku sodu pozwoliłoby być może na bardziej wnikliwą ocenę mechanizmów leżących u podstaw zaobserwowanych w badaniach własnych różnic pomiędzy grupami.

Zaletą badania jest także duża liczebność dobrze scharakteryzowanej klinicznie grupy osób z typem 1 cukrzycy. Dotychczasowe analizy obejmowały zazwyczaj niewielką liczbę pacjentów, a znaczna część spośród nich dotyczyła chorych z cukrzycą typu 2. Liczebność grupy badanej umożliwiła analizę podgrup wydzielonych w zależności od obecności dodatkowych czynników, takich jak płeć, nadciśnienie tętnicze czy palenie papierosów. Innowacyjny był również protokół badania. Jako miejsce oceny perfuzji, wybrano bowiem podeszwową powierzchnię palucha. Jest ona niezwykle wrażliwa na wszelkie zmiany kontroli metabolicznej cukrzycy. Większość badaczy dokonywała pomiarów na powierzchni grzbietowej stopy czy przedramieniu, a więc w miejscach, w których powtarzalność wyników jest zdecydowanie mniejsza [67]. Mankiet stosowany do okluzji naczyń zakładano również na paluch. Zastosowana metoda laserowej przepływometrii dopplerowskiej i opracowany protokół badania pozwoliły na wykazanie różnic w czynności mikrokrążenia skóry pomiędzy osobami zdrowymi a chorymi z cukrzycą typu 1, a także pomiędzy pacjentami bez uchwytanych powikłań i wykazujących ich początkowe stadia. Umożliwiły one również wykazanie wpływu dodatkowych czynników na stan spoczynkowy i reaktywność mikrokrążenia. Na podstawie własnych badań można sugerować, że u osób z typem 1 cukrzycy najwcześniej dochodzi do zaburzeń perfuzji spoczynkowej. W dalszym etapie nasilenia zmian czynnościowych

następuje poprawa przepływu w mikrokrążeniu (tzw. pseudonormalizacja). Zastosowana metoda wydaje się być szczególnie przydatną do monitorowania progresji zmian o charakterze mikroangiopatii, a w mniejszym stopniu do ich diagnozowania. Pojedyncza ocena nie dostarcza bowiem wystarczającej ilości informacji. Jednakże powtarzana w odstępach czasu pozwoli uchwycić zmiany mikronaczyniowe znajdujące się jeszcze na etapie odwracalnych zaburzeń ich czynności. Będzie to wymagało przeprowadzenia dalszych badań i prospektywnej oceny chorych z grupy badanej.

WNIOSKI

1. U pacjentów z cukrzycą typu 1 za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej można stwierdzić zmiany funkcji mikrokrążenia, zwłaszcza w zakresie perfuzji spoczynkowej.
2. Przewlekłe powikłania cukrzycy, palenie papierosów, stosowane leki (ACE-I, statyny) oraz rozpoznane nadciśnienie tętnicze zaburzają przepływy w mikrokrążeniu.
3. Płeć chorego wpływa w istotny sposób na przepływy w mikrokrążeniu.
4. U osób z początkowymi powikłaniami o charakterze mikroangiopatii obserwuje się zjawisko „pseudonormalizacji” przepływów.
5. W grupie osób z cukrzycą typu 1 aktualne wyrównanie glikemiczne cukrzycy (HbA_{1c} , glikemia przed badaniem) wydaje się nie wywierać istotnego wpływu na funkcję mikrokrążenia.
6. Metoda laserowej przepływometrii dopplerowskiej jest przydatnym narzędziem diagnostycznym do oceny funkcji mikrokrążenia, dającym powtarzalne wyniki w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1.

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wstęp

Pomimo postępu jaki dokonał się w zakresie insulinoterapii oraz możliwości prowadzenia samokontroli śmiertelność w grupie chorych z cukrzycą typu 1 (DMT1) nadal jest wyższa niż w populacji bez tego schorzenia. Odpowiedzialne są za to zjawisko przewlekłe powikłania zarówno o charakterze mikroangiopatii jak i makroangiopatii. Przy obecnym postępie wiedzy oraz dostępności metod diagnostycznych ich rozpoznawanie dopiero w momencie klinicznego ujawnienia zmian wydaje się zbyt późne. Aktualnie poszukuje się narzędzi, które pozwolą na rozpoznanie zaburzeń w mikrokrążeniu na bardzo wczesnym etapie. Umożliwiłoby to zidentyfikowanie pacjentów zagrożonych ryzykiem rozwoju mikroangiopatii w krótkim czasie. Poprawa kontroli glikemii, eliminacja współistniejących czynników ryzyka oraz motywacja chorych dałyby szansę na zatrzymanie i/lub częściowe odwrócenie funkcjonalnych zmian w mikrokrążeniu. W ostatnich latach jako łatwo dostępny badaniu i reprezentacyjny model zaburzeń funkcji mikrokrążenia w organizmie wskazuje się łożysko naczyniowe skóry. Dobrym i uznanym narzędziem do oceny dynamicznych zmian zachodzących w mikrokrążeniu jest laserowa przepływowometria dopplerowska.

Cel

Celem pracy jest ocena funkcji mikrokrążenia za pomocą laserowej przepływowometrii dopplerowskiej u chorych z DMT1.

