BIOMARKERY CHORÓB CYWILIZACYJNYCH

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wydział Nauk o Zdrowiu

Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii

Monografia naukowa

BIOMARKERY CHORÓB CYWILIZACYJNYCH

Praca zbiorowa pod redakcją

dr hab. Mateusza Maciejczyka

i

prof. dr hab. Małgorzaty Żendzian-Piotrowskiej

Białystok 2023

Recenzenci

Barbara Choromańska, Justyna Dorf, Katarzyna Guzińska-Ustymowicz, Lucyna Ostrowska, Elżbieta Supruniuk, Magdalena Świderska, Anna Zalewska, Ewa Żebrowska

Skład

Edyta Gołaś, Gabriela Niewierowska

ISBN – 978-83-67454-90-2

Wydanie I

Białystok 2023

FREE OF CHARGE international conference | **ACTIVE** and **PASSIVE** participation | **HYBRID** event online and stationary | **LANGUAGE** - English and Polish | **EDUCATIONAL CREDITS** | certified **WORKSHOPS**

ICYS

INTERNATIONAL CONFERENCE FOR YOUNG SCIENTISTS "BIOMARKERS OF CIVILIZATION DISEASES"

26TH APRIL, 2024

BRANICKI PALACE, BIALYSTOK

www.umb.edu.pl/en/biomarkery

UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Nauk o Zdrowiu
Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii

zaprasza na unikatowe
studia podyplomowe

EPIDEMIOLOGIA

Czas trwania studiów podyplomowych:
1 rok akademicki (2 semestry)
166 godzin dydaktycznych
forma zdalna (zajęcia jeden weekend w miesiącu)

UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Nauk o Zdrowiu
Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii

zaprasza na unikatowe
studia podyplomowe

PROMOCJA ZDROWIA
i
EDUKACJA ZDROWOTNA

Czas trwania studiów podyplomowych:
1 rok akademicki (2 semestry)
146 godzin dydaktycznych
forma zdalna (zajęcia jeden weekend w miesiącu)

UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Nauk o Zdrowiu
Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii

zaprasza na unikatowe
studia podyplomowe

ZDROWIE ŚRODOWISKOWE

Czas trwania studiów podyplomowych:
1 rok akademicki (2 semestry)
181 godzin dydaktycznych
forma zdalna (zajęcia jeden weekend w miesiącu)

Spis treści

Zespół metaboliczny. Śmiertelny kwartet chorób cywilizacyjnych _____ **9**

Diagnostyka cukrzycy z autoagresji o powolnym przebiegu – wyzwanie dla współczesnej diabetologii _____ **19**

Adiponektyna jako czynnik predykcyjny rozwoju cukrzycy typu 2 _____ **33**

Biomarkery w diagnostyce chorób układu krążenia _____ **46**

Potencjalne biomarkery atopowego zapalenia skóry (AZS) _____ **63**

Epidemiologia choroby Alzheimera. Czy końcowe produkty glikacji mogą być potencjalnym biomarkerem choroby? _____ **71**

Biochemiczne markery metabolizmu kości w ocenie gojenia się złamań ___ **82**

Metody oceny gojenia się złamań kości w badaniach klinicznych i doświadczalnych _____ **94**

ZESPÓŁ METABOLICZNY. ŚMIERTELNY KWARTET CHORÓB CYWILIZACYJNYCH

Metabolic syndrome. Deadly quartet of civilization diseases

Róża Maria Huszcza[1]*, Piotr Wojskowicz[2]

[1]Studenckie Koło Naukowe przy I Klinice Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[2]I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
rozahuszcza@gmail.com (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Zespół metaboliczny nie stanowi oddzielnej jednostki chorobowej. Światowa Organizacja Zdrowia definiuje go jako stan patologiczny, który charakteryzuje się otyłością brzuszną, insulinoopornością, nadciśnieniem oraz hiperlipidemią [1]. Na przestrzeni lat występujące wspólnie komponenty zespołu metabolicznego, przyjmowały różne nazwy. Zespół metaboliczny nazywano tytułowym zespołem Reavena, zespołem X, dysmetabolicznym zespołem X, zespołem plurimetabolicznym, śmiertelnym kwartetem czy zespołem insulinooporności. W ciągu ostatnich 2-3 dekad, znacznie wzrosło zainteresowanie oraz pojawiło się więcej badań tego stanu patologicznego, jednak należy zwrócić uwagę, że zespoły tożsame z zespołem metabolicznym, zostały opisane w literaturze medycznej już sto lat temu [2]. Termin „zespół metaboliczny" został użyty przez Hallera i Singera, w niemieckojęzycznych publikacjach, które dotyczyły obserwacji pacjentów z dyslipidemią. Haller definiował ten zespół jako współwystępowanie otyłości, cukrzycy, hiperlipoproteinemii, dny moczanowej oraz stłuszczenia wątroby. Według Singera zespół metaboliczny zawierał pierwsze cztery składowe Hallera, jednak dodał do nich także nadciśnienie tętnicze [2]. Philips z Uniwersytetu Columbia, zaobserwował współistnienie upośledzonego metabolizmu glukozy wraz z hiperinsulinemią, hiperlipidemią i nadciśnieniem, które prowadziły do zwiększonego ryzyka zawału mięśnia sercowego. Zauważył również, że częstość występowania zespołu metabolicznego rośnie wraz z wiekiem,

a w swoich badaniach skupił się na zmianach poziomu hormonów płciowych, jako istotnych dla choroby podstawowej [2]. Jednak dopiero w 1988 roku, Gerald Reaven, w swoim wykładzie dla Amerykańskiego Stowarzyszenia Diabetologicznego, przedstawił koncepcję związku między insulinoopornością, a innymi nieprawidłowościami metabolicznymi tj. podwyższonym ciśnienieniem krwi, nietolerancją glukozy, podwyższonym poziomem cholesterolu LDL i triglicerydów, obniżonym poziom cholesterolu HDL oraz hiperinsulinemią, które nazwał zespołem X [3]. Doktor Reaven zaproponował kluczową rolę insulinooporności w patofizjologii zespołu oraz w zwiększonym ryzyku cukrzycy i chorób sercowo-naczyniowych, co miało na celu wspierania nowych hipotez oraz badań w tej dziedzinie. Później zespół ten nazwano właśnie zespołem metabolicznym [2]. Jak przedstawiono wyżej, na przestrzeni lat opisy zespołów różniły się składowymi czy kryteriami, jednak wszystkie wskazywały na podobny fenotyp dysmetaboliczny [2]. Nazwa „zespół metaboliczny", jego definicja oraz kryteria diagnostyczne, zostały pierwszy raz wprowadzone przez Światową Organizację Zdrowia w 1999 roku. Kryteria diagnostyczne zdefiniowano wtedy jako upośledzona tolerancja glukozy lub cukrzyca i/lub insulinooporność, przy jednoczesnym występowaniu dwóch lub więcej następujących kryteriów: podwyższone ciśnienie krwi, podwyższone stężenie triacylogliceroli w osoczu, i/lub niskie poziomy cholesterolu HDL-C, otyłość typu centralnego określona przez stosunek talii do bioder (WHR) lub wskaźnik masy ciała (BMI), mikrolbuminuria albo współczynnik albumina/kreatynina [1]. W 2009 roku, według wspólnego stanowiska International Diabetes Federation rozpoznanie zespołu metabolicznego stawia się, kiedy spełnione są trzy z pięciu kryteriów: zwiększony obwód talii (w populacji europejskiej rasy białej) ≥80 cm u kobiet i ≥94 cm u mężczyzn; stężenie triglicerydów na czczo >1,7 mmol/l (150 mg/dl) lub leczenie hipertriglicerydemii; stężenie HDL-C na czczo <1,3 mmol/l (50mg/l) u kobiet i <1,0 mmol/l (40mg/l) u mężczyzn; ciśnienie tętnicze skurczowe ≥130 mmHg lub rozkurczowe ≥85 mmHg albo leczenie wcześniej rozpoznanego nadciśnienia tętniczego; stężenie glukozy w osoczu na czczo ≥5,6 mmol/l (100 mg/dl) bądź farmakologiczne leczenie cukrzycy typu 2 [4]. Przyczyn zespołu metabolicznego upatruje się głównie

w spożywaniu wysokokalorycznych lub niskobłonnikowych produktów typu fast food oraz w niskiej aktywności fizycznej [5], [6] . Badano również predyspozycje genetyczne, jednak uznano je za czynnik drugorzędny [7]. W Polsce zespół metaboliczny dotyczy 20% populacji dorosłych, czyli aż 5,8 miliona osób oraz częściej występuje u kobiet. W Stanach Zjednoczonych jest to nawet 33% populacji, w Chinach 27%, a w Europie od 15% we Francji do 34% we Włoszech i Finlandii. Zespół metaboliczny jest związany ze zwiększonym ryzykiem cukrzycy, incydentów sercowo-naczyniowych oraz ze zwiększoną śmiertelnością, ponieważ aż 2,5-krotnie zwiększa ryzyko zawału mięśnia sercowego, 2-krotnie zwiększa ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz przyczynia się do 1,5- krotnie większej śmiertelności całkowitej [8]. Jak wynika z wyżej przedstawionych danych, zespół metaboliczny jest poważnym problemem, ponieważ dotyczy co piątego Polaka oraz wiąże się z wieloma niebezpiecznymi powikłaniami. Z tego powodu kluczową rolę w profilaktyce, diagnostyce oraz leczeniu odgrywają biomarkery. Przedstawione zostaną biomarkery, których użycie jest nieinwazyjnie dla pacjenta, nie wymaga dużych nakładów finansowych, a wartość diagnostyczna może okazać się kluczowa w wykrywaniu oraz prewencji zespołu metabolicznego.

ADIPONEKTYNA – BIOMARKER BIAŁKOWY

Adiponektyna to polipeptydowy hormon, który jest produkowany przez adipocyty dojrzałej tkanki tłuszczowej oraz kardiomiocyty. Poziom adiponektyny jest fizjologicznie wyższyu kobiet niż u mężczyzn. W osoczu występuje w różnych formach, głównie jako frakcje multimetrów tj. trimery o niskiej molekularnej masie (LMW), heksamery o średniej masie molekularnej (MMW) oraz multimery o wysokiej masie molekularnej (HMW). Hormon krąży obficie w ludzkim osoczu oraz stanowi 0,01% wszystkich białek osocza [9], [10]. Adiponektyna działa na tkanki poprzez specyficzne dla siebie receptory – AdipoR1 i AdipoR2, które mają różną lokalizację. AdipoR1 występuje głównie w mięśniach szkieletowych, a AdipoR2 znajduje się nie tylko w mięśniach szkieletowych, lecz również

w wątrobie [9, 10]. Jej funkcja fizjologiczna polega na regulacji metabolizmu glukozy i lipidów. Działając poprzez receptory błonowe, zwiększa wchłanianie glukozy do mięśni szkieletowych oraz zmniejsza glikogenezę i β-oksydację kwasów tłuszczowych w wątrobie [9]. Adiponektyna, poprzez różne mechanizmy, działa wazoprotekcyjnie. Wykazuje działanie przeciwmiażdżycowe, ponieważ działa supresyjnie na TNF-α, co powoduje zmniejszenie przylegania monocytów do komórek śródbłonka. Hamuje także proliferację komórek mięśni gładkich w naczyniach i tworzenie się komórek piankowatych, poprzez hamowanie utleniania cholesterolu LDL [9], [10]. Dodatkowo adiponektyna wykazuje zdolności do ograniczenia przerostu mięśnia sercowego. Działa ochronnie przed zjawiskiem reperfuzji niedokrwiennej, a także zmniejsza ryzyko przebudowy i dysfunkcji serca po zawale mięśnia sercowego, na eksperymentalnych modelach mysich [10]. María J. Iglesias i wsp. badając pacjentów poddawanych operacjom kardiochirurgicznym, odnotowali zmniejszenie stężenia adiponektyny w stanach oporności na insulinę tj. otyłość i cukrzyca typu 2 u osób z niedokrwienną chorobą serca. Ponadto zauważyli, że ekspresja mRNA adiponektyny w nasierdziowej tkance tłuszczowej była wyższa u kobiet niż u mężczyzn [11]. W badaniu przeprowadzonym na populacji dorosłych Japończyków, Ryo i wsp. wykazali, że poziomy adiponektyny były ujemnie skorelowane z obwodem talii, tłuszczem trzewnym, poziomami glukozy i insuliny na czczo oraz z ciśnieniem krwi, jednak dodatnia korelacja występowała w przypadku cholesterolu HDL. Stwierdzono również, że im więcej komponent zespołu metabolicznego występowało u badanych, tym niższy był u nich poziom adiponektyny [12]. Aktualnie dostępna literatura sugeruje jednak, że adiponektyna HMW, o wysokiej masie molekularnej, jest najbardziej aktywnym mulitmerem adiponektyny przez co może stać się najbardziej wiarygodnym markerem zespołu metabolicznego [9]. Niski poziom adiponektyny zauważono również u pacjentów z nadciśnieniem i przerostem lewej komory serca, uszkodzeniami dna oka, albuminurią oraz zwiększoną grubością błony środkowej w tętnicy szyjnej wewnętrznej. Inne badania wskazały, że pacjenci ze zwiększonym ryzykiem pojawienia się nadciśnienia w następnych 5 latach, mają niższy wyjściowy poziom adiponektyny.

Może być to pośrednim dowodem, wskazującym na rolę adiponektyny w patofizjologii nadciśnienia tętniczego pomimo, że mechanizmy działania hipotensyjnego tego hormonu nie zostały jeszcze w pełni poznane. Domniemywa się, że jest to związane z hamującym działaniem adiponektyny na współczulny układ nerwowy oraz stymulującym na uwalnianie tlenku azotu ze śródbłonka naczyń, który działa wazodylatacyjnie [9]. W badaniu przeprowadzonym w Polsce na grupie 145 pacjentów z nadciśnieniem oraz z współistniejącym zespołem metabolicznym lub bez niego, zauważono że poziom adiponektyny w grupie pacjentów z nadciśnieniem i zespołem metabolicznym był znacząco niższy. Średnie wartości wynosiły odpowiednio 4,2 µg/mL u pacjentów z zespołem metabolicznym oraz 6.7 µg/mL w grupie pacjentów bez niego. Jednak wartym uwagi pozostaje fakt, że poziom adiponektyny był obniżony u obu grup osób badanych. Wysunięto wniosek, że adiponektyna może być potencjalnym nieklasycznym markerem powikłań metabolicznych, nie tylko u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem i zespołem metabolicznym, ale również bez jego współwystępowania [9].

WSKAŹNIK TRIGLICERYDÓW DO CHOLESTEROLU O DUŻEJ GĘSTOŚCI (TG/HDL-C) – BIOMARKER LIPIDOWY

Wskaźnik triglicerydów do cholesterolu o dużej gęstości jest przydatnym zastępczym markerem insulinooporności i ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych. Zdumiewające jest również, że stosunek TG/HDL-C odzwierciedla zmiany miażdżycowe lipidów lepiej niż lipidogram analizowany oddzielnie, dlatego może okazać się skuteczny w testach przesiewowych dla zespołu metabolicznego [14]. W Polsce badano użyteczność tego biomarkeru na grupie 122 otyłych dzieci w średnim wieku 11,6± 3 lat oraz na ich 58 zdrowych rówieśnikach. Analizie poddano pomiary antropometryczne, ciśnienie krwi, profil lipidowy osocza oraz doustny test obciążenia glukozą. Na podstawie otrzymanych wyników, obliczono wskaźnik TG/HDL-C oraz zastępcze wskaźniki insulinooporności, tj. HOMA-IR (homeostatyczny model oceny insulinooporności) , FGIR

(stosunek glukozy do insuliny na czczo) , QUICKI (wskaźnik ilościowy wrażliwości na insulinę), OGIS (wskaźnik wrażliwości na insulinę po doustnym podaniu glukozy) oraz wskaźnik Matsudy. Zauważono również, że stosunek TG/HDL-C pozytywnie koreluje z masą ciała, obwodem talii, stosunkiem talii do bioder (WHR), profilem lipidowym, HOMA-IR, poziomem insuliny na czczo oraz pomiarami insuliny podczas doustnego testu obciążenia glukozą. Za to wskaźnik TG/HDL-C wykazuje ujemną korelację z FGIR, QUICKI, OGIS i wskaźnikiem Matsudy [14]. Otyłe dzieci, u których wskaźnik TG/HDL-C był ≥3 (47,5%), miały wyższe wartości WHR, HOMA-IR, a niższe FGIR, QUICKI, OGIS i wskaźnika Matsudy, w porównaniu z ich otyłymi rówieśnikami, u których wskaźnik TG/HDL-C był <3 [14]. Wyliczono również AUC (pole powierzchni pod krzywą) dla poszczególnych wskaźników insulinooporności, które spełniały także funkcję prognostyczną pojawienia się zespołu metabolicznego. AUC okazało się największe dla wskaźnika TG/HDL-C (p=0.000). Wzrost wskaźnika TG/HDL-C o 1 jednostkę, powodował wzrost prawdopodobieństwa pojawienia się zespołu metabolicznego, aż 2,09 razy [14]. U 84 otyłych dzieci powyżej 10 roku życia, analizowano kryteria Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej, dotyczące zespołu metabolicznego. U 17 dzieci, czyli u 20,2% grupy, został on zdiagnozowany. Mediana wartości wskaźnika TG/HDL-C wyniosła 5,33 u dzieci z zespołem metabolicznym. U dzieci otyłych, które nie spełniały kryteriów zespołu, wartość wskaźnika TG/HDL-C wyniosła 2,74 [14]. Porównując przydatność niektórych markerów insulinooporności w prognozowaniu wystąpienia zespołu metabolicznego, wskaźnik TG/HDL-C wydaje się być najlepszym i powinien znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej, aby móc oceniać ryzyko rozwinięcia się zespołu metabolicznego u dzieci. Pomiary triglicerydów i stężenia HDL-C są badaniami rutynowymi, ponadto są opłacalne, wykonywane ambulatoryjnie i mogą znacznie ułatwiać ocenę zmniejszonej wrażliwości na insulinę [14]. Badanie 122 otyłych dzieci potwierdziło, że wskaźnik TG/HDL-C może być używany jako test przesiewowy w kierunku zespołu metabolicznego u otyłych pacjentów pediatrycznych. Badaczki z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego sugerują jednak, że nadal istnieje potrzeba przeprowadzenia

większej ilości badań, na większej grupie pacjentów, aby potwierdzić przedstawione przez nie relacje i określić właściwe dla tego wskaźnika linie odcięcia [14].

KWAS MOCZOWY W ŚLINIE – BIOMARKER KWASOWY

Kwas moczowy jest końcowym produktem metabolizmu puli egzogennej i endogennej puryn. Pula egzogenna jest zależna od diety, a znaczący udział mają w niej białka zwierzęce. Endogenna produkcja kwasu moczowego zachodzi głównie w wątrobie, jelitach i innych tkankach tj. mięśnie, nerki czy śródbłonek naczyniowy [15]. Kwas moczowy przyczynia się do właściwości antyoksydacyjnych śliny i krwi. Jednak enzym odpowiadający za jego powstawanie generuje wolne rodniki, a kilka badań wykazało, że kwas moczowy może wykazywać działanie prozapalne i prooksydacyjne [15]. Zwiększony stres oksydacyjny polega na wzroście ładunku wolnych rodników, w tym reaktywnych form tlenu i azotu, które powstają w wyniku metabolizmu komórkowego. Wolne rodniki wykazują dużą aktywność chemiczną, która może prowadzić do uszkodzenia białek, błon komórkowych i DNA. Wzrost stresu oksydacyjnego jest uważany za efekt otyłości, jak i cukrzycy typu 2 [16]. Stwierdzomo, że kilka biomarkerów powiązanych z ryzykiem kardiometabolicznym tj. białko C-reaktywne, adiponektyna czy kwas moczowy, mogą być wykryte w ślinie. W szczególności interesująca jest liniowa zależność pomiędzy stężeniem kwasu moczowego w ślinie oraz osoczu, co sugeruje że ślina może być użytecznym zastępstwem dla wykonywania pomiarów stężenia kwasu moczowego we krwi [15,17]. Wzrost stężenia kwasu moczowego, oprócz dny moczanowej, zaobserwowano również w przypadku nadciśnienia, udaru, różnych chorobach nerek i układu krążenia oraz w zespole metabolicznym [18]. W celu sprawdzenia czy kwas moczowy może okazać się przydatnym biomarkerem do identyfikacji osób wysokiego ryzyka, monitorowania reakcji na zmianę stylu życia oraz czy podwyższony poziom występuje u dorosłych z zespołem metabolicznym, przeprowadzono badania na grupie 78 osób, z których u 35% (27 osób) zdiagnozowano zespół metaboliczny [15]. Badania wykazały, że poziom kwasu moczowego

w ślinie był istotnie podwyższony u osób z zespołem metabolicznym, niezależnie od szybkości wydzielania śliny. Nie zaobserwowano natomiast znacznych różnic pomiędzy poziomem kwasu moczowego w ślinie u kobiet i mężczyzn oraz osobami, które zgłosiły choroby przyzębia. Jednak związek pomiędzy stężeniem kwasu moczowego w ślinie, a zespołem metabolicznym był silniejszy u kobiet niż u mężczyzn. Zauważono istotną, pozytywną korelację pomiędzy kwasem moczowym w ślinie, a skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem krwi, obwodem talii, BMI, poziomem glukozy na czczo, triglicerydami oraz liczbą czynników ryzyka kardiometabolicznego. Zawartość kwasu moczowego w ślinie wykazał negatywną korelację z poziomem cholesterolu HDL [15]. W ostatnich latach poczyniono istotne postępy, w celu zbadania biomarkerów występujących w ślinie. Przedmiotem badań są metody wykorzystujące płyn z jamy ustnej do diagnostyki zaburzeń tj. zawał mięśnia sercowego, choroby przyzębia czy nowotwory. Zarówno zespół metaboliczny jak i cukrzyca typu 2 są związane z chorobami przyzębia, dlatego lekarze dentyści odgrywają ważną rolę w identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka, wykonując diagnostykę jamy ustnej osobom z istotnymi objawami [15]. Obecnie, laboratoria na całym świecie, wykorzystują ślinę głównie do oznaczania immunoglobuliny A, kortyzolu, testosteronu i leków. Kwas moczowy nie jest rutynowo oznaczany w ślinie, chociaż w wielu przeprowadzonych ostatnio badaniach wykazano potencjał zastąpienia jego oznaczania we krwi i moczu [16]. Nadal potrzeba badań do określenia czynników wpływających na poziomy kwasu moczowego w ślinie, jednak obecnie otrzymane wyniki sugerują, że kwas moczowy występujący w ślinie może być nieinwazyjnym biomarkerem, używanym do monitorowania ryzyka kardiometabolicznego szczególnie u kobiet [15].

PODSUMOWANIE

W latach 2003-2005 oraz 2013-2014 przeprowadzono w Polsce badania WOBASZ I i WOBASZ II, które miały na celu ocenę częstości występowania zespołu metabolicznego. Wyniki badania WOBASZ II wykazały, że częstość występowania zespołu metabolicznego wyniosła 32,8% u kobiet i 39%

u mężczyzn. U kobiet najczęstszą składową zespołu metabolicznego była otyłość brzuszna (64,7%), a u mężczyzn podwyższone ciśnienie krwi (62%) [19]. Porównując wyniki badań WOBASZ I i WOBASZ II, które dzieliła tylko dekada, można zauważyć znaczny wzrost zachorowań na zespół metaboliczny wśród polskich dorosłych w wieku od 20 do 74 lat. U kobiet zachorowalność w tej grupie wiekowej wzrosła o 3,3 punkty procentowe, u mężczyzn wzrost wyniósł aż 8,8 punktów procentowych [19]. Analiza poszczególnych składowych zespołu wykazała wzrost rozpowszechniania się praktycznie każdej z nich, oprócz podwyższonego ciśnienia krwi, gdzie zanotowano zmniejszoną częstość jego występowania [19]. Według danych zebranych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO), na świecie już ponad miliard osób jest otyłych – 650 milionów dorosłych, 340 milionów nastolatków i 39 milionów dzieci. Niestety otyłość wykazuje tendencję wzrostową, WHO szacuje że do 2025 roku około 167 milionów dorosłych i dzieci, będzie mniej zdrowych z powodu nadwagi i otyłości [20], co nie ominie również Polski. Biorąc pod uwagę zebrane dane, konieczne są działania zapobiegające potencjalnym powikłaniom zespołu metabolicznego tj. zwiększona sercowo-naczyniowa zachorowalność oraz śmiertelność [19]. Kluczową rolę mogą odegrać biomarkery, które znajdą zastosowanie w prewencji, diagnostyce oraz leczeniu osób z zespołem metabolicznym. Przedstawione zostały biomarkery tanie, efektywne, ale przede wszystkim nieinwazyjne dla pacjenta. Możliwość zastosowania biomarkerów jako testów przesiewowych dla dzieci, niesie ze sobą ogromny potencjał. Wykrycie zespołu metabolicznego we wczesnym wieku, umożliwi wdrożenie odpowiedniego leczenia i zapobiegnięcie jego groźnym powikłaniom. W najnowszych badaniach, przeprowadzonych przez Mengya Shi i in., zreplikowano i zidentyfikowano, aż 56 metabolitów związanych z zespołem metabolicznym. Szczególnie wyróżnił się spośród nich lizofosfolipid C18:2, który może stać się kluczową cząsteczką w leczeniu i zapobieganiu zespołowi metabolicznemu [21]. Identyfikacja tak wielu potencjalnych biomarkerów, niesie ze sobą nadzieję oraz ukazuje kierunek i potrzebę kolejnych badań, które pozwolą zrozumieć rolę kluczowych metabolitów w patofizjologii zespołu metabolicznego.

