

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Katedra i Zakład Leczenia Otyłości, Zaburzeń Metabolicznych
i Dietetyki Klinicznej

Piotr Dudlik

Ocena stężenia neopteryny
u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca

Rozprawa doktorska

Promotor: Prof. dr hab. med. Paweł Bogdański

Poznań 2021

Składam serdecznie podziękowania
Mojemu Promotorowi,
Panu Profesorowi Pawłowi Bogdańskiemu
za okazaną życzliwość i wsparcie
w trakcie prowadzenia badań i pisanie niniejszej pracy.

SPIS TREŚCI

1.	WSTĘP.....	7
1.1.	Biosynteza neopteryny.....	8
1.2.	Znaczenie fizjologiczne neopteryny	10
1.3.	Właściwości chemiczne i metody oznaczania stężenia neopteryny	11
1.4.	Stężenie neopteryny u osób zdrowych	12
1.5.	Choroby związane ze zwiększeniem stężenia neopteryny.....	13
1.5.1.	Choroby infekcyjne.....	14
1.5.2.	Zakażenia ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV).....	14
1.5.3.	Infekcje pasożytnicze wewnątrzkomórkowe	15
1.5.4.	Infekcje bakteryjne wewnątrzkomórkowe i zewnątrzkomórkowe	16
1.5.5.	Powikłania po przeszczepieniu tkanek.....	16
1.5.6.	Choroby autoimmunologiczne	17
1.5.7.	Inne choroby zapalne	18
1.5.8.	Choroby nowotworowe.....	19
1.5.9.	Ekspozycja na syntetyczne polimery silikonowe	20
1.5.10.	Choroby neurologiczne.....	20
1.5.11.	Choroby układu sercowo-naczyniowego.....	21
1.5.12.	Miażdżyca	22
1.5.13.	Otyłość.....	25
1.5.14.	Nadciśnienie tętnicze	28
2.	UZASADNIENIE PRACY	30
3.	CELE PRACY.....	31
4.	MATERIAŁY I METODY	32
4.1.	Populacja badana	32
4.2.	Metodyka badań	33
4.2.1.	Badania podmiotowe	33
4.2.2.	Badanie przedmiotowe	34
4.2.2.1.	Pomiary antropometryczne.....	34
4.2.2.2.	Pomiar ciśnienia tętniczego spoczynkowego	34
4.2.2.3.	Parametry biochemiczne.....	35
4.2.3.	Analiza statystyczna.....	35
5.	WYNIKI.....	36
5.1.	Charakterystyka populacji badanej	36

5.2.	Stężenie neopteryny i innych parametrów biochemicznych w populacji badanej.	38
5.3.	Ocena stężenia neopteryny we krwi pacjentów z chorobą niedokrwienną serca w zależności od jej stopnia zaawansowania.	40
5.4.	Ocena wpływu chorób współistniejących takich jak nadciśnienie, nadmierna masa ciała, hiperglikemia i hipercholesterolemia na stężenie we krwi neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.	42
5.5.	Określenie zależności pomiędzy stężeniem neopteryny we krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej	46
5.6.	Ocena zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a wystąpieniem konieczności hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych w czasie rocznej obserwacji.	48
6.	DYSKUSJA.....	49
6.1.	Podsumowanie	58
6.2.	Krytyka metody	59
7.	WNIOSKI	60
8.	STRESZCZENIE.....	61
9.	SUMMARY	64
10.	SPIS RYCIN, TABEL I WYKRESÓW	67
11.	PIŚMIENNICTWO	68

WYKAZ SKRÓTÓW

- ADMA – (ang. asymmetric dimethylarginine) asymetryczna dimetyloarginina
- α -MSH – (ang. α -melanocyte-stimulating hormone) hormon α -melanotropowy
- AIDS – (ang. acquired immunodeficiency syndrome) zespół nabytego niedoboru odporności
- ALP – (ang. alkaline phosphatase) alkaliczna fosfataza
- ALT – (ang. alanine aminotransferase) aminotransferaza alaninowa
- AMI – (ang. acute myocardial infarction) zawał mięśnia sercowego
- AST – (ang. aspartate aminotransferase) aminotransferaza asparaginianowa
- B-16 – (ang. melanoma cell line) linia komórek nowotworowych wywodząca się z czerniaka skóry
- BH₄ – (ang. tetrahydrobiopterin) 5,6,7,8-tetrahydrobiopteryna
- BMI – (ang. body mass index) wskaźnik masy ciała
- CAD – (ang. coronary artery disease) choroba niedokrwienności serca
- CHF – (ang. congestive heart failure) przewlekła niewydolność serca
- CTEPH – (ang. chronic thromboembolic pulmonary hypertension) przewlekłe zakrzepowo-zatorowe nadciśnienie płucne
- CVD – (ang. cardiovascular disease) choroba sercowo-naczyniowa
- DAPT – (ang. dual antiplatelet therapy) podwójna terapia przeciwplateletowa
- DBP – (ang. diastolic blood pressure) ciśnienie tętnicze rozkurczowe
- ELISA – (ang. enzyme-linked immunosorbent assay) test immunoenzymatyczny
- FMD – (ang. flow-mediated dilatation) rozkurcz tętnicy zależny od przepływu krwi
- GFR – (ang. glomerular filtration rate) wskaźnik filtracji kłębuszkowej
- GGT – (ang. gamma-glutamyltransferase) gamma glutamylotransferaza
- GTP – (ang. guanosine-5'-triphosphate) trifosforan guanozyny
- GTP-CH – (ang. GTP cyclohydrolase) GTP-cyklohydrolaza I
- GVHD – (ang. graft-versus-host disease) choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi
- HDL – (ang. high-density lipoprotein) lipoproteina o wysokiej gęstości
- HIV – (ang. human immunodeficiency virus) ludzki wirus niedoboru odporności

HPLC – (ang. high-performance liquid chromatography) wysokosprawna chromatografia cieczowa

IFN- γ – (ang. interferon gamma) interferon gamma

IL-1 – (ang. interleukin-1) interleukina 1

IL-2 – (ang. interleukin-2) interleukina 2

kDa – (ang. kilodalton) kilodalton

LDL – (ang. low-density lipoprotein) lipoproteina o niskiej gęstości

NF- κ B – (ang. nuclear factor kappa B) jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B

NH₂ – (ang. dihydroneopterin) dihydroneopteryna

NH₂TP – (ang. dihydroneopterin triphosphate) trifosforan 7,8-dihydroneopteryny

NO – (ang. nitric oxide) tlenek azotu

NOS – (ang. nitric oxide synthase) syntaza tlenku azotu

NOS2, iNOS – (ang. inducible nitric oxide synthase) indukowalna syntaza tlenku azotu

NSTEMI – (ang. non-ST-elevation myocardial infarction) zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST

NYHA – (ang. New York Heart Association) klasyfikacja niewydolności serca wg Nowojorskiego Towarzystwa Kardiologicznego

PAH – (ang. pulmonary arterial hypertension) tętnicze nadciśnienie płucne

RIA – (ang. radio immuno assay) test radioimmunologiczny

SAP – (ang. stable angina pectoris) stabilna dusznica bolesna

SBP – (ang. systolic blood pressure) ciśnienie tętnicze skurczowe

SD – (ang. standard deviation) odchylenie standardowe

STEMI – (ang. ST-elevation myocardial infarction) zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST

TChol – (ang. total cholesterol) cholesterol całkowity

TG – (ang. triglycerides) trójglicerydy

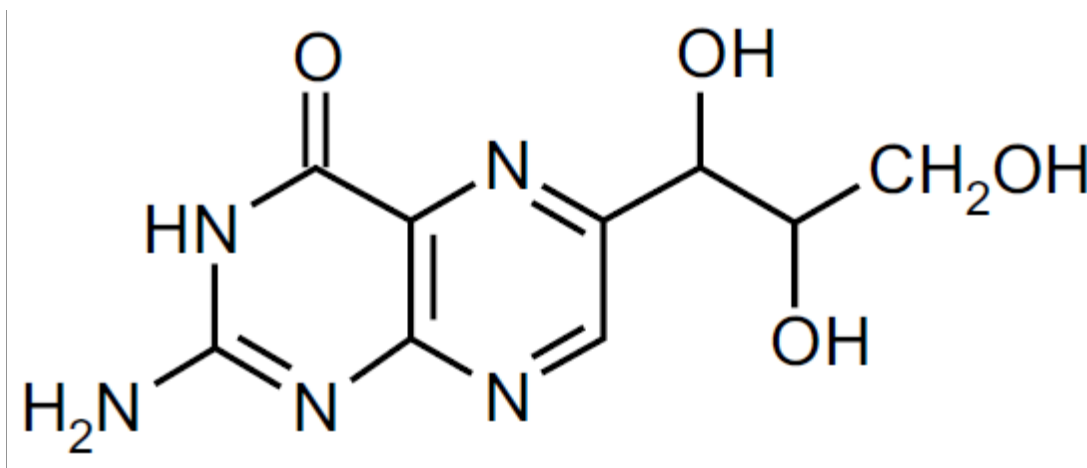
THP-1 – (ang. human monocytic cell line) linia komórkowa wywodząca się z ludzkich monocytów

TNF- α – (ang. tumor necrosis factor alpha) czynnika martwicy nowotworu α

UAP – (ang. unstable angina pectoris) niestabilna dusznica bolesna

1. WSTĘP

Historia badań nad pterydynami sięga końca XIX w., kiedy ze skrzydeł motyli wyodrębniono grupę barwników (1), (2), której nadano wspólną nazwę – pterydyny, pochodzącą od greckiego słowa *pteron* (πτερόν) oznaczającego skrzydło (3). Strukturę chemiczną tych związków poznano w 1940 r. dzięki pracom R. Purmanna (4). Pterydyny to aromatyczne związki chemiczne, złożone z dwóch połączonych pierścieni diazynowych (sześciocłonowych związków heterocyklicznych, zawierających dwa atomy azotu w pierścieniu aromatycznym): pirymidyny (1,3-diazyny) oraz pirazyny (1,4-diazyny). Poszczególne pterydyny różnią się między sobą dodatkowymi podstawnikami (np. grupy ketonowe, aminowe i inne) (5).



Ryc.1. Wzór strukturalny neopteryny.

Neopterynę wyizolowano po raz pierwszy w 1963 r. z larw pszczoł, z robotnic i z mleczka pszczelego (6), Ryc 1. W 1967 r. A. Sakurai, M. Goto udało się wyizolować z 500 litrów ludzkiego moczu 25 mg neopteryny (7). Dwanaście lat później zauważono, że to właśnie neopteryna jest tym związkiem fluorescencyjnym, którego zwiększoną obecność obserwowano w moczu pacjentów z chorobami nowotworowymi lub chorobami wirusowymi. W 1981 r. A. Hausen i wsp. postawili sugestię, iż neopteryna powstaje w procesie odpowiedzi immunologicznej organizmu gospodarza skierowanej przeciwko komórkom nowotworowym lub komórkom podlegającym transformacji wirusowej (8). Dalsze badania wykazały, że neopteryna jest produkowana przez ludzkie monocyty, makrofagi oraz komórki dendrytyczne stymulowane przez interferon γ (IFN- γ), wydzielany przez aktywowane

limfocyty T. W przeciwieństwie do makrofagów, inne typy komórek nie wydzielają neopteryny w odpowiedzi na różne bodźce, co może świadczyć o jej ścisłym związku z aktywacją komórkowego układu odpornościowego. Znajduje to potwierdzenie w wynikach licznych badań klinicznych (5), (9).

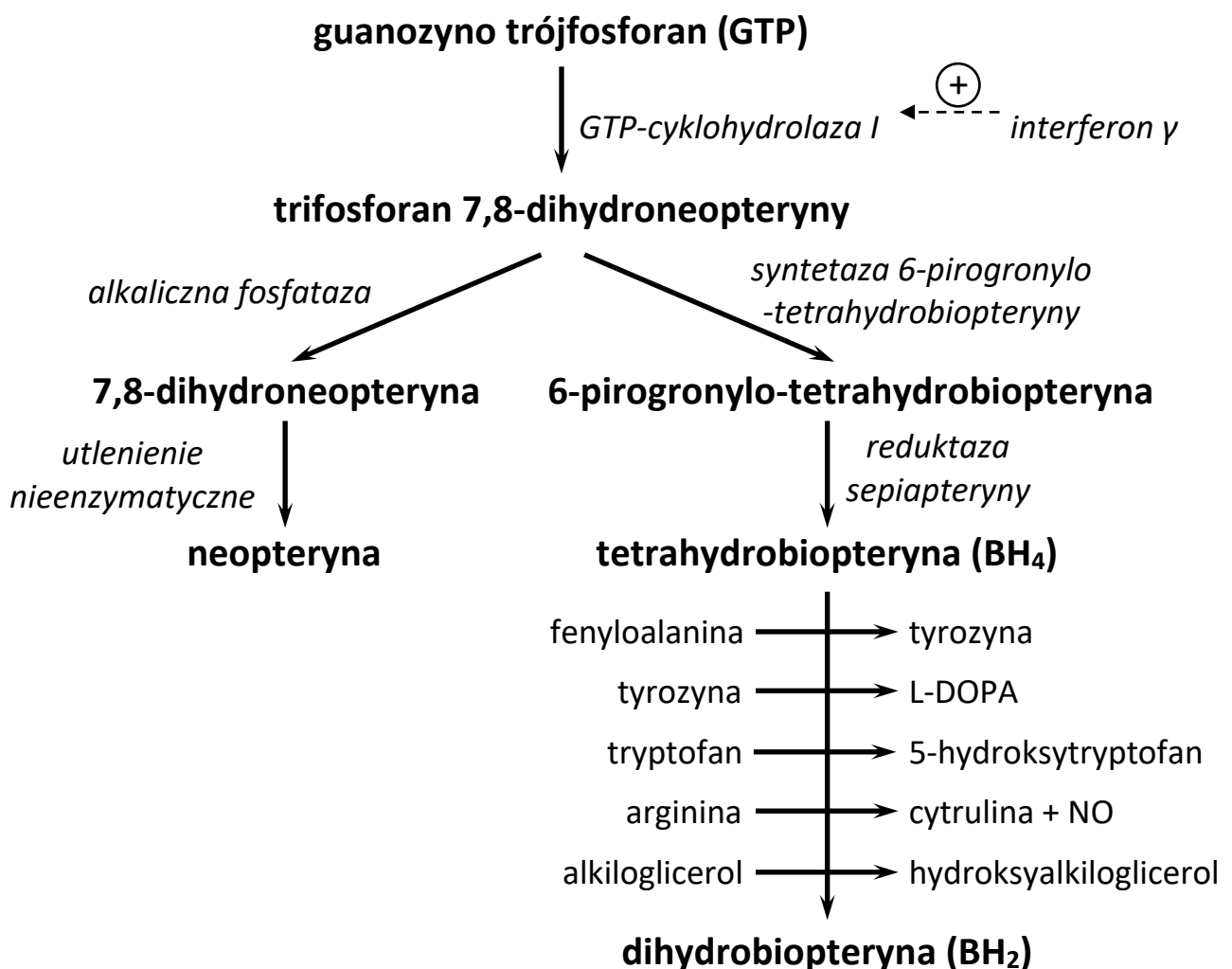
1.1. Biosynteza neopteryny

Neopteryna i jej pochodne powstają w warunkach *in vivo* z trifosforanu guanozyny (GTP) pod wpływem enzymu GTP-cyklohydrolazy I (GTP-CH). Aktywność cyklohydrolazy jest silnie pobudzana przez IFN- γ produkowany przez limfocyty T: CD4+, CD8+ oraz komórki NK (ang. natural killer). Powstający w wyniku reakcji trifosforan 7,8-dihydroneopteryny (NH_2TP) jest związkiem pośrednim w szlaku syntezy 5,6,7,8-tetrahydrobiopteryny (BH_4). Jako donor elektronów BH_4 jest koenzymem w reakcji: hydroksylacji fenyloalaniny do tyrozyny w komórkach wątroby, hydroksylacji tyrozyny do lewodopy (L-DOPA) (synteza katecholamin) oraz hydroksylacji tryptofanu do 5-OH-tryptofanu (synteza serotoniny) w komórkach neuroendokrynnych, a także w syntezie tlenku azotu (NO) z argininy pod wpływem syntazy tlenku azotu (NOS). W wątrobie, tkankach neuroendokrynnych oraz w limfocytach większość NH_2TP jest przekształcana w BH_4 . Ponieważ w ludzkich monocytach i makrofagach nie dochodzi do ekspresji enzymu – syntetazy-6-pirogronylo-tetrahydrobiopteryny, przekształcającej NH_2TP w 6-pirogronylo-tetrahydrobiopterynę (z której powstaje BH_4), w komórkach tych nie zachodzi synteza tetrahydrobiopteryny, a powstająca z GTP dihydroneopteryna gromadzi się i ulega hydrolizie pod wpływem fosfataz, a następnie jest wydalana w postaci dihydroneopteryny (NH_2) lub po utlenieniu w formie neopteryny (9), (5), Ryc.2.

Na podstawie badań prowadzonych w warunkach *in vitro* można stwierdzić, iż zwiększona biosynteza neopteryny podczas stanu zapalnego wynika przede wszystkim z aktywacji monocytów i makrofagów przez IFN- γ . Produkcja neopteryny przez komórki linii ludzkich monocytów THP-1 wywodzącej się od pacjenta z ostrą białaczką monocytową, zwiększa się pod wpływem IFN- γ oraz czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α), natomiast ulega silnej inhibicji pod wpływem hormonu α -melanotropowego (α -MSH) (10). Wyniki badań

wskazują na istnienie autokrynowej pętli regulacyjnej opartej na α -MSH w ludzkich monocytach i makrofagach (10).

Makrofagi i limfocyty wzajemnie wpływają na swoje funkcjonowanie i aktywność poprzez uwalnianie bioaktywnych cząsteczek, takich jak IFN- γ i interleukina 1 (IL-1). IL-1, cytokina wydzielana w odpowiedzi na różne antygeny pochodzenia wirusowego, bakteryjnego i grzybiczego, pobudza produkcję interleukiny 2 (IL-2) oraz indukuje syntezę receptorów IL-2 w limfocytach T. IL-2 pobudza limfocyty T do produkcji i wydzielania IFN- γ , który stymuluje aktywność makrofagów. Liczne badania, prowadzone zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*, wskazują na silny wzrost aktywności GTP-cyklohydrolazy I i produkcji neopteryny w makrofagach pobudzanych przez IFN- γ wydzielany przez limfocyty T w odpowiedzi na toczący się stan zapalny (11).



Ryc. 2. Metabolizm pteryn. Biosynteza neopteryny i tetrahydrobiopteryny (12). Modyfikacja.

1.2. Znaczenie fizjologiczne neopteryny

Biorąc pod uwagę fizjologiczną rolę interferonu γ jako czynnika pobudzającego aktywność makrofagów skierowaną przeciwko bakteriom, pierwotniakom, grzybom czy pasożytom, zasugerowano, że neopteryna może również uczestniczyć w zwalczaniu patogenów jako endogenny inhibitor syntezy kwasu foliowego (13). Zauważono, że neopteryna w lekko zasadowym pH (pH 7.5) zwiększa toksyczne działanie nadtlenu wodoru i chloraminy T względem bakterii. Neopteryna powstająca w makrofagach może zatem wywierać efekt modulujący aktywność cytotoksyczną makrofagów, poprzez zwiększanie lub obniżanie cytotoksyczności zależnie od wartości pH środowiska oraz własnego stopnia utlenienia (14). Najnowsze badania wskazują na udział neopteryny i jej pochodnych w procesach, w których uczestniczą rodniki tlenowe, m.in. 7,8-dihydroneopteryna, poprzez wpływ na równowagę między substancjami o działaniu oksydacyjnym i antyoksydacyjnym, może indukować proces apoptozy ludzkich komórek. Co ciekawe, w indukcji apoptozy przez neopterynę nie uczestniczy NO ani też NOS, mimo że neopteryna pobudza ekspresję genu *NOS2* kodującego indukowalną izoformę NOS w makrofagach i komórkach mięśni gładkich naczyń. Neopteryna może wpływać na ekspresję genu *NOS2* za pośrednictwem czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, pobudzając jego translokację do jądra komórkowego (15). Co więcej, zaobserwowano, że NH_2TP aktywuje czynniki transkrypcyjne wrażliwe na stan oksydo-redukcyjny komórki (14).

W badaniach *in vitro* zaobserwowano, że 7,8-dihydroneopteryna w sposób zależny od jej stężenia wykazuje silne działanie antyoksydacyjne jako zmiatacz wolnych rodników, m.in. spowalnia proces utleniania lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) przez jony miedzi Cu^{2+} lub rodniki ponadtlenkowe, a także opóźnia peroksydację kwasu linolowego, egzogennej nienasyconego kwasu tłuszczowego z rodziny omega-6 (16).