Material i metody

Badaniem objęto 152 osoby (78 mężczyzn i 74 kobiety) z DMT1 hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w latach 2012 -2013, bez zaawansowanych powikłań cukrzycy, w wieku 28 (IQR: 22-35) lat, z czasem trwania choroby 9 (7-13) lat oraz 52 zdrowe osoby dobrane pod względem płci i wieku. W badanej grupie oceniono stopień wyrównania metabolicznego cukrzycy oraz obecność powikłań o charakterze mikroangiopatii. Dla oceny mikrokrążenia w skórze wykorzystano metodę laserowej przepływowometrii dopplerowskiej. Badanie wykonano z zastosowaniem urządzenia PERIFLUX 5000 (Perimed, Sztokholm, Szwecja) na podeszwowej powierzchni palucha stopy. Przeprowadzono pomiary spoczynkowe oraz dwa testy prowokacyjne: test

pookluzyjnej reakcji przekrwiennej (PORH-postocclusive reactive hyperemia) oraz test reakcji przekrwiennej na miejscowe ogrzewanie (LTH- local thermal hyperemia). Wartości perfuzji przedstawiono w skali jednostek perfuzji (PU – Perfusion Units).

Wyniki

W badanej grupie u 15% ocenianych pacjentów stwierdzono nadciśnienie tętnicze, 26% osób paliło papierosy, 15% stosowało preparaty inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE-I), a 3% statyny. Wartość HbA_{1c} wynosiła 7,3 (6,6-8,6) %. Dobowa dawka insuliny wynosiła średnio 0,43 j/kg mc/dobę. W badanej grupie u 24 (16%) osób stwierdzono obecność powikłań o charakterze mikroangiopatii w stadium początkowym, w tym retinopatię nieproliferacyjną łagodną u 19 (13%) osób oraz nieprawidłowe wyniki dwóch z czterech testów oceniających neuropatię autonomiczną układu sercowo-naczyniowego u 6 (4%) osób.

W celu oceny powtarzalności zastosowanej metody badawczej w grupie 30 osób chorych na cukrzycę dokonano oceny mikrokrążenia w skórze za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej w dwóch kolejnych dniach. Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy wynikami pomiarów żadnego z ocenianych parametrów, zarówno w teście PORH, jak i w teście LTH.

W badanej grupie osób z DMT1 stwierdzono istotnie niższe wartości perfuzji spoczynkowej w porównaniu osobami z grupy kontrolnej [18 (10-46) vs 38 (10-99) PU, p=0,006]. W teście PORH u osób z cukrzycą zaobserwowano istotnie niższą wartość szczytowej perfuzji [82 (56-134) vs 127 (67-236) PU, p=0,002] oraz istotnie niższy procentowy przyrost perfuzji [424 (143-929) vs 853 (210-2132) PU, p=0,021]. Chorzy z cukrzycą charakteryzowali się istotnie wolniejszym przyrostem perfuzji wyrażonym stosunkiem wartości szczytowej perfuzji do czasu jej osiągnięcia w porównaniu z osobami zdrowymi [28 (14-59) vs 43 (19-129) PU/s, p=0,021]. W teście reakcji LTH chorzy z cukrzycą cechowali się istotnie niższą perfuzją końcową w porównaniu z osobami zdrowymi [260 (187-337) vs 342 (223-430) PU, p=0,002]. W dodatkowych porównaniach wewnątrz grupy osób chorych z cukrzycą typu 1 stwierdzono istotny wpływ obecności początkowych powikłań o charakterze mikroangiopatii, nadciśnienia tętniczego, stosowania leków z grupy ACE-I i statyn, palenia papierosów oraz płci na rejestrowane wartości perfuzji w użytych testach prowokacyjnych. Nie obserwowano natomiast znamienych różnic pomiędzy grupami z lepszym i gorszym wyrównaniem

metabolicznym schorzenia ($HbA_{1c} \leq 7,5\%$ vs $>7,5\%$) oraz z wyższą i niższą wartością glikemii przed badaniem (glikemia ≤ 140 mg/dl vs >140 mg/dl) w żadnym z ocenianych parametrów.

Wnioski

- 1) U pacjentów z DMT1 za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej można stwierdzić zmiany funkcji mikrokrążenia, zwłaszcza w zakresie perfuzji spoczynkowej.
- 2) Przewlekłe powikłania cukrzycy, palenie papierosów, stosowane leki oraz rozpoznane nadciśnienie tętnicze zaburzają przepływy w mikrokrążeniu.
- 3) Płeć chorego wpływa w istotny sposób na przepływy w mikrokrążeniu.
- 4) U osób z początkowymi powikłaniami o charakterze mikroangiopatii obserwuje się zjawisko „pseudonormalizacji” przepływów.
- 5) W grupie osób z DMT1 aktualne wyrównanie glikemiczne cukrzycy (HbA_{1c} , glikemia przed badaniem) wydaje się nie wywierać istotnego wpływu na funkcję mikrokrążenia.
- 6) Metoda laserowej przepływometrii dopplerowskiej jest przydatnym narzędziem diagnostycznym do oceny funkcji mikrokrążenia, dającym powtarzalne wyniki w grupie pacjentów z DMT1.