PIŚMIENNICTWO

1. Diemieszczyk, P. Głuszyńska, P. A. Wojciak, J. R. Ładny, and H. Razak Hady, “METABOLIC SYNDROME. ETIOLOGY AND PATHOGENESIS,” Wiadomości Lekarskie, vol. 74, no. 10, pp. 2510–2515, Oct. 2021, doi: 10.36740/WLek202110126.
2. S. L. Samson and A. J. Garber, “Metabolic Syndrome,” Endocrinol Metab Clin North Am, vol. 43, no. 1, pp. 1–23, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.ecl.2013.09.009.
3. G. M. Reaven, “Role of Insulin Resistance in Human Disease,” Diabetes, vol. 37, no. 12, pp. 1595–1607, Dec. 1988, doi: 10.2337/diab.37.12.1595.
4. Sieradzki J., Płaczkiewicz-Jankowska E.: Zespół metaboliczny. [w:] Interna Szczeklika 2022/23, A. Szczeklik and P. Gajewski. (red.). Medycyna Praktyczna, Kraków, 2022, 995.
5. R. Barrès and J. R. Zierath, “The role of diet and exercise in the transgenerational epigenetic landscape of T2DM,” Nat Rev Endocrinol, vol. 12, no. 8, pp. 441–451, Aug. 2016, doi: 10.1038/nrendo.2016.87.
6. S. R. Bird and J. A. Hawley, “Update on the effects of physical activity on insulin sensitivity in humans,” BMJ Open Sport Exerc Med, vol. 2, no. 1, p. e000143, Mar. 2017, doi: 10.1136/bmjsem-2016-000143.
7. E. Locke et al., “Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology,” Nature, vol. 518, no. 7538, pp. 197–206, Feb. 2015, doi: 10.1038/nature14177.
8. P. Kalinowski and M. Mianowana, “Zespół Metaboliczny cz. 2: Epidemiologia zespołu metabolicznego w Polsce i na świecie.,” Journal of Education, Health and Sport, vol. 6, no. 4, pp. 466–480, 2016, doi: 10.5281/zenodo.50681.
9. Brzeska, M. Sołtysiak, J. Ziemak, T. Miazgowski, and K. Widecka, “Plasma adiponectin in hypertensive patients with and without metabolic syndrome,” Arterial Hypertension, vol. 22, no. 1, pp. 29–36, Mar. 2018, doi: 10.5603/AH.a2017.0025.
10. M. L. Gunturiz Albarracín and A. Y. Forero Torres, “Adiponectin and Leptin Adipocytokines in Metabolic Syndrome: What Is Its Importance?,” Dubai Diabetes and Endocrinology Journal, vol. 26, no. 3, pp. 93–102, 2020, doi: 10.1159/000510521.
11. M. J. Iglesias et al., “Gender Differences in Adiponectin and Leptin Expression in Epicardial and Subcutaneous Adipose Tissue. Findings in Patients Undergoing Cardiac Surgery,” Revista Española de Cardiología (English Edition), vol. 59, no. 12, pp. 1252–1260, Jan. 2006, doi: 10.1016/S1885-5857(07)60081-4.
12. M. Ryo et al., “Adiponectin as a Biomarker of the Metabolic Syndrome,” Circulation Journal, vol. 68, no. 11, pp. 975–981, 2004, doi: 10.1253/circj.68.975.
13. M.-H. Gannagé-Yared, S. Khalife, M. Semaan, F. Fares, S. Jambart, and G. Halaby, “Serum adiponectin and leptin levels in relation to the metabolic syndrome, androgenic profile and somatotropic axis in healthy non-diabetic elderly men,” Eur J Endocrinol, vol. 155, no. 1, pp. 167–176, Jul. 2006, doi: 10.1530/eje.1.02175.
14. M. Krawczyk, M. Rumińska, E. Witkowska- Sędek, A. Majcher, and B. Pyrżak, “Usefulness of the Triglycerides to High-Density Lipoprotein Cholesterol ratio (TG/HDL-C) in prediction of metabolic syndrome in Polish obese children and adolescents,” Acta Biochim Pol, Nov. 2018, doi: 10.18388/abp.2018_2649.
15. M. Soukup et al., “Salivary uric acid as a noninvasive biomarker of metabolic syndrome,” Diabetol Metab Syndr, vol. 4, no. 1, p. 14, Dec. 2012, doi: 10.1186/1758-5996-4-14.
16. Jaiswal, S. Madaan, N. Acharya, S. Kumar, D. Talwar, and D. Dewani, “Salivary Uric Acid: A Noninvasive Wonder for Clinicians?,” Cureus, Nov. 2021, doi: 10.7759/cureus.19649.
17. Q. Wang, X. Wen, and J. Kong, “Recent Progress on Uric Acid Detection: A Review,” Crit Rev Anal Chem, vol. 50, no. 4, pp. 359–375, Jul. 2020, doi: 10.1080/10408347.2019.1637711.
18. Efstathiadou, D. Gill, F. McGrane, T. Quinn, and J. Dawson, “Genetically Determined Uric Acid and the Risk of Cardiovascular and Neurovascular Diseases: A Mendelian Randomization Study of Outcomes Investigated in Randomized Trials,” J Am Heart Assoc, vol. 8, no. 17, Sep. 2019, doi: 10.1161/JAHA.119.012738.
19. Rajca et al., “Increase in the prevalence of the metabolic syndrome in Poland. Comparison of the results of the WOBASZ (2003–2005) and WOBASZ II (2013–2014) studies,” Pol Arch Intern Med, Apr. 2021, doi: 10.20452/pamw.15975.
20. “World Obesity Day 2022 – Accelerating action to stop obesity.” https://www.who.int/news/item/04-03-2022-world-obesity-day-2022-accelerating-action-to-stop-obesity (accessed Aug. 11, 2023).
21. M. Shi et al., “Identification of candidate metabolite biomarkers for metabolic syndrome and its five components in population-based human cohorts,” Cardiovasc Diabetol, vol. 22, no. 1, p. 141, Jun. 2023, doi: 10.1186/s12933-023-01862-z.

DIAGNOSTYKA CUKRZYCY Z AUTOAGRESJI O POWOLNYM PRZEBIEGU – WYZWANIE DLA WSPÓŁCZESNEJ DIABETOLOGII

Diagnosis of latent autoimmune diabetes in adults – a challenge for modern diabetology

Patrycja Bartkiewicz[1*], Michał Filipski[2]

[1]SKN Diabetologii przy Klinice Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii w USK Borowska, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu;
[2]SKN Diabetologii przy Klinice Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii w USK Borowska, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu;
patrycja.bartkiewicz@student.umw.edu.pl (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Cukrzycę LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) definiuje się jako typ cukrzycy 1 o powolnym przebiegu. Podobnie jak klasyczna postać cukrzycy typu 1, LADA rozwija się na podłożu autoimmunologicznym i jest związana z destrukcją komórek β trzustki. Dotyka zazwyczaj osób dorosłych, przez co często błędnie rozpoznawana jest jako cukrzyca typu 2. Szacuje się, że 5-10% osób po 35. roku życia z diagnozą cukrzycy typu 2 choruje w rzeczywistości na LADA [1]. Ze względu na to, że cukrzyca typu LADA łączy zarówno cechy cukrzycy typu pierwszego jak i drugiego, prawidłowa diagnoza może sprawiać trudności. Do tej pory nie określono jednoznacznych kryteriów rozpoznania LADA, wiele towarzystw naukowych na całym świecie podejmuje jednak próby ustalenia precyzyjnych wytycznych umożliwiających diagnozę. W 2005 opublikowano kryteria rozpoznania LADA według IDS (The Immunology of Diabetes Socjety) [2]:

1. początek choroby w wieku 30 lat lub później;
2. obecność przeciwciał przeciwwyspowych w surowicy;

3. insulinoniezależność przez przynajmniej 6 miesięcy po rozpoznaniu.

Wyżej wspomniane kryteria są szeroko stosowane w praktyce klinicznej. Należy jednak brać pod uwagę, że pojawiają się w nich pewne nieścisłości, na przykład; początek choroby może wystąpić we wcześniejszym wieku, a wprowadzenie insulinoterapii jest indywidualną decyzją lekarza. Inną cechą charakterystyczną dla LADA, niewymienioną w powyższych kryteriach, która może być przydatna w rozpoznaniu, jest niskie stężenie peptydu C w surowicy [1]. Ze względu na poważne konsekwencje, jakie niesie za sobą błędna diagnoza i leczenie cukrzycy typu 1 o powolnym początku, warto podejmować działania, które umożliwią i ułatwią właściwie postępowanie z pacjentem. Przykładem takiego działania jest próba opracowania algorytmu diagnostycznego.

ETIOPATOGENEZA

Na patomechanizm cukrzycy LADA składają się: niszczenie komórek β trzustki i, związane z tym, zmniejszone wydzielanie insuliny oraz rozwój insulinooporności. W związku z powyższym LADA ma cechy pośrednie między cukrzycą typu 1 a cukrzycą typu 2 [1].

CZYNNIKI GENETYCZNE

Podłoże genetyczne ma duże znaczenie w rozwoju cukrzycy autoimmunologicznej. W cukrzycy typu 1, decydujący wpływ mają geny układu HLA zlokalizowane na chromosomie 6, które odpowiadają za kodowanie głównego układu zgodności tkankowej (MHC). W szczególności istotne są haplotypy DR3 i DR4, często wykazywane u dzieci i młodych dorosłych cierpiących na cukrzycę [3]. Mimo tego, że predyspozycje genetyczne są dużo wyraźniejsze w przypadku klasycznej postaci cukrzycy typu 1 niż w LADA, oba typy mają powiązanie z tymi samymi genami [4]. Wykazano między innymi związek LADA z kompleksem genów HLA. U pacjentów chorych na LADA istotnie częściej występują

haplotypy HLA klasy II związane z ryzykiem rozwoju cukrzycy typu I [5, 6]. Podobieństwo między klasyczną cukrzycą typu 1 oraz LADA dotyczy także obecności wariantów genów PTPN22 (fosfatazy tyrozyny białkowej N22), INS (insuliny), oraz SH2B3 (białka adaptorowego SH2B3) [4,6,7]. Wskazywano również na podobieństwo genetyczne cukrzycy typu 2 i LADA. W niektórych badaniach sugerowano, że znaczenie dla rozwoju LADA mają warianty genu TCF7L2, które do tej pory wiązane były z predyspozycją do występowania cukrzycy typu 2 [4,7]. Inne badania podważają jednak te wnioski [6]. W związku z rozbieżnością wyników badań, trudno jednoznacznie określić czy gen TCF7L2 determinuje rozwój LADA. W patogenezie LADA niejasna jest również rola genu HNF1A, który ma związek z cukrzycą typu MODY (maturity onset diabetes of the young), a także cukrzycą typu 2 [6]. Genetyczne podłoże cukrzycy LADA jest przedmiotem ciągłych badań, dotychczasowe analizy wskazują jednak na to, że w tym zakresie LADA wykazuje więcej wspólnych elementów z klasyczną cukrzycą typu 1 niż cukrzycą typu 2 [5, 6].

STYL ŻYCIA

Istnieje niewiele badań naukowych skupiających się na wpływie stylu życia na rozwój cukrzycy typu LADA. Przypuszcza się, że podobnie jak w cukrzycy typu 2 ryzyko rozwoju choroby zwiększają: nadwaga, otyłość, niska masa urodzeniowa, nadmierne spożycie słodzonych napojów, zmniejszają natomiast: aktywność fizyczna, spożywanie tłustych ryb (ze względu na zawartość kwasów omega 3) oraz umiarkowane spożycie alkoholu. Ryzyko zachorowania na LADA rośnie wraz ze wzrostem wartości BMI. Związek nie jest tak wyraźny jak w cukrzycy typu 2, jednak wysokie wartości BMI sprzyjają spadkowi wrażliwości na insulinę. Do innych czynników odgrywających istotną rolę w etiopatogenezie LADA należy palenie tytoniu. Używanie tytoniu związane jest ze zmniejszonym poziomem GADA oraz rozwinięciem insulinooporności; osoby palące, są więc w większym stopniu narażone na rozwinięcie LADA o fenotypie zbliżonym do cukrzycy typu 2. Picie dużych ilości kawy ma prawdopodobnie związek

z rozwojem cukrzycy o podłożu autoimmunologicznym i jest skorelowane z wysokim poziomem przeciwciał GADA [7]. Mechanizmy immunologiczne Typ LADA podobnie jak typ 1 cukrzycy powiązany jest z występowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko wyspom β trzustki, jednak niszczenie ich komórek przebiega głównie w mechanizmie komórkowej odpowiedzi immunologicznej, a obecność przeciwciał jest przypuszczalnie markerem procesu autoimmunologicznego a nie jego przyczyną [8, 9]. Atakowanie wysp β przez limfocyty prowadzi do upośledzenia funkcji trzustki i zmniejszonego wydzielania insuliny. Proces ten przebiega wolniej niż w przypadku cukrzycy typu 1. W surowicy chorych z rozpoznaniem LADA wykrywa się takie same przeciwciała jak w przypadku cukrzycy 1. Są to: GADA (przeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego), ICA (przeciwciała przeciwko niezidentyfikowanym antygenom cytoplazmatycznym komórek trzustkowych β), IAA (przeciwciała przeciwko endogennej insulinie), IA-2 (autoprzeciwciała przeciwko fosfatazie tyrozynowej) i ZnT8 (przeciwciała przeciwko transporterowi cynku). Udział cytokin, chemokin i cząstek adhezyjnych w patofizjologii cukrzycy jest podobny w typie LADA oraz w klasycznej postaci cukrzycy typu 1. [4].

OBRAZ KLINICZNY

Obraz kliniczny cukrzycy typu LADA stanowi szerokie spektrum i może przypominać cukrzycę typu 2 (u pacjentów z niskimi poziomami autoprzeciwciał), być zbliżony do cukrzycy typu 1 (przy wysokich stężeniach autoprzeciwciał), lub mieć cechy pośrednie obu typów [4]. W momencie rozpoznania LADA, pacjenci prezentują zwiększone pragnienie (polidypsję) oraz stan zwiększonego wydalania moczu (poliurię) z podobną częstotliwością co chorzy na cukrzycę typu 2 [10]. Chorzy z LADA rozwijają objawy zespołu metabolicznego częściej niż pacjenci z klasyczną cukrzycą typu 1, a rzadziej niż pacjenci z cukrzycą typu 2 [8,9]. W stosunku do chorych na cukrzycę typu 1 wykazują wyższe ciśnienie tętnicze, wyższe stężenia trójglicerydów, większe wartości BMI i obwodu talii, a także wyższe poziomy hemoglobiny glikowanej (HbA1c)

[9]. W porównaniu do chorych na cukrzycę typu 2, chorzy z typem LADA mają niższe poziomy trójglicerydów, wyższe poziomy cholesterolu HDL, niższe wartości BMI, mniejszy stosunek obwodu talii do obwodu bioder i niższe wartości ciśnienia tętniczego. Wśród pacjentów, u których wykryto przeciwciała GADA w surowicy, ci o niższych stężeniach wykazywali mniejszą tendencję do rozwijania zespołu metabolicznego [4]. Długofalowe skutki zdrowotne LADA nie są jeszcze dobrze poznane, jednak wyniki dotychczasowych badań wskazują na zwiększone ryzyko rozwinięcia patologicznych zmian małych i dużych naczyń u pacjentów z LADA w stosunku do populacji zdrowej [9]. Powikłania w postaci mikroangiopatii występują częściej w LADA niż w klasycznej cukrzycy typu 1, co jest związane z późniejszym rozpoznaniem cukrzycy typu LADA. Dłużej utrzymująca się bezobjawowa hiperglikemia prowadzi w szczególności często do rozwoju nefropatii cukrzycowej, mikroalbuminurii i przewlekłej choroby nerek. Ponadto częściej występuje retinopatia oraz neuropatia [8]. Najnowsze doniesienia sugerują, że u chorych na LADA oraz cukrzycę typu 2 ryzyko zdarzeń naczyniowo-sercowych związanych z makroangiopatią jest zbliżone [9]. W LADA podobnie jak w cukrzycy typu 1 i 2 zwiększa się ryzyko złamań kości, jednak patogeneza tego zjawiska nie została dobrze wyjaśniona. Przypuszczano, że upośledzenie metabolizmu kości w LADA rozwija się na podobnym podłożu jak w cukrzycy typu 2, niemniej wykazano, że wyłącznie u chorych na typ 2 cukrzycy zwiększa się stężenie sklerostyny (białka hamującego proces kościotworzenia). Prawdopodobnie do zaburzenia przebudowy kości dochodzi więc na innej drodze [9].

DIAGNOSTYKA

Szybkie rozpoznanie LADA i wprowadzenie skutecznego leczenia pozwala na zahamowanie autoimmunologicznego zniszczenia komórek β trzustki oraz zapobiega rozwojowi skutków hiperglikemii, co jest kluczowe dla spowolnienia rozwoju choroby [11]. Aktualnie nie opracowano wytycznych dotyczących badań przesiewowych i postępowania z pacjentem, u którego podejrzewany

jest typ cukrzycy LADA. Postawienie trafnej diagnozy utrudnia niejednorodność klinicznych, immunologicznych i genetycznych cech w LADA.

KRYTERIA KLINICZNE

Brak jest jednolitego schematu diagnostycznego dotyczącego badań przesiewowych, które mogłyby znaleźć zastosowanie w rozpoznawaniu LADA. Obecnie diagnostykę cukrzycy u dorosłych pogłębia się w przypadku osób, które nie prezentują charakterystycznych cech cukrzycy typu 2 - podejrzenie LADA wysuwa się u pacjentów, którzy mają prawidłowe lub zbyt niskie BMI. Aktualnie wiemy, że typ LADA może przebiegać “pod maską” cukrzycy typu 2 i może dotyczyć również osób z nadwagą, otyłością i zespołem metabolicznym [4, 11]. Dokładna diagnostyka immunologiczna, biochemiczna i genetyczna każdego dorosłego pacjenta z rozpoznaniem cukrzycy jest niemożliwa ze względów finansowych czy logistycznych, z drugiej strony zaniedbania w tym obszarze opóźniają rozpoznanie i wdrożenie adekwatnej terapii [11]. Z tego powodu istotne jest stworzenie odpowiedniego narzędzia, służącego do wytypowania pacjentów najbardziej narażonych na rozwinięcie LADA, których należałoby kierować na badania przesiewowe. Przez długi czas wartość BMI była czynnikiem kwalifikującym do pogłębienia diagnostyki w kierunku LADA. Na zasadność oznaczenia przeciwciał GADA u pacjenta z cukrzycą wskazywała wartość BMI <25 kg/m2. Wykazano, że stosowanie BMI jako jedynego kryterium do identyfikacji chorych na LADA ma jedynie 30% czułość, ze względu na częste występowanie nadwagi lub otyłości w tym typie cukrzycy [12]. Model uwzględniający trzy cechy (stosowany u pacjentów w wieku powyżej 50 lat):

1. wartości BMI w normie lub poniżej normy,
2. zła kontrola glikemii (glukoza na czczo równa lub wyższa niż 270 mg/dl, poziom HbA1C równy lub wyższy niż 10%) pomimo przestrzegania zaleceń terapeutycznych przez pacjenta,
3. utrata wagi mimo tej samej diety, pozwolił na identyfikację 75% pacjentów chorujących na LADA [11, 13].

Inny schemat, zaproponowany w 2006 [12] uwzględnia pięć kryteriów:

1. początek choroby w wieku <50 lat,
2. obecność poliurii, polidypsji lub niezamierzona utrata masy ciała przed rozpoznaniem,
3. 3. BMI <25 kg/m2,
4. historia choroby autoimmunologicznej u pacjenta,
5. rodzinna historia choroby autoimmunologicznej.

Obecność co najmniej dwóch spośród wyżej wymienionych kryteriów pozwoliła na identyfikację pacjentów chorych na LADA z 90% czułością i 71% swoistością. Obecność mniej niż dwóch z podanych cech umożliwiła ponadto wykluczenie LADA z dużym prawdopodobieństwem (negatywna wartość predykcyjna 99%) [12]. W 2022 przez panel ekspertów zostały również zaproponowane cechy takie jak: obecność cukrzycy typu 1 lub innych chorób autoimmunologicznych w rodzinie, BMI <27 kg/m2, wczesny wiek początku choroby (<60 r.ż.) oraz zła kontrola metaboliczna. Spełnienie przynajmniej jednego z tych kryteriów miałoby świadczyć o zasadności badania przeciwciał GADA [14].

PRZECIWCIAŁA

W celu potwierdzenia cukrzycy pochodzenia autoimmunologicznego należy oznaczyć przeciwciała takie jak: ICA, GADA, IA-2, IAA, ZnT8. Najbardziej czułym markerem, zarówno dla cukrzycy typu LADA jak i klasycznej postaci cukrzycy typu 1 są przeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GADA) [9,14]. GADA stanowią 90% wszystkich wykrywanych w LADA przeciwciał [4,14], a częstość ich występowania w klasycznej cukrzycy typu 1 i LADA jest zbliżona [4]. Uwagę zwraca bimodalny rozkład miana przeciwciał GADA u chorych z LADA [9, 15]. Można wyszczególnić dwie grupy: pierwszą, u której występują wysokie miana przeciwciał GADA i drugą, u której miana są niskie. U pacjentów z wysokim mianem przeciwciał GADA istnieje duże

prawdopodobieństwo rozwinięcia fenotypu LADA przypominającego klasyczną postać cukrzycy 1, mają oni z reguły niższe wartości BMI, szybciej występuje u nich potrzeba wprowadzenia insuliny [14] i istnieje większe ryzyko wystąpienia ketozy [9]. Grupa pacjentów z niskimi mianami GADA fenotypowo przypomina bardziej cukrzycę typu 2, u chorych często współistnieje nadwaga lub otyłość, występuje również tendencja do rozwijania zespołu metabolicznego i powikłań naczyniowo-sercowych [9]. Oznaczanie GADA jest stosunkowo lepiej dostępnym i tańszym badaniem w porównaniu do testów wykrywających inne przeciwciała występujące w LADA. Ponadto GADA są wykrywalne długo po rozpoznaniu choroby, podczas gdy poziom ICA spada po postawieniu diagnozy. [3]. Pomiar przeciwciał GADA zdaje się być przydatnym badaniem przesiewowym, które potencjalnie może pomagać w rozpoznaniu cukrzycy typu LADA [3]. Warto jednak zwrócić uwagę na to, że przez niewystarczającą swoistość tego testu, wyniki pozytywne uzyskuje się również u chorych na cukrzycę typu 2 o typowym przebiegu. W celu eliminacji wyników fałszywie dodatnich sugeruje się, aby badanie poziomu GADA wykonywać u osób, które prezentują objawy charakterystyczne dla cukrzycy rozwijającej się na tle autoimmunologicznym, a rezultaty tych badań interpretować łącznie ze stanem klinicznym, historią choroby i innymi wskaźnikami świadczącymi o niszczeniu trzustki, np. poziomem peptydu C [15]. Należy również uwzględnić, że chorzy na LADA są bardzo niejednolitą grupą, a wartości miana przeciwciał mogą znacznie się u nich różnić. Wśród pozostałych markerów dla LADA należy wspomnieć o przeciwciele IA–2256-760, które podobnie jak GADA występują jednakowo często w LADA i klasycznej postaci cukrzycy typu 1 [4]. Wskazuje się na obecność przeciwciał IA-2 u chorych na LADA z otyłością trzewną, co jest związane z procesem zapalnym dotykającym tkanki tłuszczowej [9]. U 24,1% osób chorujących na LADA wykrywa się więcej niż jeden typ autoprzeciwciał [9]. Obecność przeciwciał charakterystycznych dla cukrzycy autoimmunologicznej, może pełnić również pomocniczą funkcję w określaniu ryzyka rozwoju innych chorób z autoagresji. Wysokie poziomy przeciwciał GADA są związane z częstszym występowaniem przeciwciał anty-TPO (przeciwciała przeciwko peroksydazie tarczycowej)

charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych chorób tarczycy [4,14]. Istnieją doniesienia, że obecność przeciwciał IA-2 może za to świadczyć o większym ryzyku autoimmunizacji związanej z celiakią [14]. Mimo, że obecność przeciwciał GADA jest często związana z insulinozależnością, to jednak wspomniane badanie nie powinno być stosowane w celu doboru rodzaju terapii. Jest to test półilościowy - trudno jest więc zdefiniować punkt odcięcia dla niskich i wysokich poziomów; ponadto wyniki otrzymywane w różnych laboratoriach mogą znacznie się od siebie różnić [14].

PEPTYD C

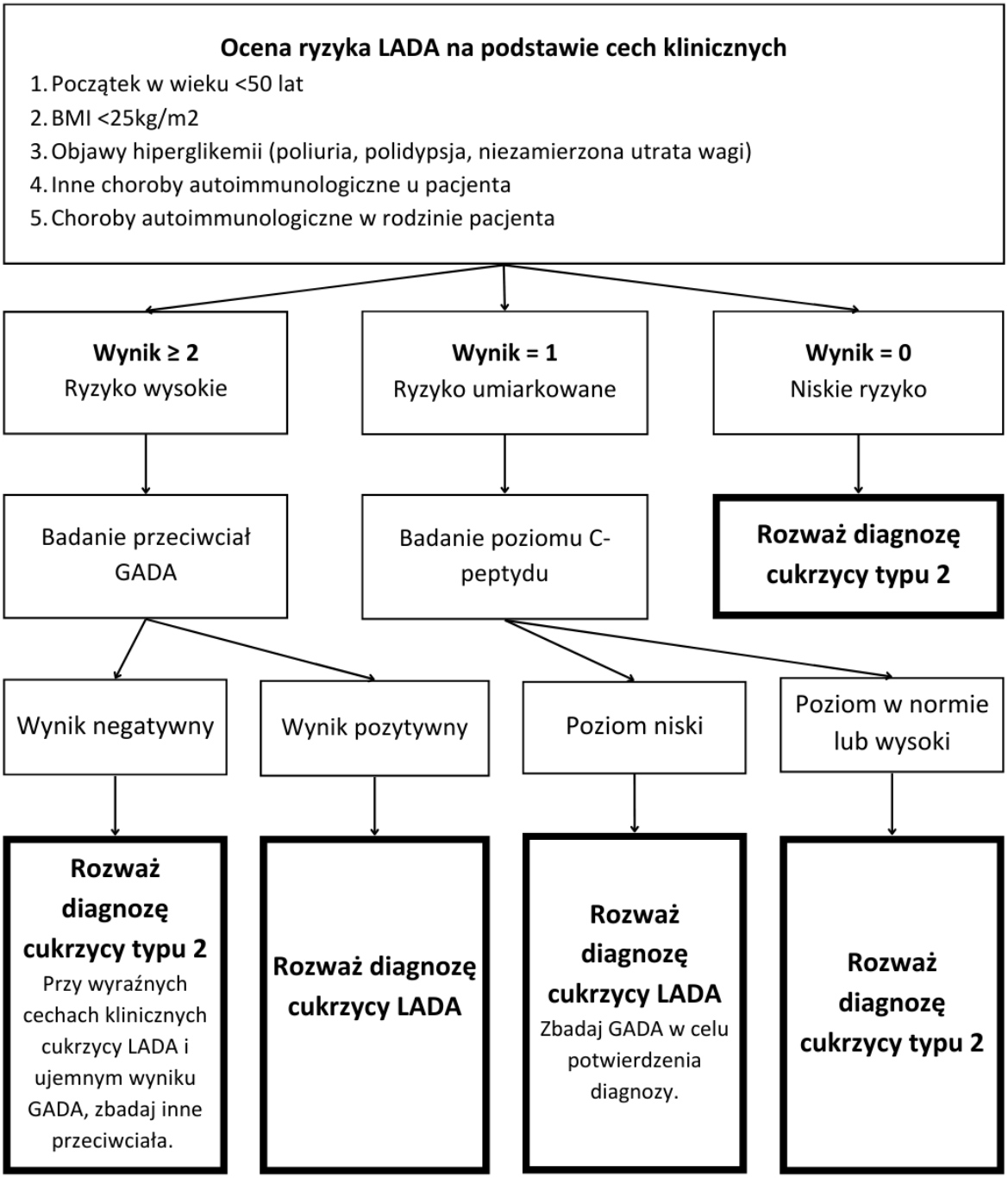
Peptyd C jest częścią łańcucha proinsuliny i powstaje w szlaku tworzenia insuliny z jej prekursora - preproinsuliny. Większość peptydu C przechodzi do krążenia, co sprawia, że może on zostać wykorzystany jako wskaźnik zdolności wydzielniczej trzustki oraz ma istotne znaczenie w ocenie stopnia zniszczenia tego narządu [16]. C-peptyd ma ponadto dłuższy czas półtrwania niż insulina oraz w przeciwieństwie do niej nie ulega efektowi pierwszego przejścia w wątrobie, co czyni go lepszym markerem [13]. W klasycznej cukrzycy typu 1 peptyd C jest często niewykrywalny w związku z niszczeniem komórek odpowiedzialnych za syntezę insuliny. W cukrzycy typu 2, która nie jest związana z procesem autoimmunologicznym ilość peptydu C pozostaje na poziomie normalnym lub wysokim. LADA rozwija się na podłożu autoagresji, w związku z czym ilość tego wskaźnika jest obniżona [11], ale osiąga wyższe stężenia niż u chorych na klasyczną cukrzycę typu 1 [16]. Zazwyczaj na początku choroby poziom peptydu C osiąga dolną granicę normy i stopniowo się obniża w miarę postępowania autoimmunologicznego niszczenia komórek trzustki [16]. Pomiary poziomu peptydu C mogą z powodzeniem służyć do odróżnienia cukrzycy typu LADA od cukrzycy typu 2. Zwraca się również uwagę na mniejsze koszty związane z badaniem poziomu peptydu C w stosunku do badania obecności przeciwciał przeciwwyspowych [11]. Pomiar C-peptydu jest, w związku z tym, dobrym testem przesiewowym, który można wykonywać na początku procesu

diagnostycznego, zwłaszcza u osób, u których brak jest fenotypu charakterystycznego dla cukrzycy autoimmunologicznej. Postawienie jednoznacznej diagnozy wymaga jednak badania przeciwciał. Preferowanym sposobem pomiaru stężenia peptydu C w diagnostyce LADA jest test sekrecji endogennej insuliny (MMTT - mixed-meal tolerance test) [13].