Działanie cytotoksyczne neopteryny może być indukowane pod wpływem światła ultrafioletowego UV-A. Działanie takie wykazano w doświadczeniach *in vitro*, w których komórki nowotworowe linii B-16 wywodzącej się z czerniaka skóry ekspozowano na promieniowanie UV-A. Zwiększenie cytotoksycznego działania nadtlenu wodoru pod wpływem neopteryny mogło być jednym z czynników indukujących uszkodzenia komórek nowotworowych wywołane promieniowaniem. Wskazuje to na możliwość wykorzystania

neopteryny jako czynnika wzmacniającego skuteczność terapii antynowotworowych opartych na naświetlaniu światłem UV-A (17).

Neopteryna, podobnie jak inne pterydyny, wpływa również na wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia Ca^{2+} w ludzkich monocytach, poprzez bezpośredni wpływ na kanały wapniowe lub działając synergistycznie wraz z innymi czynnikami (15).

1.3. Właściwości chemiczne i metody oznaczania stężenia neopteryny

Ze względu na reaktywność chemiczną, zarówno neopteryna jak i jej forma zredukowana, mogą być oznaczane w celach diagnostycznych z wystarczającą dokładnością. W przypadku gdy próbki moczu lub surowicy pacjenta nie mogą być dostarczone do laboratorium w krótkim czasie lub próbki są przechowywane przez dłuższy czas, zredukowane formy neopteryny, podatne na utlenienie pod wpływem kwasu, są przekształcane w pochodne takie jak: pteryna, ksantopteryna i dihydroksantopteryna (w różnych proporcjach ilościowych). Przechowywanie przez dłuższy czas w temp. -20°C nie wpływa na stężenie neopteryny. Badania wykazały również, iż w świeżo pobranych (i przechowywanych w tych samych warunkach) próbkach surowicy i moczu proporcja neopteryny do 7,8-dihydroneopteryny zachowuje względnie stałą wartość (18).

Oznaczenie stężenia neopteryny w moczu lub w surowicy można wykonać za pomocą: wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), testu radioimmunologicznego (RIA) oraz testu immunoenzymatycznego (ELISA). Dla celów diagnostycznych zaleca się oznaczanie „czystej” neopteryny tj. w formie aromatycznej (zamiast zredukowanych pochodnych neopteryny czy neopteryny całkowitej), ze względu na wysoką stabilność aromatycznej formy neopteryny oraz braku potrzeby przeprowadzania wstępnej obróbki próbek, co znacznie ułatwia wykonanie oznaczenia. próbki można przechowywać w temperaturze $2-8^{\circ}\text{C}$ do 24 godz., lub zamrożone w temp. -20°C do 6 miesięcy, zabezpieczone przed dostępem światła. Górna wartość stężenia neopteryny w surowicy (w zakresie normy) wynosi około 10 nmol/l (2,5 ng/ml) (19).

W metodzie HPLC wykorzystuje się kolumnę chromatograficzną z odwróconą fazą (wypełnioną hydrofobową fazą stałą). Neopteryna jest eluowana za pomocą buforu fosforanowo-potasowego i oznaczana fluorescencyjnie. Wykorzystując metodę HPLC do

pomiaru stężenia neopteryny w surowicy należy wziąć pod uwagę, że ze względu na obecność białek oraz około 200-krotnie niższe stężenie w porównaniu do moczu, wykonanie takiego oznaczenia jest trudniejsze. Za pomocą HPLC można oznaczać stężenie neopteryny także w płynie mózgowo-rdzeniowym (20).

Oznaczanie stężenia neopteryny za pomocą metody RIA opiera się na współzawodnictwie nieznakowanej neopteryny zawartej w próbkach surowicy (i próbach wzorcowych) ze znakowaną izotopowo neopteryną o miejsca wiązania przez przeciwciała specyficzne względem neopteryny (21).

Na podobnej zasadzie opiera się test immunoenzymatyczny ELISA, przy czym nieznakowana neopteryna zawarta w surowicy współzawodniczy o miejsca wiązania na płycie opłaszczonej specyficznymi względem niej przeciwciałami z neopteryną znakowaną za pomocą peroksydazy chrzanowej. W wyniku reakcji katalizowanej przez peroksydazę powstaje niebieski produkt, który pod wpływem kwasu siarkowego zmienia kolor na żółty. Intensywność koloru świadczy o stężeniu neopteryny w badanej próbce (odwrotnie proporcjonalnie) (22).

1.4. Stężenie neopteryny u osób zdrowych

W badaniach przeprowadzonych na grupie 662 zdrowych osób w wieku od 1 roku do 97 lat (mediana 22 lata) (23) nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniu neopteryny pomiędzy kobietami i mężczyznami. W grupie wiekowej 18-75 lat średnie stężenie neopteryny wynosiło $5,34 \pm 0,14$ nmol/l. Wyższe stężenie neopteryny w porównaniu do grupy średniej (18-75 lat) zaobserwowano u osób młodszych, poniżej 18 lat ($6,78 \pm 0,22$ nmol/l) oraz w u starszych osób ($9,67 \pm 0,79$ nmol/l) (24).

U zdrowych ciężarnych kobiet zaobserwowano korelację pomiędzy wzrostem stężenia neopteryny a spadkiem stężenia tryptofanu metabolizowanego do kinureniny (25). Taką samą zależność zaobserwowano w badaniach prowadzonych na linii komórkowej THP-1 traktowanej cytokinami, gdzie wraz ze wzrostem biosyntezy neopteryny nasilał się metabolizm tryptofanu i jego degradacja do kinureniny (10).

1.5. Choroby związane ze zwiększeniem stężenia neopteryny

Podwyższone stężenie neopteryny i 7,8-dihydroneopteryny zaobserwowano w surowicy, w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w moczu pacjentów cierpiących na różne zaburzenia i choroby nowotworowe i nienowotworowe. Z klinicznego punktu widzenia podwyższenie stężenia neopteryny obserwuje się w trzech przypadkach:

1. w sytuacjach, w których dochodzi do aktywacji komórkowej odpowiedzi odpornościowej,
2. w przypadku upośledzenia czynności nerek, gdzie obserwuje się podwyższone stężenie neopteryny w surowicy, ale z zachowaniem prawidłowej proporcji neopteryny do kreatyniny zawartej w surowicy i w moczu,
3. w nietypowych, bardzo rzadko występujących dziedzicznych wariantach fenyloketonurii, spowodowanych niedoborem BH_4 , niezbędnego koenzymu hydroksylazy fenyloalaninowej, wynikającym z niedoboru aktywności jednego z enzymów uczestniczących w jej syntezie, np. GTP-cyklohydrolazy I, reduktazy dihydrobiopterynowej, syntazy pirogronylotetrahydrobiopterynowej lub dehydratazy pterynokarbinoloaminowej (5).

W związku z powyższym, należy pamiętać, że pomiar stężenia neopteryny w surowicy i w moczu ma wartość diagnostyczną jeżeli zachowana jest prawidłowa funkcja nerek (26). Co więcej, wysoki stężenie neopteryny jest bardzo czułym wskaźnikiem zachodzenia w organizmie procesów, w których dochodzi do aktywacji komórkowej odpowiedzi immunologicznej aczkolwiek nie jest specyficznym markerem konkretnych chorób czy zaburzeń. Wśród chorób, w których dochodzi do wzrostu stężenia neopteryny można wymienić: infekcje wirusowe, zakażenia bakteryjne i pasożytnicze, odrzucenie przeszczepu lub infekcje u biorców przeszczepów, choroby autoimmunologiczne i choroby nowotworowe (27), (28).

1.5.1. Choroby infekcyjne

Podwyższone stężenie neopteryny towarzyszy infekcjom wirusowym, np. wirusowemu zapaleniu wątroby, różyczce, infekcjom herpeswirusowym, np. opryszczce (wirus HSV), mononukleozie zapalnej (wirus Epsteina-Barr, EBV) lub cytomegalii (wirus CMV).

Pierwsze obserwacje zwiększonego kilkukrotnie wydalania neopteryny w moczu osób cierpiących na infekcje wirusowe pochodzą z 1979 roku (8). W jednym z badań, u 4 dzieci z ospą wietrzną stężenie neopteryny zaczęło gwałtownie rosnąć na 1 do 2 dni przed pojawieniem się typowej wysypki, po czym stopniowo obniżało się wraz ze wzrostem miana specyficznych przeciwciał (27). Podobną korelację zaobserwowano w badaniu obejmującym po kilkunastu pacjentów z różyczką, z ospą wietrzną i chorych na gripę (27).

U pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby także zaobserwowano podwyższone stężenie neopteryny, przy czym było ono wyższe niż u pacjentów z różnymi niewirusowymi chorobami wątroby i dróg żółciowych. Należy zaznaczyć, że stężenie neopteryny korelowało z innymi testami biochemicznymi czynności wątroby: aminotransferaza sparaginianowa - AST, aminotransferaza alaninowa - ALT, alkaliczna fosfataza - ALP, gamma glutamylotransferaza - GGT i gamma-globuliny) w wirusowym zapaleniu wątroby, w przypadku innych chorób wątroby nie zaobserwowano takiej zależności (29), (30), (31). Oznaczanie stężenia neopteryny może mieć znaczenie diagnostyczne w różnicowaniu przewlekłych zapaleń wątroby typu nie-A i B oraz stłuszczenia wątroby, które zwykle nie wykazują objawów klinicznych i często nie różnią się w badaniach laboratoryjnych. Stężenie neopteryny jest bardzo często podwyższone u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby, natomiast u pacjentów ze stłuszczeniem wątroby zwykle mieści się w granicach normy (32).

1.5.2. Zakażenia ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV)

Zwiększone stężenie neopteryny w moczu lub w surowicy zaobserwowano w grupie osób HIV-seropozytywnych (5). W grupie tej około 90% osób uzależnionych od narkotyków przyjmowanych pozajelitowo, około 85% osób o orientacji homoseksualnej i 60-80% chorych na hemofilię zarażonych wirusem HIV wykazuje podwyższone stężenie neopteryny. Obserwuje się je także u osób bezobjawowych, seronegatywnych, którzy należą do grupy

wysokiego ryzyka zakażenia wirusem HIV i zachorowania na zespół nabytego niedoboru odporności (AIDS) (5). Poziom neopteryny powyżej normy stwierdzono u 15% seronegatywnych homoseksualistów, a także u 50% seronegatywnych narkomanów i osób cierpiących na hemofilię. Skala wzrostu stężenia neopteryny korelowała z różnymi behawioralnymi czynnikami ryzyka (m.in. liczbą partnerów seksualnych czy sposobem podawania narkotyków). Co najmniej przejściową stymulację układu immunologicznego i wzrost stężenia neopteryny zaobserwowano także u pacjentów po transfuzji krwi (33). W przypadku jednej osoby ze świeżym zakażeniem wirusem HIV, z ostrymi objawami choroby stężenie neopteryny wzrosło 2 tygodnie wcześniej zanim możliwe było wykrycie obecności przeciwciał anti-HIV (27). W miarę postępu choroby następuje dalszy wzrost stężenia neopteryny, przy czym u pacjentów z AIDS lub zespołem związanym z AIDS (ARC) stężenie neopteryny w stosunku do liczby limfocytów T CD4+ i CD8+ wykazuje odwrotną zależność (34).

Wyniki licznych badań wskazują na wysoki potencjał predykcyjny oznaczeń neopteryny w przypadkach zakażenia wirusem HIV. W porównaniu do osób, u których neopteryna osiąga niższe stężenia, u osób z wyższym stężeniem neopteryny objawy choroby pojawiają się wcześniej, obserwuje się u nich także wyższą śmiertelność (34).

1.5.3. Infekcje pasożytnicze wewnątrzkomórkowe

Bardzo wysokie stężenie neopteryny zaobserwowano w moczu osób chorych na malarię, pochodzących z obszarów nieendemicznych, aczkolwiek nie wszystkie badania potwierdzają istnienie korelacji między stopniem zaawansowania infekcji (parazytemią) i stężeniem neopteryny. Niemniej jednak, wraz z powrotem do zdrowia następowała normalizacja poziomu neopteryny (35). Podobne badania przeprowadzono także na grupie chorych pochodzących z obszaru holoendemicznego. U tych pacjentów stężenie neopteryny było podwyższone ale nie w takim stopniu jak u chorych zamieszkujących obszary nieendemiczne. Na obszarze holoendemicznym najwyższy przyrost stężenia neopteryny zaobserwowano wśród dzieci. Może to mieć związek z przechodzeniem od reakcji immunologicznej komórkowej (typowej dla młodego organizmu) do odpowiedzi humoralnej, która zyskuje na znaczeniu wraz z wiekiem, szczególnie przy ciągłej ekspozycji organizmu na kontakt z patogenem (36).

1.5.4. Infekcje bakteryjne wewnątrzkomórkowe i zewnątrzkomórkowe

Podwyższoną zawartość neopteryny w moczu stwierdzono u 84% pacjentów z gruźlicą płuc. Zaobserwowano również korelację między stężeniem neopteryny i aktywnością kliniczną choroby, kolejne pomiary neopteryny dokładnie odzwierciedlały aktualny przebieg choroby i skuteczność terapii. Wskazuje to na bardzo wysoką wartość diagnostyczną neopteryny, zważywszy na brak innych łatwych do wykonania testów, jako wskaźnika aktywności procesu chorobowego (37). Bardzo podobną zależność zaobserwowano również w grupie pacjentów chorych na trąd (38).

W odróżnieniu od infekcji bakteryjnych wewnątrzkomórkowych, infekcjom zewnątrzkomórkowym nie zawsze towarzyszy wzrost stężenia neopteryny. Niemniej jednak, podwyższone stężenie neopteryny zaobserwowano między innymi u większości chorych z gronkowcowym zapaleniem płuc, a także u pacjentów z sepsą, przy czym bardzo istotne różnice stężenia neopteryny obserwowano między osobami, które przeżyły infekcję i osobami, które posocznicy nie przeżyły. Neopteryna może być zatem bardzo przydatna w przewidywaniu klinicznego przebiegu sepsy (39).

1.5.5. Powikłania po przeszczepieniu tkanek

Podwyższone stężenie neopteryny może być wykorzystane jako wczesny marker powikłań pojawiających się po przeszczepach allogenicznym. U pacjentów, którzy przeszli zabiegi allogenicznym przeszczepów tkanek np. serce, wątroba, nerki lub trzustka, w przypadku odrzucenia przeszczepu lub infekcji stężenie neopteryny w moczu i surowicy zwiększa się bardzo szybko, nawet o 2 dni wcześniej niż inne parametry wykorzystywane w diagnostyce tego typu przypadków. Podobna reakcja występuje u osób po przeszczepieniu szpiku kostnego (40), (41), (42), (43), (44). Co ważne, w przypadkach przeszczepów bez powikłań obserwuje się niskie i stabilne stężenie neopteryny. W przeciwieństwie do neopteryny, istotny wzrost stężenia IFN- γ zaobserwowano w przypadkach wystąpienia poważnych infekcji po przeszczepach, natomiast wcale lub bardzo rzadko w przypadkach odrzucenia przeszczepu. Przypuszczalnie interferon γ , jako białko o masie 17 kDa produkowane lokalnie w miejscu toczącego się stanu zapalnego ma ograniczoną zdolność

dyfundowania do krwioobiegu w porównaniu ze znacznie mniejszą cząsteczką neopteryny (45), (46). Neopteryna wykazuje również większą niż β_2 -mikroglobulina wartość diagnostyczną do oceny powikłań po przeszczepach. U pacjentów, u których po przeszczepieniu rozwinęła się infekcja wirusem CMV stężenie neopteryny wzrastało przeszło tydzień wcześniej niż miano przeciwciał anty-CMV oraz korelowało z ciężkością i przebiegiem infekcji.

Podobną korelację zaobserwowano u pacjentów po przeszczepie szpiku kostnego, u których wzrost stężenia neopteryny o kilka dni wyprzedzał pojawienie się objawów klinicznych choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD) (47).

1.5.6. Choroby autoimmunologiczne

Badania pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów wskazują na istnienie zależności między stężeniem neopteryny w surowicy i stopniem zaawansowania choroby. Znacznie wyższe stężenie neopteryny zaobserwowano u pacjentów z I stopniem reumatoidalnego zapalenia stawów w porównaniu z pacjentami cierpiącymi na niezapalną chorobę zwyrodnieniową stawów (łac. *osteoarthritis*). Stężenie neopteryny wykazywało jednak dość słabą korelację z parametrami diagnostycznymi takimi jak: szybkość sedymentacji erytrocytów, poziom hemoglobiny, liczba białych krwinek oraz obecność lub brak obecności białka C-reaktywnego i czynników reumatoidalnych (48). Kolejne badania wykazały, iż w płynie maziowym pochodzącym ze stawów objętych stanem zapalnym, w porównaniu do płynu pochodzącego ze stawów niezapalnych, stężenie neopteryny jest podwyższone, a zarazem jest ono wyższe niż w surowicy co świadczy o lokalnej produkcji neopteryny w obrębie stawów objętych stanem zapalnym (48).

U pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (łac. *colitis ulcerosa*), należącym do tzw. nieswoistych chorób zapalnych jelit, stężenie neopteryny wykazywało korelację z parametrami wskazującymi na kliniczną aktywność choroby takimi jak: stopień zajęcia jelit, szybkość sedymentacji erytrocytów, dzienna liczba ruchów czy temperatura ciała, a także z liczbą limfocytów T posiadających antygen T9, który jest wskaźnikiem aktywacji limfocytów T (49). Bardzo podobna zależność zaobserwowano u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna, również zaliczaną do grupy nieswoistych zapaleń jelit. W tym przypadku neopteryna wykazywała istotną ujemną korelację z aktywnością kliniczną choroby,

z czasem trwania choroby i wskaźnikiem masy ciała (BMI) oraz z liczbą aktywowanych limfocytów T wykazujących ekspresję T9 (49).

Wysokie stężenie neopteryny obserwuje się u pacjentów cierpiących na autoimmunologiczne zapalenia tarczycy (autoimmunologiczną tyreotoksykozę i autoimmunologiczną niedoczynność tarczycy) ale nie występuje u pacjentów z rozsianą autonomią tarczycy. Podczas leczenia nadczynności tarczycy stężenie neopteryny powracało do wartości prawidłowej wraz z normalizacją poziomu hormonów tarczycy ale pozostawało podwyższone w przypadku gdy przebieg choroby był bez zmian (27).

Pomiar stężenia neopteryny może być bardzo użyteczny w monitorowaniu pacjentów z cukrzycą typu 1. Znacznie podwyższone stężenie neopteryny w moczu stwierdzono u nowo zdiagnozowanych pacjentów z wczesnym stadium cukrzycy typu 1 oraz u tych osób, u których proces chorobowy toczy się od dłuższego czasu i obecne są u nich przeciwciała skierowane przeciwko białkom cytoplazmatycznym komórek wysp trzustki (50).

1.5.7. Inne choroby zapalne

Znacznie podwyższone stężenie neopteryny w moczu zaobserwowano u chorych cierpiących na sarkoidozę płucną, potwierdzoną biopsją płuc i diagnostyką obrazową. U pacjentów z aktywną chorobą, z uszkodzeniem ponad 30% pęcherzyków płucnych, stwierdza się wyższe stężenie neopteryny niż u pacjentów, u których choroba jest mniej aktywna, z mniej niż 30% uszkodzonych pęcherzyków (51), (52).

U dzieci cierpiących na celiakię również zaobserwowano wysokie stężenie neopteryny w moczu. Duże różnice stężenia neopteryny zauważono pomiędzy dziećmi z aktywną chorobą a grupą pacjentów bez objawów klinicznych choroby lub będących na diecie bezglutenowej. Stężenia neopteryny korelowały z mianem przeciwciał anty-gliadynowych w surowicy krwi. Przechodzeniu pacjentów na dietę bezglutenową towarzyszył szybki spadek stężenia neopteryny wraz z poprawą obrazu klinicznego choroby (53).

Zarówno u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym jak i z aseptycznym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, w płynie mózgowo-rdzeniowym wykryto wysokie stężenie neopteryny. Podobnie jak ma to miejsce w innych chorobach zapalnych, także w tych przypadkach stężenie neopteryny korelowało z aktywnością kliniczną choroby (54).

1.5.8. Choroby nowotworowe

Wysokie stężenie neopteryny w moczu i/lub w surowicy stwierdzono u pacjentów cierpiących na nowotwory hematologiczne tj. przewlekłą białaczkę mielocytową, z chłoniakiem ziarnicznym lub nieziarnicznym i ze szpiczakiem mnogim. U większości pacjentów z nowotworami w fazie remisji stężenie neopteryny utrzymywało się w zakresie normy (55).

U kobiet z nowotworami narządów płciowych stopień przyrostu stężenia neopteryny zależały od typu i stadium guza. Stężenie neopteryny u kobiet z łagodnymi ginekologicznymi zmianami nowotworowymi lub ze zmianami przedrakowymi mieścił się poniżej górnej granicy normy. Wysokie stężenie neopteryny, szczególnie obserwowane jeszcze przed rozpoczęciem terapii, wiązało się z gorszym rokowaniem, bardziej niekorzystnym przebiegiem choroby, ryzykiem nawrotu lub pojawienia się przerzutów oraz z wcześniejszym zgonem z powodu raka szyjki macicy, a także raka jajnika (56), (57).