Słowa kluczowe (MeSH): cukrzyca typu 1; powikłania cukrzycy; mikrokrążenie; laserowa przepływometria dopplerowska.

STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM

Introduction

The mortality among people with type 1 diabetes mellitus remains higher than in population without this disease, despite significant progress in the insulin therapy and the methods of glycemetic self-control. Chronic complications of diabetes, both micro- and macrovascular, are responsible for this phenomenon. With the current advancement of knowledge and the availability of diagnostic methods, to recognize them only after their clinical manifestation seems to be too late. Therefore new instruments for diagnosis of microcirculatory disorders at a very early stage are being searched. This would allow the identification of patients at risk of developing microvascular complications in a short time. Improvement of glycemetic control, elimination of coexisting risk factors and patients' motivation could inhibit and / or partially reverse functional changes in the microcirculation. In recent years the microcirculation of the skin has been indicated as an easily accessible and representative model of microcirculatory dysfunction. The proper and approved method to assess dynamic changes in microcirculation is laser doppler flowmetry.

Aim

The aim of this study was evaluation of microcirculation in patients with type 1 diabetes mellitus using laser doppler flowmetry.

Material and methods

The study was entered by 152 patients with type 1 diabetes (78 men and 74 women) hospitalized in the Department of Internal Medicine and Diabetology, Poznan University of Medical Sciences in years 2012-2013, without advanced chronic complications of the disease. Mean age was 28 (22-35) years and mean disease duration was 9 (7-13) years. The age- and sex-matched group of 52 healthy subject served as controls. The matabolic control of diabetes and the presence of microangiopathy was evaluated. The laser doppler flowmetry PERIFLUX 5000 (Perimed Stockholm, Sweden) was used for assessing the skin microcirculation. The measurements were taken using probe localized in plantar surface of the toe. The resting measurements and two stimulation tests: postocclusive reactive hyperemia (PORH) and local thermal hyperemia was performed. Perfusion is presented in perfusion units (PU).

Results

Hypertension was diagnosed in 15% of patients, 26% of them were smokers, 15% were using ACE inhibitors and 3% statins. Mean HbA1c level was 7,3 (6,6-8,6)%. The average daily dose of insulin was 0,46 U/kg. The early stage of microangiopathy was diagnosed in 24 patients (16%), including diabetic retinopathy in 19 patients (13%) and impaired two out of four tests for autonomic neuropathy in 6 (4%) of them.

Moreover, to assess the reproducibility of used method the measurements were taken on two consecutive days in a group of 30 diabetic patients. No differences were found between studied perfusion results in both PORH and LTH tests.

The resting perfusion [18 (10-46) vs 38 (10-99) PU, $p=0,006$], maximum perfusion [82 (56-134) vs 127 (67-236) PU, $p=0,002$] and the percentage increase of it [424 (143-929) vs 853 (210-2132) PU, $p=0,021$] were significantly lower during PORH in diabetic patients in comparison to control group. The velocity of increase in perfusion during PORH was also lower in the diabetic group [28 (14-59) vs 43 (19-129) PU/s, $p=0,021$]. During LTH patients with type 1 diabetes had significantly lower maximum perfusion compared to control [260 (187-337) vs 342 (223-430) PU, $p=0,002$]. Nevertheless, additional comparisons in a group of type 1 diabetic patients have shown significant impact of microangiopathy, hypertension, used medications, smoking and gender on the skin perfusion, no difference was recorded between patients with better or worse metabolic control (HbA1c $\leq 7,5\%$ vs $>7,5\%$) and glycemia before the skin examination (≤ 140 mg/dl vs >140 mg/dl) in any assessed parameters.

Conclusions

Functional changes in microcirculation assessed by laser doppler flowmetry are present in patients with type 1 diabetes mellitus, especially in resting perfusion. Chronic complications of the disease, smoking, medications and hypertension modify microcirculatory function. There is a significant influence of patients' gender on microvascular flow. The pseudonormalization of microvascular flow is present in patients at an early stage of microangiopathy. On the contrary the current metabolic control of disease (HbA1c, glycemia before examination) seems to have no impact on microvascular function. The laser doppler flowmetry is a diagnostic method providing reproducible results in type 1 diabetic patients.

Key words (MeSH): diabetes mellitus type 1; diabetes complications; microcirculation;
laser-doppler flowmetry;

PIŚMIENNICTWO

1. Cusick M., Meleth A.D., Agron E., i wsp. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Associations of mortality and diabetes complications in patients with type 1 and type 2 diabetes: early treatment diabetic retinopathy study report no. 27. *Diabetes Care* 2005; 28: 617-625.
2. Soedamah-Muthua S.S., Chaturvedi N., Toeller M., Ferris B. i wsp. Risk factors for coronary heart disease in type 1 diabetic patients in Europe. *Diabetes Care* 2004; 27 (2): 530-537.
3. Harding J.L., Shaw J.E., Peeters A., Guiver T. i wsp. Mortality trends among people with type 1 and type 2 diabetes in Australia: 1997-2010. *Diabetes Care* 2014; 37 (9): 2579-2586.
4. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. The effect of intensive therapy on the microvascular of type 1 diabetes mellitus. *JAMA* 2002; 287: 2563-2569.
5. UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837-853.
6. UK Prospective Diabetes Study Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998; 352: 854-865.
7. de Boer I.H., Rue T.C., Cleary P.A. i wsp. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria: an analysis of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications cohort. *Arch Intern Med.* 2011; 171: 412-420.
8. Porta M., Sjoelie A.K., Chaturvedi N. i wsp. Risk factors for progression to proliferative diabetic retinopathy in the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia* 2001; 44: 2203-2209.
9. Steffes M.W., Sibley S., Jackson M., Thomas W. Beta-cell function and the development of diabetes –related complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2003; 26: 832-836.
10. Pisarczyk-Wiza D., Zozulińska-Ziółkiewicz D., Strojwąg A., Piłaciński S., Wierusz-Wysocka B. Ocena częstości występowania mikroangiopatii u chorych na cukrzycę