PROPONOWANY ALGORYTM DIAGNOSTYCZNY

Na podstawie dostępnych informacji można stwierdzić, że pierwszym krokiem skutecznego procesu diagnostycznego jest wytypowanie pacjentów, którzy mogą chorować na typ cukrzycy LADA. W tym celu warto jest skorzystać z modelu [12], który uwzględnia pięć cech klinicznych. Ten schemat wykazywał się największą czułością i swoistością. W następnym etapie należy skierować wytypowanych pacjentów na odpowiednie badania przesiewowe. Ze względu na niski koszt, badanie poziomu peptydu C wydaje się być odpowiednim testem skriningowym, wykonywanym przy podejrzeniu LADA, zwłaszcza u osób z umiarkowanym ryzykiem LADA, z obrazem klinicznym choroby podobnym do cukrzycy typu 2, w celu różnicowania tych dwóch odmian [11, 13]. Natomiast badanie poziomu przeciwciał (zwłaszcza GADA) można zaproponować wyselekcjonowanej grupie pacjentów z wysokim ryzykiem LADA, aby potwierdzić rozpoznanie cukrzycy o podłożu autoimmunologicznym [11]. Badanie poziomu przeciwciał innych niż GADA ma mniejsze znaczenie w stawianiu rozpoznania, a ich częstość występowania u chorych z LADA jest niższa, jednak jeśli cechy kliniczne wskazują na podłoże autoimmunologiczne choroby, a przeciwciała GADA są niewykrywalne, zaleca się zbadanie innych autoprzeciwciał (ICA, IA-2A, ZnT8A) [14]. Badania genetyczne ze względu na stosunkowo wysoki koszt, a także dużą częstość występowania alleli predysponujących do zachorowania na cukrzycę autoimmunologiczną w populacji zdrowej, nie są rutynowo wykorzystywane do diagnostyki [3, 13]. Wszyscy pacjenci chorujący na LADA powinni również wykonywać standardowe badania zalecane u osób chorujących na cukrzycę, do których należą między innymi: pomiar hemoglobiny

glikowanej (HbA1C), profil lipidowy, pomiar kreatyniny w surowicy krwi oraz wyliczenie eGFR (estimated glomerular filtration rate - szacunkowy wskaźnik filtracji kłębuszkowej), badanie ogólne moczu z osadem, ocena albuminurii oraz konsultacje okulistyczne [1,13]. Proponowany schemat diagnostyczny, opracowany z wykorzystaniem dotychczas istniejących algorytmów został przedstawiony na rysunku 1.



Rycina 1. Algorytm diagnostyczny w podejrzeniu LADA.

LECZENIE

W leczeniu LADA zaleca się wprowadzenie terapii insuliną bez względu na poziom glikemii [1]. Wprowadzenie egzogennej insuliny przypuszczalnie powoduje zmniejszenie aktywności wysp trzustkowych oraz redukuje skutki hiperglikemii. Ponadto stymuluje przewagę komórek Th2 w stosunku do Th1 oraz aktywność cytokin i limfocytów pełniących funkcje regulatorowe [11]. Leczenie insuliną w cukrzycy typu LADA jest bezpieczne i efektywne, jednak przedmiotem debaty naukowej pozostaje to, czy należy ją wprowadzać od razu po postawieniu rozpoznania [14]. Powszechnie insulina jest stosowana przez lekarzy od razu po diagnozie bez względu na poziom glikemii i peptydu C [11]. Metformina jest wskazana u pacjentów z LADA jako dodatek do insuliny. Istnieją doniesienia o tym, że stosowanie metforminy może zmniejszać dobowe zapotrzebowanie na insulinę [11], ponadto jest ona zalecana w szczególności u chorych na LADA z nadwagą lub otyłością [1]. Innymi lekami, które mogą być stosowane w leczeniu LADA są substancje z grupy inhibitorów dipeptydylopeptydazy 4 oraz GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1) mimetyki. Mogą one wpływać na lepszą kontrolę glikemii i zwiększać sekrecję C-peptydu, jednak podobnie jak metformina stanowią dodatkową formę leczenia, która powinna być stosowana razem z insuliną [11, 14]. W leczeniu LADA stanowczo odradza się wprowadzanie pochodnych sulfonylomocznika, ze względu na wzmocnienie ekspresji antygenów komórek β trzustki i nasilenie procesów autoimmunologicznych [11].

PODSUMOWANIE

Cukrzyca z autoagresji o powolnym początku jest chorobą, której etiopatogeneza nie jest jeszcze dobrze poznana. Dotychczasowe badania wskazują na genetyczne tło tej choroby; znaczenie mają również czynniki środowiskowe. Istotą choroby jest autoimmunologiczne niszczenie komórek β trzustki, głównie w mechanizmie odporności komórkowej. Prawidłowa diagnoza cukrzycy LADA stanowi wyzwanie ze względu na niejednorodny obraz kliniczny. Często fenotyp LADA przypomina klasyczną cukrzycę typu 1. Chorzy na LADA

mogą jednak, podobnie jak osoby cierpiące na cukrzycę typu 2, osiągać wysokie wartości BMI i wykazywać tendencję do rozwijania zespołu metabolicznego. Ta grupa pacjentów wymaga szczególnej uwagi, ponieważ jest najbardziej narażona na nieprawidłowe postawienie diagnozy i błędne leczenie, co skutkuje rozwojem poważnych konsekwencji długotrwałej hiperglikemii. Pierwszym krokiem w diagnostyce powinno być wyselekcjonowane grupy pacjentów z dużym ryzykiem LADA: cechują się oni zazwyczaj normalnymi lub zbyt niskimi wartościami BMI, wiekiem niższym niż 50 lat, obecnością objawów hiperglikemii oraz często dodatnim wywiadem w kierunku innych chorób autoimmunologicznych (występujących u pacjenta lub w rodzinie). Kolejnymi etapami są: badanie przeciwciał GADA u osób z wysokim ryzykiem cukrzycy o podłożu autoimmunologicznym, a badanie poziomu C-peptydu u osób z pośrednim ryzykiem, zwłaszcza u tych, których obraz kliniczny choroby przypomina cukrzycę typu 2. Ocena poziomu innych przeciwciał niż GADA ma znaczenie pomocnicze, natomiast badania genetyczne nie są zalecane w diagnostyce. Cukrzycę LADA należy zawsze leczyć insuliną, a szybkie wprowadzenie terapii pozwala na zahamowanie procesu autoagresji i ograniczenie skutków hiperglikemii.

PIŚMIENNICTWO

1. Gumprecht J., Młynarski W., Strojek K., Cypryk K., Czupryniak L. i wsp.: Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2019. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. Diabetologia Praktyczna, 2019, 5, 1-100.
2. Fadiga L., Saraiva J., Catarino D., Frade J., Melo M., Paiva I.: Adult-onset autoimmune diabetes: comparative of classical and latent presentation. Diabetol Metab Syndr., 2020, 12, 107.
3. Małecki M. T., Klupa T.: Specjalne postacie cukrzycy typu 1 – późno ujawniająca się cukrzyca o podłożu autoimmunologicznym u dorosłych. [w:] Cukrzyca typu 1 u osób dorosłych. Sieradzki J., Wierusz-Wysocka B. (red.). Termiedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań 2012, 51-65
4. Laugesen E., Østergaard J. A., Leslie R. D. G.: Latent autoimmune diabetes of the adult: current knowledge and uncertainty. Diabet Med., 2015, 32, 843–852.
5. Hernández M., Nóvoa-Medina Y., Faner R., Palou E., Esquerda A., Castelblanco E., Wägner A. M., Mauricio D.: Genetics: Is LADA just late onset type 1 diabetes? Front Endocrinol., 2022, 13, 916698.
6. Mishra R., Chesi A., Cousminer D. L., Hawa M. I., Bradfield J. P., Hodge K. M., Guy V. C., Hakon Hakonarson H., Didac M., Schloot N. C., Yderstræde K. B., Voight B. F., Schwartz S., Boehm B. O., Leslie R. D., Grant S. F. A.: Relative contribution of type 1 and type 2 diabetes loci to the genetic etiology of adult-onset, non-insulin-requiring autoimmune diabetes. BMC Med., 2017, 15, 88.
7. Carlsson S.: Etiology and Pathogenesis of Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) Compared to Type 2 Diabetes. Front Physiol., 2019, 10, 320.
8. Fadiga L., Saraiva J., Catarino D., Frade J., Melo M., Paiva I.: Adult-onset autoimmune diabetes: comparative analysis of classical and latent presentation. Diabetol Metab Syndr., 2020, 12, 107.
9. Pozzilli P., Pieralice S.: Latent Autoimmune Diabetes in Adults: Current Status and New Horizons. Endocrinology and Metabolism, 2018, 33, 2, 147-159.
10. Manisha A. M., Shangali A. R., Mfinanga S. G., Mbugi E. V.: Prevalence and factors associated with latent autoimmune diabetes in adults (LADA): a cross-sectional study. BMC Endocrine Disorders, 2022, 22, 175.

11. Pieralice S., Pozzilli P.: Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Review on Clinical Implications and Management. Diabetes Metab J., 2018, 42, 451-464.
12. Fourlanos S., Perry C., Stein M. S., Stankovich J., Harrison L. C., Colman P. G.: A Clinical Screening Tool Identifies Autoimmune Diabetes in Adults. Diabetes Care, 2006, 29, 5.
13. Rajkumar V, Levine SN (2022). StatPearls Publishing: Latent Autoimmune Diabetes. Bethesda, United States of America: National Library of Medicine. Dostępne na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557897/ [31.07.2023]
14. Buzzetti R., Tuomi T., Mauricio D., Pietropaolo M., Zhou Z., Pozzilli P., Leslie R. D.: Management of Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Consensus Statement From an International Expert Panel. Diabetes, 2020, 69, 10, 2037–2047.
15. Jones A. G., McDonald T. J., Shields B. M., Hagopian W., Hattersley A. T.: Latent Autoimmune Diabetes of Adults (LADA) Is Likely to Represent a Mixed Population of Autoimmune (Type 1) and Nonautoimmune (Type 2) Diabetes. Diabetes Care, 2021, 44, 6, 1243–1251.
16. Otto-Buczkowska E.: Przydatność oznaczania peptydu C w diabetologii. Pediatr Endocrino Diabetes Metab., 2014, 20, 2, 63-68.

ADIPONEKTYNA JAKO CZYNNIK PREDYKCYJNY ROZWOJU CUKRZYCY TYPU 2

Adiponectin as a risk factor for type 2 diabetes

Joanna Barwacz[1*], Dagmara Gładysz[2]

[1]*Zakład Biochemii i Chemii Ogólnej, Uniwersytet Rzeszowski;*
[2]*Zakład Biochemii i Chemii Ogólnej, Uniwersytet Rzeszowski;*
joannabarwacz@gmail.com (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Cukrzyca typu 2 jest jedną z najczęstszych chorób cywilizacyjnych na świecie. 422 miliony ludzi na całym świecie choruje na cukrzycę, 179 milionów nie zostało jeszcze zdiagnozowanych, a liczba chorych rośnie z każdym rokiem. Przyczyny choroby związane są z insulinoopornością i zaburzeniami wydzielania insuliny, istnieją również pewne czynniki środowiskowe, które znacznie zwiększają ryzyko cukrzycy, takie jak otyłość i nadwaga, stres, zła dieta i brak aktywności fizycznej. Adiponektyna (ADPN) jest cytokiną produkowaną w tkance tłuszczowej, która wpływa na wiele procesów metabolicznych, zwłaszcza metabolizm węglowodanów i kwasów tłuszczowych w wątrobie i mięśniach, a także pośrednio wpływa na wrażliwość tkanek obwodowych na insulinę. ADPN ma właściwości przeciwmiażdżycowe, przeciwzapalne i zwiększające wrażliwość na insulinę. Głównym mediatorem przeciwmiażdżycowych właściwości adiponektyny jest T-kadheryna, białko wiążące adiponektynę z błoną komórkową. Obniżony poziom adiponektyny we krwi jest uważany za niezależny czynnik ryzyka cukrzycy typu 2. Zmiana stylu życia, spożywanie ryb, suplementacja omega-3, przestrzeganie diety śródziemnomorskiej i niektóre leki przeciwcukrzycowe, tj. glitazony, inhibitory konwertazy angiotensyny lub blokery receptora angiotensyny biorą udział w zwiększaniu poziomu adiponektyny.

Celem tej pracy poglądowej było wykazanie roli adiponektyny jako czynnika predykcyjnego w rozwoju cukrzycy typu 2.

CUKRZYCA TYPU 2

Jedną z najważniejszych i najtrudniejszych w kontekście leczenia chorób diabetologicznych XXI wieku stała się cukrzyca. Jest ona przyczyną przedwczesnej umieralności, zwłaszcza sercowo-naczyniowej, a odsetek pacjentów chorujących stale rośnie [1]. Niezdiagnozowana bądź źle kontrolowana może prowadzić do poważnych powikłań tj. retinopatie, nefropatie, zespół stopy cukrzycowej. Można wyróżnić dwie formy cukrzycy: typ 1 i typ 2. Cukrzyca typu 2, znana jako cukrzyca insulinoniezależna, obejmuje ok. 90% zachorowań na cukrzycę [2, 3]. Patogeneza tej choroby opiera się na dwóch głównych mechanizmach: upośledzeniu wydzielania insuliny oraz zmniejszeniu wrażliwości na insulinę [4]. U osób zdrowych poziom glukozy utrzymywany jest w normie dzięki prawidłowemu wydzielaniu insuliny przez komórki β i wrażliwość tkanek obwodowych na jej działanie. O rozwoju oporności na insulinę decyduje wiele czynników o charakterze przede wszystkim genetycznym i środowiskowym, a jednym z najważniejszych czynników jest otyłość (Rycina 1.).

nadciśnienie	otyłość	podeszły wiek
nieprawidłowa dieta	brak aktywności fizycznej	palenie tytoniu
alkohol	depresja	nadwaga

Rycina 1. Tabela przedstawia czynniki ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2.

W ostatnich latach próbowano połączyć kilka czynników tj. insulinooporność, otyłość i wiele innych fenotypów wpływających na ryzyko sercowo-naczyniowe, dzięki czemu wyróżniono zespół metaboliczny. Obecnie natomiast funkcjonuje szereg różnych definicji tego zespołu. W dzisiejszych czasach dominuje siedzący tryb życia, a w przeprowadzonych do tej pory badaniach wykazano, że długi czas oglądania telewizji wiąże się ze wzrostem ryzyka rozwoju otyłości, cukrzycy typu 2 oraz zaburzeń metabolizmu glukozy. Długotrwałemu siedzeniu w ciągu dnia towarzyszy zwiększenie wskaźnika masy ciała (zwłaszcza u mężczyzn) tzw. BMI i wykazano wprost proporcjonalną zależność między czasem spędzonym w pozycji siedzącej a występowaniem nadwagi i otyłości [5]. Powikłania towarzyszące cukrzycy dotyczą małych i dużych naczyń krwionośnych, skóry, siatkówki i in. Do przewlekłych powikłań cukrzycy należą zmiany naczyniowe oraz zmiany w nerwach obwodowych. Wyróżnić można makroangiopatię i mikroangiopatię. Makroangiopatia obejmuje zmiany dotyczące dużych i średnich tętnic, które charakteryzują się miażdżycą ścian naczyniowych. Nie jest to powikłanie swoiste dla cukrzycy ale istnieje między nimi ścisły związek. Do powikłań o typie makroangiopatii można zaliczyć: chorobę wieńcową, zawał mięśnia sercowego, nadciśnienie tętnicze, choroby naczyń mózgowych. Mikroangiopatia dotyczy zmian w układzie naczyń włosowatych oraz w najdrobniejszych tętnicach i żyłach. Dochodzi do zwyrodnienia włośniczek, zwłaszcza siatkówki i nerek. Zmiany czynnościowe skutkują zwiększeniem przepływu krwi przez mikrokrążenie narządowe, nadciśnieniem w mikrokrążeniu, zaburzeniem czynności śródbłonka, wzrostem przepuszczalności naczyń i zwiększeniem lepkości krwi. Mikroangiopatia jest swoista dla cukrzycy, a hiperglikemia odgrywa najistotniejszą rolę w jej patogenezie. Do powikłań o charakterze mikroangiopatii można zaliczyć retinopatię oraz nefropatię [6]. Diagnostyka opiera się na badaniu stężenia glukozy we krwi oraz testach oceniających glikację białek (Tab. 1.) [7].

Tabela 1. Testy diagnostyczne wykorzystywane u dorosłych z wyłączeniem ciężarnych. (Źródło: Cox, M. E., & Edelman, D. Testy przesiewowe i diagnostyczne w cukrzycy typu 2.)

TEST	PLUSY	MINUSY
Stężenie glukozy w moczu	Szybki i tani, nie jest wymagane pobranie krwi	Nie jest w pełni ilościowy, nie pozwala na oznaczenie stężenia glukozy przekraczającego próg nerkowy
FPG	Pojedyncze oznaczenie stężenia glukozy w osoczu, tani	Możliwe błędy podczas procesu przygotowywania próbki, konieczność badania na czczo
RPG	Tani, pojedyncze oznaczenie stężenia glukozy	Możliwe błędy podczas procesu przygotowywania próbki, pomiar może być zależny od wielu czynników
OGTT	Najczulszy	Niepraktyczny w warunkach szpitalnych, mniejsza powtarzalność wyników w porównaniu do innych testów
Oznaczanie glukozy we krwi włośniczkowej	Szybki test, niewymagający klasycznego pobrania krwi	Niestandaryzowany
HbA1c	Złoty standard kontroli stężeń glukozy, nie jest wymagane badanie na czczo	Możliwe błędy niezwiązane z glikemią

FPG – poziom glukozy w osoczu na czczo
RPG – glikemia przygodna
OGTT – doustny test obciążenia glukozą
HbA1c – hemoglobina glikowana

Leczenie cukrzycy powinno być kompleksowe i opierać się na kilku metodach. Ogromną rolę odgrywa prawidłowo zbilansowana dieta. Udowodniono, że dieta złożona z wielonienasyconych kwasów tłuszczowych obniża stężenie cholesterolu frakcji LDL oraz stosunek cholesterolu całkowitego do cholesterolu frakcji HDL. Wykazano także ujemną zależność między spożyciem orzechów w diecie a ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2. Obniżają one glikemię poposiłkową oraz poposiłkowy stres oksydacyjny, co przyczynia się do poprawy profilu lipidowego. Badania wykazały pozytywny wpływ metforminy w prewencji cukrzycy. Potwierdzono zmniejszone ryzyko pogorszenia kontroli glikemii u chorych z zaburzeniami tolerancji glukozy oraz opóźnienie progresji do jawnej cukrzycy. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne (PTD) oraz ADA rekomendują rozpoczęcie terapii nowo rozpoznanej cukrzycy typu 2 metforminą i zmianą stylu życia. Kwas acetylosalicylowy (ASA) w prewencji pierwotnej zmniejsza ryzyko rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych u chorych na cukrzycę typu 2. Badania wykazały, że regularne przyjmowanie ASA powoduje obniżenie ryzyka zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych i spadek ryzyka zgonu z jakiegokolwiek

innego powodu. Z cukrzycą typu 2 wiąże się także ryzyko zwiększonego ciśnienia tętniczego, rekomenduje się zastosowanie farmakoterapii gdy ciśnienie skurczowe wynosi >130 mmHg. Najczęstszymi powikłaniami sercowo-naczyniowymi jakie można zaobserwować są miażdżyca oraz nadciśnienie tętnicze, gdzie obserwuje się także podwyższone wartości triglicerydów, cholesterolu LDL oraz obniżenie cholesterolu frakcji HDL. Zaobserwowano zwiększone ryzyko wystąpienia depresji u pacjentów chorych na cukrzycę, w badaniach udowodniono zmniejszoną efektywność terapii lekami przeciwdepresyjnymi. Czynnikami, które powodowały gorszą odpowiedź na leczenie były: stosowanie sertraliny, młody wiek oraz duży stopień zaawansowania depresji [5].

ADIPONEKTYNA

Budowa i struktura

Adiponektyna jest hormonem polipeptydowym kodowanym przez gen ACDC (nazywany także APM1) odgrywającym istotną rolę w regulacji metabolizmu glukozy i kwasów tłuszczowych. Zwiększa wrażliwość na insulinę. Wykazuje strukturalne podobieństwo do kolagenu typu VIII, X i składowej dopełniacza C1q. Cząsteczki adiponektyny we krwi łączą się ze sobą tworząc trimery, a także oligomery. W ludzkiej surowicy znaleźć można trzy główne oligomery: LMW (o niskiej masie cząsteczkowej), MMW (o średniej masie cząsteczkowej) i HMW (o wysokiej masie cząsteczkowej). Proporcje tych oligomerów zależne są od płci – u mężczyzn występuje mniejsze stężenie kompleksów o dużej masie cząsteczkowej, u kobiet całkowite stężenie adiponektyny jest wyższe. Synteza adiponektyny pobudzana jest przez insulinę oraz agonistów receptorów PPAR, hamowana jest natomiast przez TNF-α i antagonistów receptora PPAR. Podjęto wiele prób udowodnienia związku między mutacjami genu adiponektyny a występowaniem otyłości czy cukrzycy. Zauważono najsilniejszy związek pomiędzy polimorfizmem Y111H w eksonie 3. a występowaniem cukrzycy typu 2. Polimorfizm ten polega na zamianie 415. zasady eksonu 3, tyminy, w cytozynę, a w wyniku tej mutacji w białku w pozycji 111. pojawia się

histydyna zamiast tyrozyny. Dochodzi do zmiany struktury czwartorzędowej tego białka, do zmiany jego konformacji w wyniku wymiany aminokwasu polarnego obojętnego na aminokwas polarny zasadowy. W ten sposób funkcja białka zostaje zaburzona [8].

Receptor adiponektyny

Istotną rolę w działaniu adiponektyny odgrywa swoisty receptor błonowy. Poznano dwie izoformy tego receptora: Adipo R1 oraz AdipoR2. Receptory te kodowane są przez dwa różne geny: gen kodujący ludzki receptor AdipoR1 (ADR1) znajduje się na chromosomie 1 (1q32.1), a gen receptora AdipoR2 (ADR2) leży na chromosomie 12 (12p13.33). Oba receptory różnią się także umiejscowieniem, mianowicie AdipoR1 zlokalizowany jest głównie w mięśniach szkieletowych oraz w innych tkankach i narządach w mniejszej ilości (w mózgu, sercu, wątrobie, łożysku, nerce i in). AdipoR2 natomiast najczęściej znaleźć można w wątrobie oraz mięśniach szkieletowych. Swoistość oddziaływania adiponektyny z receptorami oraz aktywacja ścieżek sygnałowych ściśle zależy od stopnia oligomeryzacji adiponektyny [9].

Mechanizm działania adiponektyny

W mięśniach szkieletowych trimery adiponektyny zwiększają pobieranie i utlenianie glukozy przez aktywację ścieżki sygnałowej z udziałem AMPK, a po obniżeniu aktywności karboksylazy acetylo-CoA, utlenianie kwasów tłuszczowych. W wątrobie natomiast regulacja przemian glukozy i kwasów tłuszczowych odbywa się pod wpływem multimetrów adiponektyny (HMW). Mechanizm polega na aktywacji w hepatocytach, podobnie jak w miocytach, ścieżki sygnałowej z udziałem AMPK, co prowadzi do obniżenia aktywności karboksylazy acetylo-CoA i stymulacji utleniania kwasów tłuszczowych. Obserwuje się zahamowanie glukoneogenezy [10, 11]. Badania wykazały, że aktywacja plejotropowego enzymu AMP-zależnej kinazy białkowej jest częścią odpowiedzi

komórkowej na działanie adiponektyny w tkance tłuszczowej, wątrobie, mięśniach szkieletowych oraz endometrium. Enzym ten ulega aktywacji w sytuacjach zwiększonej gotowości komórkowej oraz związany jest z akumulacją AMP,
a następnie z produkcją ATP. Wykazano również udział AMP-zależnej kinazy w mechanizmie działania pochodnych biguanidów oraz tiazolidynedionów (substancji antydiabetogennych). Bierze udział w oksydacji kwasów tłuszczowych jak i produkcji ATP. Adiponektyna ma zatem wpływ na wiele integralnych szlaków sygnałowych w komórkach [12]. Mutacja genu ACDC skutkuje zaburzeniami w powstawaniu multimerów i wydzielaniu adiponektyny do krwi, co związane jest ze zmniejszonym zużyciem glukozy i rozwojem cukrzycy typu 2. Rolą adiponektyny jest hamowanie procesu powstawania zmian miażdżycowych poprzez zahamowanie ekspresji cząsteczek adhezyjnych w komórkach śródbłonka naczyń, powstrzymanie rozwoju odczynu zapalnego i akumulacji lipidów w makrofagach oraz transformacji makrofagów w komórki piankowate. Ważnym miejscem działania adiponektyny okazała się być tkanka nerwowa, a obecność receptorów dla tego hormonu stwierdzono w mózgu. Według badań adiponektyna ma zdolność przenikania bariery krew-mózg i działania na podwzgórze [12].

ADIPONEKTYNA W OTYŁOŚCI

Adiponektyna uważana jest za czujnik masy tkanki tłuszczowej, tzw. adipostat. Jest wytwarzana przez adipocyty, a wyższe jej stężenia zaobserwować można w tkance podskórnej niż trzewnej. U osób otyłych występuje stan hipoadiponektynemii, czyli zmniejszonego stężenia adiponektyny, natomiast wraz z obniżeniem masy ciała jej stężenie wzrasta. Badania wykazały, że stężenie adiponektyny we krwi jest dodatnio sprzężone ze stężeniem cholesterolu HDL, a ujemnie z wartościami ciśnienia skurczowego, glikemii na czczo i cholesterolem LDL. Niskie stężenia adiponektyny uznaje się za czynnik ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego o podłożu miażdżycowym. Niedobór

adiponektyny natomiast obserwuje się u osób chorych na chorobę niedokrwienną serca oraz z zespołem metabolicznym, a także u pacjentów zagrożonych wystąpieniem tych chorób. W ostrym zawale serca zaobserwowano znaczny spadek stężenia adiponektyny, a po miesiącu jej wzrost, co może wskazywać na jej zużycie w mięśniu sercowym w celu ochrony kardiomiocytów przed czynnikami zapalnymi [8].