Zależność między stężeniem neopteryny w moczu zaobserwowano także u pacjentów z nowotworami układu moczowo-płciowego, takimi jak: rak pęcherza moczowego, rak prostaty i nasieniakowaty lub nienasieniakowaty rak jądra. Podobnie jak w innych nowotworach wysokie stężenie neopteryny było związane z gorszym rokowaniem (58), (59).

Wyższe stężenie neopteryny w moczu stwierdzono u większości pacjentów z rakiem płuca (około 58%). Występowała tutaj jednak istotna różnica między ograniczoną i rozległą postacią raka drobnokomórkowego płuc. Częściej podwyższone stężenie neopteryny obserwowano u pacjentów, u których następował nawrót choroby (około 70%). Analiza czasu przeżycia nie wykazała istotnych różnic między pacjentami z prawidłowym i podwyższonym stężeniem neopteryny w przypadku raka płaskonabłonkowego, natomiast w przypadku gruczolakoraka i u pacjentów z drobnokomórkowym rakiem płuca różnica była istotna statystycznie (60).

W przypadku nowotworów przewodu pokarmowego podwyższone stężenie neopteryny w moczu stwierdzono u około 50% pacjentów z rakiem żołądka, okrężnicy lub odbytnicy i u około 70% pacjentów z rakiem trzustki i rakiem dróg żółciowych.

Podwyższone stężenie neopteryny nie występuje we wszystkich rodzajach nowotworów. W przypadku nowotworów takich jak: czerniak, rak sutka oraz raki głowy i szyi podwyższone stężenie neopteryny występuje rzadziej niż u pacjentów cierpiących na inne nowotwory (61).

1.5.9. Ekspozycja na syntetyczne polimery silikonowe

Podwyższone stężenie neopteryny i NO wykryto w moczu niemowląt karmionych mlekiem matek, które przeszły zabiegi wszczepienia silikonowych implantów piersi, w porównaniu do dzieci karmionych przez matki, które takiego zabiegu nie przechodziły (62). Zaobserwowano także występowanie odwrotnej zależności między ilością neopteryny wydalanej z moczem a ciężkością dysfunkcji przełyku. Badania *in vitro* wykazały, że w porównaniu do typowych warunków hodowli, produkcja azotynów przez makrofagi hodowane na podłożu silikonowym była wyższa o prawie 60%. Obserwacje te pokazują, że ekspozycja na silikon powoduje aktywację makrofagów (5).

1.5.10. Choroby neurologiczne

Oznaczanie stężenia neopteryny ma wysoką wartość diagnostyczną w chorobach centralnego układu nerwowego zarówno o podłożu naczyniowym, jak i w chorobach infekcyjnych. Ponieważ neopteryna przenika przez barierę krew-mózg jej stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym zależy od stężenia neopteryny w surowicy (63), (64). Badania wykazały, że neopteryna może być niezależnie wytwarzana w mózgu. U pacjentów z zaburzeniami immunozapalnymi nie stwierdzono istnienia korelacji między stężeniem neopteryny w osoczu i w płynie mózgowo-rdzeniowym. Przypuszcza się, że za produkcję neopteryny w mózgu odpowiadają komórki mikrogleju i astrocyty, które reagują na IFN- γ podobnie jak makrofagi. Prawdopodobnie neopterynę wydzielają także komórki produkujące aminy biogenne (np. katecholaminy), których synteza zależy od udziału BH_4 , między innymi neurony dopaminergiczne i serotonergiczne. Wytwarzanie neopteryny zostało również wykazane w izolowanych neuronach obwodowych – w neuronach zwojów korzeni grzbietowych pod wpływem stanu zapalnego (63).

Ekstremalnie wysokie stężenie neopteryny w płynie mózgowo-rdzeniowym (> 100 nmol/l) odnotowano u pacjentów cierpiących na neuroboreliozę (chorobę z Lyme), a także u chorych z zapaleniem mózgu o podłożu wirusowym i bakteryjnym, jako efekt toczącego się lokalnie procesu zapalnego, przy czym stężenie neopteryny w surowicy tych pacjentów było znacznie niższe. W przypadku braku uogólnionego, układowego zakażenia stężenie neopteryny

w surowicy krwi mieści się w zakresie prawidłowym. Stąd pomiar stężenia neopteryny w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy bardzo dobrze różnicuje drgawki gorączkowe od zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u dzieci.

Okolo 85-90 % udarów mózgu ma podłoże niedokrwienne, ich główną przyczyną są zmiany miażdżycowe w naczyniach zewnątrz- i wewnątrzczaszkowych. Wystąpienie nagłej nieomagi krążenia mózgowego jest związane ze zjawiskami, które wynikają z niestabilności blaszek miażdżycowych w tych naczyniach. Powstawanie niestabilnych zmian jest ściśle związane z nasileniem procesu zapalnego, toczącego się w ścianie naczynia. Pomimo tego, badania przeprowadzone na grupie pacjentów, którzy przeszli udar mózgu w okresie 6-9 miesięcy od czasu wyjścia ze szpitala, nie wykazały istotnej różnicy w stężeniu neopteryny pomiędzy pacjentami, którzy byli dobrze zrehabilitowani po udarze mózgu a grupą chorych z istotnymi deficytami neurologicznymi. Wykazano, że stężenie neopteryny nie wpływało na rokowanie i jakość życia u chorych z udarem (64), (65).

Nie ma wątpliwości, że neopteryna mogłaby być cennym parametrem diagnostycznym wskazującym na istnienie przewlekłego procesu zapalnego, pomocnym we wczesnym rozpoznawaniu niestabilnych zmian miażdżycowych w tętnicach zaopatrujących mózgowie, stanowiąc uzupełnienie dla badań obrazowych.

1.5.11. Choroby układu sercowo-naczyniowego

Podwyższone stężenie neopteryny, wynikające ze zwiększonej aktywności monocytów i makrofagów, zaobserwowano w różnych chorobach układu sercowo-naczyniowego, między innymi w niestabilnej chorobie wieńcowej, w niewydolności i w zawale mięśnia sercowego a także w miażdżycy. Co więcej stwierdzono istnienie zależności pomiędzy stężeniem neopteryny, a stopniem nasilenia choroby. W przypadku pęknięcia blaszki miażdżycowej, migracja i aktywacja makrofagów w ścianie tętnicy skutkuje zwiększoną produkcją i uwalnianiem neopteryny, zależnie od ilości tętnic wieńcowych zmienionych chorobowo (66).

Stwierdzono, że u chorych z zawałem mięśnia sercowego podwyższone stężenie neopteryny może być lepszym markerem występowania zawału serca bez załamka Q niż wstępne badanie elektrokardiograficzne. Stężenie neopteryny zależy od czasu trwania zawału

oraz od rodzaju zastosowanej farmakoterapii, nie jest jednak skorelowane z wartościami innych parametrów, np. kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej (67).

Wyższe stężenie neopteryny zaobserwowano również u zdrowych osób, obciążonych zwiększonym ryzykiem występowania incydentów sercowo-naczyniowych, w porównaniu do osób należących do grupy mniej zagrożonych (67).

Zależność między stężeniem neopteryny a stopniem zaawansowania choroby potwierdzono u dzieci z chorobą Kawasaki, gdzie stężenie neopteryny było wyznacznikiem skuteczności leczenia choroby np. immunoglobulinami, a także u pacjentów z ostrym rzutem gorączki reumatycznej (68), (69).

1.5.12. Miażdżyca

Na początku lat 90-tych przeprowadzono badanie, w którym oznaczano stężenie neopteryny w osoczu pobranym od pacjentów z różnymi stadiami klinicznymi miażdżycy (70). Stężenie neopteryny u pacjentów z miażdżycą tętnic, którzy nie byli hospitalizowani mieściło się w zakresie normy tj. 6 ± 2 nM, podobnie do stężenia obserwowanego u zdrowych dawców krwi (5 ± 2 nM). Stężenie neopteryny przekraczające zakres normy nawet 10-krotnie stwierdzono u około 50% hospitalizowanych pacjentów poddawanych leczeniu zachowawczemu lub chirurgicznemu. Wzrost stężenia neopteryny w osoczu wskazuje na udział nieswoistego układu odpornościowego w patogenezie miażdżycy naczyń (70).

Pacjentów hospitalizowanych podzielono na podgrupy według wartości stężenia neopteryny. W grupie pacjentów z podwyższonym stężeniem neopteryny liczba pacjentów z wyższymi typami miażdżycy, według klasyfikacji hiperlipidemii Fredricksona, była wysoka w porównaniu z pacjentami z prawidłowym stężeniem neopteryny, szczególnie pacjenci z typem 4 istotnie różnili się od pacjentów bez zmian patologicznych w ilości lipoprotein. Podwyższone stężenie neopteryny zaobserwowano u pacjentów z niedrożnością tętnic obwodowych, w porównaniu do pacjentów z niedrożnością tętnic centralnych. Bez wpływu na stężenie neopteryny pozostawały natomiast takie parametry jak: płeć, wiek, palenie tytoniu, stan antyoksydacyjny, cukrzyca, nadciśnienie, stłuszczeniowe zapalenie wątroby czy hiperurykemia (70).

Kolejne badania wykazały, że neopteryna może być cennym markerem wskazującym na aktywację monocytów i makrofagów, natomiast aktywacja odpowiedzi zapalnej w zmianach miażdżycowych naczyń wieńcowych może przyczyniać się do postępującej destabilizacji blaszki miażdżycowej (71).

W badaniu przeprowadzonym przez T. Adachi i wsp. oznaczano stężenie neopteryny w próbkach pozyskanych podczas zabiegu aterektomii pierwotnych zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych, uzyskanych od 25 pacjentów ze stabilną dusznicą bolesną (SAP) i 25 pacjentów z niestabilną dusznicą bolesną (UAP). Za pomocą badania immunohistochemicznego stwierdzono obecność licznych makrofagów neopteryno-dodatnich w miejscach objętych stanem zapalnym naczyń wieńcowych aż u 22 pacjentów z UAP lecz tylko u 11 pacjentów z SAP. Co więcej, wykazano istnienie dodatniej korelacji między liczbą makrofagów produkujących neopterynę i liczbą neutrofili lub komórek T (71).

Podobne obserwacje poczyniono w badaniu przeprowadzonym na grupie pacjentów z niestabilną dławicą piersiową, którzy po przyjęciu do szpitala zostali poddani koronarografii (66). W oparciu o klasyfikację Braunwalda, 39 chorych zakwalifikowano do klasy IIIb, 4 do klasy IIb i 7 do klasy Ib. U pacjentów tych oceniono wszystkie zwężenia naczyń wieńcowych ze zmniejszeniem średnicy $\geq 30\%$. Zmiany nieregularne lub z ząbkowanymi brzegami, z owrzodzeniami lub ubytkami wypełnienia wskazującymi na skrzepliny sklasyfikowano jako „złożone”, natomiast zmiany nie wykazujące tych cech oznaczono jako „gładkie”. Złożone zwężenie tętnicy wieńcowej widoczne w badaniu angiograficznym jest często efektem aktywacji monocytów i rozerwania blaszki miażdżycowej, a co za tym idzie, ostrego zespołu wieńcowego. W porównaniu z grupą kontrolną i z pacjentami ze stabilną dusznicą bolesną, u chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi zaobserwowano podwyższone stężenie neopteryny w surowicy (średnio $7,76 \pm 3,62$ nM). Zaobserwowano również istotną korelację między stężeniem neopteryny w surowicy a obecnością złożonych zwężeń naczyń wieńcowych (66).

Biorąc pod uwagę wyniki badań można przypuszczać, że stężenie neopteryny w surowicy jest związane z obecnością złożonych zmian naczyniowych u chorych z niestabilną dusznicą bolesną oraz może stanowić marker świadczący o aktywności choroby wieńcowej (72).

Ogromną zaletą oznaczania stężenia neopteryny, jako markera aktywności płytki miażdżycowej, jest również możliwość monitorowania stabilnej fazy choroby niedokrwiennej

serca. W tych przypadkach neopteryna okazuje się być lepszym markerem niż ogólna liczba leukocytów, czy stężenie białka C-reaktywnego (73). W badaniu prospektywnym, przez 1 rok obserwowano grupę prawie 300 pacjentów z przewlekłym stabilnym bólem w klatce piersiowej, poddawanych diagnostycznej koronarografii. Obserwację prowadzono do momentu wystąpienia zawału mięśnia sercowego niezakończonych zgonem, niestabilnej dławicy piersiowej lub zgonu z przyczyn sercowych. U prawie 20% pacjentów w okresie obserwacji odnotowano wystąpienie różnych incydentów wieńcowych. Średnie stężenie neopteryny w surowicy u pacjentów, u których takie zdarzenia miały miejsce, było istotnie wyższe w porównaniu z pacjentami, u których do podobnych incydentów nie dochodziło. Stwierdzono, że stężenie neopteryny, ciężkość choroby wieńcowej i historia przebytego zawału mięśnia sercowego były niezależnymi predyktorami zdarzeń niepożądanych (73).

Prowadzone od początku lat 90-tych badania nad znaczeniem mediatorów stanu zapalnego w patogenezie i rozwoju niewydolności serca pokazują jednoznacznie, iż w tej chorobie dochodzi do aktywacji odpowiedzi zapalnej i wzrostu wydzielania cytokin prozapalnych, w tym także neopteryny (74), (75), (76), (77). W wielu badaniach prowadzonych na całym świecie zaobserwowano wzrost stężenia neopteryny u pacjentów z niewydolnością serca, co więcej wykazano, że stężenie neopteryny zwiększa się w miarę zaawansowania niewydolności serca. Między innymi, stężenie neopteryny u chorych z niewydolnością serca w III klasie według klasyfikacji niewydolności serca Nowojorskiego Towarzystwa Kardiologicznego (NYHA) było wyraźnie wyższe niż w grupie chorych z niewydolnością II klasy (77), (76). Z drugiej strony, te same badania wskazują, że stężenie neopteryny w surowicy nie zależy od etiologii niewydolności serca.

Opublikowane w 2013 roku wyniki badań prowadzonych przez R. Caruso i wsp. wskazują na istnienie zależności między podwyższonym stężeniem neopteryny a powiększeniem lewej komory serca (LV) u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca (CHF), co sugeruje kluczową rolę aktywacji monocytów w rozwoju dysfunkcji serca u tych pacjentów (78). Obserwacją objęto 98 pacjentów z CHF w I, II, III i IV klasie NYHA. Jak można było przypuszczać, stężenia neopteryny były wyższe u pacjentów z CHF niż u osób zdrowych. Ocena stężenia neopteryny mogłaby być zatem ważnym biomarkerem pomocnym w ocenie postępu przebudowy lewej komory u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca (78).

1.5.13. Otyłość

Nadmierna masa ciała, w tym otyłość, jest obecnie globalnym, systematycznie narastającym problemem, który dotyka już przeszło 2 mld ludzi na świecie (w tym około 650 mln to przypadki otyłości) (122). Wskaźniki nadwagi i otyłości u dorosłych i dzieci stale rosną. Od 1975 do 2016 roku częstość występowania nadwagi lub otyłości u dzieci i młodzieży w wieku od 5 do 19 lat wzrosła ponad czterokrotnie z 4% do 18% na całym świecie. W 2019 roku na świecie było przeszło 38 mln dzieci do 5 roku życia z nadmierną masą ciała (123). Od 2000 r. ta liczba zwiększyła się aż o 8 mln.

Jeżeli by przyrzeć się sytuacji panującej w Polsce, według danych Narodowego Funduszu Zdrowia problem nadwagi dotyczy już trzech na pięciu dorosłych Polaków, a co czwarty dorosły jest otyły. NFZ szacuje, że za 6 lat otyłych osób będzie aż 30% (124).

Szczegółowe dane dotyczące masy ciała kobiet i mężczyzn w wieku od 15 lat w populacji polskiej są udostępnione na stronie internetowej Głównego Urzędu Statystycznego www.stat.gov.pl. Opublikowane dane pochodzą z Europejskiego Ankietowego Badania Zdrowia (*European Health Interview Survey - EHIS*), które jest powtarzane co 5-6 lat. Jako, że wszystkie kraje członkowskie miały obowiązek je zrealizować, wyniki badania umożliwiają poznanie sytuacji zdrowotnej mieszkańców Unii oraz jej uwarunkowań w powiązaniu z charakterystyką demograficzno-społeczną oraz miejscem zamieszkania. Ostatnie badanie, było przeprowadzone w 2014 r. Populację podzielono na poszczególne grupy według rosnącej wartości BMI, od niedowagi przez nadwagi do otyłości. Zgodnie z przyjętą w badaniu definicją, wskaźnik BMI charakteryzuje relację pomiędzy masą ciała a wzrostem, według poniższego wzoru:

$$\text{BMI} = \text{masa ciała (kg)} / \text{wzrost}^2 \text{ (m)}$$

Wyniki badania (ogółem, bez podziału na mężczyzn i kobiety) przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1 – Odsetek osób w wieku powyżej 15 lat według wskaźnika masy ciała (BMI) wg GUS

Grupa wiekowa	15-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	≥80 lat
Znaczna niedowaga (BMI poniżej 16,0)	1,1	0,2	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1	0,2
Niedowaga (BMI 16,0-18,49)	13,4	5,1	2,3	1,3	1,0	0,6	1,1	2,8
Waga w normie - niski przedział (BMI 18,5-22,99)	58,1	44,6	31,3	21,7	14,7	12,0	11,7	18,5
Waga w normie - wysoki przedział (BMI 23,0-24,99)	14,2	21,5	19,4	20,0	17,2	16,1	14,7	17,8
Nadwaga - niski przedział (BMI 25,0-27,49)	6,8	16,1	21,6	23,2	23,9	22,2	25,0	22,8
Nadwaga - wysoki przedział (BMI 27,5-29,99)	3,9	7,4	13,8	17,4	19,8	20,8	21,1	19,2
Otyłość (BMI 30,0 i więcej)	2,5	5,2	11,5	16,3	23,4	28,2	26,4	18,7

Zgodnie z powyższymi danymi, problem nadwagi (BMI w przedziale od 25 do 30) i otyłości (BMI od 30 wzwyż) dotyczy od 13,2% populacji w najmłodszej grupie wiekowej 15-19 lat do nawet 71,2-72,5% populacji w najstarszych grupach wiekowych, odpowiednio 60-69 i 70-79 lat, czy 60,7% osób w wieku 80 i więcej lat. Nowszych danych dostarczył Narodowy Test Zdrowia Polaków przeprowadzony w 2020 r. (125). Według tego raportu opartego na ponad 400 tysiącach ankiet około 61% Polaków czyli około 22 milionów Polaków, ma problem z nadmierną masą ciała, przy czym częściej występuje on u mężczyzn (74%, w tym: 46% - nadwaga + 28% - otyłość) niż u kobiet (50%, w tym: 29% - nadwaga + 21% - otyłość). Zaledwie 26% mężczyzn i 46% kobiet ma prawidłową masę ciała. Podobnie jak w danych Głównego Urzędu Statystycznego problem nadwagi i otyłości gwałtownie zwiększa się wraz z wiekiem (29% 18-24 lat, 72% 45-54 lat i 78% 65+).

Jak powszechnie wiadomo, towarzyszące otyłości nagromadzenie nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej może przeszkadzać w utrzymaniu optymalnego stanu zdrowia. Nadmiar zgromadzonych składników odżywczych pobudza tkankę tłuszczową do uwalniania mediatorów stanu zapalnego, takich jak TNF- α i IL-6 oraz zmniejsza produkcję adiponektyny, prowadząc do rozwoju stanu prozapalnego i stresu oksydacyjnego. Zwiększony poziom IL-6 stymuluje wątrobę do syntezy i wydzielania białka C-reaktywnego (CRP) (79), (80).

Stan zapalny stanowi istotny czynnik ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, w tym zakrzepicy, miażdżycy tętnic, zespołu metabolicznego, insulinooporności i cukrzycy.

Wiąże się również z rozwojem takich chorób jak: łuszczyca, depresja, nowotwory i choroby nerek. Z drugiej strony obniżony poziom adiponektyny, wiąże się z zaburzeniami glikemii na czczo, prowadzącymi do rozwoju cukrzycy typu 2, zaburzeń metabolicznych, zwapnienia tętnic wieńcowych i udaru (80).

Wyniki badania opublikowane w 2006 r. przez A. Bozdemir i wsp. pokazują wyraźnie, iż w grupie osób z BMI ≥ 25 kg/m² stężenie białka CRP i neopteryny w surowicy jest znacznie wyższe, w porównaniu do osób z BMI <25 (81). Badaniem tym objęto grupę 49 zdrowych dorosłych osób (średnia wieku $42,4 \pm 1,8$ lat, 32 kobiety i 17 mężczyzn), których sklasyfikowano na podstawie ich BMI i wskaźnika obwodu talii do bioder oraz zmierzono stężenie CRP i neopteryny. Pacjenci ze zwiększonym stosunkiem talii do bioder również wykazywali istotnie wyższe stężenie CRP i neopteryny w surowicy (81).