- typu 1 z ponad 20-letnim wywiadem choroby. *Diabet Dośw Klin* 2011; 11(1): 14-19.
11. Wierusz-Wysocka B. Związki patogenetyczne między mikro- i makroangiopatią cukrzycową. Część I. Mikroangiopatia cukrzycowa – co nowego? *Diabetologia praktyczna* 2009; 10(4): 151-156.
 12. Jorde R., Sundsfjord J. Intra-individual variability and longitudinal changes in glycaemic control in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2000; 17: 451-456.
 13. Klein B.E., Klein R., McBride P.E. i wsp. Cardiovascular disease, mortality and retinal microvascular characteristics in type 1 diabetes: Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1917-1924.
 14. Groop P.H., Thomas M.C., Moran J.L. i wsp. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes* 2009; 58: 1651-1658.
 15. Araszkiwicz A., Zozulinska-Ziolkiewicz D., Pilaciński S., Naskret D., Uruska A., Wierusz-Wysocka B. Baseline diabetic knowledge after 5-day teaching program is an independent predictor of subclinical macroangiopathy in patients with type 1 diabetes (Poznan Prospective Study). *Advances in Medical Sciences* 2014; 59: 240-244.
 16. Mulvany M.J., Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiol Rev* 1990; 70: 921-961.
 17. Pries A.R., Werner J. Physiology of microcirculation. W: Struijker-Boudier H.A.J., Ambrosio G. (red.). *Microcirculation and cardiovascular disease*. Lippincott Williams & Wilkins, London 2000: 15-30.
 18. Zozulińska D. Rola procesu zapalnego ze szczególnym uwzględnieniem granulocytów obojętnochłonnych w rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy. Praca habilitacyjna, Poznań 2001.
 19. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54: 1615-1625.
 20. Stehouwer CD, Lambert J, Donker AJM, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovascular Research* 1997; 34: 55-68.
 21. Koya D., King G.L. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 1998; 96: 1395-1403.

22. Ihnat M.A., Thorpe J.E., Ceriello A. Hypothesis: the metabolic memory, the new challenge of diabetes. *Diabet Med.* 2007; 24: 582-586.
23. Vlassara H. Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. *Diabetes* 1997; 46(supl.2): 19-24.
24. Taguci T., Brownlee M. The biochemical mechanism of diabetes tissue damage. In: *Textbook of Diabetes. Selected chapters.* J.C. Pickup, G. Williams. Blackwell Publ. Ltd. 2005; 47.1.
25. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-820.
26. Wierusz-Wysocka B., Wykretowicz A., Byks H., Sadurska K., Wysocki H. Polymorphonuclear neutrophils adherence, superoxide anion production (O_2^-) and HbA1c level in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 1993; 2: 109-114.
27. Schmid-Schonbein G.W. The damaging potential of leukocyte activation in the microcirculation. *Angiology* 1993; 44: 45-56.
28. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D. Wybrane mechanizmy patogenetyczne przewlekłych powikłań cukrzycy. Rola dysfunkcji śródbłonna. *Diabetologia Pol.* 2002; 7: 193-198.
29. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D., Wysocki H. Odczyn zapalny w patogenezie mikro- i makroangiopatii cukrzycowej. *Med. Sci Rev.* 2002; 1: 56-62.
30. Tooke J.E. Microvascular hemodynamics in diabetes mellitus. *Clin Sci* 1986; 70: 119-125.
31. Sandemann D.D., Shore A.C., Tooke J.E. Relations of skin capillary pressure in patients with insulin-dependent diabetes mellitus to complications and metabolic control. *N Eng J Med.* 1992; 327: 760-764.
32. Tooke J.E. Microvasculature in diabetes. *Cardiovascular Research* 1996; 32: 764-771.
33. Shore A.C., Jaap A.J., Tooke J.E. Capillary pressure in insulin dependent diabetic patients of long disease duration with and without microangiopathy. *Diabetic Med.* 1992; 9 (Supl.2): S 11 (Abstract).
34. Braverman I.M. The cutaneous microcirculation. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2000; 5: 5-9.
35. Braverman I.M. The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organisation. *Microcirculation* 1997; 4(3): 329-340.

36. Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why? *Mayo Clin Proc* 2003; 78: 603-612.
37. Grassi W., Angelis R. Capillaroscopy: Questions and answers. *Clin Rheumatol* 2007; 26(12): 2009-2016.
38. Fagrell B. Advances in microcirculation network evaluation. An update. *International Journal of Microcirculation* 1995; 15: 34-40.
39. Anders H.J., Sigl T., Schattenkirchner M. Differentiation between primary and secondary Raynaud's phenomenon: A prospective study comparing nailfold capillaroscopy using an ophthalmoscope or stereomicroscope. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2001; 60: 407-409.
40. Le Roy E.C., Medsger T.A. Raynaud's phenomenon: A proposal for classification. *Clinical and Experimental Rheumatology* 1992; 10: 485-488.
41. Pazos-Moura C.C., Moura E.G., Bouskela E., Torres-Filho I.P., Breitenbach M.M.D. Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus: morphological abnormalities and relationship with microangiopathy. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20(6): 777-780.
42. Gasser P., Berger W. Nailfold videomicroscopy and local cold test in type 1 diabetics. *Angiology* 1992; 43(5): 395-400.
43. Chang C.J., Hou K.H. High-resolution optical Doppler tomography for in vitro and in vivo fluid flow dynamics. *Chang gung Medical Journal* 2003; 26: 403-411.
44. Kume T., Akasaka T., Kawamoto T., Watanabe N., Toyota E., Neishi Y. i wsp. Assessment of coronary intima-media thickness by optical coherence tomography: Comparison with intravascular ultrasound. *Circulation Journal* 2005; 69: 903-907.
45. Thrane L., Andersen P.E., Jorgensen T.M., tycho A., Levitz D., Yura H.T. i wsp. Optical coherence tomography. *DOPS – nyt (Online)* 2001; 16: 13-18.
46. Demir M., Oba E., Dirim B., Ozdl E., Can E. Central macular thickness in patients with type 2 diabetes mellitus without clinical retinopathy. *BMC Ophtalmology* 2013; 13:11.
47. Lee H.K., Lim J.W., Shin M.C. Comparison of choroidal thickness in patients with diabetes by spectral-domain optical coherence tomography. *Korean J Ophthalmol* 2013; 27(6): 433-439.
48. Araszkievicz A., Zozulińska-Ziółkiewicz D., Meller M., Bernardczyk-Meller J., Piłaciński S., Rogowicz-Frontczak A., Naskręt D., Wierusz-Wysoka B. Neurodegeneration of the retina in type 1 diabetic patients. *Pol Arch Med Wewn.* 2012; 122(10): 464-470.

49. Aviram G., Fishman J.E. Magnetic resonance imaging of the heart and great vessels. *Canadian Association of Radiologist Journal* 2004; 55: 96-101.
50. Mirrashed F., Sharp J.C. In vivo morphological characterisation of skin by MRI micro-imaging methods. *Skin Research and Technology* 2004; 10: 149-160.
51. Knotzer H., Hasibeder W.R. Microcirculatory function monitoring at the bedside – A view from the intensive care. *Physiol Meas* 2007; 28(9): R65-R86.
52. Nieuwdorp M., Mooij H.L., Kroon J., Atasever B., Spaan J A.E., Ince C., Holleman F., Diamant M., Heine R. J., Hoekstra J.B.L., Kastelein J.J.P., Stroes E.S.G., Vink H. Endothelial glycocalyx damage coincides with microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 1127-1132.
53. Neubauer-Geryk J. Pletyzmograficzna ocena przepływu krwi przez kończynę górną u zdrowych mężczyzn w zależności od wybranych czynników antropometrycznych. *Akademia Medyczna w Gdańsku* 2001.
54. Hoffman R.P., Dye A.S., Huang H., Bauer J.A. Effects of glucose control and variability on endothelial function and repair in adolescents with type 1 diabetes. *Endocrinology* 2013; ID 876547.
55. Springle S., Linden M., Riordan B. Characterizing reactive hyperemia via tissue reflectance spectroscopy in response to an ischemic load across gender, age, skin pigmentation and diabetes. *Medical Engineering & Physics* 2002; 24: 651-661.
56. Sundberg S., Castren M. Drug and temperature induced changes in peripheral circulation measured by laser-Doppler flowmetry and digital-pulse plethysmography. *Scand J Clin Lab Invest* 1986; 46: 359-365.
57. De Blasi R.A., Luciani R., Punzo G., Arcioni R., Romano R., Boezi M., Mene P. Microcirculatory changes and skeletal muscle oxygenation measured at rest by non-infrared spectroscopy in patients with and without diabetes undergoing haemodialysis. *Critical Care* 2009; 13(Suppl 5): S9.
58. Berardesca E., Lévêque J.L., Masson P., the EEMCO Group. EEMCO guidance for the measurement of skin microcirculation. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology* 2002; 15: 442-456.
59. Allen J., Oates C.P., Lees T.A., Murray A. Photoplethysmography detection of lower limb peripheral arterial occlusive disease: A comparison of pulse timing, amplitude and shape characteristics. *Physiological Measurement* 2005; 811-821.