Wpływ aktywności fizycznej na poziom adiponektyny

Przeprowadzono badanie [15], którego celem była ocena wpływu aktywności fizycznej na stężenie adiponektyny. Do badania zaangażowano 20 otyłych pacjentek z zespołem metabolicznym i zakwalifikowano je do 6-miesięcznego programu regularnej aktywności fizycznej. Porównano parametry antropometryczne, wartości ciśnienia tętniczego, parametry gospodarki lipidowej i glukozy oraz stężenia adiponektyny na początku jak i na końcu badania. Kobiety podejmowały wysiłek fizyczny raz w tygodniu pod nadzorem specjalisty oraz prowadziły dzienniczek, gdzie wpisywały rodzaj podejmowanego wysiłku oraz czas jego trwania, dodatkowo zapisywały wyniki pomiarów antropometrycznych. Wszystkie pacjentki ukończyły 6-miesięczny program zwiększonej aktywności fizycznej, a wyniki wskazywały na istotne zmniejszenie obwodu pasa oraz wartości skurczowego ciśnienia tętniczego. Zauważono także obniżenie stężenia triglicerydów i zwiększenie stężenia cholesterolu frakcji HDL. Wartości stężenia adiponektyny znacznie wzrosły w porównaniu z jej stężeniami przed włączeniem do programu. W licznych badaniach naukowych dowiedziono, że aktywność fizyczna jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na redukcję masy ciała, ponieważ sprzyja przyrostowi masy mięśniowej, prawidłowej równowadze bilansu energetycznego oraz rozwojowi nowych kapilar naczyniowych. Wysiłek fizyczny hamuje także apetyt i jest odpowiedzialny za stały stopniowy ubytek tkanki tłuszczowej. Wpływ aktywności fizycznej na stężenie adiponektyny nie dostarcza jednoznacznych informacji. Badanie przeprowadzone przez Kopp i wsp. [13] wykazało istotny wzrost stężenia adiponektyny u kobiet

poddanych zabiegowi gastroplastyki w wyniku znaczącej redukcji masy ciała, ale nie BMI. Podobnie Faraj i wsp. [14] nie wykazali związku między zmianami stężeń adiponektyny a BMI u chorych otyłych po operacji żołądka. Wykazano natomiast, że stężenia tej adipokiny były wartością predykcyjną pooperacyjnej utraty masy ciała. U części chorych regularna aktywność fizyczna powoduje zwiększenie stężenia adiponektyny i dzięki temu wpływa korzystnie na zmiany profilu metabolicznego, natomiast konieczne są dalsze badania umożliwiające określenie skali wysiłku fizycznego, jak i badania genetyczne weryfikujące mutacje genu kodującego adiponektynę, co umożliwi jej wykorzystanie jako marker diagnostyczny i ocena skuteczności leczenia. Wyniki większości badań potwierdzają korzystny wpływ regularnego wysiłku fizycznego na profil lipidowy. Mimo braku redukcji masy ciała, aktywność fizyczna może w istotny sposób wpływać na zaburzenia gospodarki lipidowej – zaobserwowano istotne obniżenie małych gęstych cząsteczek LDL bez wpływu na całkowite osoczowe stężenie cholesterolu frakcji LDL podczas aktywności w postaci joggingu na średnim poziomie. Wystąpił także wzrost stężenia cholesterolu HDL oraz obniżenie VLDL i triglicerydów [15]. W wyżej opisanym badaniu zaobserwowano nie tyle ubytek masy ciała, co zmniejszenie obwodu pasa u badanych kobiet. Związane jest to prawdopodobnie ze zwiększoną wrażliwością adipocytów brzusznych na działanie amin katecholowych wyzwalanych podczas wysiłku w porównaniu z adipocytami zlokalizowanymi w innych miejscach. Podczas tego programu zaobserwowano zwiększenie stężenia adiponektyny i stwierdzono ujemną korelację między zmianą obwodu pasa a zmianą stężenia tej cytokiny, z czego wynika, że ilość trzewnej tkanki tłuszczowej wpływa na stężenie adiponektyny w surowicy [15].

POWIKŁANIA SERCOWO-NACZYNIOWE

Wykazano korzystny wpływ adiponektyny na metabolizm lipidów poprzez zwiększenie wychwytu kwasów tłuszczowych i nasilenie oksydacji kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych. Adiponektyna wpływa także na

śródbłonek naczyniowy, dzięki czemu działa przeciwmiażdżycowo. W komórkach śródbłonka hamuje aktywację czynnika jądrowego NF- κB (jądrowy czynnik transkrypcyjny) na drodze zależnej od cAMP. Hamuje adhezję monocytów do komórek śródbłonka, zmniejsza ekspresję czynników adhezyjnych tj. VCAM-1, ICAM-1 czy selektyna E, dzięki czemu osłabia reakcję zapalną. Ma działanie pobudzające angiogenezę oraz hamuje proliferację komórek mięśni gładkich i ich migrację [16]. Sugeruje się ochronny wpływ adiponektyny dla komórek śródbłonka oraz kardiomiocytów. Adiponektyna zwiększa insulinowrażliwość poprzez stymulację fosforylacji kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK), w wątrobie hamuje glukoneogenezę i stymuluje fosforylację karboksylazy acetylokoenzymu A, natomiast w mięśniach nasila oksydację kwasów tłuszczowych poprzez nasilenie ekspresji CD36. Stężenie adiponektyny dodatnio koreluje z liczbą receptorów dla insuliny [8]. U kobiet we wczesnym okresie po menopauzie ryzyko zaburzeń sercowo-naczyniowych jest największe. Wiąże się to ze zmianami w lipidogramie, które polegają na zwiększeniu stężeń VLDL, LDL, oraz TAG, a stężenie HDL ulega obniżeniu. Przeprowadzono badanie [17], w którym dokonano obserwacji zmian lipidogramu oraz stężenia ACRP30 w populacji kobiet po menopauzie oraz w grupach kontrolnych (u kobiet przed menopauzą i u kobiet po 60 roku życia). Stężenie adiponektyny było niższe w badanej populacji niż w grupach kontrolnych i nie uległo istotnym statystycznie wahaniom po podaniu HTZ. Podobnie jak w grupach kontrolnych, zaobserwowano dodatnią korelację między stężeniem ACRP30 oraz HDL, a także ujemną korelację w stosunku do stężenia TAG i wartości BMI. Adiponektyna zatem jest białkiem regulującym metabolizm substancji tłuszczowych u kobiet w wieku pomenopauzalnym.

MUTACJA W GENIE ACDC A CUKRZYCA TYPU 2

Zarówno cukrzyca typu 2 jak i oporność na insulinę to choroby o podłożu wielogenowym. Charakteryzują się brakiem prostych zależności między genotypem a fenotypem, co znacznie utrudnia identyfikację warunkujących je genów.

Choroba ujawnia się dopiero wtedy, gdy dojdzie do wzajemnego oddziaływania kilku defektów genowych zwiększających ryzyko zachorowania. Mutacje w genie ACDC prowadzą do hipoadiponektynemii i/lub obniżenia aktywności biologicznej adiponektyny. Mutacje poza sekwencją kodującą prowadzą do obniżenia ekspresji genu ACDC w tkance tłuszczowej i spadku stężenia adiponektyny we krwi, natomiast mutacje w obrębie sekwencji kodującej skutkują zahamowaniem wydzielania adiponektyny bądź tworzenia jej multimetrów. Przeciwcukrzycowe działanie tego hormonu może zostać zaburzone poprzez zmiany proporcji ilościowych pomiędzy poszczególnymi postaciami multimerycznymi adiponektyny, dlatego że jej aktywność zależy od stopnia oligomeryzacji. U chorych na cukrzycę typu 2 i z insulinoopornością obserwuje się obniżone stężenie adiponektyny we krwi, zatem należy zwrócić uwagę na rolę adiponektyny wydzielanej przez komórki tkanki tłuszczowej w regulacji wrażliwości na insulinę, dzięki czemu możliwa będzie wczesna diagnostyka, a także profilaktyka u osób z grupy ryzyka [9].

ADIPONEKTYNA JAKO MARKER BIOCHEMICZNY

W ciągu ostatnich lat znamiennie wzrosła liczba badań na temat adiponektyny jako markera biochemicznego wielu chorób, jej działania przeciwmiażdżycowego, przeciwcukrzycowego oraz przeciwzapalnego. Duża czułość i specyficzność testów do jej oznaczania potwierdza jej prawdopodobną rolę jako marker, natomiast niezbędne w dalszym ciągu jest zbadanie wszystkich jej mechanizmów działania i określenie dokładnego punktu odcięcia. Cytokina ta cieszy się dużym zainteresowaniem, można więc przypuszczać, że w przyszłości będzie odgrywać ważną rolę w diagnostyce chorób układu krążenia czy cukrzycy [8].

PODSUMOWANIE

Adiponektyna wpływa na wiele procesów metabolicznych, zwłaszcza na przemianę węglowodanów i kwasów tłuszczowych w wątrobie oraz mięśniach, a ważną rolę odgrywa jej działanie zmniejszające insulinooporność. Cytokina ta może stać się biomarkerem służącym do określania ryzyka wystąpienia cukrzycy, miażdżycy czy choroby wieńcowej, a także może być przydatna w zapobieganiu wystąpienia tych chorób. Niezbędne jest prowadzenie dalszych badań, które umożliwią dokładnie poznanie patofizjologicznych efektów działania adiponektyny, co umożliwi w przyszłości jej wykorzystanie w celach diagnostycznych i terapeutycznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Małecki M. T. (2006). Otyłość–insulinooporność–cukrzyca typu 2. Kardiol. Pol, 64 (Suppl 6), 561-566.
2. Report of a WHO Consultation, Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications, Geneva 1999
3. Zimmet P., Alberti K.G., Shaw J.: Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature 2001; 414: 782–787.
4. Skupień J., Klupa T., & Małecki M. (2006). Podłoże genetyczne cukrzycy typu 2. Diabetologia Praktyczna, 7(2).
5. Grzeszczak W. (2010). Patogeneza i leczenie chorych na cukrzycę typu 2 Co nowego opublikowano na ten temat w pierwszej połowie 2010 roku?. Choroby Serca i Naczyń, 7(3), 118-125.
6. Bajkowska-Fiedziukiewicz A., Mikołajczyk-Swatko A., & Cypryk K. (2009). Przewlekłe powikłania w populacji chorych na cukrzycę typu 2. Przegl Menopauz, 3, 170-4.
7. Cox ME., & Edelman D. Testy przesiewowe i diagnostyczne w cukrzycy typu 2.
8. Foremska-Iciek J., Kubacka E., Kujawska-Łuczak M., & Pupek-Musialik D. (2013). Ocena stężenia adiponektyny u pacjentów z otyłością prostą. In Forum Zaburzeń Metabolicznych (Vol. 4, No. 1, pp. 43-54).
9. Karbowska J., Warczak E., & Kochan Z. (2004). Polimorfizm genu i zaburzenia funkcjonalne adiponektyny jako jedna z przyczyn rozwoju oporności na insulinę. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 58.
10. Yamauchi T., Kamon J., Minokoshi Y., Ito Y., Waki H., Uchida S., Yamashita S., Noda M., Kita S., Ueki K., Eto K., Akanuma Y., Froguel P., Foufelle F., Ferre P., Carling D., Kimura S., Nagai R., Kahn B.B., Kadowaki T.: Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty- acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. Nat. Med., 2002; 8: 1288–1295.
11. Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S., Sugiyama T., Miyagishi M., Hara K., Tsunoda M., Murakami K., Ohteki T., Uchida S., Takekawa S., Waki H., Tsuno N.H., Shibata Y., Terauchi Y., Froguel P., Tobe K., Koyasu S., Taira K., Kitamura T., Shimizu T., Nagai R., Kadowaki T.: Cloning of adiponectin receptors that media- te antidiabetic metabolic effects. Nature, 2003; 423: 762–769.
12. Brucka A., Szosland K., Szyłło K., Lewiński A.: Adiponektyna - hormon adipocytarny i jego wieloukładowe znaczenie, Clinical and Experimental Medical Letters, vol. 48, no. 2, 2007, pp. 75-82.
13. Kopp HP., Krzyzanowska K., Möhlig M., Spranger J., Pfeiffer AF., & Schernthaner G. (2005). Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. International journal of obesity (2005), 29(7), 766–771. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802983.
14. Faraj M., Havel P. J., Phélis S., Blank D., Sniderman AD., & Cianflone K. (2003). Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 88(4), 1594–1602. https://doi.org/10.1210/jc.2002-021309.

15. Bogdański P., Iciek J., & Pupek-Musialik D. (2011). Wpływ regularnej aktywności fizycznej na stężenie adiponektyny u otyłych kobiet z zespołem metabolicznym. Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii, 7(4), 213-221.
16. Włudarczyk-Michalewska A., Kaźmierski M., Pawłowski T., Mróz I., Wojakowski W., Tendera M. Stężenie adiponektyny w osoczu chorych z zawałem mięśnia sercowego poddanych zabiegowi przezskórnej angioplastyki wieńcowej. Kardiol. Pol. 2010; 68: 11-20.
17. Sumino H, Takahashi T, Itoh T. Plasma adiponectin levels in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. I Int Med Res 2004; 32: 639-45.

BIOMARKERY W DIAGNOSTYCE CHORÓB UKŁADU KRĄŻENIA

Biomarkers in the diagnosis of cardiovascular diseases

Agnieszka Polak-Iwaniuk[1*]

[1]*Zakład Fizjoterapii, Akademia Łomżyńska; agn.polak@wp.pl (autor korespondencyjny)*

WPROWADZENIE

Choroby układu krążenia od wielu lat są główną przyczyną zgonów w Polsce. Zgodnie z ostatnim raportem Głównego Urzędu Statystycznego w samym 2021 roku z ich powodu zmarło 180 645 osób, co stanowi blisko 35% wszystkich zgonów [1]. Wczesne wykrycie oraz skuteczne leczenie chorób układu krążenia jest aktualnie istotnym wyzwaniem dla systemu ochrony zdrowia. Wysoki koszt oraz niska dostępność sprzętu i personelu medycznego sprawiają, że dostęp do opieki kardiologicznej jest nadal utrudniony. W związku z powyższym stale poszukiwane są rozwiązania, które pomogłyby w pozbyciu się tego problemu. W kontekście przytoczonych informacji przydatne okazują się biomarkery. Zgodnie z wprowadzonym przez National Institute of Health w 2001 roku pojęciem biomarker to „cecha, która daje się obiektywnie zmierzyć i może być zastosowana w ocenie fizjologicznych procesów biologicznych, procesów patologicznych lub odpowiedzi organizmu na działania terapeutyczne". Rozpatrując powyższą definicję w aspekcie kardiologicznym biomarkerem mógłby być wynik badania przedmiotowego, np. pomiaru ciśnienia tętniczego krwi, wynik badania obrazowego, np. rezonansu magnetycznego, jak również wynik oznaczenia stężenia danej substancji w próbce biologicznej pobranej od pacjenta. Aktualnie termin ten stosowany jest w odniesieniu do substancji oznaczanych w płynach ustrojowych bądź tkankach pacjenta [2]. Należy nadmienić, iż nie każdy związek chemiczny może zostać biomarkerem. Aby dane oznaczenie mogło zostać wykorzystane w codziennej praktyce klinicznej musi spełnić trzy podstawowe kryteria. Pierwszym z nich jest dostępność do wykonania

wiarygodnego oznaczenia danej substancji nie tylko w sferze badań naukowych, ale w praktyce klinicznej. Problem z dostępnością do sprzętu, czy też odczynników niezbędnych do przeprowadzenia danej analizy, a także ich nadmierny koszt może zatem wykluczyć możliwość zastosowania oznaczenia danej substancji jako biomarkera. Brak odtwarzalności i powtarzalności danej metody również prowadzi do dyskwalifikacji danego oznaczenia. Aktualnym problemem związanym ze stosowaniem biomarkerów jako wyznaczników procesu chorobowego jest szczegółowe wyznaczenie czynników interferujących w wynik badania. W tym kontekście istotne zagrożenie stanowią suplementy diety przyjmowane przez pacjentów, często bez nadzoru ze strony personelu medycznego. W listopadzie 2017 roku Amerykańska Agencja Żywności i Leków (z ang. Food and Drug Administration, FDA) opublikowała informację, iż nawet powszechnie stosowana biotyna może w istotny sposób interferować w wyniki niektórych badań laboratoryjnych i skutkować uzyskiwaniem błędnych wyników. Opisano przypadek pacjenta przyjmującego biotynę u którego w wyniku przeprowadzenia testu immunoenzymatycznego uzyskano wynik fałszywie ujemny troponin sercowych pomimo wystąpienia zawału mięśnia sercowego, co poskutkowało błędną diagnozą, a następnie niewłaściwym postępowaniem z pacjentem zakończonym zgonem [2, 3]. Kolejnym kryterium stanowiącym o zastosowaniu oznaczenia jako biomarkera jest uzyskiwanie dodatkowych informacji, poza samym określeniem miana danej substancji, po wykonaniu danego testu. Zatem powinny istnieć liczne dowody uzyskane wskutek przeprowadzenia wielu badań, które świadczyłyby o istnieniu związku pomiędzy stężeniem danej substancji a ryzykiem wystąpienia jednostki chorobowej lub rokowaniem przebiegu tej choroby. Istotne jest by nowy biomarker wnosił nowe dane mające znaczenie w praktyce klinicznej poza dotychczas przeprowadzanymi oznaczeniami wykonywanymi dostępnymi, klasycznymi metodami [2]. Trzecim kryterium oceny biomarkera pod względem jego przydatności klinicznej jest jego wpływ na zmianę postępowania lekarza z chorym. Aby kryterium to zostało spełnione, powinny istnieć dowody na możliwość zmierzenia przy pomocy biomarkera modyfikacji czynników ryzyka po wdrożeniu odpowiedniego leczenia. Ponadto, powinno

zostać udowodnione skuteczniejsze diagnozowanie i/lub monitorowanie przebiegu choroby przy użyciu danego biomarkera oraz efektywniejsze leczenie wskutek decyzji podejmowanych na podstawie nowego testu w porównaniu do testów dostępnych dotychczas [2]. Należy jednakże zaznaczyć, że zdarza się, iż wykorzystywane w praktyce klinicznej biomarkery nie spełniają wszystkich przytoczonych powyżej wymagań. Za przykład mogą posłużyć oznaczenia stężeń białka C reaktywnego (z ang. C-reactive protein, CRP) i peptydu natriuretycznego typu B, zwanego także mózgowym peptydem natriuretycznym (z ang. B-type natriuretic peptide; brain natriuretic peptide, BNP) wykorzystywane w diagnostyce ostrych zespołów wieńcowych pomimo braku wystarczających dowodów na wzrost korzyści dla pacjenta wynikających ze zmiany postępowania personelu podejmowanego na podstawie wykonania oznaczenia tych parametrów [4].

BIOMARKERY RYZYKA SERCOWO-NACZYNIOWEGO

Screening populacji pod względem występowania czynników ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych, a następnie wyselekcjonowanie pacjentów ze zwiększonym obciążeniem i objęcie ich odpowiednią opieką medyczną mogłoby przyczynić się do zmniejszenia śmiertelności w tej grupie. Wśród najczęściej opisywanych w literaturze czynników ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych wymienić można nadwagę i otyłość, występowanie zaburzeń lipidowych, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę oraz palenie tytoniu. Tym niemniej należy zauważyć, iż u około 20% pacjentów u których rozpoznano chorobę wieńcową nie stwierdza się występowania wyżej wymienionych klasycznych czynników ryzyka, a w przypadku blisko 40% chorych obserwuje się obecność wyłącznie jednego czynnika ryzyka. W związku z powyższym stale poszukuje się nowych potencjalnych czynników ryzyka rozwoju tych chorób aby umożliwić wcześniejsze zastosowanie strategii prewencyjnych u poszczególnych pacjentów [5]. Pod względem udziału w patofizjologii układu krążenia aktualnie poznane biomarkery ryzyka sercowo-naczyniowego można podzielić na podgrupę biomarkerów

martwicy miokardium, procesów zapalnych, niestabilności blaszki miażdżycowej, aktywacji płytek krwi, aktywacji neurohormonalnej, czy też biomarkerów świadczących o przeciążeniu miokardium [6].

BIOMARKERY MARTWICY MIOKARDIUM

Do najbardziej znanych biomarkerów zaliczanych do tej grupy należą troponiny wysokiej czułości oraz białko wiążące kwasy tłuszczowe typu sercowego (z ang. heart-type fatty acid binding protein, h-FABP) [6]. Kompleks troponin złożony z trzech kulistych białek (troponiny T, I oraz C) znajdujących się w regularnych odstępach w obrębie filamentów cienkich włókna mięśnia poprzecznie prążkowanego, odgrywa rolę w mechanizmie skurczu mięśnia. Sercowa troponina T i I (z ang. cardiac troponin T and I, cTnT, cTnI) są białkami specyficznymi dla mięśnia sercowego, a wzrost ich osoczowego stężenia jest swoistym i czułym biomarkerem uszkodzenia mięśnia sercowego. Ze względu na występowanie identycznej pod względem budowy troponiny C zarówno w miokardium, jak i włóknach mięśni szkieletowych typu II nie może być ona stosowana jako marker specyficzny dla serca. Podczas ostrego zawału mięśnia sercowego cTnT i cTnI uwalniane są z kardiomiocytów objętych martwicą w postaci nienaruszonej, jak również zdegradowanej. Wykrycie troponin sercowych we krwi obwodowej pozwala na wskazanie i ocenę ilościową uszkodzenia kardiomiocytów. Ponadto, troponiny sercowe są bardziej czułym i swoistym markerem uszkodzenia mięśnia sercowego niż kinaza kreatynowa (z ang. creatine kinase, CK), izoenzym CK-MB i mioglobina. Dynamiczny wzrost stężenia troponin sercowych powyżej 99 percentyla u osoby dotychczasowo zdrowej, u której wystąpiły objawy kliniczne związane z niedokrwieniem mięśnia sercowego, wskazuje na wystąpienie ostrego zawału mięśnia sercowego. Należy jednakże podkreślić, iż istotnym ograniczeniem zastosowania konwencjonalnych oznaczeń troponin sercowych jest ich niska czułość w momencie rozpoznania ostrego zawału mięśnia sercowego. Wynika to z opóźnionego wzrostu stężenia troponin w krążeniu systemowym i wymogu wielokrotnego pobierania próbek

krwi przez 6-9 godzin u większości pacjentów [7]. Dzięki nowym technologiom i wprowadzeniu udoskonalonych testów wykrywających troponiny sercowe zwiększyła się zdolność do wykrywania oraz ilościowego określania uszkodzenia kardiomiocytów. Najnowsza generacja testów troponinowych o wysokiej czułości hs-cTn (z ang. high-sensitivity cardiac troponin) zmieniła rolę sercowych troponin jako markera stosowanego wyłącznie w diagnostyce ostrego zawału mięśniowego z trwającym niedokrwieniem mięśnia sercowego w stanach nagłych na marker, który może być stosowany również w przypadku oceny pacjentów u których rozwija się niedokrwienie, a ich stan jest stabilny, a nawet u osób pozornie zdrowych, u których rozwijające się niedokrwienie nie koreluje z występowaniem znaczących objawów klinicznych. W przypadku pacjentów z ostrym zespołem wieńcowych stężenie troponin sercowych oznaczanych testami o wysokiej czułości wzrasta zwykle w ciągu 1 godziny, dzięki czemu zwiększa się możliwość postawienia dokładnej diagnozy w momencie zgłoszenia się pacjenta do oddziału ratunkowego [8]. Cytoplazmatyczne białka wiążące kwasy tłuszczowe stanowią rodzinę białek transportujących kwasy tłuszczowe przez błony komórkowe. FABP są białkami tkankowo specyficznymi - podtyp b-FABP (z ang. brain-FABP) jest specyficzny dla mózgu, l-FABP (z ang. liver-FABP) - dla wątroby, i-FABP (z ang. intestinal-FABP) – dla jelit, a h-FABP (z ang. heart-FABP) - dla mięśnia sercowego. H-FABP występuje obficie w kardiomiocytach, a w mniejszym stopniu w tkance mózgowej, nerkach i mięśniach szkieletowych. Jego ekspresja wzrasta podczas intensywnego wysiłku fizycznego i ostrego udaru niedokrwiennego. Na podstawie analizy krzywych ROC wykazano, że ocena stężenia h-FABP ma większą wartość diagnostyczną niż pomiar stężenia troponin sercowych, a zastosowany jako dodatkowy parametr zwiększa wartość diagnostyczną troponin u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym [9].

BIOMARKERY STANU ZAPALNEGO

Białko C reaktywne (z ang. c-reactive protein, CRP) jest białkiem ostrej fazy, niespecyficznym markerem stanu zapalnego. Jego rola w chorobach układu sercowo-naczyniowego jest w centrum zainteresowania wielu naukowców na całym świecie. CRP jest zaangażowane w proces zakrzepicy miażdżycowej wskutek indukcji zwiększonej ekspresji i aktywności inhibitora aktywacji plazminogenu typu 1 (z ang. plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1), a tym samym wzmożenia aktywności prozakrzepowej [10]. Badania przeprowadzone u zdrowych kobiet i mężczyzn wskazują na istnienie związku pomiędzy wzrostem stężenia CRP a zwiększonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych niezależnym od innych czynników ryzyka. Wprowadzenie oznaczeń o wysokiej czułości – hsCRP (z ang. high sensitivity c-reactive protein) umożliwiło wykrywanie poziomów CRP na poziomie niższym niż 5 mg/l. Metaanaliza danych klinicznych pochodzących od 160 tys. pacjentów, wśród których zaobserwowano blisko 28 tys. incydentów sercowo-naczyniowych wykazała, że wzrost stężenia hsCRP (w postaci log-znormalizowanej) o każde odchylenie standardowe wiąże się ze względnym wzrostem ryzyka choroby niedokrwiennej serca i śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych odpowiednio o 1,37 i 1,55 raza [11]. Kolejnym, wartym omówienia biomarkerem stanu zapalnego jest białko GDF-15 (z ang. growth-differentiation factor-15, czynnik różnicowania wzrostu 15) wydzielane przez zaktywowane makrofagi w wyniku pojawienia się m.in. stresu oksydacyjnego oraz niedokrwienia [6]. Do dnia dzisiejszego toczy się dyskusja czy GDF-15 jest zaangażowany w patologiczny proces przyczynowo-skutkowy prowadzący do chorób sercowo-naczyniowych, czy też może pełni funkcję kardioprotekcyjną podczas tych zdarzeń. Na podstawie badań przeprowadzonych na myszach pozbawionych genu kodującego GDF-15 stwierdzono, iż białko GDF-15 odgrywa główną rolę w kontrolowaniu rekrutacji komórek zapalnych poprzez bezpośrednie interferowanie w aktywację integryn i hamowanie zatrzymywania leukocytów aktywowanych chemokinami na śródbłonku w obszarze mięśnia sercowego objętego zawałem. Brak GDF-15 u myszy skutkował zwiększoną rekrutacją leukocytów wielojądrzastych do mięśnia sercowego objętego zawałem

i zwiększonym ryzykiem śmiertelnego w skutkach pęknięcia ściany mięśnia sercowego [12]. GDF-15 jest silnym predykatorem śmiertelności zarówno z przyczyn sercowo-naczyniowych, jak i innych u osób starszych, w szczególności kiedy jest analizowany wraz z innymi czynnikami ryzyka oraz stężeniem CRP. Sugeruje się, że GDF-15 jest zaangażowany w procesy biologiczne związane ze starzeniem organizmu [6]. Fibrynogen jako białko ostrej fazy syntetyzowane w wątrobie zaangażowane jest w proces agregacji płytek krwi, regulację lepkości osocza i tworzenie skrzepu. Podwyższone stężenie fibrynogenu wiąże się ze zwiększonym ryzykiem występowania incydentów sercowo-naczyniowych. W badaniach przeprowadzonych w ramach współpracy w zakresie badań nad fibrynogenem (Fibrinogen Studies Collaboration) wykazano, że wysoki poziom fibrynogenu jest czynnikiem ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej i udaru mózgu oraz śmiertelności [13]. Ponadto, fibrynogen składa się z trzech par łańcuchów polipeptydowych Aα, Bβ i γ, przy czym ten ostatni występuje w dwóch izoformach γA i γ` powstających w wyniku alternatywnej obróbki mRNA. Fibrynogen γ` stanowi około 7% osoczowego fibrynogenu, a jego podwyższony poziom stwierdzono u osób ze stanami patologicznymi. Wyższe stężenia fibrynogenu γ` w osoczu prowadzą do powstawania skrzeplin silnie opornych na fibrynolizę. Wykazano, że istnieje pozytywny związek pomiędzy wzrostem stężenia osoczowego poziomu fibrynogenu γ` a incydentami choroby wieńcowej, udarem niedokrwiennym, chorobą tętnic obwodowych, niewydolnością serca i zgonami z przyczyn sercowo-naczyniowych [14].