Rozwijającemu się w związku z otyłością zapaleniu towarzyszy wydzielanie różnych mediatorów stanu zapalnego, w tym IFN- γ , który pobudza produkcję i wydzielanie przez monocyty i makrofagi neopteryny i asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) - silnego inhibitora aktywności NOS. Podwyższony poziom ADMA jest markerem dysfunkcji śródbłonna naczyń i wiąże się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych (CVD) (82). W przeprowadzonym w 2020 roku badaniu wyniki oznaczeń stężenia neopteryny i ADMA u 50 pacjentów (25 mężczyzn / 25 kobiet) ze zdiagnozowaną otyłością porównano z wynikami u 30 zdrowych osób (15 mężczyzn / 15 kobiet) traktowanych jako grupa kontrolna. Stwierdzono, że stężenie neopteryny i ADMA u osób otyłych było istotnie wyższe niż u osób z grupy kontrolnej. Stężenie neopteryny w surowicy u osób otyłych ($8,8 \pm 3,5$ nmol/l) było wyższe w porównaniu z grupą kontrolną ($4,9 \pm 1,69$ nmol/l). Stwierdzono również, że wartości ADMA były wyższe u osób otyłych ($0,71 \pm 0,24$ μ mol/l) w porównaniu z wartościami stwierdzanymi u osób zdrowych ($0,58 \pm 0,16$ μ mol/l) (82). Występowała również silna dodatnia korelacja między wartościami neopteryny i ADMA u osób otyłych.

Otyłość jest bardzo często związana ze zjawiskiem insulinooporności. Ważną rolę w rozwoju insulinooporności odgrywają cytokiny, między innymi TNF- α , który w przypadku otyłości ulega w tkance tłuszczowej nadmiernej ekspresji. W celu ustalenia związku między insulinoopornością a otyłością i stężeniem neopteryny w surowicy (jako wskaźnika aktywacji układu immunologicznego), przebadano grupę przeszło 1,2 tysięcy zdrowych pacjentów ambulatoryjnych, którzy zgłosili się do gabinetu lekarskiego na badanie lekarskie. W grupie objętej badaniem stwierdzono, u 7% podwyższone stężenie glukozy, a u 34% podwyższony

wskaźnik BMI. Zaobserwowano istnienie istotnej statystycznie korelacji między stężeniem glukozy a BMI, a także między BMI i stężeniem neopteryny w surowicy. Stężenie neopteryny było wyższe u pacjentów z podwyższonym BMI i podwyższonym stężeniem glukozy (83).

1.5.14. Nadciśnienie tętnicze

Już pod koniec lat 90-tych XX w. zaobserwowano podwyższone stężenie neopteryny u pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego (AMI) (66), (84), (85), (86). Ponadto, wyższe stężenie neopteryny było związane z obecnością złożonych zmian w naczyniach wieńcowych u chorych z niestabilnymi zespołami wieńcowymi (66). Wykazano także, że zwiększone stężenie neopteryny w surowicy wskazuje na wyższe ryzyko wystąpienia ostrych incydentów wieńcowych u kobiet z przewlekłą dławicą piersiową (85). U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, u których nie występują zmiany miażdżycowe w naczyniach wieńcowych (CAD), wysokie stężenie neopteryny wskazuje na ryzyko wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych (86). Badanie stężenia neopteryny może być pomocne w identyfikacji pacjentów, którzy są bardziej narażeni na wystąpienie tych incydentów, mimo pozytywnego wyniku testu wysiłkowego EKG, czy prawidłowego (lub prawie prawidłowego) wyniku koronarografii. Pacjenci z wysokim stężeniem neopteryny wymagaliby przez to poważniejszej modyfikacji czynników ryzyka i zastosowania silniejszej terapii niezależnie od stopnia zaawansowania zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych (86).

Ważną rolę w etiopatologii tętniczego nadciśnienia płucnego (PAH) i nieoperacyjnego przewlekłego zakrzepowo-zatorowego nadciśnienia płucnego (CTEPH) odgrywa pobudzenie układu odpornościowego. W badaniu z 2018 r. przeprowadzonym przez zespół A. Smukowskiej-Gorynia i wsp. porównano stężenie neopteryny jako markera aktywacji układu immunologicznego w surowicy w grupie 50 pacjentów (w tym 36 z PAH i 14 z CTEPH) z 31 zdrowymi kontrolami. Podjęte badania miały na celu ocenę wpływu stężenia neopteryny we krwi na przebieg choroby oraz określenie jego związku z ciężkością choroby w populacji polskiej (87). Jak można było przypuszczać, stężenie neopteryny w grupach PAH i CTEPH było istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej (średnio 8,68 nmol/l PAH i CTEPH vs. 5,14 nmol/l w grupie kontrolnej). Co więcej zaobserwowano, iż podczas 9-miesięcznej obserwacji pogorszenie stanu klinicznego (u 18 pacjentów, w tym 8 zgonów) wystąpiło u tych pacjentów,

u których stężenie neopteryny było najwyższe (średnio 15,6 nmol/l), w porównaniu z pacjentami w stanie stabilnym (średnio 7,87 nmol/l). Wynika z tego, iż podwyższone stężenie neopteryny jest związane z niekorzystnymi wynikami klinicznymi i koreluje z innymi parametrami klinicznymi, takimi jak: N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B (NT-proBNP), wskaźnik rozkładu objętości krwinek czerwonych (RDW), powierzchnia prawego przedsionka i test 6-minutowego marszu (87).

Wyniki badań wskazują, że stan zapalny odgrywa kluczową rolę w patogenezie i rozwoju nadciśnieniowego uszkodzenia naczyń. Jak dotąd, dostępnych jest niewiele danych wskazujących na związek między neopteryną wydzielaną przez aktywowane makrofagi a czynnością śródbłonna naczyń w nadciśnieniu tętniczym. Podjęte w 2016 r. badania Zhang i wsp. miały na celu zbadanie związku między stężeniem neopteryny a sztywnością tętnic i czynnością śródbłonna u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, a także ich zmianami po leczeniu obniżającym ciśnienie krwi (88). Do badań zakwalifikowano 24 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym oraz 30 zdrowych ochotników dobranych pod względem wieku i płci. U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym stężenie neopteryny w osoczu były wyższe w porównaniu z grupą kontrolną, odpowiednio 5,68 nmol/l (4,32–6,23 nmol/l) vs. 4,02 nmol/l (3,37–4,87 nmol/l). Podwyższone stężenie neopteryny korelowało ze zwiększoną prędkością fali tętna kostkowo-ramiennego (baPWV). Odwrotną zależność zaobserwowano między stężeniem neopteryny a wartością rozkurczu tętnicy zależnego od przepływu krwi (FMD). U piętnastu pacjentów, po 3-miesięcznej standardowej terapii przeciwnadciśnieniowej, zaobserwowano obniżenie stężenia neopteryny w osoczu oraz poprawę elastyczności tętnic (baPWV) i funkcji śródbłonna (FMD). Badania wykazały, że neopteryna jest ściśle skorelowana z zaburzeniami w obrębie naczyń krwionośnych, a pomiar stężenia neopteryny w osoczu może być wykorzystywany jako marker do oceny klinicznej stopnia uszkodzenia naczyń, a także oceny ryzyka rozwoju w przyszłości miażdżycy i chorób układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (88).

2. UZASADNIENIE PRACY

Miażdżyca to patologiczny proces zachodzący w obrębie tętnic. Zawał serca i udar mózgu stanowią jej najczęstszą manifestację kliniczną.

Miażdżyca, jako zjawisko o charakterze immunologicznym, związana jest z działaniem licznych czynników pośredniczących w przebiegu reakcji zapalnej. Jednym z nieswoistych mediatorów odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego jest neopteryna, która stymuluje wytwarzanie w komórkach śródbłonna indukowalnej NOS. Powyższy enzym odpowiedzialny jest za produkcję reaktywnego anionu nadtlennego, który aktywnie wchodzi w reakcję z cholesterolem frakcji LDL. Reakcja ta jest ważnym etapem w procesie degeneracyjnym ścian tętnicy. Neopteryna jest zatem modulatorem stresu oksydacyjnego, który inicjuje proces miażdżycowy. Wykazano, że wzrost stężenia neopteryny wiąże się z niestabilnością blaszki miażdżycowej.

Rola neopteryny w złożonej patogenezie miażdżycy, jej związek z współistniejącymi klasycznymi czynnikami ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego oraz jej potencjalne znaczenie prognostyczne nie zostało w pełni poznane.

3. CELE PRACY

1. Ocena stężenia neopteryny we krwi pacjentów z chorobą niedokrwienną serca w zależności od jej stopnia zaawansowania.
2. Ocena wpływu chorób współistniejących, w tym nadciśnienia, nadmiernej masy ciała, hiperglikemii i hipercholesterolemii na stężenie we krwi neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.
3. Określenie zależności pomiędzy stężeniem neopteryny we krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej.
4. Ocena zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a koniecznością hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych w czasie rocznej obserwacji.

4. MATERIAŁY I METODY

4.1. Populacja badana

Badanie zostało zaaprobowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, nr 697/16 w 2016 r. (załącznik nr 1).

W badaniu wzięli udział pacjenci Oddziału Kardiologicznego Szpitala w im. Prof. S.T. Dąbrowskiego w Puszczykowie. Pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej zostali poinformowani o celu badania i sposobie jego przeprowadzenia.

Przed włączeniem do badania jego uczestnicy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu. Udział pacjentów w badaniu był dobrowolny.

- **Kryteria włączenia do badania:**

- Chorzy z rozpoznaną chorobą niedokrwienną serca (po zawale serca, rewaskularyzacji mięśnia sercowego), stabilni hemodynamicznie, stabilnie leczeni farmakologicznie w okresie co najmniej 12 tygodni przed włączeniem do badania. W związku z zawałem serca wszyscy pacjenci otrzymywali podwójną terapię przeciwplatekową (DAPT) oraz statynę. Większość chorych włączonych do badania (w zależności od wartości ciśnienia tętniczego oraz częstości pracy serca) otrzymywało beta bloker i inhibitor konwertazy angiotensyny I. U pacjentów nie wykazano istotnych hemodynamicznie zaburzeń kurczliwości mięśnia sercowego. W związku z powyższym populacja badana charakteryzowała się dobrą tolerancją wysiłku. Dzięki badaniu echokardiograficznemu wykluczono z grupy badanej chorych z istotnymi hemodynamicznie wadami zastawkowymi serca (wrodzonymi i nabytymi). Badana populacja została starannie dobrana także pod względem wydolności oddechowej. Do badania włączono pacjentów z prawidłową saturacją (nie chorujących na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POChP) / astmę oskrzelową i nie palących papierosów).

- **Kryteria wykluczenia z badania:**

- przewlekła choroba nerek, GFR < 60ml/min/1,73m²,
- klinicznie istotne zaburzenia funkcji wątroby (wartości transaminaz trzykrotnie przekraczające zakres normy),
- ostry lub przewlekły, klinicznie jawny proces zapalny (choroby tkanki łącznej i stawów, proces zapalny dróg oddechowych, POChP, astma oskrzelowa, procesy zapalne układu moczowo-płciowego, proces zapalny w obrębie głowy i szyi),
- ostra infekcja w ciągu miesiąca poprzedzającego włączenie do badania, w tym opryszczka,
- czynna choroba nowotworowa,
- nadużywanie alkoholu,
- palenie tytoniu
- ciąża lub laktacja,
- inne uwarunkowania, które mogą stanowić jakiekolwiek ryzyko dla pacjenta podczas prowadzonej obserwacji.

Grupę kontrolną stanowiło 39 zdrowych ochotników, porównywalnych pod względem wieku i płci do grupy badanej.

4.2. Metodyka badań

Osoby zakwalifikowane do badania, spełniające postawione kryteria włączenia i wyłączenia z badania, poddano badaniu podmiotowemu, przedmiotowemu oraz badaniom dodatkowym, zgodnie z przedstawionymi poniżej procedurami.

4.2.1. Badania podmiotowe

Od uczestników badania zebrano szczegółowy wywiad dotyczący zdiagnozowanych chorób przewlekłych, aktualnego stanu zdrowia i ewentualnych dolegliwości.

Przeprowadzono analizę dostępnej dokumentacji medycznej oraz przyjmowanych leków i suplementów diety.

4.2.2. Badanie przedmiotowe

4.2.2.1. Pomiary antropometryczne

Pomiar aktualnej masy ciała i wzrostu wykonano za pomocą wagi elektrycznej (z dokładnością pomiaru 0,1 kg) i wzrostomierza RADWAG WPT 100/200 OW (*Radwag Wagi Elektroniczne, Radom, Polska*). Pomiary wykonywano rano, w stanie na czczo, bez obuwia, w białym bieliźnie.

Wskaźnik masy ciała BMI (*Body Mass Indeks*) obliczono ze wzoru:

$$\text{BMI} = \text{masa ciała (kg)} / \text{wzrost (m}^2\text{)}$$

4.2.2.2. Pomiar ciśnienia tętniczego spoczynkowego

Pomiar ciśnienia tętniczego wykonywano zgodnie z rekomendacjami Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (89), za pomocą ciśnieniomierza Omron 705IT (*Omron Corporation™, Kyoto, Japan*). U każdego uczestnika badania wykonano 3 pomiary z zachowaniem dwuminutowego odstępu czasowego, w pozycji siedzącej. Rozmiar mankieta dobierano odpowiednio do obwodu ramienia (mankiet standardowy o szerokości 13 cm i długości 35 cm lub szerszy mankieta dla osób o obwodzie ramienia >32 cm). Mankiet zakładany był na wysokości serca. Na podstawie uzyskanych wartości z 3 pomiarów, obliczono średnie ciśnienie tętnicze skurczowe (SBP) i rozkurczowe krwi (DBP).

4.2.2.3. Parametry biochemiczne

Od wszystkich uczestników badania pobrano 10 ml krwi żyłnej, w stanie na czczo (po 12 godzinach od ostatniego posiłku). Surowicę uzyskaną po odwirowaniu krwi przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania analiz.

W populacji badanej oznaczono:

- stężenie neopteryny (test immunoenzymatyczny ELISA),
- stężenie glukozy na czczo (metoda standardowa; *SIEMENS, NEWARK, USA*),
- profil lipidowy – stężenie w osoczu: cholesterolu całkowitego (TCH), lipoprotein o małej gęstości (LDL), lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) oraz trójglicerydów (TG) (metoda standardowa; *SIEMENS, NEWARK, USA*),

Obserwacja roczna uczestników badania

Po okresie 12 miesięcy od włączenia do badania u uczestników oceniano konieczność hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych.

4.2.3. Analiza statystyczna

Uzyskane w badaniu dane poddano analizie statystycznej przy pomocy programu Statistica 13.3 PL (*StatSoft, Inc, 2017*).

Wyniki przedstawiano w postaci średniej $\pm$ odchylenie standardowe (*SD, standard deviation*), mediany oraz pierwszego i trzeciego kwartylu. Zgodność badanych wartości z rozkładem normalnym sprawdzono testem Shapiro-Wilka. Parametry wykazujące rozkład zgodny z rozkładem normalnym porównano za pomocą testu t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych. Do jednoczesnego porównania średnich stężenia neopteryny w kilku grupach zastosowano analizę wariancji ANOVA a w przypadku otrzymania wartości $p < 0,05$ stosowano test post hoc Tukeya. Do analizy korelacji zmiennych zgodnych z rozkładem normalnym użyto testu liniowej korelacji Pearsona. Do analizy zmiennych nominalnych zastosowano test χ^2 . Zmienne niewykazujące zgodności z krzywą Gaussa porównano testem Manna-Whitney'a. Do analizy parametrów nie wykazujących zgodności z rozkładem normalnym wykorzystano test korelacji rang Spearmana. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

5. WYNIKI

5.1. Charakterystyka populacji badanej

Do grupy badanej zakwalifikowano 80 pacjentów z rozpoznaną chorobą niedokrwienną serca, po uwzględnieniu kryteriów włączenia i wyłączenia do badania. Grupę kontrolną stanowiło 39 zdrowych ochotników z prawidłową masą ciała. Grupa badana i grupa kontrolna były porównywalne w zakresie wieku (Tab.2) i płci (Wykres 1).

Tabela 2 – Wiek populacji badanej.

Parametr	Grupa badana					Grupa kontrolna					<i>p</i>
	Średnia	Mediana	Q1	Q3	SD	Średnia	Mediana	Q1	Q3	SD	
Wiek [lata]	60,6	60	55	68	9,8	60,6	61	55	65	7,7	0,9*

*test U Manna-Whitneya

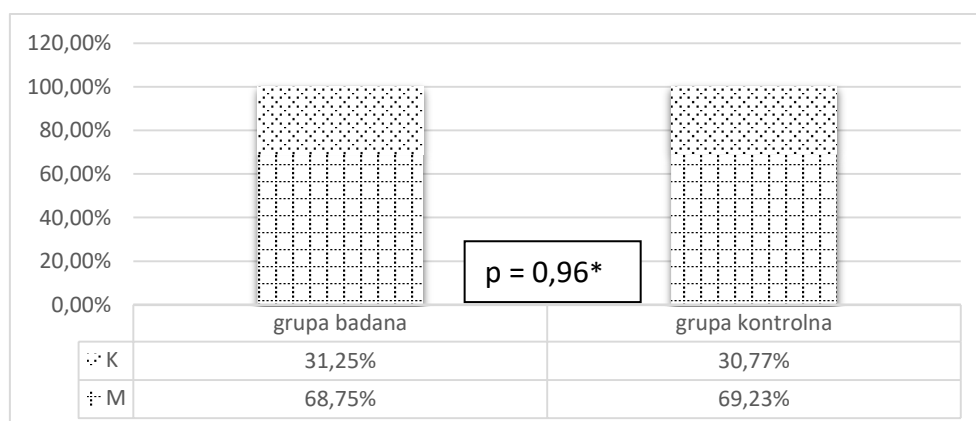
Q1 – kwartyl dolny (pierwszy kwartyl); **Q3** – kwartyl górny (trzeci kwartyl); **SD** – odchylenie standardowe;

p – poziom istotności statystycznej

Mediana wieku dla grupy badanej wynosiła 60 lat, natomiast dla grupy kontrolnej mediana wynosiła 61 lat.

Analiza porównawcza liczby kobiet i mężczyzn nie wykazała istotnej statystycznie różnicy między grupą badaną i kontrolną ($p=0,96$), (Wykres 1.).

Wykres 1. Porównanie liczby kobiet i mężczyzn pomiędzy grupą badaną i kontrolną.



*test χ^2 , $p = 0,96$

Charakterystykę populacji badanej w zakresie parametrów antropometrycznych i wartości ciśnienia tętniczego pokazano w Tabeli 3.