60. Cracowski J.L., Minson C.T., Salvat-Melish M., Hlliwil J.R. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 505-508.
61. Scanlon C., Park K., Mapletoft D., Begg L., Burns J. Interrater and intrarater reliability of photoplethysmography for measuring toe blood pressure and toe-brachial index in people with diabetes mellitus. *Journal of Foot and Ankle Research* 2010; 5:13.
62. Yang W.J., Yang P.P. Literature survey on biomedical applications of thermography. *Biomedical Materials and Engineering* 1992; 2: 7-18.
63. Sivanandam S., Anburajan M., Venkatraman B., Menaka M., Sharath D. Medical thermography: a diagnostic approach for type 2 diabetes based on non-contact infrared thermal imaging. *Endocrine* 2012; 42: 343-351.
64. Ladurner R., Küper M., Königsrainer I. et al. Predictive value of routine transcutaneous tissue oxygen tension (tcpO₂) measurement for the risk of non-healing and amputation in diabetic foot ulcer patients with non-palpable pedal pulses. *Med. Sci Moni* 2010; 16: 273-277.
65. Rossi M., Carpi A., Galetta F., Franzoni F. The investigation of skin blood flowmotion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2006; 60: 437-442.
66. Cohn J.N., Quyyumi A.A., Hollenberg N.K., Jamerson K.A. Surrogate markers for cardiovascular disease: Functional markers. *Circulation* 2004; 109: IV 31-46.
67. Roustit M., Blaise S., Millet C., Cracowski J.L. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvascular Research* 2010; 79: 102-108.
68. Škrha J., Prázny M., Haas T., Kvasnička J., Kalvodova B. Comparison of laser Doppler flowmetry with biochemical indicators of endothelial dysfunction related to early microangiopathy in Type 1 diabetic patients. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2001; 15: 234-240.
69. Pape S.A., Skouras C.A., Byrne P.O. An audit of the use of laser doppler imaging (LDI) in the assessment of burns of intermediate depth. *Burns* 2001; 27: 233-239.
70. Tibriça E., Matheus A.S.M., Nunes B., Sperandrei S., Gomes M.B. Repeatability of the evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser doppler perfusion monitoring: clinical and statistical implication. *Clinics* 2011; 66(4): 599-605.

71. Katz A., Ekberg K., Johansson B.L., Wahren J. Diminished skin blood flow in Type 1 diabetes: evidence for non-endothelium-dependent dysfunction. *Clinical Science* 2001; 01: 59-64.
72. Khan F., Elhadd T.A., Greene S.A., Belch J.J.F. Impaired skin microvascular function in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23(2): 215-220.
73. Durand S., Zhang R., Cui J., Wilson T.E., Crandall C.G. Evidence of myogenic response in vasomotor control of forearm and palm cutaneous microcirculations. *Journal of Applied Physiology* 2004; 97: 535-539.
74. Aso Y., Inukai T., Takemura Y. Evaluation of skin vasomotor reflexes in response to deep inspiration in diabetic patients by laser Doppler flowmetry. A new approach to the diagnosis of diabetic peripheral autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 1997; 20: 1324-1328.
75. Ravits J.M., AAEM minimonograph: Autonomic nervous system testing. *Muscle and Nerve* 1997; 20: 919-937.
76. Khodabandehlou T., Zhao H., Vimeux M., Le Devehat C. The autoregulation of the skin microcirculation in healthy subject and diabetic patients with and without vascular complications. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 1997; 17: 357-362.
77. Stansberry K.B., Hill M.A., Shapiro S.A., Mc Nitt P.M., Bhatt B.A., Vinik A.I. Impairment of peripheral blood flow responses in diabetes resembles an enhanced aging effect. *Diabetes Care* 1997; 20: 1711-1716.
78. Yamamoto-Suganuma R., Aso Y. Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes – a novel index for detecting micro- and macrovascular dysfunction using laser Doppler flowmetry. *Diabetic Medicine* 2009; 26: 83-88.
79. Gomes M.B., Matheus A.S.M., Tibriçá E. Evaluation of microvascular endothelial function in patients with type 1 diabetes using laser-Doppler perfusion monitoring: Which method to choose? *Microvascular Research* 2008; 76: 132-133.
80. Cooke J.P., Creager M.A., Osmundson P.J., Shephard J.T. Sex differences in control of cutaneous blood flow. *Circulation* 1990; 82: 1607-1615.
81. Jaap A.J., Shore A.C., Tooke J.E. The influence of hypertension on microvascular blood flow and resistance to flow in the skin of patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabet Med.* 1994; 11(9): 883-887.

82. Pallaton C., Kubli S., Feihh F., Weaber B. Blunted vasodilatory responses in the cutaneous microcirculation of cigarette smokers. *Am Heart J* 2002; 144(2): 269-274.
83. Henriksson P., Diczfaulsy V., Freyschuss A. Microvascular reactivity in response to smoking and oral antioxidants in humans. *Microcirculation* 2012; 19(1): 86-93.
84. Kvernmo H.D., Stefanovska A., Bracic M., KirkebØen K.A., Kvernebo K. Spectral analysis of the laser doppler perfusion signal in human skin before and after exercise. *Microvascular Research* 1998; 56: 173-182.
85. Johnson J.M. Physical training and the control of skin blood flow. *Med. Sci Sports Exerc* 1998; 30(3): 382-386.
86. Petrofsky J., Lee S. The effects of type 2 diabetes and aging on vascular endothelial and autonomic function. *Medical Science Monitor* 2005; 11: 247-254.
87. Corretti M.C., Anderson T.J., Benjamin E.J., Celermajer D., Charbonneau F., Creager M.A. i wsp. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *Journal of the American College of Cardiology* 2002; 39: 257-265.
88. Fullerton A., Stücker M., Wihelm K.P., Wardell K., Anderson C., Fisher T. i wsp. Guidelines for visualization of cutaneous blood flow by laser Doppler perfusion imaging. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 129-140.
89. Abbink E.J., Wollersheim H., Netten P.M., Smits P. Reproducibility of skin microcirculatory measurements in humans, with special emphasis on capillaroscopy. *Vascular Medicine* 2001; 6: 203-210.
90. Wilkinson C.P., Ferris F.L. 3rd, Klein R.E. i wsp. Global Diabetic Retinopathy Project Group. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003; 110 (9): 1677-1682.
91. KDOQI. Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis.* 2007; 49 (Suppl 2): S12-154.
92. Donaghue K.C., Charelli F., Trotta D. i wsp. Microvascular and macrovascular complications associated with diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009; 10: 195-203.