Kolejnym biomarkerem stanu zapalnego w aspekcie chorób kardiologicznych jest kwas moczowy będący końcowym produktem metabolizmu puryn. Uważa się, iż inaktywacja urokinazy i następujące po niej zwiększenie stężenia kwasu moczowego są korzystne pod względem ewolucyjnym wskutek tworzenia ochrony przed uszkodzeniami oksydacyjnymi [15]. Tym nie mniej, postawiono hipotezę, że podwyższony poziom kwasu moczowego w osoczu przyczynia się do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, nawet poniżej klinicznego progu hiperurykemii poprzez zwiększenie stresu oksydacyjnego, promowanie dysfunkcji śródbłonka naczyniowego i nasilenie stanu zapalnego. Ponadto

wykazano, że zwiększone stężenie kwasu moczowego związane jest z większym ryzykiem wystąpienia nagłej śmierci sercowej niezależnej od innych, tradycyjnych czynników ryzyka. Wpływ ten jest dość istotny, ponieważ wzrost stężenia kwasu moczowego o 1 mg/dl wiąże się z 2,4 razy wyższym ryzykiem nagłej śmierci sercowej [6].

BIOMARKERY NIESTABILNOŚCI BLASZKI MIAŻDŻYCOWE

Osoczowe białko ciążowe A (z ang. pregnancy-associated plasma protein-A, PAPP-A), pierwotnie zidentyfikowane u kobiet w ciąży, wytwarzane jest przez łożysko. Białko to odpowiada za aktywację insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (z ang. insulin-derived growth factor-1, IGF-1), pod wpływem którego dochodzi do indukcji stanu zapalnego oraz zwiększenia dokomórkowego wychwytu lipidów, co może sprzyjać zjawisku aterogenezy i destabilizacji istniejących blaszek miażdżycowych. Badania wykazały, że podwyższony poziom PAPP-A u pacjentów zarówno ze stabilną, jak i niestabilną chorobą wieńcową wiąże się z większym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych. Ponadto, stwierdzono że PAPP-A jest zaangażowane w pojawianie się nawracających incydentów niedokrwiennych u pacjentów z podejrzeniem ostrego zespołu wieńcowego [6]. Przy pomocy wirtualnej histologii i ultrasonografii wewnątrznaczyniowej dowiedziono, że wyższe poziomy PAPP-A są związane z większym prawdopodobieństwem rozwoju blaszki miażdżycowej o cienkiej czapeczce łącznotkankowej (ang. thin-cap fibroatheroma, TCFA) u pacjentów z chorobą wieńcową. Badania autopsyjne sugerują, że większość ostrych zespołów wieńcowych występuje po pęknięciu TCFA. W związku z powyższym PAPP-A może być użytecznym biomarkerem badanym w surowicy krwi do przewidywania nie tylko zwiększonego ryzyka wystąpienia TCFA, ale również niestabilności blaszek miażdżycowych, a w końcu stratyfikacji ryzyka ostrego zespołu wieńcowego [16]. Innym biomarkerem niestabilności blaszek miażdżycowych może być mieloperoksydaza wytwarzana przez leukocyty wielojądrzaste oraz monocyty zaktywowane stanem zapalnym. Wskutek wytwarzania mieloperoksydazy

przez makrofagi zdolne do aktywacji metaloproteinaz macierzy (z ang. matrix metalloproteinases, MMPs) i hamowania tkankowych inhibitorów MMPs (z ang. tissue inhibitors of MMPs, TIMPS) dochodzi do utleniania lipoprotein o małej gęstości (z ang. low densiity lipoprotein, LDL) na drodze wytwarzania kwasu podchlorawego, indukcji utleniania ApoA-I i zmniejszenia zdolności wypływu cholesterolu. Uważa się, iż mieloperksydaza jest głównym czynnikiem przyczyniającym się do powstawania i pękania płytki miażdżycowej. Liczne badania podkreślają rolę mieloperoksydazy jako krążącego markera stanu zapalnego w ostrym zespole wieńcowym i zawale mięśnia sercowego. Nicholas i wsp. wykazali, że wzrost stężenia mieloperksydazy pozwalał na przewidzenie zdarzeń sercowo-naczyniowych do 16 godzin po wystąpieniu bólu w klatce piersiowej [17].

Kolejną podgrupę stanowią MMPs należące do rodziny enzymów proteolitycznych zależnych od jonów cynku, których funkcja opiera się na udziale w procesach przebudowy i/lub degradacji elementów macierzy pozakomórkowej, co może spowodować destabilizację blaszki miażdżycowej. MMP-2, MMP-8 i MMP-9 zostały oficjalnie uznane za proteazy przyczyniające się pękania blaszek miażdżycowych i występowania zdarzeń klinicznych wskutek degenerowania elementów strukturalnych blaszki miażdżycowej. Ponadto, stężenie MMP-2 ulega wzrostowi po ostrym zawale mięśnia sercowego oraz jest niezależnym predykatorem śmiertelności w tej grupie pacjentów. Zwiększona aktywność MMP-2 wiąże się z większą częstością późniejszych incydentów niedokrwiennych naczyń mózgowych[6]. Z kolei podwyższony poziom MMP-8 w blaszce miażdżycowej tętnicy szyjnej związany jest z niestabilnym fenotypem blaszki i wystąpieniem zdarzenia sercowo-naczyniowego[18].

MARKERY AKTYWACJI PŁYTEK KRWI

Fosfolipaza A2 związana z lipoproteiną (z ang. lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2) jest związkiem produkowanym głównie przez monocyty i makrofagi, który może modyfikować powierzchnię cząsteczek LDL

w procesie hydrolizy fosfolipidów skutkując wzrostem podatności LDL na utlenianie. Gdy LDL ulegnie utlenieniu, Lp-PLA2 umożliwia uwolnienie fosfatydylocholiny i utlenionych kwasów tłuszczowych uruchamiając kaskadę zapalną. Akumulacja fosfatydylocholiny i utlenionych kwasów tłuszczowych w przestrzeni pod błoną wewnętrzną tętnic wpływa na powstawanie rdzenia lipidowego blaszek miażdżycowych oraz przemianę makrofagów w komórki piankowate. Powyższe dane wskazują na udział Lp-PLA2 w procesie powstawania blaszek miażdżycowych oraz występowania ostrych zespołów wieńcowych. Ponadto, stwierdzono że wzrost stężenia Lp-PLA2 może poprzedzać nawrót dusznicy bolesnej, zawał mięśnia sercowego oraz niewydolność serca [19]. Fosfolipaza A2 występuje także w formie wydzielniczej (z ang. secretory phospholipase A2, sPLA2) w postaci izoenzymów sPLA2-IB, -IIA, -IIC, -IID, -IIE, -IIF, -III, -V, -X i –XIIA. Spośród nich, sPLA2-IIA, sPLA2-V i sPLA2-X zostały zlokalizowane w obszarach zmienionych miażdżycowo oraz w obszarach mięśnia sercowego, które uległy uszkodzeniu wskutek niedokrwienia. Powyższe izoenzymy sPLA2 mogą brać udział w aterogenezie i generowaniu stanu zapalnego wskutek promowania retencji lipoprotein przy udziale proteoglikanów naczyniowych, agregacji płytek krwi związanej z aktywacją szlaku prostanoidów i utleniania LDL [20]. Frakcja rozpuszczalna ligandu CD40 (z ang. soluble CD40 ligand, sCD40L) będąca członkiem nadrodziny czynnika martwicy nowotworu ulega ekspresji w różnych typach komórek. Ekspresję cząsteczki CD40L stwierdzono w komórkach odpornościowych, m in. limfocytach, neutrofilach i makrofagach, a także w komórkach nienależących do układu immunologicznego takich jak komórki mięśni gładkich naczyń krwionośnych czy też komórkach śródbłonka. Po związaniu się z receptorem cząsteczki CD40L wykazują właściwości immunomodulujące. Ekspresjonowana na powierzchni komórki cząsteczka CD40L ulega hydrolizie wskutek której uwalniane są jego rozpuszczalne fragmenty, czyli sCD40L. Cząsteczki te są zdolne do wiązania się z kompleksem glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa poprzez obecny w sCD40L kompleks lizyna-kwas glutaminowy co powoduje, iż płytki krwi wykazują większą skłonność do tworzenia zakrzepów. Obecność sCD40L wiąże się z miażdżycą tętnic i niestabilnością płytki miażdżycowej.

Cząsteczki sCD40L mogą wiązać się z receptorami na powierzchni trombocytów prowadząc w ten sposób do ich aktywacji i dalszego wydzielania w postaci rozpuszczalnej, co propaguje proces agregacji płytek krwi [21]. Wykazano, że poziom ekspresji sCD40L wzrastał istotnie u pacjentów z cukrzycą i hipercholesterolemią, u których potwierdzono chorobę wieńcową, Ponadto, wysokie poziomy sCD40L stwierdzono również u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym, co może świadczyć o tym, iż cząsteczki te odgrywają istotną rolę w inicjowaniu incydentów miażdżycowo-zakrzepowych. W badaniu C7E3 Fab Anitplatelet Therapy in Unastable Refractory Angina (CAPTURE) w którym u pacjentów z niestabilnymi zespołami wieńcowymi wskutek doustnego podawania orbofibanu hamowano aktywność glikoproteiny IIb/IIIa, podwyższony poziom sCD40L był związany z wyższym ryzykiem zawału mięśnia sercowego i zgonu. Wyniki badań wskazują również, iż podwyższony poziom ekspresji sCD40L jest niezależnym predykatorem nawrotu udaru mózgu u pacjentów z przemijającym napadem niedokrwiennym i ostrym, małym udarem mózgu [21].

BIOMARKERY AKTYWACJI NEUROHORMONALNEJ

Coraz szersze grono badaczy zajmuje się tematyką neurohormonalnej regulacji układu krążenia i możliwości wykorzystania jej składowych w roli biomarkerów chorób sercowo-naczyniowych. Jednym z takich parametrów jest kopeptyna, będąca glikolizowanym, 39-aminokwasowym peptydem. Cząsteczka ta jest C-końcową częścią prekursora pre-prowazopresyny (pre-proAVP) i pod względem ilościowym uwalnia się w takim samym stopniu co wazopresyna. Z podwzgórza kopeptyna wraz z wazopresyną drogą transportu aksonalnego docierają do tylnego płata przysadki mózgowej skąd wspólnie uwalniane są ogólnoustrojowo w sposób równomolowy w odpowiedzi na bodźce osmotyczne (hipertoniczność) i hemodynamiczne (hipowolemia, hipoperfuzja). W porównaniu do wazopresyny, której okres półtrwania wynosi 5-20 minut, kopeptyna jest stabilna i w osoczu utrzymuje się przez kilka dni. W przeciwieństwie do

peptydów natriuretycznych, na poziom kopeptyny w osoczu nie mają istotnego wpływu zmienne kliniczne, m. in. płeć, wiek, czy też otyłość pacjenta. W związku z powyższym zamiast wazopresyny to właśnie kopeptyna została uznana za odpowiedni biomarker chorób serca i predyktor śmiertelności. Kopeptyna ma stosunkowo niską swoistość, ale wysoką czułość, a zatem może być stosowana jako marker wykluczający (o znacznie wysokiej wartości predykcyjnej ujemnej) w zakresie szerokiego spektrum obrazów klinicznych, w tym ostrych zespołów wieńcowych. Aktualnie, uważa się, iż kopeptyna jest markerem aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza w sytuacjach stresowych [22]. Adrenomedullina (z ang. adrenomedullin, ADM) jest hormonem polipeptydowym zbudowanym z 52 aminokwasów, wyizolowanym po raz pierwszy w 1993 roku z komórek guza chromochłonnego nadnerczy. Fizjologicznie ADM wykazuje silne działanie wazodylatacyjne i poza rdzeniem nadnerczy jest syntetyzowana również przez komórki śródbłonka naczyniowego i mięśnia sercowego w odpowiedzi na rozciąganie fizyczne oraz pod wpływemi cytokin prozapalnych. Stężenie ADM w mięśniu sercowym wzrasta w wyniku przeciążenia ciśnieniowego i objętościowego. Ze względu na krótki okres półtrwania i obecność białek wiążących ADM występują trudności z pomiarem poziomu tego hormonu. W tym celu wykorzystuje się metodę pośrednią, polegająca na ilościowym zmierzeniu środkowo-regionalnej pro-adrenomeduliny (MR-proADM), wytwarzanej w stosunku 1:1 z aktywnym ADM, która charakteryzuje się większą stabilnością. Wykazano, że MR-proADM ma silną wartość prognostyczną śmiertelności u pacjentów z niewydolnością mięśnia sercowego po przebyciu ostrego zawału mięśnia sercowego, przewyższając nawet wartość NT-proBNP w przewidywaniu ryzyka [23]. W badaniu prospektywnym przeprowadzonym przez Bahrmanna i wsp. dowiedziono, że MR-proADM był jedynym predyktorem zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów w wieku powyżej 70 lat, którzy trafiali na oddział ratunkowy [24]. Dodatkowo, wykazano istnienie dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem MR-proADM a ciśnieniem tętna mierzonym na ramieniu i grubością błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej. W związku z powyższym MR-proADM wydaje się być obiecującym markerem prognostycznym

wczesnego rozwoju blaszki miażdżycowej i subklinicznej oceny chorób sercowo-naczyniowych [24].

BIOMARKERY PRZECIĄŻENIA MIOKARDIUM

Najszerzej wykorzystywanymi w kardiologii markerami dysfunkcji mięśnia sercowego są peptydy natriuretyczne. Ich główna rola fizjologiczna polega na regulacji gospodarki wodnej i sodowej w organizmie człowieka. Chociaż odkryto przedsionkowy peptyd natriuretyczny (z ang. atrial natriuretic peptide, ANP), peptyd natririuretyczny typu B (z ang. B-type natriuretic peptide, BNP), peptyd natriuretyczny typu C (z ang. C-type natriuretic peptide, CNP) i peptyd natriuretyczny Dendroaspis (z ang. Dendroaspis natriuretic peptide, DNP) to w miocytach zachodzi głównie produkcja ANP (przedsionki) i BNP (komory). W warunkach nadmiernego rozciągnięcia mięśnia sercowego indukcja genu BNP powoduje produkcję i sekrecję prohormonu, który jest rozszczepiany do formy stabilnej biologicznie – N–końcowego peptydu natriuretycznego typu B (z ang. N-terminal pro–B-type natriuretic peptide, NT-proBNP) [5, 6, 25]. Wzrost stężenia NT-proBNP koreluje ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zawału mięśnia sercowego. MR-proANP (z ang. Mid-Regional pro-Atrial Natriuretic Peptide) jest fragmentem prohormonu ANP, który wytwarzany jest przez kardiomiocyty w odpowiedzi na wzrost ciśnienia lub przeciążenie objętościowe. MR-proANP jest zasadniczo bardziej stabilnym peptydem niż ANP. Podobnie do NT-proBNP, MR-proANP jest czynnikiem prognostycznym niekorzystnego przebiegu ostrej, zdekompensowanej niewydolności serca (z ang. acute decompensated heart failure, ADHF). Wykazano, że MR-proANP jest niezależnym czynnikiem prognostycznym śmierci w czasie 4 lat obserwacji wskutek ADHF [6]. Ponadto, specyficzne warianty genu NPR-A kodującego ANP są związane z występowaniem nadciśnienia tętniczego i dysfunkcji wczesnorozkurczowej (z wydłużonym czasem izowolumetrycznym) wraz z niewydolnością lewej komory serca. Natomiast polimorfizm pojedynczego nukleotydu rs5068 zlokalizowany w trzech głównych, nieulegających translacji regionach 3`-UTR genu ANP,

wiąże się ze zwiększonym poziomem krążącego ANP, co prowadzi do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi, zmniejszenia prawdopodobieństwa wystąpienia nadciśnienia i wpływa pozytywnie na profil kardiometaboliczny zmniejszając ryzyko pojawienia się otyłości, cukrzycy typu 2 i zespołu metabolicznego, czyli warunków sprzyjających przerostowi mięśnia sercowego [25]. Endotelina 1 (ET-1) jest 21-aminokwasowym peptydem. Jako hormon wykazuje działanie wazokonstrykcyjne i profibrynolityczne. Poziom wydzielania ET-1 przez komórki śródbłonka naczyniowego koreluje z naprężeniem ścinającym i ciśnieniem w tętnicy płucnej. Wykazano, że podwyższony poziom ET-1 wiąże się z gorszym stanem klinicznym i zwiększoną 180-dniową śmiertelnością u pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrego zawału mięśnia sercowego [26]. Należy jednakże podkreślić fakt, iż ze względu na niestabilność osoczowego ET-1 zastosowane kliniczne tego hormonu jest ograniczone. C-końcowa część pro-ET-1 (CT-pro-ET1) jest bardziej stabilną formą ET-1 i w sposób pośredni pozwala na monitorowanie aktywności śródbłonka. Dowiedziono, że u pacjentów w stanie stabilnym z ostrym niedokrwieniem mięśnia sercowego oraz chorobą wieńcową wzrost stężenia CT-pro-ET-1 wiąże się ze wzrostem ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych i zawału mięśnia sercowego niezależnie od zmiennych klinicznych, a wartość prognostyczna tego wskaźnika jest porównywalna z BNP lub NT-proBNP [6, 26]. ST2, należący do rodziny receptorów interleukin 1, nazwany również IL-1RL1 (z ang. interleukin 1 receptor-like 1), występuje w formie receptora przezbłonowego (ST2L) i rozpuszczalnej w osoczu (sST2). Jego rola polega na aktywacji limfocytów Th2 i wytwarzania przez te komórki cytokin. Badania przeprowadzone wśród pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego oraz ostrą i przewlekłą niewydolnością serca wykazały związek między wyższymi stężeniami sST2 w osoczu a zwiększonym ryzykiem zgonu i niepożądanych zdarzeń sercowych niezakończonych zgonem takich jak nasilenie niewydolności serca, ponowny zawał serca czy też udar. W przypadku stabilnej choroby wieńcowej podwyższony poziom sST2 jest również niezależnym predyktorem długoterminowej śmiertelności z jakiejkolwiek przyczyny oraz dostarcza uzupełniających informacji prognostycznych do hs-cTNT i NT-proBNP[27].

Badania przeprowadzone na populacji osób dorosłych o niskim poziomie ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych wykazały, że istnieje pozytywna korelacja pomiędzy poziomem sST2 a zwiększoną śmiertelnością ogólną i śmiertelnością wynikającą z przyczyn sercowo-naczyniowych. Sugeruje się, że alarmującą wartością osoczowego sST2 w kwestii przewidywania ryzyka sercowo-naczyniowego jest 35 ng/ml [28].

PODSUMOWANIE

Chociaż w literaturze pojawiają się liczne doniesienia o nowych biomarkerach to ich rola w ocenie ryzyka pojawienia się incydentów sercowo-naczyniowych i wyraźna użyteczność kliniczna nie zostały jeszcze w pełni wyjaśnione. W związku z powyższym należy pamiętać, że biomarkery stanowią pomoc w diagnostyce i leczeniu chorób układu krążenia dopiero w połączeniu z informacjami uzyskanymi dzięki wywiadowi klinicznemu i wykonanym badaniom laboratoryjnym, radiologicznym, czy też ultrasonograficznym o potwierdzonej wartości diagnostycznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Główny Urząd Statystyczny (2023). Umieralność w 2021 roku. Zgony według przyczyn – dane wstępne. Dostępne na: https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/ludnosc/statystyka-przyczyn-zgonow/umieralnosc-w-2021-roku-zgony-wedlug-przyczyn-dane-wstepne,10,3.html, data dostępu [07 May 2023].
2. Śpiewak M., Kruk M.: Novel methods in diagnostics and therapyBiomarkers in acute coronary syndromes. Advances in Interventional Cardiology/Postępy w Kardiologii Interwencyjnej, 2008, 4(4), 183-187.
3. Chang M.J., Lipner S.R: Altmetric analysis of biotin in scholarly outputs after the biotin Food and Drug Administration warning. J Am Acad Dermatol, 2020, 82(4), 1017-1018.
4. Morrow D.A., Cannon C. P., Jesse R. L., Newby L. K., Ravkilde J., Storrow A. B., Wu A. H., Christenson R. H., National Academy of Clinical Biochemistry: National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. Circulation, 2007, 115(13), e356-75.
5. Kluk M.K.: Współczesne biomarkery przydatne w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego. Folia Cardiologica, 2017, 12(3), 335-337.
6. Wang J., Tan G. J., Han L. N., Bai Y. Y., He M., Liu H. B.: Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction. J Geriatr Cardiol, 2017, 14(2), 135-150.
7. Thygesen K., Alpert J. S., Jaffe A. S., Simoons M. L., Chaitman B. R., White H. D., Writing Group on the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction,Thygesen K., Alpert J. S., White H. D., Jaffe A. S., Katus H. A., Apple F. S., Lindahl B., Morrow D. A., Chaitman B. A., Clemmensen P. M., Johanson P., Hod H., Underwood R., Bax J. J., Bonow R. O., Pinto F., Gibbons R. J., Fox K. A., Atar D., Newby L. K., Galvani M., Hamm C. W., Uretsky B. F., Steg P. G., Wijns W., Bassand J. P., Menasché P., Ravkilde J., Ohman E. M., Antman E. M., Wallentin L. C., Armstrong P. W., Simoons M. L., Januzzi J. L., Nieminen M. S., Gheorghiade M., Filippatos G., Luepker R. V., Fortmann S. P., Rosamond W. D., Levy D., Wood D., Smith S. C., Hu D., Lopez-Sendon J. L., Robertson R. M., Weaver D.,

Tendera M., Bove A. A., Parkhomenko A. N., Vasilieva E. J., Mendis S., ESC Committee for Practice Guidelines (CPG): Third universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J, 2012, 33(20), 2551-67.
8. Korley F.K., Jaffe A.S.: Preparing the United States for high-sensitivity cardiac troponin assays. J Am Coll Cardiol, 2013, 61(17), 1753-8.
9. Gami B. N., Patel D. S., Haridas N., Chauhan K. P., Shah H., Trivedi A.: Utility of Heart-type Fatty Acid Binding Protein as a New Biochemical Marker for the Early Diagnosis of Acute Coronary Syndrome. J Clin Diagn Res, 2015, 9(1), BC22-4.
10. Devaraj S., Xu D.Y., Jialal I.: C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. Circulation, 2003, 107(3), 398-404.
11. Kaptoge S., Di Angelantonio E., Lowe G., Pepys M. B., Thompson S. G., Collins R., Danesh J., Emerging Risk Factors Collaboration: C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. Lancet, 2010, 375(9709), 132-40.
12. Kempf T., Zarbock A., Widera C., Butz S., Stadtmann A., Rossaint J., Bolomini-Vittori M., Korf- Klingebiel M., Napp L. C., Hansen B., Kanwischer A., Bavendiek U., Beutel G., Hapke M., Sauer M. G., Laudanna C., Hogg N., Vestweber D., Wollert K. C.: GDF-15 is an inhibitor of leukocyte integrin activation required for survival after myocardial infarction in mice. Nat Med, 2011, 17(5), 581-8.\
13. Danesh J., Lewington S., Thompson S. G., Lowe G. D., Collins R., Kostis J. B., Wilson A. C., Folsom A. R., Wu K., Benderly M., Goldbourt U., Willeit J., Kiechl S., Yarnell J. W., Sweetnam P. M., Elwood P. C., Cushman M., Psaty B. M., Tracy R. P., Tybjaerg-Hansen A., Haverkate F., de Maat M. P., Fowkes F. G., Lee A. J., Smith F. B., Salomaa V., Harald K., Rasi R., Vahtera E., Jousilahti P., Pekkanen J., D'Agostino R., Kannel W. B., Wilson P. W., Tofler G., Arocha-Piñango C. L., Rodriguez-Larralde A., Nagy E., Mijares M., Espinosa R., Rodriquez-Roa E., Ryder E., Diez-Ewald M. P., Campos G., Fernandez V., Torres E., Marchioli R., Valagussa F., Rosengren A., Wilhelmsen L., Lappas G., Eriksson H., Cremer P., Nagel D., Curb J. D., Rodriguez B., Yano K., Salonen J. T., Nyyssönen K., Tuomainen T. P., Hedblad B., Lind P., Loewel H., Koenig W., Meade T. W., Cooper J. A., De Stavola B., Knottenbelt C., Miller G. J., Cooper J. A., Bauer K. A., Rosenberg R. D., Sato S., Kitamura A., Naito Y., Palosuo T., Ducimetiere P., Amouyel P., Arveiler D., Evans A. E., Ferrieres J., Juhan-Vague I., Bingham A., Schulte H., Assmann G., Cantin B., Lamarche B., Després J. P., Dagenais G. R., Tunstall-Pedoe H., Woodward M., Ben-Shlomo Y., Davey Smith G., Palmieri V., Yeh J. L., Rudnicka A., Ridker P., Rodeghiero F., Tosetto A., Shepherd J., Ford I., Robertson M., Brunner E., Shipley M., Feskens E. J., Kromhout D., Dickinson A., Ireland B., Juzwishin K., Kaptoge S., Lewington S., Memon A., Sarwar N., Walker M., Wheeler J., White I., Wood A., Fibrinogen Studies Collaboration: Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. JAMA, 2005, 294(14), 1799-809.
14. Appiah D., Schreiner P. J., MacLehose R. F., Folsom A. R.: Association of Plasma γ' Fibrinogen With Incident Cardiovascular Disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015, 35(12), 2700-6.
15. Fabbrini E., Serafini M., Colic Baric I. Hazen S. L., Klein S.: Effect of plasma uric acid on antioxidant capacity, oxidative stress, and insulin sensitivity in obese subjects. Diabetes, 2014, 63(3), 976-81.
16. Wu X. F., Yang M., Qu A. J., Mintz G. S., Yang Y., Shang Y. P., Gao H., Zhang Y. C., Ge C. J., Wang L. Y., Wang L., Pu J.: Level of Pregnancy-associated Plasma Protein-A Correlates With Coronary Thin-cap Fibroatheroma Burden in Patients With Coronary Artery Disease: Novel Findings From 3-Vessel Virtual Histology Intravascular Ultrasound Assessment. Medicine (Baltimore), 2016, 95(3), e2563.
17. Nicholls S. J., Tang W. H., Brennan D., Brennan M. L., Mann S., Nissen S. E. Hazen S. L.: Risk prediction with serial myeloperoxidase monitoring in patients with acute chest pain. Clin Chem, 2011, 57(12), 1762-70.
18. 18. Peeters W., Moll F. L., Vink A., van der Spek P. J., de Kleijn D. P., de Vries J. P., Verheijen J. H., Newby A. C., Pasterkamp G.: Collagenase matrix metalloproteinase-8 expressed in atherosclerotic carotid plaques is associated with systemic cardiovascular outcome. Eur Heart J, 2011, 32(18), 2314-25.
19. 19. Zhang H., Gao Y., Wu D., Zhang D.: The relationship of lipoprotein-associated phospholipase A2 activity with the seriousness of coronary artery disease. BMC Cardiovasc Disord, 2020, 20(1), 295.
20. Holmes M.V., Simon T., Exeter H. J., Folkersen L., Asselbergs F. W., Guardiola M., Cooper J. A., Palmen J., Hubacek J. A., Carruthers K. F., Horne B. D., Brunisholz K. D., Mega J. L., van Iperen E. P. A., Li M., Leusink M., Trompet S., Verschuren J. J. W., Hovingh G. K., Dehghan A., Nelson C. P., Kotti S., Danchin N., Scholz M., Haase C. L., Rothenbacher D., Swerdlow D. I., Kuchenbaecker K. B., Staines-Urias E., Goel A., van 't Hooft F., Gertow K., de Faire U., Panayiotou A. G., Tremoli E., Baldassarre D., Veglia F., Holdt L. M., Beutner F., Gansevoort R. T., Navis G. J., Mateo Leach I., Breitling L. P., Brenner H., Thiery J., Dallmeier D., Franco-Cereceda A., Boer J. M. A., Stephens J. W., Hofker M. H., Tedgui A., Hofman A., Uitterlinden A. G., Adamkova V., Pitha J., Onland-Moret N. C., Cramer M. J., Nathoe H. M., Spiering W., Klungel O. H., Kumari M., Whincup P. H., Morrow D. A., Braund P. S., Hall A. S., Olsson A. G., Doevendans P. A., Trip M. D., Tobin M. D., Hamsten A., Watkins H., Koenig W., Nicolaides A. N., Teupser D., Day I. N. M., Carlquist J. F., Gaunt T. R., Ford I., Sattar N., Tsimikas S., Schwartz G. G., Lawlor D. A., Morris R. W., Sandhu M. S., Poledne R., Maitland-van der Zee A. H., Khaw K. T., Keating B. J., van der Harst P., Price J. F., Mehta S. R., Yusuf S., Witteman J. C. M., Franco O. H., Jukema J. W., de Knijff P., Tybjaerg-Hansen A., Rader D. J., Farrall M., Samani N. J., Kivimaki M., Fox K. A. A., Humphries S. E., Anderson J. L., Boekholdt S. M., Palmer T. M., Eriksson P., Paré G., Hingorani A. D., Sabatine M.