Tabela 3 – Parametry antropometryczne i wartości ciśnienia tętniczego w populacji badanej

Parametr	Grupa badana					Grupa kontrolna					<i>p</i>
	Średnia	Mediana	Q1	Q3	SD	Średnia	Mediana	Q1	Q3	SD	
BMI [kg/m ²]	30,9	29,7	26,9	32,4	6,4	22,4	22,5	20,9	23,9	1,8	0,000001[#]
SBP [mmHg]	140,4	141	125	155	19,4	128	128	123	133	6,86	0,00019[#]
DBP [mmHg]	82,6	80	73	93	12,2	81,2	82	79	83	4,46	0,5 [#]

[#] test t-Studenta

BMI – wskaźnik masy ciała; **SBP** – ciśnienie skurczowe (*systolic blood pressure*); **DBP** – ciśnienie rozkurczowe (*diastolic blood pressure*); **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; ***p*** – poziom istotności statystycznej

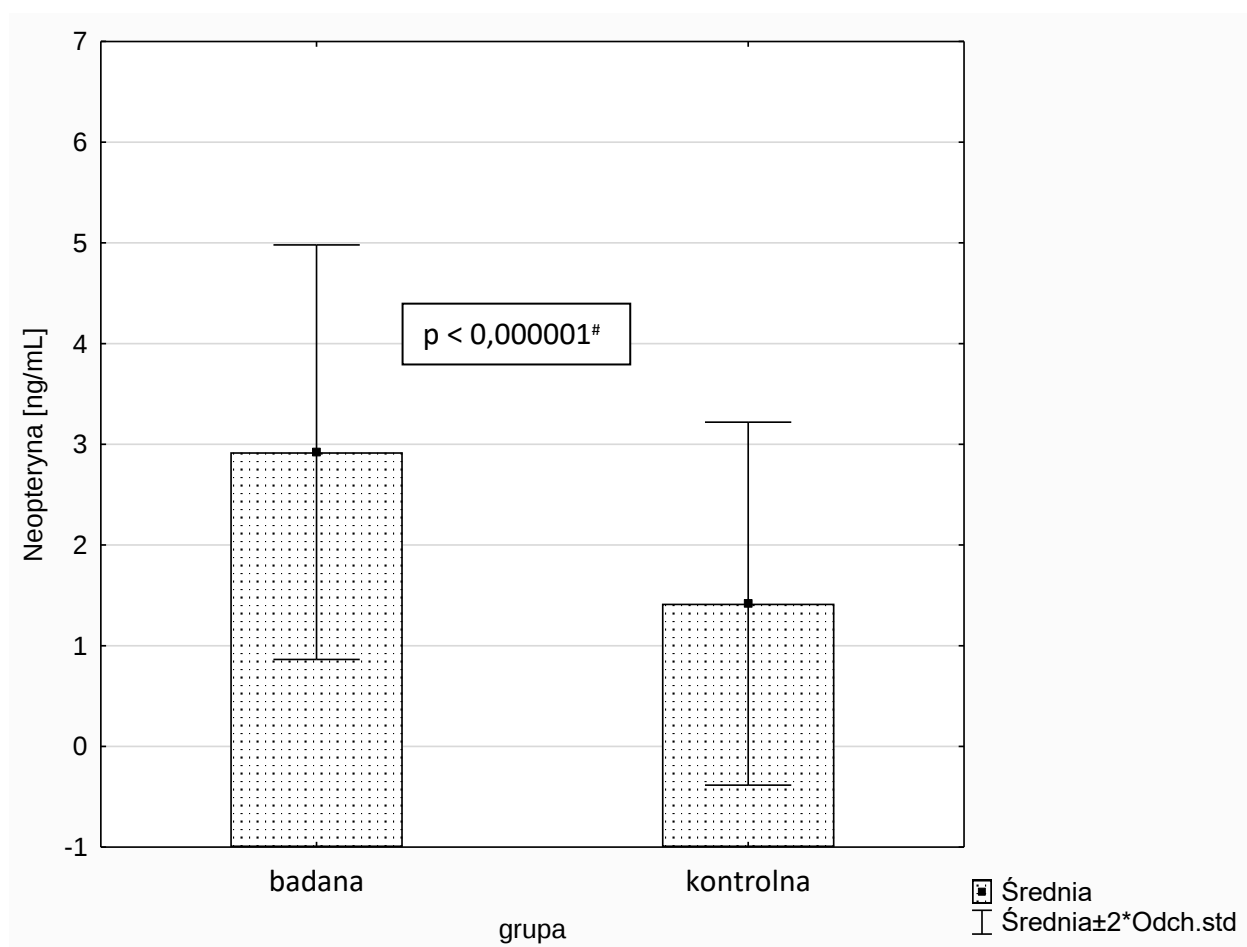
Porównanie średniej wartości BMI wykazało istotną statystycznie różnicę $p < 0,000001$ pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Średnia wartość BMI w grupie badanej mieściła się w zakresie otyłości I stopnia, podczas gdy wartość BMI w grupie kontrolnej mieściła się w granicach prawidłowej masy ciała.

Porównanie pomiarów spoczynkowego ciśnienia krwi pomiędzy grupą badaną i kontrolną wykazało istotną statystycznie różnicę wartości ciśnienia skurczowego ($p = 0,00019$). Średnia wartość ciśnienia skurczowego w grupie badanej wynosiła 140 mmHg, natomiast w grupie kontrolnej 128 mmHg. Nie stwierdzono istotnych różnic między porównywanymi grupami pod względem wartości ciśnienia rozkurczowego.

5.2. Stężenie neopteryny i innych parametrów biochemicznych w populacji badanej.

Porównanie stężenia neopteryny wykazało istotnie statystyczną różnicę pomiędzy grupą badaną i kontrolną ($2,9 \pm 1$ vs $1,4 \pm 0,9$; $p < 0,000001$). W grupie badanej średnie stężenie neopteryny było ponad dwukrotnie wyższe od jej stężenia w grupie kontrolnej (Wykres 2).

Wykres 2. Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy grupą badaną i kontrolną.



[#] test t-Studenta

Porównanie wartości pozostałych parametrów biochemicznych pomiędzy grupą badaną a kontrolną przedstawiono poniżej w Tabeli 4.

Tabela 4 – Pozostałe parametry biochemiczne populacji badanej

Parametr	Grupa badana					Grupa kontrolna					<i>p</i>
	Średnia	Mediana	Q1	Q3	SD	Średnia	Mediana	Q1	Q3	SD	
TChol [mmol/l]	4,4	4,2	3,4	5,3	1,3	4,9	5,2	4,2	5,4	0,8	0,033[#]
LDL [mmol/l]	2,5	2,3	1,6	3,1	1,2	2,9	3	2,3	3,5	0,8	0,063 [#]
HDL [mmol/l]	1,2	1,2	1	1,4	0,4	1,2	1,2	1	1,5	0,3	0,9 [#]
TG [mmol/l]	2,1	1,3	1	2,1	5,5	2,1	1,5	1,1	2,3	1,6	0,061 [*]
Glukoza [mmol/l]	6,9	6,5	5,6	7,7	2,1	5,3	5,2	5,0	5,6	0,4	0,000003[#]

* test U Manna-Whitney'a

test t-Studenta

TChol – cholesterol całkowity; **LDL** – lipoproteiny o niskiej gęstości; **HDL** – lipoproteiny o wysokiej gęstości; **TG** – trójglicerydy; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; **p** – poziom istotności statystycznej

Porównanie wartości parametrów gospodarki lipidowej wykazało występowanie istotnej statystycznie różnicy między grupą badaną i kontrolną w przypadku stężenia cholesterolu całkowitego, $p=0,033$. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic porównując obie grupy pod względem stężenia cholesterolu frakcji LDL i HDL, a także w stężenia trójglicerydów.

Stężenie glukozy było istotnie statystycznie wyższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej ($p=0,000003$).

5.3. Ocena stężenia neopteryny we krwi pacjentów z chorobą niedokrwienną serca w zależności od jej stopnia zaawansowania.

5.3.1. Stopień zaawansowania choroby na podstawie zajęcia określonej liczby naczyń procesem miażdżycowym

Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów, którzy charakteryzowali się obecnością zmian miażdżycowych w obrębie odpowiednio jednego, dwóch lub trzech naczyń wieńcowych nie wykazało statystycznie istotnej różnicy pomiędzy tymi podgrupami (Tab. 5).

Tabela 5 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy grupami pacjentów z chorobą jednego, dwóch lub trzech naczyń.

		Stopień zaawansowania choroby niedokrwiennej serca wg liczby naczyń zajętych procesem miażdżycowym		
Neopteryna [ng/ml]	Ogółem [N = 80]	Choroba 1 naczynia [N = 38]	Choroba 2 naczyń [N = 23]	Choroba 3 naczyń [N = 19]
Średnia	2,9	3	2,9	2,8
SD	1	1,1	1	1
<i>p</i>	0,79 [^]			

[^] test wariancji ANOVA.

N – liczebność; **SD** – odchylenie standardowe; **p** – poziom istotności statystycznej

5.3.2. Stopień zaawansowania choroby na podstawie przebiecia zawału mięśnia sercowego STEMI lub N-STEMI

Porównanie stężenia neopteryny grupy pacjentów, którzy przeszli zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI) z grupą pacjentów, z zawałem bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) nie wykazało różnic istotnych statystycznie pomiędzy tymi grupami (Tab. 6).

Tabela 6 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z zawałem serca STEMI i NSTEMI.

	Stopień zaawansowania choroby niedokrwiennej serca wg typu zawału serca	
Neopteryna [ng/ml]	STEMI	NSTEMI
N	36	44
Średnia	2,9	2,9
Mediana	2,7	2,6
Q1	2,2	2,3
Q3	3,8	3,5
SD	1,1	1
<i>p</i>	0,87 [#]	

[#] test t-Studenta

STEMI – zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (*ST-segment elevation myocardial infarction*);
NSTEMI – zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (*non-ST-segment elevation myocardial infarction*);
N – liczebność; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; ***p*** – poziom istotności statystycznej

5.4. Ocena wpływu chorób współistniejących takich jak nadciśnienie, nadmierna masa ciała, hiperglikemia i hipercholesterolemia na stężenie we krwi neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.

5.4.1. Nadciśnienie tętnicze

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w stężeniu neopteryny u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia tętniczego (Tab. 7).

Tabela 7 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z nadciśnieniem i bez nadciśnienia tętniczego

Neopteryna [ng/ml]	Pacjenci z chorobą niedokrwienną serca	
	z nadciśnieniem	bez nadciśnienia
N	63	17
Średnia	3	2,7
Mediana	2,7	2,4
Q1	2,2	2,2
Q3	3,8	3,4
SD	1	1
<i>p</i>	0,26 [#]	

[#] test t-Studenta

N – liczebność; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe

5.4.2. Nadmierna masa ciała definiowana jako otyłość lub nadwaga

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem neopteryny u pacjentów z nadwagą lub otyłością w porównaniu do pacjentów bez nadmiernej masy ciała (Tab. 8).

Tabela 8 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z nadmierną masą ciała i bez nadmiernej masy ciała

Neopteryna [ng/ml]	Pacjenci z chorobą niedokrwienną serca	
	z otyłością lub nadwagą	bez otyłości lub nadwagi
N	69	11
Średnia	2,9	2,8
Mediana	2,7	2,2
Q1	2,3	1,8
Q3	3,4	3,8
SD	1	1,2
<i>p</i>	0,60 [#]	

[#] test t-Studenta

N – liczebność; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; ***p*** – poziom istotności statystycznej

5.4.3. Hiperglikemia definiowana jako stężenie glukozy powyżej 100 mg/dl

Stężenie neopteryny u pacjentów z hiperglikemią nie różniło się w sposób istotny statystycznie (Tab. 9) w porównaniu do stężenia neopteryny u pacjentów bez hiperglikemii.

Tabela 9 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z hiperglikemią i bez hiperglikemii

Neopteryna [ng/ml]	Pacjenci z niedokrwinną chorobą serca	
	Pacjenci z hiperglikemią	Pacjenci bez hiperglikemii
N	62	18
Średnia	3	2,7
Mediana	2,7	2,4
Q1	2,2	1,8
Q3	3,6	3,2
SD	1	1
<i>p</i>	0,26 [#]	

[#] test t-Studenta.

N – liczebność; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; ***p*** – poziom istotności statystycznej

5.4.4. Hipercholesterolemia

Pacjenci z hipercholesterolemią nie wykazywali różnic w stężeniu neopteryny w porównaniu z pacjentami bez hipercholesterolemii (Tab. 10).

Tabela 10 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z hipercholesterolemią i bez hipercholesterolemii

Neopteryna [ng/ml]	Pacjenci z niedokrwinną chorobą serca	
	z hipercholesterolemią	bez hipercholesterolemii
N	34	46
Średnia	2,9	3
Mediana	2,6	2,7
Q1	2,3	2,2
Q3	3,2	3,8
SD	0,8	1,2
<i>p</i>	0,61 [#]	

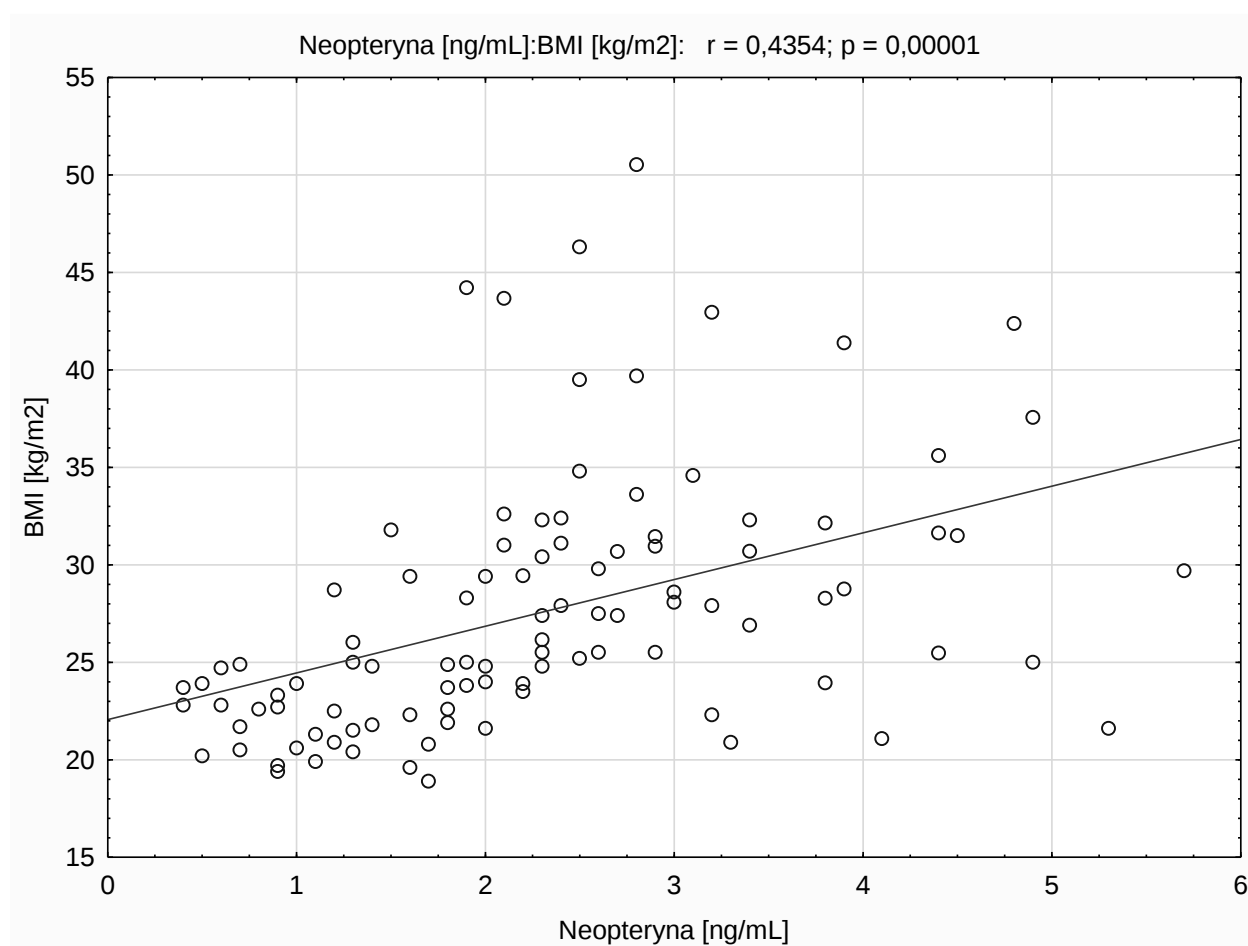
[#] test t-Studenta

N – liczebność; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; **p** – poziom istotności statystycznej

5.5. Określenie zależności pomiędzy stężeniem neopteryny we krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej

W populacji badanej zaobserwowano występowanie pozytywnej korelacji pomiędzy stężeniem neopteryny i BMI, $r = 0,44$, $p = 0,00001$ (Wykres 3).

Wykres 3. Zależność liniowa pomiędzy stężeniem neopteryny a BMI w całej populacji badanej



Korelacji nie obserwowano osobno w grupie kontrolnej i grupie badanej (Tabela 11).

Tabela 11 – Korelacje pomiędzy stężeniem we krwi neopteryny a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej w populacji badanej

Korelacje r	Grupa badana	Grupa kontrolna	Populacja badana
	Neopteryna [ng/ml]		
BMI [kg/m ²] #	0,08	0,2	0,44
SBP [mmHg] #	-0,2	0,03	0,07
DBP [mmHg] #	-0,06	0,1	-0,04
TChol [mmol/l] #	-0,08	-0,08	-0,2
LDL [mmol/l] #	-0,07	-0,03	-0,2
HDL [mmol/l] #	-0,2	0,03	-0,1
TG [mmol/l] *	-0,08	-0,1	-0,05
Glukoza [mmol/l] #	0,05	-0,2	0,3

współczynnik korelacji Pearsona

*współczynnik korelacji rang Spearmana

BMI – wskaźnik masy ciała (*Body Mass Indeks*); **SBP** – ciśnienie skurczowe (*systolic blood pressure*); **DBP** – ciśnienie rozkurczowe (*diastolic blood pressure*); **TChol** – cholesterol całkowity; **LDL** – lipoproteiny o niskiej gęstości; **HDL** – lipoproteiny o wysokiej gęstości; **TG** – trójglicerydy; **r** – współczynnik korelacji

Pomiędzy pozostałymi parametrami tj. wartością ciśnienia skurczowego, ciśnienia rozkurczowego, stężeniem cholesterolu całkowitego, stężeniem cholesterolu frakcji LDL oraz HDL, stężeniem trójglicerydów i stężeniem glukozy a stężeniem neopteryny nie wykazano istotnych statystycznie zależności ani w populacji badanej ani osobno w grupie badanej i kontrolnej (Tab. 11).

5.6. Ocena zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a wystąpieniem konieczności hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych w czasie rocznej obserwacji.

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w stężeniu neopteryny u pacjentów wymagających hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych i u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca nie wymagających hospitalizacji (Tab. 12).

Tabela 12 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów hospitalizowanych i niehospitalizowanych z przyczyn sercowo-naczyniowych.

Neopteryna [ng/ml]	Pacjenci z niedokrwienną chorobą serca	
	niehospitalizowani z przyczyn sercowo-naczyniowych	hospitalizowani z przyczyn sercowo-naczyniowych
N	61	19
Średnia	2,9	2,8
Mediana	2,7	2,3
Q1	2,3	2,2
Q3	3,5	3,6
SD	1	1
<i>p</i>	0,68 [#]	

[#] test t-Studenta

N – liczebność; **Q1** – kwartył dolny (pierwszy kwartył); **Q3** – kwartył górny (trzeci kwartył); **SD** – odchylenie standardowe; ***p*** – poziom istotności statystycznej

6. DYSKUSJA

Prowadzone od czterdziestu lat badania nad neopteryną wykazały ponad wszelką wątpliwość jej istotną rolę jako jednego z ważnych mediatorów stanu zapalnego. Wydzielana przez pobudzone za pośrednictwem interferonu γ monocyty, makrofagi oraz komórki dendrytyczne, odgrywa ważną rolę w zwalczaniu patogenów. Neopteryna nie tylko pomaga w pozbyciu się bakterii, wirusów i pasożytów poprzez swoje działanie cytotoksyczne ale również, jako substancja o silnym działaniu oksydo-redukcyjnym, może indukować proces apoptozy np. w komórkach zmienionych nowotworowo (5).

Podwyższone stężenie neopteryny stwierdzono w wielu schorzeniach, którym towarzyszy proces zapalny. Pierwsze badania nad neopteryną wykazały jej związek z chorobami infekcyjnymi. Późniejsze badania pokazały, że neopteryna jest wydzielana także w innych chorobach, w których dochodzi do aktywacji komórkowej odpowiedzi odpornościowej. Z taką sytuacją mamy do czynienia między innymi: przy powikłaniach po przeszczepieniu tkanek, w chorobach autoimmunologicznych, w chorobach nowotworowych, w chorobach neurologicznych, w otyłości oraz w chorobach układu sercowo-naczyniowego, w miażdżycy i nadciśnieniu tętniczym (5).

Z mechanizmem patogenezy miażdżycy nierozzerwalnie związany jest proces zapalny. Można więc przypuszczać, że wśród mediatorów odpowiedzi immunologicznej uczestniczących w procesie degeneracyjnym ścian naczyń krwionośnych i odkładaniu się blaszki miażdżycowej będzie uczestniczyć także neopteryna (90). Ponieważ najczęstszą manifestacją kliniczną miażdżycy jest zawał serca oraz udar mózgu niniejszym badaniem objęto grupę pacjentów z chorobą niedokrwienną serca. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano zdrowych ochotników.

Podjęte badania miały na celu ocenę zależność stężenia neopteryny z badanymi parametrami antropometrycznymi i biochemicznymi oraz stopniem zaawansowania choroby niedokrwiennej serca u badanych pacjentów. Wzięto także pod uwagę możliwy wpływ na stężenie neopteryny chorób współistniejących związanych z ryzykiem rozwoju miażdżycy jak i jej patogenezą, w szczególności: nadciśnienia tętniczego, otyłości, hipercholesterolemii i hiperglikemii.

W niniejszej pracy grupę kontrolną stanowiły osoby zdrowe z prawidłową masą ciała, podczas gdy grupę badaną stanowili pacjenci z zaawansowaną chorobą naczyń wieńcowych.

Grupa badana i kontrolna różniły się istotnie statystycznie pod względem wartości BMI. W grupie badanej były osoby, które można zakwalifikować na podstawie wartości BMI jako osoby z nadwagą lub otyłością I stopnia. Zgodnie z dostępnym piśmiennictwem otyłość jest jednym z najistotniejszych czynników sprzyjających pojawieniu się i rozwojowi zmian miażdżycowych (91), (92), (93). Istotną statystycznie różnicę między grupą badaną i kontrolną zaobserwowano w przypadku SBP, jakkolwiek średnia wartość SBP w grupie chorych sytuowała się na granicy między ciśnieniem prawidłowym i nadciśnieniem I stopnia. Nie zaobserwowano różnicy między grupami w wartości DBP. Otrzymane wyniki mogą być związane z występowaniem różnic osobniczych w reakcji na wymaganą u pacjentów farmakoterapię hipotensyjną.