93. Orchard T.J., Dorman J.S., Maser R.E. i wsp. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II. *Diabetes* 1990; 39: 1116-1124.
94. King K.D., Jones J.D., Warthen J. Microvascular and macrovascular complications of diabetes mellitus. *Am J Pharm Educ* 2005; 69: 1-10.
95. Juutilainen A., Lehto S., Rönnemaa T. i wsp. Similarity of the impact of type 1 and type 2 diabetes on cardiovascular mortality in middle-aged subjects. *Diabetes Care* 2008; 31: 714-719.
96. Koivisto V.A., Stevens L.K., Mattock M. i wsp. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. EURODIAB IDDM Complications Study Group. *Diabetes Care* 1996; 19: 689-697.
97. Tuomilehto J., Borch-Johnsen K., Molarius A. i wsp. Incidence of cardiovascular disease in Type 1 (insulin-dependent) diabetic subject with and without diabetic nephropathy in Finland. *Diabetologia* 1998; 41: 784-790.
98. Nathan D.M., Zinman B., Cleary P.A. i wsp. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983-2005). *Arch Intern Med* 2009; 169: 1307-1316.
99. Grauslund J., Jørgensen T.M., Nybo M., Green A. i wsp. Risk factors for mortality and ischemic heart disease in patients with long-term type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2010; 24(4): 223-228.
100. Quagliaro L., Piconi L., Assaloni R. i wsp. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. The role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation. *Diabetes* 2003; 52: 2795-2804.
101. Distiller L.A. Why do some patients with type 1 diabetes live so long? *World J Diabetes* 2014; 5(3): 282-287.
102. American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics-2006. Update. American Heart Association, 2006.
103. Lindstedt I.H., Edvinsson M.L., Edvinsson L. Reduced responsiveness of cutaneous microcirculation in essential hypertension – a pilot study. *Blood Pressure* 2006; 15: 275-280.

104. Stewart J., Kohen A., Brouder D., Rahim F., Adler S., Garrick R., Goligorsky M.S. Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2687-E2696.
105. Rizzoni D., Porteri E., Boari G.E. i wsp. Prognostic significance of small-artery structure in hypertension. *Circulation* 2003; 108: 2230-2235.
106. Green D.J., Maiorana A.J., Siong J.H. i wsp. Impaired skin blood flow response to environmental heating in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2006; 27: 338-343.
107. Thompson C.S., Holowatz L.A., Kenney W.L. Cutaneous vasoconstrictor responses to norepinephrine are attenuated in older humans. *Am J Physiol Regul Inter Comp Physiol* 2005; 288: R1108-R1113.
108. Yvonne-Tee G.B., Rasool A.H.G., Halim A.S., Rahman A.R.A. Reproducibility of different laser Doppler fluximetry parameters of postocclusive reactive hyperemia in human forearm skin. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2005; 52: 286-292.
109. Edmonds M.E., Blundell M.P., Morris M.E. i wsp. Improved survival of the diabetic foot: the role of a specialized foot clinic. *Q J Med.* 1986; 60: 763-771.
110. Jarnert C., Kalani M., Rydén L., Böhm F. Strict glycaemic control improves skin microcirculation in patients with type 2 diabetes: A report from the Diabetes mellitus And Diastolic Dysfunction (DADD) study. *Diabetes and Vascular Disease Research* 2012; 0: 1-9.
111. Jasik M., Liebert A., Juskowa J., Karnafel W., Maniewski R. Use of laser-doppler perfusion for evaluation of microcirculation in patients with diabetes type 1. *Pol Arch Med Wewn* 1998; 100(2): 119-124.
112. Schlager O., Hammer A., Willfort-Ehringer A. i wsp. Microvascular autoregulation in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2012; 55: 1633-1640.
113. Koitka A., Abraham P., Bouhanick B., Sigauco-Roussel D. i wsp. Impaired pressure-induced vasodilation at the foot in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 721-725.
114. Meyer M.F., Schatz H. Influence of metabolic control and duration of disease on microvascular dysfunction in diabetes assessed by laser Doppler anemometry. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998; 106(5): 395-403.