S., Mallat Z., Casas J. P., Talmud P. J.: Secretory phospholipase A(2)-IIA and cardiovascular disease: a mendelian randomization study. J Am Coll Cardiol, 2013, 62(21), 1966- 1976.
21. Tascanov M. B., Tanriverdi Z., Gungoren F., Besli F., Erkus M. E., Gonel A., Koyuncu I., Demirbag R.: Association between the No-Reflow Phenomenon and Soluble CD40 Ligand Level in Patients with Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. Medicina (Kaunas), 2019, 55(7).
22. Yalta K., Yetkin E., Yalta T.: Serum Copeptin in Cardiooncology Practice: Review of Pathophysiological and Clinical Implications. Balkan Med J, 2023, 40(2), 82-92.
23. Klip I. T., Voors A. A., Anker S. D., Hillege H. L., Struck J., Squire I., van Veldhuisen D. J., Dickstein K., investigators O.: Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin in patients with heart failure after an acute myocardial infarction. Heart, 2011, 97(11), 892-8.
24. Bahrmann P., Christ M., Hofner B., Bahrmann A., Achenbach S., Sieber C. C., Bertsch T.: Prognostic value of different biomarkers for cardiovascular death in unselected older patients in the emergency department. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care, 2016, 5(8), 568-578.
25. Sarzani R., Allevi M., Di Pentima C., Schiavi P., Spannella F., Giulietti F.: Role of Cardiac Natriuretic Peptides in Heart Structure and Function. Int J Mol Sci, 2022, 23(22).
26. Perez A. L., Grodin J. L., Wu Y., Hernandez A. F., Butler J., Metra M., Felker G. M., Voors A. A., McMurray J. J., Armstrong P. W. , Starling R. C., O'Connor C. M., Tang W. H.: Increased mortality with elevated plasma endothelin-1 in acute heart failure: an ASCEND-HF biomarker substudy. Eur J Heart Fail, 2016, 18(3), 290-7.
27. Dieplinger B., Egger M., Haltmayer M., Kleber M. E., Scharnagl H., Silbernagel G., de Boer R. A., Maerz W., Mueller T.: Increased soluble ST2 predicts long-term mortality in patients with stable coronary artery disease: results from the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study. Clin Chem, 2014, 60(3), 530-40.
28. Zhang T., Xu C., Zhao R., Cao Z.: Diagnostic Value of sST2 in Cardiovascular Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Cardiovasc Med, 2021, 8, 697837.

POTENCJALNE BIOMARKERY ATOPOWEGO ZAPALENIA SKÓRY (AZS)

Potential biomarkers of atopic dermatitis (AD)

Kamil Klaudiusz Lauko[1*], Mateusz Maciejczyk[2]

[1]Studenckie Koło Naukowe „Biochemii Chorób Cywilizacyjnych" przy Zakładzie Higieny, Epidemiologii i Ergonomii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku;
[2]Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
kamillauko.research@gmail.com (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Atopowe zapalenie skóry (AZS, ang. atopic dermatitis) jest przewlekłą, zapalną i nawracającą chorobą skóry (dermatoza), która występuje najczęściej u dzieci i młodych dorosłych. AZS charakteryzuje się dokuczliwym i nasilonym świądem skóry (szczególnie wieczorem i nocą), bardzo suchą skórą, zaczerwienieniem, pęcherzykami, wypryskami, wysiękiem oraz łuszczeniem się skóry [1]. Zmiany u niemowląt są zlokalizowane głownie na policzkach, płatkach uszu i skórze głowy, u dzieci - na dłoniach oraz zgięciach łokciowych i kolanowych, natomiast u dorosłych wysypka może pojawić się w różnych obszarach, w tym w obszarach zgięciowych, na dłoniach, stopach i wokół oczu [2,3,4].

Patogeneza AZS jest wieloetapowa i złożona. Obejmuje zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe [5]. U chorych z AZS zidentyfikowano mutację genu kodującego filagrynę (FLG), co odpowiada za dysfunkcję bariery naskórkowej, aktywację zapalenia typu 2 oraz neuroimmunologiczny cykl swędzenia-drapania skóry [6,7,8,9]. Wykazano, że stężenie produktów rozkładu filagryny (keratin 5 (KRT5), keratin 14 (KRT14) i keratin 16 (KRT16)) korelowało ujemnie z nasileniem objawów klinicznych oraz spadkiem jakości życia chorych. Wykazano, że KRT5, KRT14 i KRT16 mogą być potencjalnymi czynnikami predykcyjnymi wystąpienia AZS, szczególnie u osób z towarzyszącą nietolerancją pokarmową [10].

W rozwoju AZS u dzieci dużą uwagę poświęca się również czynnikom środowiskowym, takim jak zanieczyszczenia powietrza tlenkiem węgla (CO), dwutlenkiem azotu (NO_2), tlenkiem azotu (NO) oraz ozonem (O_3). Wymienione substancje są istotnymi czynnikami rozwoju egzemy, astmy oraz wielu innych chorób związanych z układem immunologicznym dziecka [11,12]. Wykazano, że prenatalna ekspozycja na NO_2 jest ważnym czynnikiem prognostycznymi wystąpienia AZS u dzieci [13]. Środowiskowe używanie tytoniu przez matkę może również zwiększyć ryzyko pojawienia się AZS/egzemy u dziecka [14].

W przebiegu AZS stwierdza się defekty bariery skórnej, co prowadzi do zwiększonej przepuszczalności skóry pozwalającej alergenom/czynnikom drażniącym wywoływać miejscowe reakcje alergiczne [15]. Podwyższony poziom immunoglobuliny E (IgE) w AZS zwiększa wrażliwość na alergeny środowiskowe. Dobrze wiadomo, iż aktywacja IgE powoduje uwalnianie histaminy i innych substancji prozapalnych, co prowadzi do świądu, zaczerwienienia i obrzęku skóry [16,17]. Ponadto, u dzieci z AZS obserwuje się zmiany w składzie mikroflory skórnej, co może przyczyniać się do nasilenia stanu zapalnego [18]. Wykazano, że nadmierna aktywacja limfocytów Th2 pomocniczych prowadzi do nadprodukcji cytokin prozapalnych, takich jak interleukina-1, -2, -4, -5 i -13. Cytokiny te nie tylko indukują, ale i podtrzymują stan zapalny skóry, co nasila objawy AZS [19,20,21].

Diagnostyka AZS, w przeciwieństwie do innych przewlekłych chorób skóry, opiera się wyłącznie na badaniu fizykalnym. Brakuje biomarkerów laboratoryjnych, które pozwalałby na jednoznaczne rozpoznanie AZS. Istnieją bowiem inne choroby, które mogą wywołać podobne objawy skórne do AZS. Są to: łuszczyca (łac. psoriasis), łupież różowy Gilberta (łac. pityriasis rosea Gibert), łupież pstry (łac. pityriasis versicolor) i pokrzywka (łac. uritcaria). Wszystkie z nich mogą powodować świąd, zaczerwienienie i suchość skóry [22,23,24]. Nieprawidłowe rozpoznanie może prowadzić do zastosowania nieskutecznych leków/terapii, co zmniejsza szansę na poprawę jakości życia chorego. Konieczne jest więc opracowanie nowych metod, które umożliwią szybsze

i jednoznaczne rozpoznanie AZS. Nieustanny rozwój technologii medycznych, takich jak transkryptomika, genomika i proteomika daje nowe możliwości odkrycia potencjalnych biomarkerów będących podstawą spersonalizowanego i precyzyjnego leczenia AZS.

BIOMARKERY W DIAGNOSTYCE AZS

Wyróżnia się kilka standardów diagnostycznych w różnicowaniu AZS. Najczęściej wykorzystywane to: Hanifin and Rajka criteria (obejmuje trzy kategorie kliniczne (morfologia, rozmieszczenie i czas trwania zmian), UK Working Party criteria (skupia się na objawach klinicznych i ich rozmieszczeniu) oraz kryteria diagnostyczne American Academy of Dermatology (AAD) (wyróżniają trzy kategorie kliniczne: objawy skórne, dane z wywiadu i kryteria związane z atopią) [25,26,27]. Zgodnie z powyższymi standardami, rozpoznanie AZS opiera się wyłącznie na badaniu klinicznym, biorąc pod uwagę stan skóry oraz inne charakterystyczne objawy. Do oceny nasilenia zmian skórnych w AZS można zastosować skale: Investigator Global Assessment (IGA), Eczema Area and Severity Index (EASI) oraz Scoring Atopic Dermatitis (SCORAD) scales. Choć standardy diagnostyczne mogą być użyteczne w procesie rozpoznawania chorób, mają też liczne ograniczenia i wady. Interpretacja niektórych kryteriów, takich jak np. świąd skóry może być subiektywna, co prowadzi do różnic w diagnozach między rożnymi lekarzami [28].

Ostatnie badania wskazują, że niektóre biomarkery krwi/bioptatów skóry mogą potwierdzać diagnozę oraz odróżniać AZS od innych chorób skóry. Biomarker to obiektywny wskaźnik biologiczny, który pozwala monitorować procesy fizjologiczne, patologiczne lub odpowiedź na zastosowane leczenie [29]. Biomarker laboratoryjny powinien charakteryzować się dużą precyzją, czułością, specyficznością oraz zdolnością do monitorowania i przewidywania zmian w organizmie [30].

Większość dotychczasowych badań wskazuje na możliwość zastosowania biomarkerów stanu zapalnego w diagnostyce AZS. Dobrze wiadomo, że AZS jest chorobą o etiologii zapalnej, w której kluczowy udział ma zapalenie typu 2. Zapalenie typu 2 to reakcja immunologiczna, w której aktywowane są komórki układu odpornościowego, szczególnie limfocyty Th2, prowadząc do nadprodukcji cytokin prozapalnych i immunoglobuliny E [31]. Istotną rolę w AZS pełni CCL17/TARC (Thymus and Activation Regulated Chemokine) – czynnik chemotaktyczny dla limfocytów Th2 oraz komórek dendrytycznych. TARC pomaga w podtrzymaniu procesu zapalnego poprzez przyciąganie komórek Th2 do miejsca odpowiedzi alergicznej. Wykazano, iż ocena zawartości TARC w surowicy lub w płynie śródmiąższowym może być markerem diagnostycznym AZS. Stężenie TARC we krwi koreluje z nasileniem objawów AZS oraz zmniejsza się w wyniku zastosowanego leczenia farmakologicznego. U chorych z AZS zaobserwowano też zwiększoną ekspresję innych biomarkerów zapalenia typu 2, takich jak eozynofile, Chemokine (C-C motif) ligand 17 / Thymus and Activation-Regulated Chemokine (CCL17/TARC), Chemokine (C-C motif) ligand 26 (CCL26/eotaksyn-3) oraz dehydrogenaza mleczanowa (LDH) [32].

Dotychczas, najlepszą przydatność diagnostyczną u pacjentów z AZS wykazano dla biomarkerów ocenianych z bioptatów tkanek skóry. Tape stripping to minimalnie inwazyjna metoda pobierania próbek skóry umożliwiająca wykrywanie nieprawidłowości układu immunologicznego skóry, jak również monitorowanie efektów zastosowanego leczenia bez przeprowadzania biopsji. Podczas analizy transkryptomu próbek skóry pobranej przez Tape stripping wykazano, że pacjenci z AZS (z widocznymi zmianami skórnymi oraz bez widocznych zmian) wykazali zwiększoną aktywność limfocytów Th2. Skutkuje to zwiększoną produkcją/uwalnianiem mediatorów związanych z limfocytami Th2 pomocniczymi, takimi jak interleukina-13 (IL-13), interleukina-4R (IL-4R), CCL17/TARC oraz Chemokine (C-C motif) ligand 24/ eotaksyn-2. Szczególną przydatność diagnostyczną wykazano dla CCL17/TARC. Zaobserwowano, że stężenie CCL17/TARC w próbkach skóry koreluje ze stopniem zaawansowania AZS, jak również może służyć do monitorowania skuteczności zastosowanego

leczenia. Metoda odrywania taśmy jest minimalnie inwazyjna. Tape stripping nie pozostawia blizn oraz umożliwia wielokrotne powtarzanie analiz. Niestety, analiza pobranych tkanek jest często czasochłonna oraz trudna technicznie. W ramach ubezpieczenia zdrowotnego w Japonii od 2008 roku poziomy CCL17/TARC są oceniane w surowicy. Wykazano, że pomiar CCL17/TARC w surowicy może być użytecznym biomarkerem w diagnostyce AZS [33]. Podwyższony poziom tej chemokiny we krwi wskazuje na nasilenie stanu zapalnego w skórze, co pozwala na wybranie odpowiedniej strategii terapeutycznej. Ponieważ istotną rolę w patogenezie AZS odgrywa czynnik genetyczny, niektóre badania analizowały też wpływ rasy/grupy etnicznej na skórny/krążący profil zapalny. U dzieci z Azjatyckim fenotypem AZS zauważono zwiększoną ekspresję biomarkerów związanych z limfocytami Th17 (interleukina-17A, interleukina-19, Chemokine (C-C motif) ligand 20) oraz zmniejszoną ekspresję interleukiny-17 (IL-17) i interleukiny-22 (IL-22) w porównaniu do dzieci z fenotypem europejsko-amerykańskim.

Wykorzystanie krążących biomarkerów zapalnych u chorych z AZS potwierdzają też wyniki innych badań. Stężenia interleukiny-1β, -1R, 5, -7 i -15 były znacząco wyższe w surowicy pacjentów z AZS w porównaniu do osób zdrowych [34].

Wyniki ostatnich badań wskazują na potencjalne biomarkery różnicujące AZS od innych chorób skóry. D'Erme i wsp. wykazali, że ekspresja interleukiny-36γ (IL-36γ) w skórze pacjentów z AZS jest znacznie zmniejszona w porównaniu do chorych z łuszczycą, choć jednocześnie znacząco wyższa niż w skórze osób zdrowych [35]. IL-36γ aktywuje komórki dendrytyczne oraz limfocyty T, przez co stymuluje produkcję cytokin prozapalnych, takich jak interleukina-17 (IL-17) i interleukina-22 (IL-22). Tym samym, IL-36γ podtrzymuje stan zapalny skóry w przebiegu AZS [36,37,38]. Niestety, w innych badaniach wykazano, że ekspresja IL-36γ w skórze jest także zmniejszona u chorych z ziarniakiem grzybiastego/zespołem Sézary'ego, co wskazuje na małą specyficzność IL-36γ w diagnostyce AZS [37]. W różnicowaniu AZS od łuszczycy można jednak użyć

human Beta-Defensin 2 (hBD-2). hBD-2 to peptyd pełniący kluczową rolę w obronie skóry przed infekcjami. Związek ten reguluje procesy immunologiczne oraz wspiera integralność bariery skórnej [39,40,41,42]. W dotychczasowych badaniach wykazano, że ekspresja hBD-2 jest znacząco niższa w skórze i surowicy chorych z AZS w porównaniu do pacjentów z łuszczycą.

W różnicowaniu AZS i łuszczycy dobrą przydatnością diagnostyczną charakteryzuje się też indukowalna synteza tlenku azotu (NOS2/iNOS). iNOS katalizuje reakcję syntezy tlenku azotu, który jest regulatorem śmierci i wzrostu komórek. W wielu badaniach wykazano, że ekspresja iNOS jest znacząco niższa w zmianach skórnych chorych z AZS w porównaniu do osób zdrowych lub chorych z łuszczycą. Uważa się, że ilościowa ocena ekspresji iNOS metodą Polymerase Chain Reaction (PCR) umożliwia szybkie i sprawne oznaczenie odporność wrodzonej u chorych z AZS [43].

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMP) odgrywają ważną rolę w procesie zapalnym w przebiegu AZS. Nie dziwi więc próba wykorzystania MMP w diagnostyce chorób skóry. Nadmierna aktywność MMP prowadzi do uszkodzenia bariery skórnej, co z kolei sprzyja przenikaniu alergenów i substancji drażniących i w znacznym stopniu zaostrza proces zapalny [44]. MMP zwiększają także produkcję/uwalnianie wielu cytokin prozapalnych. Potencjał diagnostyczny MMP oceniali Harper i wsp. Wykazali, że aktywność MMP-8 oraz MMP-9 w skórze jest 10-24 razy większa u chorych z AZS ze zmianami skórnymi w porównaniu z grupą kontrolną oraz 5-krotnie większa w porównaniu do chorych z AZS bez zmian skórnych [45].

PODSUMOWANIE

Biomarkery zapalne, iNOS czy MMP mogą być potencjalnymi wskaźnikami diagnostycznymi/monitorującymi skuteczność leczenia AZS. Zastosowanie biomarkerów laboratoryjnych może przyczynić się do szybszej identyfikacji choroby, dokładniejszego różnicowania AZS od innych schorzeń skóry oraz

indywidualizacji farmakoterapii. Niezbędne są dalsze badania oceniające czułość, specyficzność oraz swoistość opisanych biomarkerów na większych populacjach chorych z AZS.

PIŚMIENNICTWO

1. Napolitano M., Fabbrocini G., Martora F., Genco L., Noto M., Patruno C.: Children atopic dermatitis: Diagnosis, mimics, overlaps, and therapeutic implication. Dermatol. Ther., 2022, 35, 12, e15901
2. Atopic Eczema in Children: Management of Atopic Eczema in Children from Birth up to the Age of 12 Years. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. NICE Clinical Guidelines, 2007, No. 57
3. Julián-Gónzalez R.E., Orozco-Covarrubias L., Durán-McKinster C., Palacios-Lopez C., Ruiz-Maldonado R., Sáez-de-Ocariz M.: Less common clinical manifestations of atopic dermatitis: prevalence by age. Pediatr. Dermatol., 2012, 29, 5, 580–583
4. Kim K.H., Hwang J.H., and Park K.C.: Periauricular eczematization in childhood atopic dermatitis. Pediatr. Int., 1996, 13, 4, 278–280
5. Al-Shobaili H.A., Ahmed A.A., Alnomair N., Alobead Z.A., Rasheed Z.: Molecular Genetic of Atopic dermatitis: An Update. Int. J. Health Sci. (Qassim)., 2016, 10, 1, 96–120
6. Langan S.M., Irvine A.D., Weidinger S.: Atopic dermatitis. Lancet., 2020, 396, 10247, 345–360
7. Enomoto H., Hirata K., Otsuka K., Kawai T., Takahashi T., Hirota T., Suzuki Y., Tamari M., Otsuka F., Fujieda S., Arinami T., Noguchi E.: Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population: a family and case-control study. J. Hum. Genet., 2008, 53, 7, 615
8. Gupta J., Margolis D.J.: Filaggrin gene mutations with special reference to atopic dermatitis. Curr. Treat. Options Allergy., 2020, 7, 3, 403–413
9. Moosbrugger-Martinz V., Leprince C., Méchin M-C., Simon M., Blunder S., Gruber R., Dubrac S.: Revisiting the roles of filaggrin in atopic dermatitis. Int. J. Mol. Sci., 2022, 23, 10, 5318
10. Leung D. Y. M., Calatroni A., Zaramela L. S., Dyjack N., Brar K., David G., Johnson K., Leung S., Ramirez-Gama M., Liang B., Rios C., T. Montgomery., Richers B. N., Hall C., Norquest K. A., Jung J., Bronova I., Kreimer S., Talbot Jr C. C., Crumrine D., Cole R. N., Elias P., Zengler K., Seibold M. A., Berdyshev E., Goleva E.: The nonlesional skin surface distinguishes atopic dermatitis with food allergy as a unique endotype. Sci. Transl. Med., 2019, 11, 480, eaav2685
11. Sbihi H., Allen R.W., Becker A., Brook J.R., Scott J.A., Sears M.R., Subbarao P., Takaro T.K., Turvey S.E., Brauer M.: Perinatal exposure to traffic-related air pollution and atopy at 1 year of age in a multicenter Canadian birth cohort study. Environ. Health Perspect., 2015, 123, 9, 902–908
12. To T., Zhu J., Stieb D., Gray N., Fong I., Pinault L., Jerrett M., Robichaud A., Ménard R., Donkelaar A., Martin R.V., Hystad P., Brook J.R., Dell S.: Early life exposure to air pollution and incidence of childhood asthma, allergic rhinitis and eczema. Eur. Respir. J., 2020, 55, 2, 1900913
13. Huang Y., Wen H.J., Guo Y.L., Wei T.Y., Wang W.C., Tsai S.F., Tseng V.S., Wang S.J. Prenatal exposure to air pollutants and childhood atopic dermatitis and allergic rhinitis adopting machine learning approaches: 14-year follow-up birth cohort study. Sci. Total Environ., 2021, 777, 145982, 145982
14. Jedrychowski W., Perera F., Maugeri U., Mrozek-Budzyn D., Miller R.L., Flak E., Mroz E., Jacek R., Spengler J. D.: Effects of prenatal and perinatal exposure to fine air pollutants and maternal fish consumption on the occurrence of infantile eczema. Int. Arch. Allergy Immunol., 2011, 155, 3, 275–281
15. Kim B.E., Leung D.Y.M.: Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis. Allergy Asthma Immunol. Res., 2018, 10, 3, 207
16. de Sousa T.R., Fagundes B.O., Nascimento A., Fernandes L.A., Sgnotto F.D.R., Orfali R.L., Aoki V., Duarte A.J.D.S., Sanabani S.S., Victor J.R.: IgG from adult atopic dermatitis (AD) patients induces thymic IL-22 production and CLA expression on CD4+ T cells: Possible epigenetic implications mediated by miRNA. Int. J. Mol. Sci., 2022, 23, 12
17. Poto r., Quinti I., Marone G., Taglialatela M., de Paulis A., Casolaro V., Varricchi G.: IgG autoantibodies against IgE from atopic dermatitis can induce the release of cytokines and proinflammatory mediators from basophils and mast cells. Front. Immunol., 2022, 13, 880412
18. Hrestak D., Matijašić M., Čipčić Paljetak H., Ledić Drvar D., Ljubojević Hadžavdić S., Perić M.: Skin Microbiota in atopic dermatitis. Int. J. Mol. Sci., 2022, 23, 7, 3503
19. Brandt E.B., Sivaprasad U.: Th2 cytokines and atopic dermatitis. J. Clin. Cell. Immunol., 2011, 2, 3, 110
20. Moreno A.S., McPhee R., Arruda L.K., Howell M.D.: Targeting the T helper 2 inflammatory axis in atopic dermatitis. Int. Arch. Allergy Immunol., 2016, 171, 2, 71–80
21. Tokura Y., Phadungsaksawasdi P., Ito T.: Atopic dermatitis as Th2 disease revisited. J. Cutan. Immunol. Allergy., 2018, 1, 5, 158–164