Porównanie parametrów biochemicznych w grupie badanej i grupie kontrolnej wykazało występowanie istotnych statystycznie różnic w zakresie niektórych parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej. W grupie pacjentów stężenie glukozy w było znacząco wyższe niż w grupie kontrolnej. Wynik ten jest zgodny z publikowanymi wcześniej badaniami, według których hiperglikemia stanowi kolejny ważny czynniki ryzyka rozwoju miażdżycy naczyń (94), (95). Dla parametrów gospodarki lipidowej istotnie statystycznie niższe stężenie TChol zanotowano w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej, jakkolwiek nie stwierdzono różnic w stężeniu poszczególnych frakcji cholesterolu; LDL, HDL, a także w stężeniu TG. Otrzymane wyniki mogą mieć związek z niezbędną farmakoterapią hipolipemiczną stosowaną u chorych.

Stężenie neopteryny we krwi pacjentów z chorobą niedokrwienną serca w zależności od jej stopnia zaawansowania

Ważną obserwacją poczynioną w toku przeprowadzonych badań było wykazanie istotnej statystycznie różnicy w stężeniu neopteryny między grupą badaną i grupą kontrolną. Choroba niedokrwienna serca jest skutkiem postępujących zmian miażdżycowych w obrębie naczyń wieńcowych serca, a więc procesu związanego z toczącym się stanem zapalnym, przez to stężenie neopteryny u osób chorych jest wyższe niż u osób zdrowych (96), (97), (98), (67). W niniejszej pracy stężenie neopteryny w grupie badanej było około dwukrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej co jest zgodne również z badaniami innych autorów (69) (70).

Tatzber i wsp., u około 50% hospitalizowanych pacjentów poddawanych leczeniu zachowawczemu lub chirurgicznemu, zaobserwowali stężenie neopteryny przekraczające nawet 10-krotnie zakres normy (70). Adachi i wsp. wykazali, że u pacjentów z niestabilną blaszką miażdżycową stężenie neopteryny oraz liczba aktywowanych makrofagów wydzielających neopterynę w wycinkach naczyń zmienionych chorobowo było znacznie wyższe niż u pacjentów ze stabilną blaszką miażdżycową (71). Podobne rezultaty otrzymali także inni autorzy, co może świadczyć o potencjale neopteryny jako markera miażdżycy u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca (67), (96), (97), (98).

Badania prowadzone przez szereg zespołów badawczych, obejmujące grupy pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi, takimi jak choroba niedokrwienna serca, choroba tętnic obwodowych czy zawał mięśnia sercowego, wskazują na istnienie silnego związku między wysokim stężeniem neopteryny a ryzykiem wystąpienia różnych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych (67), (96), (97), (98), (99), (100). Dane uzyskane z powyższych badań skłoniły do podjęcia w niniejszej pracy próby oceny zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a stopniem zaawansowania choroby niedokrwiennej serca w grupie badanej. Pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, podzielono na trzy podgrupy w zależności od liczby zajętych miażdżycowo naczyń wieńcowych odpowiednio z zajęтым jednym naczyniem, zajętymi dwoma lub trzema naczyniami. Średnie stężenie neopteryny w każdej z trzech podgrup pacjentów, wykazywało wyższe wartości niż ta obserwowana w grupie osób zdrowych, nie mniej jednak nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w stężeniu neopteryny pomiędzy poszczególnymi podgrupami pacjentów. Otrzymane wyniki sugerują, że wyższe stężenie neopteryny u pacjentów, chociaż może wskazywać na aktywację makrofagów i toczący się stan zapalny towarzyszący rozwojowi blaszki miażdżycowej i postępującemu uszkodzeniu ścian naczyń krwionośnych, to jednak nie jest związane ze stopniem zaawansowania tych zmian. Odnosząc się do dostępnych danych literaturowych, w badaniu Tatzber i wsp. porównano stężenie neopteryny u osób z różnym stopniem zaawansowaniem miażdżycy, zarówno nie wymagającym hospitalizacji jak i wymagającym hospitalizacji, w tym także interwencji chirurgicznej (70). W grupie pacjentów z mniej zaawansowaną miażdżycą, nie wymagających hospitalizacji, stężenie neopteryny nie różniło się istotnie od stężenia u osób zdrowych. Znacznie wyższe stężenie neopteryny wykazano jednak u pacjentów z bardziej zaawansowaną chorobą. Autorzy w kwalifikacji pacjentów do grup zaawansowania miażdżycy zastosowali jednak odmienne kryteria badawcze. Podczas gdy w niniejszej pracy

pacjentów podzielono na podgrupy pod względem liczby zajętych naczyń, Tatzber i wsp. dokonali kwalifikacji do podgrup na podstawie zmian w profilu lipoprotein, zgodnie z klasyfikacją dyslipidemii wg Fredricksona (70). Adachi i wsp. zastosowali metodę immunohistochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał specyficznych względem neopteryny w celu badania wycinków naczyń zmienionych miażdżycowo, pochodzących od pacjentów z niestabilną i stabilną blaszką miażdżycową (71). Autorzy wykazali istotne statystycznie różnice w stężeniu neopteryny oraz liczbie aktywowanych neopteryno-dodatnich makrofagów pomiędzy pacjentami z niestabilną i stabilną blaszką miażdżycową. Obecność neopteryno-dodatnich makrofagów stwierdzono w 22 z 25 preparatów pochodzących od pacjentów z niestabilną blaszką miażdżycową i tylko w 11 z 25 preparatów pobranych od pacjentów ze stabilną blaszką miażdżycową. Nie wykryto sygnału neopteryny w komórkach mięśni gładkich. Należy zauważyć, że ocena poziomu neopteryny miała w tym badaniu charakter półilościowy, nie oznaczano ilościowo stężenia neopteryny w krwi (71). Powyższe badania ze względu na inne założenia i metodykę nie mogą być zatem bezpośrednio porównane z wynikami niniejszej pracy. Ponieważ w dostępnej literaturze brak jest prac, w których badano by zależność stężenia neopteryny od ilości zajętych naczyń przez miażdżycę, nowe podejście do badanego problemu zastosowane w niniejszej pracy warte jest podkreślenia.

W niniejszej pracy podjęto również próbę oceny zależności stężenia neopteryny od stopnia zaawansowania choroby niedokrwiennej serca u chorych, którzy przeszli zawał mięśnia sercowego. Pacjentów z grupy badanej podzielono na dwie podgrupy według typu zawału mięśnia sercowego: STEMI i NSTEMI, nie wykazano jednak istotnej statystycznie różnicy w stężeniu neopteryny między dwoma typami zawału. Analogiczne wyniki otrzymała Korzeniowska i wsp., której zespół przeprowadził badania w grupie 100 pacjentów po przebytym zawałe STEMI i 50 pacjentów po zawałe typu NSTEMI (101). Podobnie jak w niniejszej pracy, autorzy wykazali wyższe stężenie neopteryny w grupie chorych w porównaniu do grupy zdrowych osób, jednakże nie stwierdzono różnicy w stężeniu neopteryny między oboma typami zawału mięśnia sercowego (101). Zbliżone wyniki uzyskano również w badaniu przeprowadzonym przez zespół Gurumurthy i wsp. (102) gdzie średnie stężenie neopteryny w surowicy u pacjentów z zawałem STEMI, zawałem NSTEMI i u pacjentów z niestabilną dusznicą bolesną były znacznie wyższe niż u pacjentów z niekardiologicznym bólem w klatce piersiowej i zdrowych ochotników (102). Wydaje się, że stężenie neopteryny może być parametrem wskazującym na toczący się proces chorobowy ale

może nie być użyteczne w bezpośrednim różnicowaniu zawałów mięśnia sercowego STEMI i NSTEMI.

Ocena wpływu chorób współistniejących, w tym: nadciśnienia, nadmiernej masy ciała, hiperglikemii i hipercholesterolemii na stężenie we krwi neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.

W niniejszej pracy stężenia neopteryny u pacjentów z nadciśnieniem oraz bez nadciśnienia nie różniło się istotnie statystycznie. Natomiast opublikowane wyniki badań innych autorów wskazują na występowanie takiej zależności (86), (87), (88). Uszkodzeniu naczyń wywołanym przez nadciśnienie tętnicze towarzyszy stan zapalny, czego efektem powinien być wzrost stężenia neopteryny. Podwyższone stężenie neopteryny zaobserwowano nawet u pacjentów z niewielkim nadciśnieniem, chociaż nie zaobserwowano u nich zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych (86). W naszym badaniu wszyscy pacjenci mieli mniej lub bardziej zaawansowaną chorobę niedokrwienną serca co może stanowić przyczynę podwyższonego stężenia neopteryny. W związku z tym, że badaniem objęto chorych, którzy mieli nadciśnienie wraz ze współistniejącą miażdżycą naczyń, a nie jak w pracy Avanzas i wsp. (86) chorych bez zmian miażdżycowych w naczyniach, uzyskane wyniki w obu badaniach nie mogą być jednoznacznie porównywane.

Podobnie jak w przypadku nadciśnienia, również nadmierna masa ciała u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca nie była związana z różnicą w stężeniu neopteryny. Porównując stężenie neopteryny w grupie badanej, w której średnia BMI wynosiło powyżej 30 z grupą kontrolną o prawidłowym BMI wykazano, że w grupie badanej neopteryna osiąga ponad dwukrotnie wyższe stężenie niż u w grupie kontrolnej. Zdecydowaną większość osób należących do grupy badanej stanowiły osoby z nadwagą lub otyłością, niemniej jednak stężenie neopteryny w obu podgrupach pacjentów z nadmierną masą ciała i z prawidłową masą ciała nie wykazało istotnych statystycznie różnic. Należy podkreślić, iż osoby należące do obu podgrup wyodrębnionych w ramach populacji badanej to pacjenci cierpiący na chorobę niedokrwienną serca, w której podwyższone stężenie neopteryny jest wynikiem toczącego się stanu zapalnego związanego z rozwojem zmian miażdżycowych w naczyniach. Nasze badania wskazują, że nadwaga lub otyłość nie są czynnikami, które istotnie wpływają na zmianę stężenia neopteryny u pacjentów z niedokrwienną chorobą serca. W badaniu

przeprowadzonym przez Avci i wsp. porównano stężenie neopteryny w grupie osób z otyłością i grupie kontrolnej z prawidłową masą ciała. Podobnie jak w naszym badaniu u osób otyłych zaobserwowano prawie dwukrotnie wyższe stężenie neopteryny (96). Avci i wsp. wskazali na związek otyłości z ryzykiem rozwoju choroby niedokrwiennej serca ale nie porównywali stężenia neopteryny u pacjentów z chorobą wieńcową i otyłością z grupą pacjentów z chorobą wieńcową i prawidłową masą ciała. Podobnie wyższe stężenia neopteryny u osób otyłych w porównaniu do osób z prawidłową masą ciała obserwowano w kilku innych badaniach (81), (103), (104), (105), (106)., jednak w żadnym z nich nie dokonywano porównywania stężenia neopteryny wśród otyłych i nieotyłych pacjentów cierpiących na chorobę niedokrwinną serca.

Pacjentów z chorobą niedokrwinną serca, należących do grupy badanej podzielono również na podgrupy w zależności od współistniejącej hiperglikemii, hipercholesterolemii lub ich braku. W obu przypadkach nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniu neopteryny w danych podgrupach pacjentów z chorobą niedokrwinną serca. W dostępnej literaturze można znaleźć zarówno prace, w których nie wykazano istotnych różnic w stężeniu neopteryny u pacjentów z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej takimi jak typ 1 i typ 2 cukrzycy czy cukrzyca ciążowa w porównaniu do osób zdrowych (107), (108), a także badania, w których zaobserwowano wyższe stężenie neopteryny u pacjentów z cukrzycą typu 1, typu 2 lub z cukrzycą ciążową, zaburzeniami metabolizmu glukozy oraz z insulinoopornością w porównaniu do zdrowych osób (109), (110), (111), (112), (113). W badaniu przeprowadzonym przez Bertz i wsp. porównywano stężenie neopteryny u pacjentów z niedokrwieniem kończyn dolnych, ze współistniejącą cukrzycą lub z jej brakiem. Stężenie neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwinną kończyn dolnych i z cukrzycą było wyraźnie wyższe niż u pacjentów bez cukrzycy (114). Niestety brakuje badań, w których podobne porównanie byłoby przeprowadzone na grupie pacjentów z chorobą niedokrwinną serca ze współistniejącą cukrzycą lub bez, co utrudnia jednoznaczne porównanie wyników uzyskanych w naszych badaniach z wynikami innych zespołów badawczych. Analogicznie, w przypadku hipercholesterolemii, badania różnych zespołów badawczych skupione były przede wszystkim na porównaniu stężenia neopteryny u osób z podwyższonym stężeniem cholesterolu we krwi (np. z rodzinną hipercholesterolemią) i osób z prawidłowym stężeniem cholesterolu (115), (116). Publikowane dane dotyczące ewentualnego wpływu leków hipolipemizujących na stężenie neopteryny również pozostają niejednoznaczne. W badaniu van Haelst i wsp.

zaobserwowano, że stężenie neopteryny ulega obniżeniu u pacjentów z hipercholesterolemią leczonych za pomocą fluwastatyny - inhibitora reduktazy hydroksymetyloglutarylo-koenzymu A, enzymu kontrolującego wydajność szlaku syntezy cholesterolu *de novo* (117). Jednak podobnego spadku stężenia neopteryny nie stwierdzono w badaniu Gottsäter i wsp., w którym 17 pacjentów z hipercholesterolemią przez 6 miesięcy również leczono za pomocą fluwastatyny (118). Co więcej brakuje badań, w których oceniano by wpływ hipercholesterolemii na stężenie neopteryny u w grupie pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, co utrudnia porównanie wyników uzyskanych w niniejszej pracy z obserwacjami innych zespołów badawczych.

Określenie zależności pomiędzy stężeniem neopteryny we krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej

W niniejszym badaniu stężenie neopteryny nie wykazywało korelacji z wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej, kiedy analizowano osobno grupę badaną i kontrolną. Dodatnią korelację pomiędzy stężeniem neopteryny a BMI zanotowano natomiast w całej badanej populacji. Dodatnią zależność stężenia neopteryny od wartości wskaźnika BMI zaobserwowano także w wielu innych badaniach (81), (96), (103), (104), (105), (106). Osoby cierpiące na otyłość mają średnio dwukrotnie wyższe stężenie neopteryny niż osoby z prawidłową masą ciała. Stwierdzona w naszym badaniu korelacja między stężeniem neopteryny a BMI w populacji ogólnej jest zgodna z obserwacjami innych zespołów badawczych.

Analizując zależność stężenia neopteryny od parametrów gospodarki lipidowej i węglowodanowej warto wziąć pod uwagę, że wpływ otyłości na stężenie neopteryny może zależeć także od wieku osób badanych (103). W badaniu H. Mangge i wsp. przeanalizowano zależność między stężeniem neopteryny w surowicy a występowaniem wczesnych objawów metabolicznych i przedmiazdżycowych u prawie 300 otyłych młodych osób stanowiących grupę badaną i 100 osób z grupy kontrolnej o prawidłowej masie ciała w podobnym wieku. Zaobserwowano, że w populacji badanej, mimo stwierdzenia wielu czynników wskazujących na występowanie różnych zaburzeń metabolicznych i zmian patologicznych w organizmie,

stężenie neopteryny w surowicy było niższe u osób otyłych w porównaniu z osobami z prawidłową masą ciała. Badania te pokazały, że stężenie neopteryny w otyłości młodzieńczej zachowuje się inaczej niż u osób dorosłych. Mimo stwierdzenia markerów wczesnej fazy obciążenia naczyń oraz przewlekłego stanu zapalenia, stężenie neopteryny nie korelowało z objawami metabolicznymi i przedmiażdżycowymi występującymi we wczesnych fazach choroby (103).

W naszym badaniu osoby wchodzące w skład grupy badanej i kontrolnej były znacznie starsze (średnia wieku około 60 lat), nie można więc wprost odnieść naszych wyników do tych uzyskanych przez zespół H. Mangge. Niemniej jednak w obu badaniach stężenie neopteryny nie wykazywało istotnej statystycznie zależności od poszczególnych parametrów gospodarki lipidowej organizmu.

Ocena zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a wystąpieniem konieczności hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych w czasie 12 miesięcznej obserwacji.

Opublikowane badania wskazują na istnienie zależności między stężeniem neopteryny a stanem klinicznym pacjentów (86), (87). Wyższe stężenie neopteryny wiązało się z gorszym rokowaniem, więcej pacjentów wymagało w ciągu kilkumiesięcznej obserwacji hospitalizacji i interwencji chirurgicznych, większa też była w tej grupie pacjentów liczba zgonów. Wyniki przeprowadzonej w niniejszym badaniu po 12-miesięcznej obserwacji nie wskazują na istnienie związku między stężeniem neopteryny a koniecznością hospitalizacji z powodu incydentów sercowo-naczyniowych. Zarówno u pacjentów wymagających hospitalizacji jak i u chorych, którzy takiej hospitalizacji w badanym okresie czasu nie wymagali, stężenie neopteryny nie różniło się. Odmienne wyniki uzyskali Kaski i wsp. (119), w badaniu, w którym 6-miesięczną obserwacją objęto grupę prawie 400 pacjentów, z ostrymi zespołami wieńcowymi bez uniesienia odcinka ST, w tym z niestabilną dusznicą bolesną i zawałem NSTEMI. Mimo, że wyjściowe stężenia neopteryny były podobne u pacjentów z niestabilną dławicą piersiową i zawałem NSTEMI, to właśnie w grupie pacjentów z najwyższym stężeniem neopteryny zanotowano najwięcej przypadków konieczności przedwczesnego zakończenia badania z powodu wystąpienia zgonu z przyczyn sercowych, ostrego zawału mięśnia sercowego lub niestabilnej dusznicy bolesnej, w okresie objętym obserwacją. Stwierdzono, że podwyższone stężenie neopteryny jest niezależnym predyktorem wystąpienia niepożądanych

zdarzeń sercowych u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST w okresie 180 dni (119). W pracy Avanzas i wsp., w oparciu o 12-miesięczną obserwację pacjentów z przewlekłą stabilną dusznicą bolesną, również stwierdzono, że podwyższone stężenie neopteryny w surowicy pozwala przewidzieć przyszłe niepożądane zdarzenia sercowe u tych pacjentów (73). W badaniu przeprowadzonym przez Wietlicka-Kokoszaniek i wsp. pacjentów z niewydolnością serca obserwowano przez 12 miesięcy po opuszczeniu szpitala, oceniano ich jakość życia oraz kliniczne objawy niewydolności serca (76). Stwierdzono, że pacjenci z wyższymi stężeniami neopteryny najczęściej wykazywali większe pogorszenie stanu zdrowia i niewydolności serca. Pacjenci z niższym stężeniem neopteryny pozostawali w tej samej klasie CHF (według NYHA) lub wykazywali poprawę stanu zdrowia (76).

Wyniki naszych badań, w przeciwieństwie do wyników badań przytoczonych powyżej, nie potwierdzają znaczenia podwyższonego stężenia neopteryny jako markera wskazującego na zwiększone ryzyko wystąpienia w ciągu kilku lub kilkunastu miesięcy incydentów sercowo-naczyniowych czy pogorszenia stanu zdrowia pacjenta.

6.1. Podsumowanie

Od wielu lat wiadomo, że neopteryna jest jednym z markerów stanu zapalnego. Podczas infekcji wirusowych, bakteryjnych i pasożytniczych, a także w wielu innych chorobach, w których dochodzi do pobudzenia układu immunologicznego, zaktywowane makrofagi i monocyty produkują i wydzielają do krwi neopterynę. Ponieważ w patogenezie choroby niedokrwiennej serca, związanej z rozwojem zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych serca istotną rolę odgrywa stan zapalny, neopteryna wydaje się być bardzo obiecującym biomarkerem chorób sercowo-naczyniowych.

Badania podjęte w niniejszej pracy miały na celu określenie zależności pomiędzy stężeniem neopteryny we krwi ze stopniem zaawansowania choroby niedokrwiennej serca oraz wpływu chorób współistniejących. Wykazano, że pacjenci z chorobą niedokrwinną serca mają podwyższone stężenie neopteryny w porównaniu do osób zdrowych. Niestety nie stwierdzono istnienia zależności między stężeniem neopteryny a stopniem zaawansowania choroby zarówno pod względem liczby zajętych naczyń, jak i rodzaju przebytego zawału mięśnia sercowego. Nie zaobserwowano również wpływu na stężenie neopteryny u pacjentów z CAD chorób współistniejących takich jak nadciśnienie tętnicze, otyłość, hipercholesterolemia czy hiperglikemia.

W świetle prezentowanych wyników, wykorzystanie neopteryny jako parametru diagnostycznego pozwalającego na ocenę aktualnego stanu pacjenta oraz mającego wpływ na dalsze rokowanie chorego, w tym ewentualną potrzebę hospitalizacji w ciągu najbliższych kilku miesięcy, nie jest jednoznaczne i wymaga kontynuowania badań.