115. Meyer M.F., Rose C.J., Schatz H., Klein H.H. Effect of a short-term improvement in glycaemic control on skin microvascular dysfunction in Type 1 and Type 2 diabetic patients. *Diabetic Medicine* 2009; 26: 880-886.
116. Reinhard P., Nilsson B.Y., Rosenqvist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N Eng J Med.* 1993; 329: 304-309.
117. Rathsman B., Jensen-Urstad K., Nyström T. Intensified insulin treatment is associated with improvement in skin microcirculation and ischaemic foot ulcer in patients with type 1 diabetes mellitus: a long-term follow-up study. *Diabetologia* 2014; 57: 1703-1710.
118. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2014. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Kliniczna* 2014; tom 3, supl A.
119. Akbari C.M., Saouaf R., Barnhill D.F. i wsp. Endothelium-dependent vasodilation is impaired in both microcirculation and macrocirculation during acute hyperglycemia. *J Vasc Surg* 1998; 28: 687-694.
120. Forst T., Kunt T., Pohlmann T., Goitom K. i wsp. Microvascular skin blood flow following the ingestion of 75 g glucose in healthy individuals. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998; 106(6): 454-459.
121. Horova E., Mazoch J., Hilgertova J. i wsp. Acute hyperglycemia does not impair microvascular reactivity and endothelial function during hyperinsulinemic isoglycemic and hyperglycemic clamp in type 1 diabetic patients. *Experimental Diabetes Research* 2012; ID: 851487.
122. Forst T, Kunt T., Wilhelm B., Weber M.M., Pfützner A. Role of C-Peptide in the regulation of microvascular blood flow. *Exp Diabetes Res* 2008; 2008: 176245.
123. Wiernsperger N.F., Bousckela E. Microcirculation in insulin resistance and diabetes: more than just a complication. *Diabetes Metab* 2003; 29: 6S77-6S87.
124. Hofer S.E., Rosenbauer J., Grulich-Henn J. i wsp. Smoking and Metabolic Control in Adolescents with Type 1 Diabetes. *J Pediatr* 2009; 154: 20-23.
125. Pilacinski S., Adler A.I., Zozulinska-Ziolkiewicz D.A., Gawrecki A., Wierusz-Wysocka B. Smoking and other factors associated with short-term partial remission of Type 1 diabetes in adults. *Diabet Med.* 2012; 29(4): 464-469.

126. Orth S.R., Schroeder T., Ritz E., Ferrari P. Effect of smoking on renal function in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2414-2419.
127. Kramer C.K, de Azevedo M.J., Rodrigues T., Canani L.H., Esteves J. Smoking habit is associated with diabetic macular edema in Type 1 diabetes mellitus patients. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2008; 22: 430.
128. Argacha J.F., Adamopoulos D., Gujic M. i wsp. Acute Effects of Passive Smoking on Peripheral Vascular Function. *Hypertension* 2008; 51: 1506-1511.
129. Rossi M., Carpi A., Di Maria C. i wsp. Absent post-ischemic increase of blood flowmotion in the cutaneous microcirculation of healthy chronic cigarette smokers. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 2007; 36: 163-171.
130. Schwab K.O., Doerfer J., Hecker W. i wsp. Spectrum and prevalence of atherogenic risk factors in 27,358 children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes: cross-sectional data from the German diabetes documentation and quality management system (DPV). *Diabetes Care* 2006; 29: 218-225.
131. Farkas K., Kolossváry E., Járai Z., Nemcsik J., Farsang C. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis* 2004; 173: 97-102.
132. Rossi M., Bradbury A., Magagna A. i wsp. Investigation of skin vasoreactivity and blood flow oscillations in hypertensive patients: effect of short-term antihypertensive treatment. *J Hypertens* 2011; 29(8): 1569-1576.
133. Sieg-Dobrescu D., Burnier M., Hayoz D., Brunner H.R., Waeber B. The return of increased blood pressure after discontinuation of antihypertensive treatment is associated with an impaired post-ischemic skin blood flow response. *J Hypertens* 2001; 19(8): 1387-1392.
134. Binggeli C., Spieker L.E., Corti R. i wsp. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: a monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 71-77.

SPIS TABEL

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna grupy badanej.

Tabela 2. Porównanie grup badanej i kontrolnej.

Tabela 3. Ocena powtarzalności metody dzień po dniu.

Tabela 4. Porównanie wyników perfuzji w skórze chorych z cukrzycą typu 1 z osobami zdrowymi.

Tabela 5. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 po wyłączeniu osób ze stwierdzonymi powikłaniami choroby, nadciśnieniem tętniczym, palących papierosy, zażywających leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz statyny z grupą kontrolną.

Tabela 6. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii i bez powikłań.

Tabela 7. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z wartością glikemii w momencie rozpoczęcia badania ≤ 140 mg/dl i powyżej 140 mg/dl.

Tabela 8. Porównanie chorych z cukrzycą typu 1 z wartością hemoglobiny glikowanej $\leq 7,5\%$ i powyżej 7,5%.

Tabela 9. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia.

Tabela 10. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 stosujących dodatkowo leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny i statyn z pacjentami nie zażywającymi leków z tych grup.

Tabela 11. Porównanie pacjentów z cukrzycą typu 1 palących papierosy z niepalącymi.

Tabela 12. Porównanie kobiet i mężczyzn z cukrzycą typu 1.

Tabela 13. Podsumowanie wyników w teście PORH.

Tabela 14. Podsumowanie wyników w teście LTH.