22. Siegfried E.C., Hebert A.A.: Diagnosis of atopic dermatitis: Mimics, overlaps, and complications. J. Clin. Med., 2015, 4, 5, 884–917
23. Faergemann J.: Atopic dermatitis and fungi. Mycoses., 2002, 45, S2, 15–15
24. Gaudinski M.R., Milner J.D.: Atopic dermatitis and allergic urticaria: Cutaneous manifestations of immunodeficiency. Immunol. Allergy Clin. North Am., 2017, 37, 1, 1–10
25. Rothe M.J., Grant-Kels J.M.: Diagnostic criteria for atopic dermatitis. Lancet., 1996, 348, 9030, 769–770
26. Fleming S., Bodner C., Devereux G., Russell G., Campbell D., Godden D., Seaton A.: An application of the United Kingdom Working Party diagnostic criteria for atopic dermatitis in Scottish infants. J. Invest. Dermatol., 2001, 117, 6, 1526–1530
27. Sidbury R., Alikhan A., Bercovitch L., Cohen D.E., Darr J.M., Drucker A.M., Eichenfield L.F., Frazer-Green L., Paller A.S., Schwarzenberger K., Silverberg J.I., Singh A.M., Wu P.A., Davis D.M.R.: Executive summary: American Academy of Dermatology guidelines of care for the management of atopic dermatitis in adults with topical therapies. J. Am. Acad. Dermatol., 2023, 89, 1, 128–129
28. Yew Y.W., Apfelbacher C.J.: Validation of novel diagnostic criteria for atopic dermatitis in an adult and elderly Chinese population. Bri. J. of. Dermatol., 2023, 188, 3, 317-318
29. Puntmann V.O.: How-to guide on biomarkers: biomarker definitions, validation and applications with examples from cardiovascular disease. Postgrad. Med. J., 2009, 85, 1008, 538–545
30. Parikh N.I., Vasan R.S.: Assessing the clinical utility of biomarkers in medicine. Biomark. Med., 2007, 1, 3, 419–436
31. Moniaga C.S., Tominaga M., Takamori K.: The pathology of type 2 inflammation-associated itch in atopic dermatitis. Diagnostics (Basel)., 2021, 11, 11, 2090
32. Simpson E.L., Villarreal M., Jepson B., Rafaels N., David G., Hanifin J., Taylor P., Boguniewicz M., Yoshida T., De Benedetto A., Barnes K.C., Leung D.Y.M., Beck L.A.: Patients with atopic dermatitis colonized with Staphylococcus aureus have a distinct phenotype and endotype. J. Invest. Dermatol., 2018, 138, 10, 2224–2233
33. Yasukochi Y., Nakahara T., Abe T., Kido-Nakahara M., Kohda F., Takeuchi S., Hagihara A., Furue M.: Reduction of serum TARC levels in atopic dermatitis by topical anti-inflammatory treatments. Asian Pac. J. Allergy Immunol., 2014, 32, 3, 240–245
34. Thijs J.L., Strickland I., Bruijnzeel-Koomen C.A.F.M., Nierkens S., Giovannone B., Knol E.F., Csomor E., Sellman B.R., Mustelin T., Sleeman M.A., de Bruin-Weller M.S., Herath A., Drylewicz J., May R.D., Hijnen D.: Serum biomarker profiles suggest that atopic dermatitis is a systemic disease. J. Allergy Clin. Immunol., 2018, 141, 4, 1523–1526
35. D'Erme A.M., Wilsmann-Theis D., Wagenpfeil J., Hölzel M., Ferring-Schmitt S., Sternberg S., Wittmann M., Peters B., Bosio A., Bieber T., Wenzel J.: IL-36γ (IL-1F9) is a biomarker for psoriasis skin lesions. J. Invest. Dermatol., 2015, 135, 4, 1025–1032
36. Sachen K.L., Arnold Greving C.N., Towne J.E.: Role of IL-36 cytokines in psoriasis and other inflammatory skin conditions. Cytokine., 2022,156, 155897, 155897
37. Otobe S., Sugaya M., Nakajima R., Oka T., Takahashi N., Kabasawa M., Miyagaki T., Asano Y., Sato S.: Increased interleukin-36γ expression in skin and sera of patients with atopic dermatitis and mycosis fungoides/Sézary syndrome. J. Dermatol., 2018, 45, 4, 468–471
38. Buhl A-L., Wenzel J.: Interleukin-36 in infectious and inflammatory skin diseases. Front. Immunol., 2019, 10, 1162
39. Cieślik M., Bagińska N., Górski A., Jończyk-Matysiak E.: Human β-defensin 2 and its postulated role in modulation of the immune response. Cells., 2021, 10, 11, 2991
40. Kim J., Yang Y.L., Jang S.-H., and Jang Y.S.: Human β-defensin 2 plays a regulatory role in innate antiviral immunity and is capable of potentiating the induction of antigen-specific immunity. Virol. J., 2018, 15, 1, 124
41. Clausen M.L., Jungersted J.M., Andersen P.S., Slotved H.-C., Krogfelt K.A., Agner T.: Human β-defensin-2 as a marker for disease severity and skin barrier properties in atopic dermatitis. Br. J. Dermatol., 2013, 169, 3, 587–593
42. Kanda N., Watanabe S.: Increased serum human β-defensin-2 levels in atopic dermatitis: relationship to IL-22 and oncostatin M. Immunobiology., 2012, 217, 4, 436–445
43. He H., Bissonnette R., Wu J., Diaz A., Saint-Cyr Proulx E., Maari C., Jack C., Louis M., Estrada Y., Krueger J.G., Zhang N., Pavel A., Guttman-Yassky E.: Tape strips detect distinct immune and barrier profiles in atopic dermatitis and psoriasis. J. Allergy Clin. Immunol., 2021, 147, 1, 199–212
44. Kuźmiński A., Przybyszewski M., Graczyk M., Bartuzi Z.: The role of extracellular matrix metalloproteinases and their inhibitors in allergic diseases. Postępy Dermatol., 2012, 5, 384–389
45. Harper J.I., Godwin H., Green A., Wilkes L.E., Holden N.J., Moffatt M., Cookson W.O., Layton G., Chandler S.: A study of matrix metalloproteinase expression and activity in atopic dermatitis using a novel skin wash sampling assay for functional biomarker analysis. Br. J. Dermatol., 2010, 162, 2, 397–403

EPIDEMIOLOGIA CHOROBY ALZHEIMERA. CZY KOŃCOWE PRODUKTY GLIKACJI MOGĄ BYĆ POTENCJALNYM BIOMARKEREM CHOROBY?

Epidemiology of the diseases Alzheimer. Can glycation end products be a potential biomarker of disease?

Kamil Zdanowicz[1], Katarzyna Anikiej[2], Mateusz Maciejczyk[3]

[1]Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Białymstoku;
[2]Studenckie Koło Naukowe „Biochemii Chorób Cywilizacyjnych"
przy Zakładzie Higieny, Epidemiologii i Ergonomii Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[3]Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
zdanowicz_kamil@wp.pl (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Choroby cywilizacyjne są największym wyzwaniem współczesnej medycyny. Choroba niedokrwienna serca, nowotwory, przewlekła obturacyjna choroba płuc czy choroba Alzheimera (*Alzheimer Disease*, AD) stanowią od wielu lat główną przyczynę zgonów w Polsce i na świecie. Najważniejszymi czynnikami ryzyka chorób cywilizacyjnych są palenie tytoniu, nadmierne spożycie cukrów prostych, jak i brak aktywności fizycznej. Zła dieta oraz brak ruchu przyczyniają się do nagromadzenia w organizmie końcowych produktów zaawansowanej glikacji białek (*Advanced Glycation End-products*, AGEs), co przyśpiesza proces starzenia się oraz może być przyczyną neurodegeneracji. W niniejszej pracy przestawiono zależność między patologicznym nagromadzeniem AGEs a prawdopodobieństwem wystąpienia AD [1].

EPIDEMIOLOGIA I PATOGENEZA CHOROBY ALZHEIMERA

Choroba Alzheimera (AD) jest chorobą zwyrodnieniową mózgowia będącą najczęstszą przyczyną otępienia. Objawy choroby Alzheimera (AD) rozwijają się stopniowo, od najwcześniejszych oznak zaburzeń pamięci do

głębokiego deficytu poznawczego. Progresja choroby jest powolna, ale postępująca i nieuchronnie prowadzi do pełnej niepełnosprawności i zgonu. Czas trwania choroby waha się od 4 do 20 lat od momentu postawienia diagnozy. Przebieg kliniczny otępienia możemy podzielić na 3 fazy: otępienie łagodne, średnio-zaawansowane (umiarkowane) i bardzo zaawansowane (ciężkie). Szczegółowy opis objawów i przebiegu klinicznego AD zawiera skala *Global Deterioration Scale* (GDS), która określa stopień zaawansowania AD. Początek choroby jest długo niedostrzegany i trudny do uchwycenia. Pierwsze skargi dotyczą zazwyczaj trudności z zapamiętywaniem świeżo uzyskanych informacji. Jest to, najbardziej typowa dla AD, amnestyczna postać łagodnego zaburzenia poznawczego, która przebiega wyłącznie lub głównie z zaburzeniami pamięci. Na tym etapie choroby może zdarzyć się również deficyt innych funkcji poznawczych. Zazwyczaj objawy te są zauważane przez osoby bliskie, a potwierdzeniem jest pogorszenie wyników w testach do oceny poszczególnych funkcji kognitywnych. Częstym objawem AD jest też brak świadomości postępujących trudności natury poznawczej, co może pomóc odróżnić początkowe stadia AD od zaburzeń poznawczych związanych z fizjologicznym starzeniem się. Z czasem pojawiają się kolejne objawy AD, głównie korowe, takie jak afazja, apraksja, agnozja czy upośledzenie funkcji wykonawczych. Afazja przejawia się we wczesnej fazie choroby trudnościami w nazywaniu przedmiotów oraz używaniu ogólnikowych pozbawionych konkretnej treści wyrażeń, w fazie późniejszej nieprawidłowym rozumieniem słów oraz upośledzeniem mowy, a w stadium zaawansowanym natomiast może dojść do mutyzmu. Apraksję można zauważyć w trudnościach z wykonywaniem prostych codziennych czynności, takich jak codzienna toaleta, ubieranie się czy pisanie, a także posługiwanie się sprzętami zmechanizowanymi. Agnozja ujawnia się niezdolnością do rozpoznawania znanych obiektów, a także twarzy. Upośledzenie funkcji wykonawczych obejmuje niezdolność do organizowania i planowania wieloetapowych działań, czy też nieprawidłowości w ocenie sytuacji. Zaburzenia te z biegiem czasu uniemożliwiają choremu samodzielne funkcjonowanie. U 20% pacjentów mogą ujawnić się wraz z postępem choroby urojenia i objawy psychotyczne, także z taką samą

częstością mogą współistnieć stany pobudzenia psychoruchowego i halucynacje. Bardzo często występują, szczególnie we wstępnej fazie choroby, zespoły depresyjne i lękowe. W zaawansowanym stadium choroby u pacjentów pojawiają się liczne objawy neurologiczne związane z uszkodzeniem układu ruchowego, a także zaburzenia chodu oraz trzymania moczu i stolca. U znacznego odsetka chorych rozwijają się objawy pozapiramidowe, takie jak sztywność, spowolnienie ruchowe, chód drobnymi kroczkami, zaburzenia postawy. Do typowych przyczyn śmierci związanych z otępieniem należą powikłania upadków, przechłodzenie organizmu (wędrówka i ucieczka chorych z domu) oraz odwodnienie (odmowa przyjmowania posiłków i płynów). [2,3,4,5]

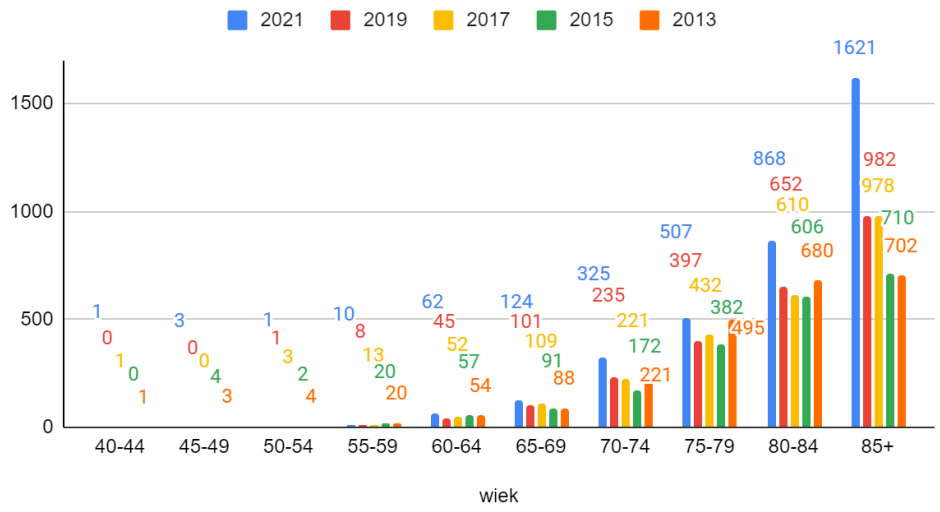
Światowa Organizacja Zdrowia (*World Health Organization,* WHO*)* szacuje, że ponad 75% osób z AD jest jeszcze niezdiagnozowanych. W krajach średnio- i nisko-rozwiniętych odsetek ten może sięgnąć nawet 90%. Fakt ten jest przerażający, ponieważ liczba chorych na demencje wyniosła w 2019 roku 55 milionów, a w 2050 roku spodziewany jest wzrost do 139 milionów. Roczny koszt opieki nad chorymi z łagodną demencją szacowany jest na 16 tysięcy dolarów amerykańskich, z umiarkowaną demencją – na 27 tysięcy dolarów amerykańskich, a z ciężką demencją – na 36 tysięcy dolarów amerykańskich. [6,7,8,9]

Liczba chorych na demencję w Europie wyniosła w 2019 roku niespełna 11 milionów osób. Procentowy rozkład chorych w populacji w zależności od wieku przedstawiał się następująco: 60-64 lata - 0,6%; 65-69 lata - 1,3%; 70-74 lata - 3,3%; 75-79 lat - 8%; 80-84 lata - 12,1%; 85-89 lat - 21,9%; 90+ lat - 40,8%. Warto też zwrócić uwagę na duże rozbieżności w chorobowości ze względu na płeć. Rozkład występowania demencji wśród mężczyzn wyglądał następująco: 60-64 lata - 0,2%; 65-69 lata - 1,1%; 70-74 lata - 3,1%; 75-79 lat - 7%; 80-84 lata - 10,7%; 85-89 lat - 16,3%; 90+ lat - 29,7%. Rozkład występowania demencji wśród kobiet przedstawiał się następująco: 60-64 lata - 0,9%; 65-69 lata - 1,5%; 70-74 lata - 3,4%; 75-79 lat - 8,9%; 80-84 lata - 13,1%; 85-89 lat - 24,9%; 90+ lat - 44,8%. [10,11]

Ze wszystkich krajów Unii Europejskiej najwyższy wskaźnik chorobowości w 2019 roku miały Włochy (2,12% populacji), zaś najniższy można było zaobserwować w Irlandii i wyniósł on 1,09%. W Polsce wskaźnik ten uplasował się poniżej średniej europejskiej (1,38% populacji). Średnia europejska wyniosła 1,73% populacji, jednak w wieku 65+ odsetek ten wyniósł już 20,3%. [10,11]

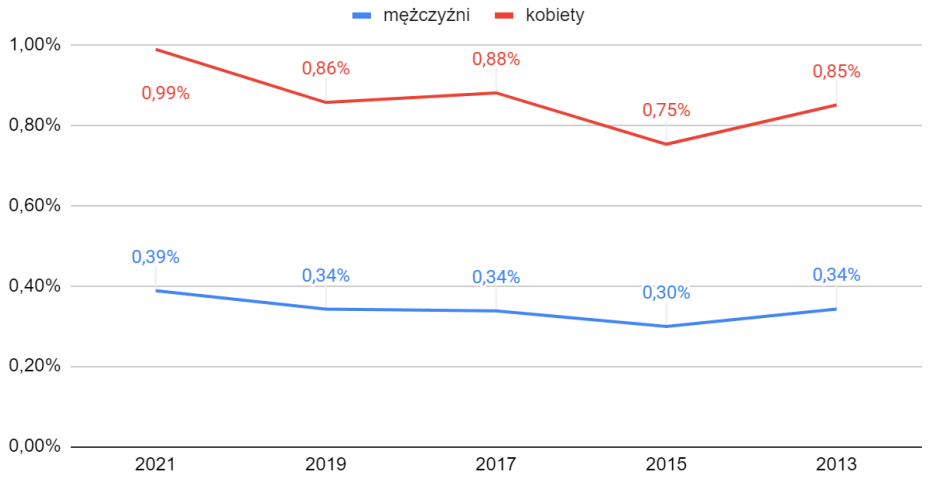
W Polsce liczba osób z AD i chorobami pokrewnymi wyniosła w 2019 roku około 585 tys. Chorobowość rejestrowana wyniosła 379 tysięcy, z czego 111,8 tysięcy to nowe przypadki AD. Porównując z rokiem 2014, chorobowość wzrosła o ponad 9%. Wartość refundacji leczenia AD w Polsce wyniosła w 2019 roku 320 mln złotych. Świadczenia z rozpoznaniem głównym AD udzielono 263 tysiącom pacjentów. [1,6,8]

W 1990 roku AD stanowiło 8 przyczynę śmierci Polaków, natomiast w 2019 - już 4 przyczynę zgonów. Oznacza to, że przez blisko 30 lat ilość zgonów z powodu AD wzrosła ponad dwukrotnie, a w 2019 roku AD stanowiło jedną z głównych przyczyn śmierci w Polsce. Analiza surowych wartości lat życia skorygowanych niepełnosprawnością (*disability-adjusted life years*, DALY) wskazuje, że liczba osób z AD wzrosła z 23 na 10 miejsce biorąc pod uwagę obciążenie chorobowe populacji Polski w latach 1990-2019. Zgony z powodu choroby Alzheimera w Polsce w zależności od wieku przedstawia Rycina 1 [12].



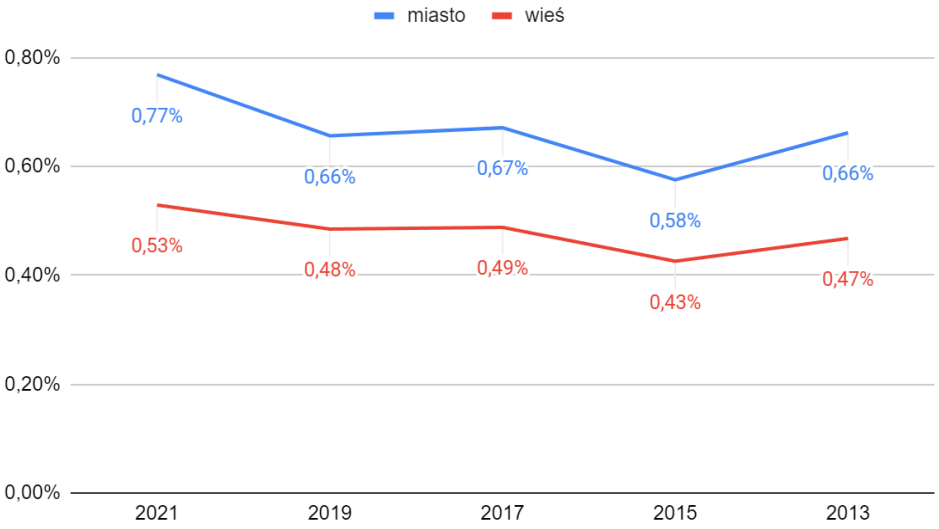
Rycina 1. Zgony z powodu choroby Alzheimera w Polsce w zależności od wieku w latach 2013-2021.Opracowanie własne na podstawie danych z GUS.

Jak wykazały badania epidemiologiczne, do czynników zwiększonego ryzyka AD zalicza się: występowanie choroby w rodzinie (pierwszy stopień pokrewieństwa), podeszły wiek, płeć żeńską, niski poziom wykształcenia, czynniki genetyczne oraz subiektywne problemy z pamięcią. Rycina 2 przedstawia przewagę zgonów z powodu AD w populacji kobiet w stosunku do mężczyzn [12].



Rycina 2. Udział zgonów na chorobę Alzheimera w Polsce we wszystkich zgonach z podziałem na płeć w latach 2013-2021. Opracowanie własne na podstawie danych z GUS

Rycina 3 przedstawia liczbę zgonów z powodu demencji w miastach w porównaniu do wsi. Większy odsetek zgonów z powodu AD występuje w miastach. Niektóre dane podają również niższe wykształcenie jako czynnik zwiększonej zachorowalności i umieralności na AD [12].



Rycina 3. Udział zgonów na chorobę Alzheimera w Polsce w latach 2013-2021 w miastach i wsiach. Opracowanie własne na podstawie danych z GUS.

Do grup ze zwiększony ryzykiem AD należą też osoby chore na nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemię, chorobę niedokrwienną serca oraz cukrzycę typu 2. Chociaż dokładna patogeneza AD nie została jeszcze poznana, najczęściej wymienianymi koncepcjami tłumaczącymi proces neurodegeneracji w AD jest teoria kaskady amyloidowej, sekretaz i dysfunkcji mitochondriów. Według pierwszej z nich przyczyną AD jest odkładanie się w mózgu nierozpuszczalnych i opornych na proteolizę form amyloidu-beta (Aβ), co ma inicjować sekwencję zdarzeń prowadzącą do śmierci neuronów i rozwoju klinicznych objawów choroby. [2, 13] Aβ ma wpływać także na wystąpienie charakterystycznej dysfunkcji układu cholinergicznego. Typowe zaburzenia morfologiczne AD obejmują blaszki starcze z Aβ w formie struktur trzeciorzędowych bogatych w strukturę β-kartki i nadmiernie ufosforylowanym białkiem tau, które formują się w podwójnie skręcone włókienka. Innymi charakterystycznymi zmianami są zwyrodnienia włokienkowe (NFT), dystroficzne neuryty, nitki neuropilowe, zwyrodnienia ziarnisto-wodniczkowe komórek piramidowych hipokampa, kongofilna angiopatia oraz ciała Hirano [2, 14] Typowe są również wtręty zawierające agregaty α-synukleiny w postaci ciał Lewy'ego lub neurytów Lewy'ego. [3] Akumulacja zagregowanych włókien amyloidowych jest odpowiedzialna za zaburzenia homeostazy wapniowej, co indukuje apoptozę, czyli programowaną śmierć komórki. [15] Aβ powstaje też selektywnie w mitochondriach komórek mózgowia hamując funkcje enzymów oddechowych/zużycie glukozy przez neurony, natomiast splątki białka tau blokują wewnątrzkomórkowy transport glukozy. [16,17] U osoby chorej na AD liczba synaps drastycznie spada, neurony obumierają, a objętość mózgu ulega znaczącemu zmniejszeniu. [17] Odkładanie się Aβ w mózgu powstaje pod wpływem dwóch innych białek – preseneliny 1 oraz preseneliny 2, których geny (odpowiednio PSEN1 oraz PSEN2) leżą na chromosomie 14 i 1. [2] Wykazano, że nosicielstwo mutacji genu białka prekursorowego amyloidu-beta (APP) oraz presenilin 1 i 2 skutkuje prawie stuprocentowym prawdopodobieństwem zachorowania na AD. Znanym i potwierdzonym czynnikiem ryzyka zachorowania na AD jest też polimorfizm genu apolipoproteiny E (APOE) [6,7,8,10,12,18].

W badaniach pośmiertnych zaobserwowano występowanie AD nawet u 2/3 osób w wieku powyżej 70 lat. Wykazano, że zmiany alzheimerowskie w mózgu mogą dotyczyć zarówno osób z zaburzeniami poznawczymi, jak i chorych bez tych objawów. Stwarza to duże problemy w rozpoznawaniu choroby. Dlatego też, współczesna diagnostyka AD prowadzona jest na dwóch płaszczyznach: objawowej i biologicznej. W badaniu fizykalnym używa się testów, takich jak szybki test rysowania zegara, skala oceny stanu umysłowego MMSE, skala demencji Blesseda czy montrealska skala oceny funkcji poznawczych MoCA. Zgodnie z wytycznymi International *Working Group oraz Alzheimer Association* należy potwierdzić deficyt w co najmniej 2 funkcjach poznawczych oraz postępujący charakter zaburzeń pamięci. Za rozpoznaniem AD przemawia także występowanie afazji, apraksji czy agnozji. Do diagnostyki biologicznej AD używa się natomiast rezonansu magnetycznego, jak i pozytonowej tomografii emisyjnej. Należy wykluczyć inne choroby ogólnoustrojowe, czy też inne choroby mózgu, zbadać płyn mózgowo-rdzeniowy na obecność Aβ i białka tau oraz przeprowadzić zapis EEG. Zalecane jest też badanie krwi obejmujące: morfologię krwi, oznaczenie w surowicy stężenia witaminy B12, kwasu foliowego, hormonu tyreotropowego (TSH), glukozy, mocznika, kreatyniny, oraz biochemiczne wskaźniki czynności nerek i wątroby [8].

W leczeniu AD stosuje się głównie leczenie objawowe spowalniające rozwój choroby. Obecnie lekami pierwszego wyboru w AD są inhibitory acetylocholinesterazy: donepezyl, rywastygmina oraz galantamina. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu aktywności acetylocholinoesterazy, czyli enzymu rozkładającego acetylocholinę. Tym samym zwiększa się przekaźnictwo cholinergiczne mózgowia. U osób, u których stosuje się inhibitory cholinesterazy, w miarę postępu choroby można dołączyć do leczenia memantynę, która jest częściowym antagonistą receptora NMDA, praktycznie pozbawionym działania na inne receptory. Lek ten hamuje ekscytotoksyczność glutaminergiczną i może poprawiać funkcję pozostałych neuronów w hipokampie. Donepezyl jest zarejestrowany w USA, ale nie w Europie, do leczenia AD o znacznym nasileniu objawów. U chorych zaleca się również, w celu poprawy stanu poznawczego

i spowolnienia klinicznych objawów, terapię psychologiczną, np. terapię kognitywną, treningi pamięci, zajęcia gimnastyczne czy muzykoterapię. [2,3,4,8,9,12,19] W przypadku gdy podanie inhibitorów cholinesterazy nie jest wystarczającą interwencją, dużo skuteczniejsze od klasycznych neuroleptyków okazały się leki przeciwpsychotyczne drugiej generacji (LPIIG): olanzapina, rysperydon, kwetiapina oraz arypiprazol [2].

Prowadzone są intensywne prace nad wynalezieniem leczenia przyczynowego AD. Obecne prace skupiają się na immunoterapii oraz na elemininacji nadmiaru β-amyloidu z organizmu. W czerwcu 2021 r. Agencja Żywności i Leków (FDA) zarejestrowała warunkowo pierwszy lek wpływający na przyczynę AD – adukanumab, przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko złogom β-amyloidu. Wyniki badań klinicznych są jednak niejednoznaczne, a skuteczność leku budzi kontrowersje. Lek nie został jak dotąd dopuszczony przez Europejską Agencję Leków (EMA) do stosowania w Unii Europejskiej.

GLIKACJA BIAŁEK W CHOROBIE ALZHEIMERA

Proces powstania blaszek starczych jest mocno powiązany z glikacją białek amyloidowych. Glikacja jest procesem, w którym grupy karbonylowe cukrów łączą się z grupami aminowymi białek dając AGEs. Ich kumulacja związana jest z procesem starzenia [18, 20].

AGEs powstają podczas nieenzymatycznej reakcji Maillarda. Reakcja Maillarda zachodzi podczas smażenia i pieczenia potraw prowadząc do ich brązowienia oraz wydzielania aromatycznego zapachu. Poza smażeniem i pieczeniem źródłem AGEs jest także dym papierosowy oraz wysoce przetworzona żywność. Choć AGEs dostarczane są głównie z dietą, w przypadku długotrwałej hiperglikemii czy przy obniżonym przesączaniu kłębuszkowym, AGEs mogą również powstawać endogennie [18, 20].

Brązowienie potraw opisał w 1912 roku francuski chemik Louis Camille Maillard. Pierwszym etapem reakcji Maillarda jest powstanie zasady Schiffa,

w której grupy karbonylowe cukrów łączą się z grupami aminowymi białek. Zamiast wspomnianych cukrów czy białek w reakcji Maillarda mogą też uczestniczyć aldehydy i lipidy. Zasady Schiffa ulegają następnie przegrupowaniu do bardziej stabilnych produktów nazywanych produktami Amadori lub wczesnymi produktami glikacji. W reakcjach utleniania, sieciowania, polimeryzacji i polikondensacji formowane są natomiast AGEs o dużych masach cząsteczkowych. Stanowią one nieodwracalne produkty glikacji [21,22,23,24].