6.2. Krytyka metody

Porównując parametry antropometryczne, jak wiek i struktura płci grupy badanej i kontrolnej nie stwierdzono występowania między nimi istotnych statystycznie różnic. Świadczy to o właściwym doborze osób wchodzących w skład poszczególnych grup co dało podstawę do przeprowadzenia zaplanowanych badań. Ze względów na możliwości organizacyjne Oddziału Kardiologicznego Szpitala w Puszczykowie liczebność grupy badanej ograniczono z planowanych 250 osób do 80 pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, spełniających ściśle kryteria włączenia do badania. Z jednej strony działanie takie pozwoliło na wyselekcjonowanie homogennej grupy badanej jednak jednocześnie ograniczyło uzyskanie znacznych pod względem liczebności podgrup, co mogło wpłynąć na otrzymane wyniki. Nie można wykluczyć, że zwiększenie liczebności podgrup pacjentów mogłoby rzutować na uzyskanie wyników istotnych statystycznie podczas analizy prowadzonej w realizacji poszczególnych celów badawczych. Również wydłużenie okresu obserwacji grupy badanej pod kątem konieczności hospitalizacji mogłoby zmodyfikować uzyskane wyniki. W badaniach, w których oceniano długookresowy wpływ różnych parametrów, np. farmakoterapii, czynników ryzyka wystąpienia różnych chorób, itp., na stężenie neopteryny obserwację pacjentów prowadzono najczęściej w terminie od 3 do 24 miesięcy (73), (76), (103), (119), (120) . Biorąc pod uwagę dane literaturowe dotyczące podobnych badań oraz założony czas realizacji projektu ustalono uśredniony 12 miesięczny okres obserwacji konieczności hospitalizacji u pacjentów. Jednak w innych badaniach np. w pracy Lanser i wsp., który oceniał, czy biomarkery stanu zapalnego i aktywacji immunologicznej są powiązane z nasileniem choroby i rokowaniem pacjentów z niewydolnością serca, obserwację prowadzono aż do 58 miesięcy (121). Możliwe, że wydłużenie okresu obserwacji chorych powyżej 12 miesięcy w celu oceny konieczności hospitalizacji w zależności od stężenia neopteryny, mogłoby wpłynąć na uzyskanie statystycznie istotnych wyników potwierdzających potencjał neopteryny jako markera diagnostycznego choroby sercowo-naczyniowej.

7. WNIOSKI

1. Pacjentów z chorobą niedokrwienną serca charakteryzują wyższe stężenia neopteryny niż osoby zdrowe jednak poziom neopteryny nie jest związany ze stopniem zaawansowania choroby niedokrwiennej serca.
2. Występowanie chorób takich jak nadciśnienie, otyłość, hiperglikemia czy hipercholesterolemia nie determinuje stężenia neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.
3. Wyższe stężenie neopteryny towarzyszy wyższej wartości BMI w populacji badanej, jednak nie wykazuje powiązania z ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej
4. Stężenie neopteryny w chorobie niedokrwiennej serca nie jest czynnikiem prognostycznym konieczności hospitalizacji pacjentów.

8. STRESZCZENIE

Historia badań nad pterydynami sięga końca XIX w., jednak neopterynę, substancję produkowaną przez monocyty, makrofagi oraz komórki dendrytyczne pod wpływem pobudzenia przez interferon γ wyizolowano z ludzkiego moczu dopiero w 1967 roku. Neopteryna i jej pochodne powstają z trifosforanu guanozyny w reakcji katalizowanej przez GTP-cyklohydrolazę I, enzym którego aktywność jest silnie pobudzana przez interferon γ .

U zdrowych osób należących do grupy wiekowej 18-75 lat stężenie neopteryny nie wykazuje istotnych statystycznie różnic względem płci, czy wieku, jednak u osób młodszych, poniżej 18 lat, jak i u starszych powyżej 75 lat stężenie neopteryny jest często wyższe. Znacznie podwyższone stężenie neopteryny obserwowano natomiast w surowicy, w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w moczu osób chorujących na infekcje wirusowe, zakażenia bakteryjne i pasożytnicze, choroby nowotworowe, powikłania po przeszczepach allogenicznym lub choroby autoimmunologiczne.

Neopteryna jest jedną z wielu substancji produkowanych i wydzielanych przez zaktywowane monocyty i makrofagi. W chorobach, w których dochodzi do rozwoju stanu zapalnego, stężenie neopteryny zwiększa się kilkukrotnie. Podwyższone stężenie neopteryny obserwuje się między innymi u pacjentów z chorobami układu sercowo-naczyniowego, np. niestabilną chorobą wieńcową, nadciśnieniem tętniczym oraz niewydolnością i zawałem mięśnia sercowego. Wyższe stężenie neopteryny stwierdza się także u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, co związane jest z procesem zapalnym towarzyszącym rozwojowi zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych oraz u osób z nadwagą i otyłością.

W świetle dostępnych danych literaturowych, neopteryna mogłaby stanowić potencjalny marker diagnostyczny, pomocny w ocenie stanu zdrowia pacjenta z chorobą niedokrwienną serca, w monitorowaniu postępu procesów chorobowych jak również w dalszym rokowaniu.

Cel:

Celem niniejszej pracy była ocena stężenia neopteryny we krwi pacjentów z chorobą niedokrwienną serca w zależności od jej stopnia zaawansowania oraz ocena wpływu chorób współistniejących, w tym nadciśnienia, nadmiernej masy ciała, hiperglikemii i hipercholesterolemii na stężenie we krwi neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną

serca. Podjęto również próbę zbadania zależności pomiędzy stężeniem neopteryny we krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej oraz dokonano oceny zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a koniecznością hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych w czasie rocznej obserwacji.

Materiał:

W badaniu wzięło udział 80 pacjentów Oddziału Kardiologicznego Szpitala im. Prof. S.T. Dąbrowskiego w Puszczykowie z rozpoznaną chorobą niedokrwienną serca, spełniających kryteria włączenia i wyłączenia do badania. Grupę kontrolną stanowiło 39 zdrowych ochotników z prawidłową masą ciała. Grupa badana i grupa kontrolna były porównywalne w zakresie wieku i płci.

Metody:

Osoby zakwalifikowane do grupy badanej lub kontrolnej poddano badaniu podmiotowemu, przedmiotowemu oraz badaniom dodatkowym, wykonano również pomiary antropometryczne (pomiar wzrostu i masy ciała) i obliczono wartość wskaźnika masy ciała (BMI), a także zmierzono średnie ciśnienie tętnicze krwi, skurczowe (SBP) i rozkurczowe (DBP). Wykonano także oznaczenia parametrów biochemicznych, takich jak: stężenie neopteryny, stężenie glukozy na czczo oraz profil lipidowy, w tym stężenie w osoczu: cholesterolu całkowitego (TChol), lipoprotein o małej gęstości (LDL), lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) oraz trójglicerydów (TG). Pacjentów objęto 12-miesięczną obserwacją, zwracając uwagę na wystąpienie konieczności hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych.

Wyniki:

Stężenie neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca było ponad dwukrotnie wyższe niż u osób zdrowych ($2,9 \pm 1$ ng/ml vs $1,4 \pm 0,9$ ng/ml; $p < 0,000001$). Nie wykazano istotnej statystycznie zależności między stężeniem neopteryny a stopniem zaawansowania choroby niedokrwiennej serca. Niezależnie od liczby zajętych naczyń wieńcowych, czy rodzaju przebytego zawału mięśnia sercowego, z uniesieniem odcinka ST (STEMI) lub bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI), stężenie neopteryny było podobne. Nie stwierdzono także wpływu chorób współistniejących, takich jak: nadciśnienie tętnicze, nadwaga i otyłość, hiperglikemia i hipercholesterolemia na stężenie neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.

Zaobserwowano jednak występowanie umiarkowanie pozytywnej korelacji pomiędzy stężeniem neopteryny i wartością wskaźnika BMI ($r = 0,44$, $p = 0,00001$) w badanej populacji. Podobnej zależności nie wykazano pomiędzy stężeniem neopteryny a innymi parametrami antropometrycznymi, takimi jak wartość skurczowego (SBP) i rozkurczowego ciśnienia tętniczego (DBP), a także z parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej. Nie stwierdzono także istotnej statystycznie różnicy w stężeniu neopteryny między pacjentami z chorobą niedokrwienną serca, którzy w ciągu 12-miesięcznej obserwacji wymagali hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych a pacjentami, którzy hospitalizacji nie wymagali.

Wnioski:

1. Pacjentów z chorobą niedokrwienną serca charakteryzują wyższe stężenia neopteryny niż osoby zdrowe jednak poziom neopteryny nie jest związany ze stopniem zaawansowania choroby niedokrwiennej serca.
2. Występowanie chorób takich jak nadciśnienie, otyłość, hiperglikemia czy hipercholesterolemia nie determinuje stężenia neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.
3. Wyższe stężenie neopteryny towarzyszy wyższej wartości BMI w populacji badanej, jednak nie wykazuje powiązania z ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej.
4. Stężenie neopteryny w chorobie niedokrwiennej serca nie jest czynnikiem prognostycznym konieczności hospitalizacji pacjentów.

9. SUMMARY

The history of research on pteridines dates back to the end of the 19th century, but neopterin, a substance produced by monocytes, macrophages and dendritic cells stimulated by interferon γ , was not isolated from human urine until 1967. Neopterin and its derivatives are formed from guanosine triphosphate in a reaction catalyzed by GTP-cyclohydrolase I, an enzyme whose activity is strongly stimulated by interferon γ .

In healthy people belonging to the age group of 18-75 years, the concentration of neopterin does not show statistically significant differences in terms of sex or age, but in younger people, under 18 years of age, and in older people over 75 years of age, the concentration of neopterin is often higher. Significantly elevated levels of neopterin have been observed in the serum, cerebrospinal fluid and urine of people suffering from viral infections, bacterial and parasitic infections, neoplastic diseases, complications after allogeneic transplants or autoimmune diseases.

Neopterin is one of the many substances produced and secreted by activated monocytes and macrophages. In inflammatory diseases, the concentration of neopterin increases several times. Increased levels of neopterin are observed, inter alia, in patients with cardiovascular diseases, e.g. unstable coronary disease, arterial hypertension, and heart failure and myocardial infarction. Higher levels of neopterin are also found in patients with ischemic heart disease, which is associated with the inflammatory process accompanying the development of atherosclerotic changes in the coronary vessels, and in overweight and obese people.

In the light of the available literature data, neopterin could be a potential diagnostic marker, helpful in assessing the health condition of a patient with ischemic heart disease, in monitoring the progress of disease processes as well as in further prognosis.

Material:

The study involved 80 patients of the Cardiology Department of the Hospital. Prof. S.T. Dąbrowski in Puszczkovo with diagnosed ischemic heart disease, meeting the inclusion and exclusion criteria for the study. The control group consisted of 39 healthy volunteers with normal body weight. The test group and the control group were comparable in terms of age and gender.

Methods:

People qualified for the study or control group were subjected to a medical history, physical examination and additional tests, anthropometric measurements (height and weight measurement) were also made and the value of the body mass index (BMI) was calculated, and mean systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured. The following biochemical parameters were also determined, such as: neopterin concentration, fasting glucose concentration and lipid profile, including plasma concentration of: total cholesterol (TChol), low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL) and triglycerides (TG). The patients were followed up for 12 months, paying attention to the necessity of hospitalization for cardiovascular reasons.

Results:

The concentration of neopterin in patients with ischemic heart disease was more than two times higher than in healthy subjects (2.9 ± 1 ng / ml vs 1.4 ± 0.9 ng / ml; $p < 0.000001$). There was no statistically significant correlation between the concentration of neopterin and the stage of ischemic heart disease. Regardless of the number of coronary vessels involved, or the type of myocardial infarction, with ST segment elevation (STEMI) or without ST segment elevation (NSTEMI), neopterin levels were similar. There was also no influence of comorbidities such as: hypertension, overweight and obesity, hyperglycemia and hypercholesterolaemia on neopterin levels in patients with ischemic heart disease. However, a moderately positive correlation was observed between the concentration of neopterin and the value of BMI ($r = 0.44$, $p = 0.00001$) in the studied population. A similar relationship was not demonstrated between the concentration of neopterin and other anthropometric parameters, such as systolic (SBP) and diastolic blood pressure (DBP), as well as with the parameters of lipid and carbohydrate metabolism.

There was also no statistically significant difference in neopterin concentration between patients with ischemic heart disease who required hospitalization for cardiovascular reasons during the 12-month follow-up, and patients who did not require hospitalization.

Conclusions:

1. Patients with ischemic heart disease are characterized by a higher concentration of neopterin than healthy people, however, the level of neopterin is not related to the stage of ischemic heart disease.

2. The presence of diseases such as hypertension, obesity, hyperglycemia or hypercholesterolaemia does not determine the concentration of neopterin in patients with ischemic heart disease.
3. A higher concentration of neopterin is associated with a higher BMI value in the study population, however, it is not related to blood pressure and lipid and carbohydrate metabolism parameters.
4. The concentration of neopterin in ischemic heart disease is not a prognostic factor influencing the need for hospitalization of patients.

10.SPIS RYCIN, TABEL I WYKRESÓW

Ryc. 1. Wzór strukturalny neopteryny.

Ryc. 2. Metabolizm pteryn. Biosynteza neopteryny i tetrahydrobiopteryny.

Tabela 1 – Odsetek osób w wieku powyżej 15 lat według wskaźnika masy ciała (BMI) wg GUS.

Tabela 2 – Dane antropometryczne.

Tabela 3 – Parametry antropometryczne i wartości ciśnienia tętniczego w populacji badanej.

Tabela 4 – Pozostałe parametry biochemiczne populacji badanej.

Tabela 5 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy grupami pacjentów z chorobą jednego, dwóch lub trzech naczyń.

Tabela 6 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z zawałem serca STEMI i NSTEMI.

Tabela 7 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z nadciśnieniem i bez nadciśnienia tętniczego.

Tabela 8 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z nadmierną masą ciała i bez nadmiernej masy ciała.

Tabela 9 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z hiperglikemią i bez hiperglikemii.

Tabela 10 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów z hipercholesterolemią i bez hipercholesterolemii.

Tabela 11 – Korelacje pomiędzy stężeniem we krwi neopteryny a wybranymi parametrami antropometrycznymi, ciśnieniem tętniczym oraz parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej w populacji badanej.

Tabela 12 – Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy podgrupami pacjentów hospitalizowanych i niehospitalizowanych z przyczyn sercowo-naczyniowych.

Wykres 1. Porównanie liczby kobiet i mężczyzn pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

Wykres 2. Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

Wykres 3. Zależność liniowa pomiędzy stężeniem neopteryny a BMI w całej populacji badanej

11.PIŚMIENICTWO

1. Hopkins FG. The Pigments of the Pieridae: A Contribution to the Study of Excretory Substances Which Function in Ornament. Philos Trans R Soc London B . 1895;186:661–82.
2. Hopkins FG. Note on a yellow pigment in butterflies. Nature. 1889;40:335.
3. Wieland H SC. Über den gelben Flugelfarbstoff des Zitronenfalters (*Gonepteryx rhamni*). Ber Dtsch Chem Ges. 1925;58:2178–2183.
4. R P. U"ber die Flugelpigmente der Schmetterlinge. VII. Synthese des Leukopterins und Natur des Guanopterins. Justus Liebigs Ann Chem. 1940;544:182–190.
5. Hamerlinck FFV. Neopterin: A review. Vol. 8, Experimental Dermatology. 1999. p. 167–76.
6. Rembold H BL. Struktur und Synthese des Neopterins. Chem Ber. 1963;96:1406–1410.
7. Sakurai A, Goto M. Neopterin: isolation from human urine. J Biochem. 1967 Jan;61(1):142–5.
8. Wachter H, Hausen A, Grassmayr K. Increased urinary excretion of neopterin in patients with malignant tumors and with virus diseases. Hoppe Seylers Z Physiol Chem. 1979 Dec;360(12):1957–60.
9. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans. Vol. 52, Inflammation Research. 2003. p. 313–21.
10. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1) upon cytokine treatment. Cancer Res. 1990 May;50(10):2863–7.
11. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. Adv Clin Chem. 1989;27:81–141.
12. Ghisoni K, de Paula Martins R, Barbeito L, Latini A. Neopterin as a potential cytoprotective brain molecule. J Psychiatr Res . 2015;71:134–9.
13. Nathan CF. Peroxide and pteridine: a hypothesis on the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon gamma. Interferon . 1986;7:125—143.
14. Weiss G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Werner-Felmayer G, et al.

- Neopterin modulates toxicity mediated by reactive oxygen and chloride species. *FEBS Lett.* 1993 Apr;321(1):89–92.
15. Hoffmann G, Schobersberger W, Frede S, Pelzer L, Fandrey J, Wachter H, et al. Neopterin activates transcription factor nuclear factor-kappa B in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.* 1996 Aug;391(1–2):181–4.
 16. Giese SP, Reibnegger G, Wachter H, Esterbauer H. 7,8 Dihydroneopterin inhibits low density lipoprotein oxidation in vitro. Evidence that this macrophage secreted pteridine is an anti-oxidant. *Free Radic Res.* 1995 Aug;23(2):123–36.
 17. Kojima S, Icho T, Mori H, Arai T. Enhancing potency of neopterin toward B-16 melanoma cell damage induced by UV-A irradiation and its possible application for skin tumor treatment. *Anticancer Res.* 1995;15(5B):1975–80.
 18. 2 Neopterin. In: *Neopterin: Biochemistry - Methods - Clinical Application* . De Gruyter; 2011. p. 7–12.
 19. Aulitzky WE, Tilg H, Niederwieser D, Riccabona G, Obendorf L, Margreiter R, et al. Comparison of serum neopterin levels and urinary neopterin excretion in renal allograft recipients. *Clin Nephrol.* 1988 May;29(5):248–52.
 20. Howells DW, Smith I, Hyland K. Estimation of tetrahydrobiopterin and other pterins in cerebrospinal fluid using reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical and fluorescence detection. *J Chromatogr.* 1986 Sep;381(2):285–94.
 21. Rokos H, Bienhaus G, Gadow A, Rokos K. Determination of neopterin and reduced neopterins by radioimmunoassay. In: Wachter H, Curtius HC, Pfeleiderer W, editors. Vol 4 February 23–March 2, 1985, St Christoph, Arlberg, Austria . De Gruyter; 2019. p. 73–84.
 22. Niederwieser A, Staudenmann W, Wetzel E. High-performance liquid chromatography with column switching for the analysis of biogenic amine metabolites and pterins. *J Chromatogr.* 1984 May;290:237–46.
 23. Werner ER, Bichler A, Daxenbichler G, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, et al. Determination of neopterin in serum and urine. *Clin Chem.* 1987 Jan;33(1):62–6.
 24. Maloney EM, Brown LM, Kurman CC, Fuchs D, Nelson DL, Wachter H, et al. Temporal variability in immunological parameters: peripheral blood mononuclear cell subsets, serum immunoglobulins, and soluble markers of immune system activation. *J Clin Lab*

Anal. 1997;11(4):190–5.

25. Fuchs D, Schröcksnadel H, Baier-Bitterlich G, Dapunt O, Wachter H. Activated cellular immunity and decreased serum tryptophan in healthy pregnancy. *Adv Exp Med Biol.* 1996;398:149–53.
26. Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A, Murr C, Hunsmann G, Wachter H. Neopterin--its clinical use in urinalysis. *Kidney Int Suppl.* 1994 Nov;47:S8-11.
27. Hausen A, Fuchs D, Reibnegger G, Werner ER, Wachter H. Neopterin in Clinical Use. *Pteridines .* 1989;1(1):3–16.
28. Michalak Ł, Bulska M, Strząbała K, Szcześniak P. Neopterin as a marker of cellular immunological response. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2017 Aug;71(1):727–36.
29. Daito K, Suou T, Kawasaki H. Clinical significance of serum and urinary neopterin levels in patients with various liver diseases. *Am J Gastroenterol.* 1992 Apr;87(4):471–6.
30. Reibnegger G, Auhuber I, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C, et al. Urinary neopterin levels in acute viral hepatitis. *Hepatology.* 1988;8(4):771–4.
31. Antonielli S, Russo M, Bizzarro A, Auletta M, De Bellis A, Magri P, et al. Serum neopterin levels in liver cirrhosis. *J Biol Regul Homeost Agents.* 1989;3(4):159–62.
32. Prior C, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Werner ER, et al. Potential of urinary neopterin excretion in differentiating chronic non-A, non-B hepatitis from fatty liver. *Lancet (London, England).* 1987 Nov;2(8570):1235–7.
33. Fuchs D, Hausen A, Hengster P, Reibnegger G, Schulz T, Werner ER, et al. In vivo activation of CD4+ cells in AIDS. *Science.* 1987 Jan;235(4786):356.
34. Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D. Role of neopterin and 7,8-dihydroneopterin in human immunodeficiency virus infection: marker for disease progression and pathogenic link. *J Acquir immune Defic Syndr Hum retrovirology Off Publ Int Retrovirology Assoc.* 1996 Oct;13(2):184–93.
35. Reibnegger G, Boonpucknavig V, Fuchs D, Hausen A, Schmutzhard E, Wachter H. Urinary neopterin is elevated in patients with malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78(4):545–6.
36. Reibnegger G, Fuchs D, Hausen A, Schmutzhard E, Werner ER, Wachter H. The dependence of cell-mediated immune activation in malaria on age and endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987;81(5):729–33.
37. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, Kosanowski H, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin as an

- index of immune response in patients with tuberculosis. *Lung*. 1984;162(6):337–46.
38. Schmutzhard E, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Is neopterin--a marker of cell mediated immune response--helpful in classifying leprosy? *East Afr Med J*. 1986 Sep;63(9):577–80.
 39. Strohmaier W, Redl H, Schlag G, Inthorn D. D-erythro-neopterin plasma levels in intensive care patients with and without septic complications. *Crit Care Med*. 1987 Aug;15(8):757–60.
 40. Margreiter R, Fuchs D, Hausen A, Huber C, Reibnegger G, Spielberger M, et al. Neopterin as a new biochemical marker for diagnosis of allograft rejection. Experience based upon evaluation of 100 consecutive cases. *Transplantation*. 1983 Dec;36(6):650–3.
 41. Schäfer AJ, Daniel V, Dreikorn K, Opelz G. Assessment of plasma neopterin in clinical kidney transplantation. *Transplantation*. 1986 Apr;41(4):454–9.
 42. Mueller AR, Platz KP, Wiehe I, Monticelli F, Lierath J, Keitel M, et al. Cytokine pattern in patients with infections after liver transplantation. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 1996;9 Suppl 1:S126-31.
 43. Platz KP, Mueller AR, Rossaint R, Steinmüller T, Lemmens HP, Lobeck H, et al. Cytokine pattern during rejection and infection after liver transplantation--improvements in postoperative monitoring? *Transplantation*. 1996 Nov;62(10):1441–50.
 44. Niederwieser D, Huber C, Gratwohl A, Bannert P, Fuchs D, Hausen A, et al. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplant recipients. *Transplantation*. 1984 Nov;38(5):497–500.
 45. Woloszczuk W, Troppmair J, Leiter E, Flener R, Schwarz M, Kovarik J, et al. Relationship of interferon-gamma and neopterin levels during stimulation with alloantigens in vivo and in vitro. *Transplantation*. 1986 Jun;41(6):716–9.
 46. Woloszczuk W, Schwarz M, Havel M, Laczkovics A, Müller MM. Neopterin and interferon gamma serum levels in patients with heart and kidney transplants. *J Clin Chem Clin Biochem Zeitschrift fur Klin Chemie und Klin Biochem*. 1986 Oct;24(10):729–34.
 47. Volin L, Jansson SE, Turpeinen U, Pomoell UM, Ruutu T. Urinary neopterin in bone marrow recipients. *Transplant Proc*. 1987 Feb;19(1 Pt 3):2651–4.
 48. Reibnegger G, Egg D, Fuchs D, Günther R, Hausen A, Werner ER, et al. Urinary neopterin reflects clinical activity in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1986

Sep;29(9):1063–70.

49. Niederwieser D, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Wachter H, et al. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical assessment of ulcerative colitis. *Immunobiology*. 1985 Nov;170(4):320–6.
50. Melicharova K, Kusalova M, Smahelova A, Hyspler R, Solichova D, Melichar B. Urinary Neopterin in Patients with Diabetes Mellitus and Foot Ulcers. *Pteridines*. 2007;18(1):128–31.
51. Lacronique J, Auzéby A, Valeyre D, Traore BM, Barbosa ML, Soler P, et al. Urinary neopterin in pulmonary sarcoidosis. Relationship to clinical and biologic assessment of the disease. *Am Rev Respir Dis*. 1989 Jun;139(6):1474–8.
52. Blaschke E, Eklund A. Sarcoidosis and neopterin. Vol. 141, *The American review of respiratory disease*. United States; 1990. p. 1379.
53. Fuchs D, Granditsch G, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Urinary neopterin excretion in coeliac disease. Vol. 2, *Lancet*. England; 1983. p. 463–4.
54. Fredrikson S, Link H, Eneroth P. CSF neopterin as marker of disease activity in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1987 May;75(5):352–5.
55. Piccinini L, Zironi S, Federico M, Pini LA, Luppi G. Urinary neopterin in malignant lymphoma. *Int J Biol Markers*. 1991;6(4):231–6.
56. Melichar B, Urbánek L, Kujovska Krcmova L, Kalabova H, Svobodova I, Dragounova E, et al. Urinary Neopterin in Patients with Ovarian Cancer. *Budova Sokolska Czech Republic Pteridines*. 2006;23:145–53.
57. Volgger BM, Windbichler GH, Zeimet AG, Graf AH, Bogner G, Angleitner-Boubenizek L, et al. Long-term significance of urinary neopterin in ovarian cancer: a study by the Austrian Association for Gynecologic Oncology (AGO). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016 Sep;27(9):1740–6.
58. Pichler R, Fritz J, Heidegger I, Steiner E, Culig Z, Klocker H, et al. Predictive and prognostic role of serum neopterin and tryptophan breakdown in prostate cancer. *Cancer Sci*. 2017 Apr;108(4):663–70.
59. Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Eriksson A, Nilsson B, Nordström L. Serum levels of neopterin as related to the prognosis of human prostatic carcinoma. *Eur Urol*. 1986;12(6):422–5.
60. Prommegger R, Widner B, Murr C, Unger A, Fuchs D, Salzer GM. Neopterin: a prognostic

- variable in operations for lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 2000 Dec;70(6):1861–4.
61. Melichar B, Spisarová M, Bartoušková M, Krčmová LK, Javorská L, Študentová H. Neopterin as a biomarker of immune response in cancer patients. *Ann Transl Med* Vol 5, No 13 (July 2017) *Ann Transl Med* (Focus “Clinical Biochem Appl to Tumor Biomarkers”) . 2017;
 62. Levine JJ, Ilowite NT, Pettei MJ, Trachtman H. Increased urinary NO₃(-) + NO₂- and neopterin excretion in children breast fed by mothers with silicone breast implants: evidence for macrophage activation. *J Rheumatol*. 1996 Jun;23(6):1083–7.
 63. Hagberg L, Dotevall L, Norkrans G, Larsson M, Wachter H, Fuchs D. Cerebrospinal fluid neopterin concentrations in central nervous system infection. *J Infect Dis*. 1993 Nov;168(5):1285–8.
 64. Molero-Luis M, Casas-Alba D, Orellana G, Ormazabal A, Sierra C, Oliva C, et al. Cerebrospinal fluid neopterin as a biomarker of neuroinflammatory diseases. *Sci Rep*. 2020;10(1):18291.
 65. Cojocaru IM, Cojocaru M, Burcin C, Atanasiu A. Detection of neopterin as parameter of potential monocyte activation in patients with acute ischemic stroke. *Rom J Intern Med*. 2007;45(4):365–9.
 66. Garcia-Moll X, Coccolo F, Cole D, Kaski JC. Serum neopterin and complex stenosis morphology in patients with unstable angina. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Mar;35(4):956–62.
 67. Firoz CK, Jabir NR, Kamal MA, Alama MN, Damanhour GA, Khan W, et al. Neopterin: An immune biomarker of coronary artery disease and its association with other CAD markers. *IUBMB Life*. 2015 Jun;67(6):453–9.
 68. Iizuka T, Minatogawa Y, Suzuki H, Itoh M, Nakamine S, Hatanaka Y, et al. Urinary neopterin as a predictive marker of coronary artery abnormalities in Kawasaki syndrome. *Clin Chem*. 1993 Apr;39(4):600–4.
 69. Samsonov MY, Tilz GP, Pisklakov VP, Reibnegger G, Nasonov EL, Nasonova VA, et al. Serum-soluble receptors for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-2, and neopterin in acute rheumatic fever. *Clin Immunol Immunopathol*. 1995 Jan;74(1):31–4.
 70. Tatzber F, Rabl H, Koriska K, Erhart U, Puhl H, Waeg G, et al. Elevated serum neopterin levels in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1991 Aug;89(2–3):203–8.
 71. Adachi T, Naruko T, Itoh A, Komatsu R, Abe Y, Shirai N, et al. Neopterin is associated

- with plaque inflammation and destabilisation in human coronary atherosclerotic lesions. *Heart*. 2007 Dec;93(12):1537–41.
72. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosín-Sales J, Aldama G, Pizzi C, Quiles J, et al. Markers of inflammation and multiple complex stenoses (pancoronary plaque vulnerability) in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Heart*. 2004 Aug;90(8):847–52.
 73. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Quiles J, Roy D, Kaski JC. Elevated serum neopterin predicts future adverse cardiac events in patients with chronic stable angina pectoris. *Eur Heart J*. 2005 Mar;26(5):457–63.
 74. Yndestad A, Damås JK, Øie E, Ueland T, Gullestad L, Aukrust P. Role of inflammation in the progression of heart failure. *Curr Cardiol Rep*. 2007;9(3):236–41.
 75. Yamamoto E, Hirata Y, Tokitsu T, Kusaka H, Tabata N, Tsujita K, et al. The clinical significance of plasma neopterin in heart failure with preserved left ventricular ejection fraction. *ESC Hear Fail*. 2016 Mar 9;3(1):53–9.
 76. Wietlicka-Kokoszane I, Jablecka A, Smolarek I, Bogdanski P, Chmara E, Korzeniowska K, et al. Neopterin as a prognostic marker in patients with chronic heart failure. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2010 May;16(5):CR232-7.
 77. Wietlicka I, Korzeniowska K, Bogdański P, Kazmierczak M, Chmara E, Musialik K, et al. [The assessment of neopterin concentration in patients with heart failure]. *Pol Merkuriusz Lekarski*. 2010 Apr;28(166):256–9.
 78. Caruso R, De Chiara B, Campolo J, Verde A, Musca F, Belli O, et al. Neopterin levels are independently associated with cardiac remodeling in patients with chronic heart failure. *Clin Biochem*. 2013;46(1):94–8.
 79. Patimah I, Ellulu MS, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. State of the art paper Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*. 2017 [cited 2021 Apr 25];13:851–63. Available from: <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.58928>
 80. Lee H, Lee IS, Choue R. Obesity, inflammation and diet. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2013/09/30. 2013 Sep;16(3):143–52.
 81. Bozdemir AE, Barutcuoglu B, Dereli D, Kabaroglu C, Habib S, Bayindir O. C-reactive protein and neopterin levels in healthy non-obese adults. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44(3):317–21.
 82. Avci E, Karabulut A, Avci GA, Baba B, Bilgi C. Crucial markers showing the risk of coronary

- artery disease in obesity: ADMA and neopterin. *J Med Biochem*. 2020;39(4):452–9.
83. Ledochowski M, Murr C, Widner B, Fuchs D. Association between insulin resistance, body mass and neopterin concentrations. *Clin Chim Acta*. 1999 Apr;282(1–2):115–23.
 84. Gupta S, Fredericks S, Schwartzman RA, Holt DW, Kaski JC. Serum neopterin in acute coronary syndromes. *Lancet*. 1997;349(9060):1252–3.
 85. Garcia-Moll X, Cole D, Zouridakis E, Kaski JC. Increased serum neopterin: a marker of coronary artery disease activity in women. *Heart*. 2000;83:346–50.
 86. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J, Quiles J, Zouridakis E, Kaski JC. Prognostic value of neopterin levels in treated patients with hypertension and chest pain but without obstructive coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2004 Mar;93(5):627–9.
 87. Smukowska-Gorynia A, Marcinkowska J, Chmara E, Malaczynska-Rajpold K, Slawek-Szmyt S, Cieslewicz A, et al. Clinical Investigations Neopterin as a Biomarker in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension and Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension Neopterin as a Biomarker in Patients with PAH and CTEPH 223. *Respiration*. 2018;96:222–30.
 88. Zhang Y-Y, Tong X-Z, Xia W-H, Xie W-L, Yu B-B, Zhang B, et al. Increased plasma neopterin levels are associated with reduced endothelial function and arterial elasticity in hypertension. *J Hum Hypertens*. 2016;30:436–41.
 89. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2013 Jul;31(7):1281–357.
 90. Schroecksnadel K, Frick B, Winkler C, Fuchs D. Crucial role of interferon-gamma and stimulated macrophages in cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2006 Jul;4(3):205–13.
 91. Henning RJ. Obesity and obesity-induced inflammatory disease contribute to atherosclerosis: a review of the pathophysiology and treatment of obesity. *Am J Cardiovasc Dis*. 2021 Aug 15;11(4):504–29.
 92. Csige I, Ujvárosy D, Szabó Z, Lőrincz I, Paragh G, Harangi M, et al. The Impact of Obesity on the Cardiovascular System. *J Diabetes Res*. 2018 Nov 4;2018:3407306.
 93. McGill HCJ, McMahan CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, et al. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation*. 2002

Jun;105(23):2712–8.

94. La Sala L, Prattichizzo F, Ceriello A. The link between diabetes and atherosclerosis. *Eur J Prev Cardiol.* 2019 Dec;26(2_suppl):15–24.
95. Flynn MC, Kraakman MJ, Tikellis C, Lee MKS, Hanssen NMJ, Kammoun HL, et al. Transient Intermittent Hyperglycemia Accelerates Atherosclerosis by Promoting Myelopoiesis. *Circ Res.* 2020 Sep;127(7):877–92.
96. Avci E, Karabulut A, Alp AG, Baba B, Bilgi C. Crucial markers showing the risk of coronary artery disease in obesity: ADMA and neopterin. *J Med Biochem.* 2020 Oct;39(4):452–9.
97. Pacileo M, Cirillo P, De Rosa S, Ucci G, Petrillo G, Musto D'Amore S, et al. The role of neopterin in cardiovascular disease. *Monaldi Arch chest Dis = Arch Monaldi per le Mal del torace.* 2007 Jun;68(2):68–73.
98. Mjelva ØR, Svingen GFT, Pedersen EKR, Seifert R, Kvaløy JT, Midttun Ø, et al. Fibrinogen and Neopterin Is Associated with Future Myocardial Infarction and Total Mortality in Patients with Stable Coronary Artery Disease. *Thromb Haemost.* 2018 Apr;118(4):778–90.
99. De Rosa S, Cirillo P, Pacileo M, Petrillo G, D'Ascoli G-L, Maresca F, et al. Neopterin: from forgotten biomarker to leading actor in cardiovascular pathophysiology. *Curr Vasc Pharmacol.* 2011 Mar;9(2):188–99.
100. Auer J, Berent R, Labetanig E, Eber B. Serum neopterin and activity of coronary artery disease. *Heart Dis.* 2001;3(5):297–301.
101. Korzeniowska K, Cieślęwicz A, Kaźmierczak E, Chmara E, Jankowski J, Kowal J, et al. Is neopterin level different in patients with STEMI and NSTEMI ? *Farm Współczesna.* 2017;11–6.
102. Gurumurthy P, Borra SK, Yeruva RKR, Babu S, Thomas J, Cherian KM. Estimation of serum neopterin in patients with acute coronary syndrome. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2013 Aug;21(4):426–31.
103. Mangge H, Freytag F, Almer G, Weghuber D, Bauer-Denk C, Fuchs D. Serum neopterin is not increased in obese juveniles. *J Obes.* 2011;2011:946795.
104. Mangge H, Almer G, Truschnig-Wilders M, Schmidt A, Gasser R, Fuchs D. Inflammation, adiponectin, obesity and cardiovascular risk. *Curr Med Chem.* 2010;17(36):4511–20.
105. Wan R-H, Yuan Y, Hao W, Zheng L-Y, Lu J. Relationship Between Serum Neopterin Level and Peripheral Arterial Plaque in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Metab Syndr*

- Obes. 2021;14:2871–8.
106. Abdou AS, Magour GM, Mahmoud MM. Evaluation of some markers of subclinical atherosclerosis in Egyptian young adult males with abdominal obesity. *Br J Biomed Sci.* 2009;66(3):143–7.
 107. Gürcü S, Girgin G, Yorulmaz G, Kılıçarslan B, Efe B, Baydar T. Neopterin and biopterin levels and tryptophan degradation in patients with diabetes. *Sci Rep.* 2020 Oct;10(1):17025.
 108. Karaca A, Omma T, Dura Deveci C, Bakar F, Doğan K, Aral Y, et al. Neopterin and hsCRP are not correlated in gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol.* 2016 Dec;32(12):977–81.
 109. Elbarbary NS, Ismail EAR, El-Hilaly RA, Ahmed FS. Role of neopterin as a biochemical marker for peripheral neuropathy in pediatric patients with type 1 diabetes: Relation to nerve conduction studies. *Int Immunopharmacol.* 2018 Jun;59:68–75.
 110. Ünüvar S, Tanrıverdi Z, Aslanhan H. Potential Prognostic Role of Immune System Activation Marker Neopterin in Patients with Type 2 Diabetes. *J Med Biochem.* 2018 Dec;37(4):465–9.
 111. Ipekci SH, Kebapçılar AG, Yilmaz SA, İlhan TT, Pekin AT, Abusoglu S, et al. Serum levels of neopterin in gestational diabetes mellitus: the relationship with Apgar scores. *Arch Gynecol Obstet.* 2015 Jul;292(1):103–9.
 112. Nedeva I, Gateva A, Assyov Y, Karamfilova V, Velikova T, Kamenov Z. Neopterin in the Evolution from Obesity to Prediabetes and Newly Diagnosed Type 2 Diabetes. *Metab Syndr Relat Disord.* 2021 May;19(4):249–55.
 113. Lee J-E, Oh TJ, Moon JH, Park KS, Jang HC, Choi SH. Serum Neopterin Concentration and Impaired Glucose Metabolism: Relationship With β -Cell Function and Insulin Resistance. *Front Endocrinol.* 2019;10:43.
 114. Bertz L, Barani J, Gottsäter A, Nilsson PM, Mattiasson I, Lindblad B. Are there differences of inflammatory bio-markers between diabetic and non-diabetic patients with critical limb ischemia? *Int Angiol.* 2006 Dec;25(4):370–7.
 115. Ueland T, Vissers MN, Wiegman A, Rodenburg J, Hutten B, Gullestad L, et al. Increased inflammatory markers in children with familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 2006 Mar;36(3):147–52.
 116. Holven KB, Damås JK, Yndestad A, Waehre T, Ueland T, Halvorsen B, et al. Chemokines

- in children with heterozygous familial hypercholesterolemia: selective upregulation of RANTES. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jan;26(1):200–5.
117. van Haelst PL, van Doormaal JJ, May JF, Gans RO, Crijns HJ, Tervaert JW. Secondary prevention with fluvastatin decreases levels of adhesion molecules, neopterin and C-reactive protein. *Eur J Intern Med.* 2001 Dec;12(6):503–9.
118. Gottsäter A, Anwaar I, Lind P, Mattiasson I, Lindgärde F. Increasing plasma fibrinogen, but unchanged levels of intraplatelet cyclic nucleotides, plasma endothelin-1, factor VII, and neopterin during cholesterol lowering with fluvastatin. *Blood Coagul fibrinolysis an Int J Haemost Thromb.* 1999 Apr;10(3):133–40.
119. Kaski JC, Consuegra-Sanchez L, Fernandez-Berges DJ, Cruz-Fernandez JM, Garcia-Moll X, Marrugat J, et al. Elevated serum neopterin levels and adverse cardiac events at 6 months follow-up in Mediterranean patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Atherosclerosis.* 2008 Nov;201(1):176–83.
120. Durastanti V, Lugaresi A, Bramanti P, Amato M, Bellantonio P, De Luca G, et al. Neopterin production and tryptophan degradation during 24-months therapy with interferon beta-1a in multiple sclerosis patients. *J Transl Med.* 2011 Apr;9:42.
121. Lanser L, Pölzl G, Fuchs D, Weiss G, Kurz K. Neopterin is Associated with Disease Severity and Outcome in Patients with Non-Ischaemic Heart Failure. *J Clin Med.* 2019 Dec;8(12).
122. https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1
123. <https://www.who.int/publications/i/item/jme-2020-edition>
124. <https://www.nfz.gov.pl/aktualnosci/aktualnosci-centrali/otylosc-choroba-wagiciezkiej,7355.html>
125. <https://narodowytestzdrowia.medonet.pl/>



UNIwersytet Medyczny Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 697/16

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania Komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008, Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004, Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004, Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. (Dz. U. 2010, Nr 222, poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010, Nr 107, poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194, poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011, Nr 82, poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 8, poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu

16 czerwca 2016 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu: **dr hab. Paweł Bogdański prof. UM**

Miejsce prowadzenia badań:

**Zakład Edukacji i Leczenia Otyłości
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Główny badacz: **dr hab. Paweł Bogdański prof. UM**

Członkowie zespołu
badawczego:

**dr Monika Szulińska
lek. med. Damian Skrypnik
lek. Piotr Dudlik
dr Joanna Perła- Kajan
prof. dr hab. Hieronim Jakubowski**

Temat badań:

**„Ocena stężenia neopteryny u pacjentów z chorobą niedokrwienną
serca”.**

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji


prof. dr hab. med. Paweł Chęciński