Badania na myszach pokazują dodatnią zależność między osoczowym stężeniem AGEs a akumulacją amyloidu-beta w komórkach mózgowia. Po dożylnym podaniu AGEs zaobserwowano wzrost zawartości APP oraz amyloidu-beta w hipokampie i zakręcie przyhipokampowym myszy. AGEs łączą się ze specyficznym receptorem AGE (Receptor of Advanced Glycation End-products, *RAGE*), co nasila tworzenie białek neuropatogennych, jak również zwiększa produkcję wolnych rodników tlenowych. Nie dziwi więc, że u chorych z AD stwierdzono wyższe stężenia markerów peroksydacji lipidów w korze mózgowej i hipokampie, takich jak 4-hydroksynonenal i dialdehyd malonowy. U chorych z AD zaobserwowano też podwyższone stężenie markera utleniania białek – nitrotyrozyny. Nitrotyrozyna w znacznym stopniu utlenia białko tau, a tak zmienioną formę obserwujemy w mózgowiu chorych z AD. Nadprodukcja wolnych rodników tlenowych związana z akumulacją neuropatogennych białek może być jedną z przyczyn wyczerpania mózgowych rezerw antyoksydacyjnych. Wykazano, że pacjenci z AD wykazują upośledzoną obronę antyoksydacyjną, a zmiany te dotyczą głównie mechanizmów enzymatycznych. Rzeczywiście, w mózgowiu chorych z AD obserwuje się obniżoną aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej czy reduktazy glutationowej. Pod wpływem AGEs zwiększa się również stan zapalny mózgowia. Łącząc się z RAGE, AGEs indukują kinazę białkową aktywowaną mitogenami *(Mitogen-Activated Protein Kinase,* MAPK*)* i jądrowy czynnik transkrypcyjny NF-κB (*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, NF-κB), co zwiększa ekspresję cytokin prozapalnych, chemokin oraz cząsteczek adhezyjnych. Działanie neurotoksyczne AGEs wynika też z hamowania tworzenia

nowych połączeń neuronalnych, co bezpośrednio warunkuje deficyty kognitywne u chorych z AD. Niestety, mechanizm tej zależności nie został do tej pory wyjaśniony [26,27,28,29].

Nie dziwi więc, że AGEs postulowane są jako potencjalny biomarker diagnostyczny u chorych z AD. Badania populacyjne wskazują, że wysoki poziom AGEs/niski poziom RAGE związany jest z wyższą częstością występowania demencji. [30] Wang i wsp. [31] oceniali stężenie AGEs i RAGE u chorych z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi (*Mild Cognitive Impairment*, MCI) i towarzyszącą cukrzycą typu 2. W grupie z MCI wykazano obniżone stężenie sRAGE oraz podwyższone stężenie AGEs w porównaniu z grupą kontrolną. Analiza regresji logistycznej wykazała, że każde zwiększenie stężenia AGEs w surowicy o jednostkę zwiększało ryzyko wystąpienia MCI aż o 72%. Stężenie AGEs korelowało też dodatnio z wieloma testami poznawczymi. Ciebiada i wsp. [32] wykazali podwyższone poziomy AGEs i RAGE w surowicy pacjentów z MCI w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenie AGEs w surowicy korelowało dodatnio z poziomem RAGE oraz ujemnie skorelowane z wynikiem funkcji poznawczych w skali MoCA. Jednoczynnikowe modele regresji logistycznej wykazały, że zmiennymi, które zwiększały prawdopodobieństwo rozpoznania MCI były wyższe poziomy AGEs i RAGE. Materiałem do oceny AGEs może być nie tylko krew czy płyn mózgowo-rdzeniowy, ale także ślina, co pozwala na nieinwazyjną diagnostykę AD. Choromańska i wsp. wykazali bardzo wysoką wartość kliniczną oznaczania AGEs w ślinie w diagnostyce otępienia u osób starszych. Zawartość AGE w ślinie niestymulowanej korelowała ujemnie z wynikiem funkcji poznawczych w skali MMSE, a zatem AGEs w ślinie może być wykorzystywany w diagnostyce otępienia [30,31,32,33].

PODSUMOWANIE

Wczesne wykrywanie i prewencja AD stanowią jedno z ważniejszych wyzwań współczesnej medycyny. Istnieje potwierdzony badaniami związek między akumulacją AGEs a wystąpieniem AD, przez co AGEs mogą być

potencjalnym biomarkerem choroby Alzheimera. Wymagane są dalsze badania na większych populacjach chorych, w tym ocena przydatności diagnostycznej biomarkera.

PIŚMIENNICTWO

1. Wojtyniak B., Goryński P.: "Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania". Raport Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - Państwowego Zakładu Higieny 2020
2. Kozubski W., Liberski P. P.: Neurologia kliniczna. Podręcznik dla lekarzy i studentów medycyny. Tom 2. Wydanie II rozszerzone i uaktualnione
3. Rowland L. P., Pedley T. A.: Neurologia Merritta Tom 2
4. Hausz-Piskorz B., Buczkowski K.: Diagnostyka i leczenie choroby Alzheimera w warunkach praktyki lekarza rodzinnego. Forum Medycyny Rodzinnej 2013, 7 (4): 198–20
5. Lindsay K. W., Bone I., Fuller G., Callander R.: Neurologia i neurochirurgia.
6. Gauthier S., Webster C., Servaes S., Morais J. A., Rosa-Neto P.: World Alzheimer Report 2022 Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support. AlzHeimer Disease International, WHO report 2022
7. Alzheimer's Association 2023 [online]. Dostępne: https://www.alz.org/brain_polish/08.asp Dostęp: 25.03.2023r.
8. Medycyna Praktyczna [online] dostępne:https://www.mp.pl/neurologia/wytyczne/296277,kliniczne-rozpoznanie-choroby-alzheimera-zalecenia-international-working-group dostęp:30.06.2023r.
9. Wyniki kontroli NIK: "OPIEKA NAD OSOBAMI CHORYMI NA CHOROBĘ ALZHEIMERA ORAZ WSPARCIE DLA ICH RODZIN." LKA.410.009.2016 Nr ewid. 189/2016/P/16/067/LKA
10. Livingston G.: Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission; Lancet AUG 08, 2020 Volume 396 number 10248
11. "Dementia in Europe Yearbook 2019 Estimating the prevalence of dementia in Europe" Alzheimer Europe UE 2020
12. Barcikowska M. :"NFZ o zdrowiu. Choroba Alzheimera i choroby pokrewne. Publikacja okolicznościowa 2022
13. Rachel W., Grela A., Zyss T., Zięba A., Piekoszewski W. : Biomarkery choroby Alzheimera. Przegląd Lekarski 2014 / 71 / 2
14. Mietelska-Porowska A., Wojsiat J., Laskowska-Kaszub K., Białopiotrowicz E., Wojda U.: Perspektywy terapii choroby Alzheimera w świetle badań nad cyklem komórkowym i apoptozą. Choroba Alzhaimera – wybrane zagadnienia biologiczne i kliniczne pod redakcją Jerzego Leszka. 2016: 59-94
15. Yankner B. A., Duffy L. K., Kirschner D. A.: *Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid beta protein: reversal by tachykinin neuropeptides*. Science. 1990, 250 (4978): 279–282,
16. Chen X., Yan S. D.: *Mitochondrial Abeta: a potential cause of metabolic dysfunction in Alzheimer's disease*. IUBMB Life 2006, 58 (12): 686–694
17. Bugaj A. M., Jermakow N.: Mechanizmy leżące u podłoża choroby Alzheimera. Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2016, 11(3): 85–92
18. Vlassara H., Palace M.R. :Diabetes and advanced glycation endproduct. Journal of Internal Medicine 2002, 251(2): 87-101
19. Młynarczyk R., Bochon B., Piontek A., Kunert Ł., Sobiś J., Gorczyca P. W.: Choroba Alzheimera — nowe strategie leczenia. Via Medica 2016, 13 (4): 210–214
20. Gill V., Kumar V., Singh K., Kumar A., Kim J. : Advanced Glycation End Products (AGEs) May be a Striking Link Between Modern Diet and Health. Biomolecules 2019, 9(12): 888
21. Singh R., Barden A., Mori T., Beilin L : Advanced glycation end-products: a review. Diabetologia 2001, 44: 129-146
22. Sasaki N., Fukatsu R., Hayashi Y. :Advanced Glycation End Products in Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disease. The American Journal of Pathology 1998. 153(4): 1149-1155
23. Łuszczewski A., Matyska-Piekarska E., Trefler J., Wawer I., Łącki J., Śliwińska-Stańczyk P.: Reaktywne formy tlenu - znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu. Reumatologia 2007; 25,5: 284-289
24. Ko S.Y., Ko H.A., Chu K.H.: The Possible Mechanism of Advanced Glycation End Products (AGEs) for Alzheimer's Disease. PLoS One 2015:10(11):e0143345. Epub PubMed.
25. Takeuchi, Masayoshi, Yamagishi, Sho-ichi.: Possible Involvement of Advanced Glycation End-Products (AGEs) in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. Current Pharmaceutical Design, Volume 14, No. 10, 2008, s 973-978(6)
26. Aoyama K.: Nitration of manganese superoxide dismutase in cerebrospinal fluids is a marker for peroxynitrite-mediated oxidative stress in neurodegenerative diseases. Ann. Neurol., 2000; 47: 524–527

BIOCHEMICZNE MARKERY METABOLIZMU KOŚCI W OCENIE GOJENIA SIĘ ZŁAMAŃ

Biochemical markers of bone metabolism in the assessment of fracture healing

Bożena Antonowicz[1*], Kamila Łukaszuk[2], Anna Zalewska[3], Jan Borys[2], Łukasz Woźniak[1], Mateusz Maciejczyk[4]

[1]Zakład Chirurgii Stomatologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[2]Klinika Chirurgii Szczękowej i Plastycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[3]Zakład Stomatologii Zachowawczej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[4]Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
antbo1@wp.pl (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Przebieg gojenia się złamań kości nie został dotychczas w pełni poznany. Wyniki badań, szczególnie ostatnich lat, stopniowo przybliżają komórkowe i biochemiczne zmiany, zachodzące podczas tego procesu [1-4]. Współczesna diagnostyka proponuje wiele różnych metod umożliwiających ocenę przebiegu gojenia się złamań. Niekiedy jednak są to badania inwazyjne lub późno ujawniające zmiany podczas trwania regeneracji kości, co ogranicza możliwość ich zastosowania w praktyce klinicznej. Wskazuje to na potrzebę poszukiwania nieinwazyjnych, powszechnie dostępnych i powtarzalnych metod pozwalających na ocenę dynamiki zmian w tym procesie oraz monitorowanie gojenia się złamań już we wczesnych jego fazach. Uważa się bowiem, że właśnie w zmianach początkowych etapów gojenia się złamań należy poszukiwać ewentualnych przyczyn zaburzeń tego procesu. Wykorzystanie badań biochemicznych poszerza możliwości diagnostyczne gojenia się złamań, a w połączeniu z innymi metodami oceny regeneracji kości stanowi ich istotne uzupełnienie.

BIOCHEMICZNE METODY OCENY GOJENIA SIĘ ZŁAMAŃ KOŚCI

U ludzi i zwierząt przebieg gojenia się złamań już od dawna próbowano oceniać przy użyciu wielu metod biochemicznych [3,5]. Pierwsze badania dotyczyły określenia zawartości, m.in. składników mineralnych, enzymów, aminokwasów, białek i węglowodanów. U ludzi substancje te oznaczane były we krwi i w moczu [3], natomiast u zwierząt we krwi i w tkance regeneracyjnej [5, 6]. Początkowo oznaczanie tych parametrów nie było wykorzystywane do monitorowania przebiegu gojenia się złamań. Wykonywano je w celu ustalenia roli badanych substancji w tym procesie. Badania te wykazały wzrost metabolizmu wapniowo-fosforanowego i białkowego oraz nasilenie procesów oksydoreduk-cyjnych w przebiegu gojenia się złamań [5, 6]. Opisywano również udział czynników wzrostu w tym procesie, m.in. insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) oraz białek wiążących, transformującego czynnika wzrostu β (TGF-β) [7-10], a także parametrów metabolizmu kolagenu [11-16].

W ostatnich latach określono rolę kilku wskaźników biochemicznych, pozwalających na ocenę aktualnie toczących się procesów resorpcji i tworzenia kości podczas przebudowy układu szkieletowego [17-19]. Są to enzymy specyficzne dla funkcji osteoklastów i osteoblastów, produkty syntezy lub degradacji macierzy kostnej oraz produkty metabolizmu kolagenu uwalniane do krwi [18, 20, 21]. Substancje te oznaczane w surowicy i/lub w moczu noszą nazwę markerów obrotu kostnego lub metabolizmu kości [17, 18, 22-24]. Poznane dotychczas markery biochemiczne dzieli się na dwie grupy, które odzwierciedlają podstawowe procesy przebudowy tkanki kostnej: tworzenie i resorpcję (Tabela 1.) [17, 18, 20, 23-26].

Tabela 1. Markery metabolizmu kości oznaczane w surowicy i w moczu.

MARKERY TWORZENIA KOŚCI	MARKERY RESORPCJI KOŚCI
OZNACZANE W SUROWICY	
Fosfataza zasadowa (ALP) Kostna fosfataza zasadowa (B-ALP) Osteokalcyna (BGP) C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PICP)	Kwaśna fosfataza winianooporna (TRAP) C-końcowy telopeptyd kolagenu typu I (ICTP)
OZNACZANE W MOCZU	
Osteokalcyna (BGP)	Hydroksyprolina (HYP) Glikozydy hydroksylizyny (G-HYL) Pirydynolina (PYR) Deoksypirydynolina (DPYR)

Wśród poznanych za najbardziej czułe i specyficzne wskaźniki tworzenia kości uważa się fosfatazę zasadową, a szczególnie jej izoenzym kostny, osteokalcynę i C-końcowy propeptyd kolagenu typu I oznaczane w surowicy oraz osteokalcynę okreslana w moczu [18, 20, 23, 24, 26-29]. Markerami resorpcji kości są, m.in. kwaśna fosfataza winianooporna, C-końcowy telopeptyd kolagenu typu I oznaczane w surowicy, a także hydroksyprolina, glikozydy hydroksylizyny, pirydynolinę i deoksypirydynolinę określane w moczu [12, 18, 30].

Przyjmuje się, że w przebiegu gojenia się złamań kości zachodzą zmiany podobne do tych jakie mają miejsce, m.in. w przebudowie układu szkieletowego [3]. Uważa się również, że gojenie się złamań, szczególnie do okresu klinicznego zrostu odłamów jest dynamicznym procesem tworzenia i rozwoju tkanki kostnej powiązanej z metabolizmem wapniowo-fosforanowym, przebiegającym ze zużyciem substancji mineralnych oraz wzmożonym metabolizmem kolagenu [1-4, 11-16, 27-29]. W ostatniej fazie regeneracji tkanki kostnej, na etapie przebudowy kostniny, jako pierwszy ujawnia się proces osteoklastycznej resorpcji, a następnie etap osteoblastycznego tworzenia [1-3]. Oba te procesy, tj. resorpcji i tworzenia kości są ze sobą ściśle sprzężone. Kostnina w wyniku przebudowy zostaje zastąpiona przez nowo wytworzoną kość blaszkowatą, w której blaszki są ułożone zgodnie z zasadą architektoniki danego odcinka kości, odtwarzając tym samym jej pierwotną strukturę [1-3, 31]. Ocena procesu gojenia się złamań przy użyciu biochemicznych markerów obrotu kostnego, zarówno tworzenia, jak i resorpcji kości poszerza zatem możliwości diagnostyczne tego procesu [18].

BIOCHEMICZNE MARKERY TWORZENIA KOŚCI

Fosfataza zasadowa (Alkaline Phosphatase - ALP)

Fosfataza zasadowa stanowi heterogenną grupę izoenzymów, należących do hydrolaz (fosfohydrolaz). Działają one w środowisku alkalicznym, hydrolizując związki zawierające fosforany [18, 20, 28, 32]. ALP jest enzymem obecnym w wielu tkankach ustroju. Wyróżnia się kilka form izoenzymów ALP:

jelitowe, łożyskowe oraz tkankowo niespecyficzne, występujące głównie w kościach, wątrobie i nerkach [18, 20, 28, 32]. Uwzględniając budowę, właściwości immunologiczne i funkcjonalne uważa się, iż każda z wymienionych form ALP kodowana jest przez oddzielny gen [18, 28, 32], koenzymy pochodzące z kości, wątroby i nerek są produktem tego samego genu [18, 28, 32]. Podczas biosyntezy podlegają one modyfikacjom potranslacyjnym, które powodują różnice w budowie izoenzymów, pochodzących z różnych tkanek. Aktywność fosfatazy zasadowej zależy głównie od izoenzymów wątrobowego i kostnego [20, 33]. W celu wyizolowania poszczególnych izoform ALP obecnych w surowicy krwi stosuje się między innymi testy temperaturowe, z użyciem fenyloalaniny i mocznika [20]. Znacznie wyższą czułość mają wprowadzone do oznaczeń aktywności różnych frakcji fosfatazy zasadowej metody elektroforetyczne z zastosowaniem neuraminidazy, radioimmunologiczne oraz immunoradiometryczne (IRMA) [17, 32-36].

Wyniki badań wskazują, że całkowita aktywność fosfatazy zasadowej ulega zmianom w przebiegu chorób wątroby i dróg żółciowych oraz wielu chorób metabolicznych kości, takich jak: osteomalacja, choroba Pageta, nadczynność przytarczyc, guzy pierwotne tkanki kostnej oraz przerzuty do kości [21]. Wykazano jej przydatność zarówno w diagnostyce, jak i ocenie wyników leczenia osteoporozy pomenopauzalnej [21, 37], Aktywność ALP w surowicy była dotychczas często używanym wskaźnikiem do oceny prawidłowego gojenia się złamań [4, 28, 38], jak i zaburzeń tego procesu [38].

Kostna fosfataza zasadowa (Bone Alkaline Phosphatase - B - ALP)

Kostna fosfataza zasadowa jest enzymem syntetyzowanym głównie przez osteoblasty, w mniejszych ilościach przez chondroblasty i odontoblasty, a zatem komórki tkanek zmineralizowanych, tj. kości, chrząstki i zębiny. W komórkach kostnych B-ALP zlokalizowana jest w błonie cytoplazmatycznej i uznawana jest za specyficzny marker aktywności osteoblastów i kościotworzenia [17, 20, 26, 39]. W badaniach porównawczych wykazano istotną statystycznie

zależność pomiędzy aktywnością kostnej frakcji fosfatazy zasadowej a kinetyką obrotu wapnia, co podkreśla wartość tego parametru w ocenie kościotworzenia [20, 26, 28]. Zdaniem niektórych autorów, o dużej przydatności oznaczeń B-ALP do oceny tego procesu decyduje stosunkowo długi okres jej półtrwania w surowicy (około 1-2 dni) oraz różnorodność metod opracowanych do oznaczania tego izoenzymu [20, 32]. W opinii niektórych autorów najwyższą czułość i specyficzność posiadają pomiary elekroforetyczne z zastosowaniem neuraminidazy, radioimmunologiczne oraz immunoradiometryczne [33, 36].

Wzrost aktywności B-ALP występuje u dzieci i młodzieży w okresie prawidłowego wzrostu [18, 21]. Wiele chorób metabolicznych kości przebiega również ze zmianą aktywności tego enzymu [18, 21]. Aktywność kostnej fosfatazy alkalicznej oceniano również w procesie gojenia się złamań, obserwując jej wzrost w fazach wzrostu aktywności osteoblastów i tworzenia tkanki kostnej [39]

Osteokalcyna (Bone Gla Protein - BGP)

Osteokalcyna, zwana kostnym Gla białkiem, należy do glikoprotein o małej masie cząsteczkowej, wynoszącej około 3800 - 6000 Daltonów. Zbudowana jest z ok. 50 i zawiera trzy reszty kwasu gamma karboksyglutaminowego [18, 40, 41]. Jest specyficznym białkiem niekolagenowym kości, syntetyzowanym przez dojrzałe osteoblasty (OBs) [20, 42]. BGP występuje w macierzy organicznej tkanki kostnej, stanowiąc ok. 20% tych białek [18, 20]. W nieznacznych ilościach występuje również w zębinie i w wapniejącej chrząstce, gdzie jest produkowana przez odontoblasty i hypertoficzne chondrocyty [20, 43]. Produkcja osteokalcyny regulowana jest przez witaminę D3 oraz K2 i wymaga ich odpowiednio wysokiego stężenia w surowicy. Osteokalcyna wytworzona przez OBs jest wbudowywana do macierzy kostnej. Część nowo zsyntetyzowanego białka (ok. 10 - 25%) jest uwalniana do krążenia i stosunkowo szybko wydalana z moczem. Stężenia BGP mogą być zatem oznaczane w surowicy krwi i w moczu [18, 27, 44]. Do jej oznaczeń opracowano metody ELISA, RIA oraz IRMA [44, 45].

Obecnie uważa się, że pomiar stężeń osteokalcyny we krwi stanowi najbardziej czuły i specyficzny marker tworzenia kości, co potwierdzają to wyniki badań, w których stężenia BGP korelują z kinetyką obrotu wapnia oraz z histomorfometrycznymi i densytometrycznymi wskaźnikami tworzenia kości u dzieci, młodzieży i dorosłych [20, 46]. Stężenia osteokalcyny ulegają zmianom w wielu jednostkach chorobowych, przebiegających ze zwiększonym lub zmniejszonym obrotem kostnym [18, 21]. W badaniach klinicznych oceniano stężenia BGP w gojeniu się złamań o prawidłowym przebiegu i zroście opóźnionym, wskazując jej wartość do oceny kościotworzenia [38, 47].

C - końcowy propeptyd prokolagenu typu I (C - terminal Propeptide Procollagen Type I - PICP)

C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I jest produktem konwersji prokolagenu w tropokolagen, tj. monomeryczną formę kolagenu. Proces ten polega na proteolitycznym odłączeniu C - końcowych i N - końcowych propeptydów bezpośrednio po sekrecji prokolagenu przez osteoblasty do przestrzeni pozakomórkowej [14, 18, 29]. Propeptydy N - końcowe są prawdopodobnie całkowicie wbudowywane do macierzy organicznej, natomiast C - końcowe fragmenty są uwalniane do krwi, gdzie mogą być oznaczane przy użyciu metod radioimmunologicznych [17, 19, 48]. Wykazano, że wskaźnik PICP uwolnionego do krwi w stosunku do wytworzonych cząsteczek kolagenu wynosi 1:1 [14, 29]. Uwzględniając fakt, że kolagen typu I stanowi około 90% wszystkich białek macierzy organicznej kości, oznaczenie PICP w surowicy może stanowić wartościowy wskaźnik do oceny kościotworzenia [17, 19]. Wykazano również przydatność oznaczeń C-końcowego propeptydu prokolagenu typu I do oceny wzrostu kości [185, 239], rozpoznania niedoboru hormonu wzrostu u dzieci [49] oraz w procesie gojenia się złamań kości u ludzi [14].

BIOCHEMICZNE MARKERY RESORPCJI KOŚCI

Kwaśna fosfataza winianooporna (Tartrate – Resistant Acid Phosphatase - TRAP)

Fosfataza kwaśna winianooporna obecna we krwi stanowi mieszaninę pięciu izoenzymów wytwarzanych przez różne komórki. Wśród nich jedynie fosfataza syntetyzowana przez osteoklasty jest oporna na winian [30]. Aktywność jej w surowicy stanowi specyficzny wskaźnik oceny aktywności osteoklastów i resorpcji kości [17, 18, 30, 37]. Dotychczas opracowano różne metody oznaczeń aktywności TRAP. Metoda radioimmunologiczna (RIA) z użyciem przeciwciał monoklonalnych jest uważana za metodę najbardziej czułą i specyficzną [30, 37]. Zwiększenie aktywności TRAP w surowicy stwierdzono w różnych jednostkach chorobowych, przebiegających ze wzrostem obrotu kostnego [17, 37, 50]. Wykazano również użyteczność jej oznaczeń do oceny wyników leczenia kalcytoniną pacjentów z chorobą Pageta oraz osteoporozą pomenopauzalną [50].

C-końcowy telopeptyd kolagenu typu I (C-terminal Telopeptide Collagen Type I - ICTP)

ICTP jest produktem degradacji wiązań poprzecznych kolagenu typu I występującego w kości [12, 18, 51]. Uwalniany podczas resorpcji kości telopeptyd ten transportowany jest do krwi. Jego stężenia w surowicy mierzone metodą RIA są wskaźnikiem tego procesu [51, 52]. Wykazano, że w przebiegu różnych chorób metabolicznych kości stężenia ICTP korelują z histomorfometrycznymi wskaźnikami resorpcji kości [51].

Wzrost jego stężeń stwierdzono w osteopenii u wcześniaków [52]. Dodatnią korelację odnotowano również pomiędzy stężeniami telopeptydu a poziomem pirydynoliny i deoksypirydynoliny oznaczanymi w moczu pacjentów z osteoporozą [51].

Hydroksyprolina (Hydroxyproline - HYP)

Jest to specyficzny aminokwas powstający z proliny, występujący we wszystkich typach kolagenu [18]. Podczas resorpcji kości i degradacji kolagenu uwalniana jest hydroksyprolina zarówno wolna, jak i związana z peptydami. Obie te postacie są transportowane do krwi i metabolizowane w wątrobie [37]. W konsekwencji niewielka ich ilość wydalana jest z moczem. W interpretacji wyników należy uwzględnić ponadto hydroksyprolinę, pochodzącą z przemian kolagenu innych tkanek niż kostna oraz kolagenu przyjętego w pokarmach. Stężenia hydroksyproliny wyrażane są w odniesieniu do ilości wydalanej kreatyniny [18, 37]. Wyniki badań klinicznych wskazują, że stężenia HYP słabo korelują z kinetyką obrotu wapnia oraz z histomorfometrycznymi wskaźnikami resorpcji kości [37]. Hydroksyprolina jest wskaźnikiem resorpcji kości, ale według niektórych autorów pomiary stężeń hydroksyproliny stanowią mało czuły i niespecyficzny marker tego procesu [18, 37].

Glikozydy hydroksylizyny (Glycosides Hydroxylysine - G-HYL)

Podobnie jak hydroksyprolina, podczas resorpcji kości i rozpadu kolagenu zostaje uwolniona hydroksylizyna. Jest to również aminokwas charakterystyczny dla wszystkich typów kolagenu i po uwolnieniu nie może być ponownie wykorzystany do syntezy tego białka. Hydroksylizyna wydalana jest z moczem [37, 51]. Podczas tworzenia łańcuchów kolagenu niektóre reszty hydroksylizylowe prokolagenu ulegają glikolizacji. Produktem tego procesu są glukogalaktozylo-hydroksylizyna i galaktozylo-hydroksylizyna [53]. Wykazano, że proporcja i całkowita zawartość obu tych glikozydów w macierzy kostnej oraz w skórze jest inna. Sugeruje to, iż glikozydy oznaczane w moczu mogą stanowić bardziej czułe wskaźniki resorpcji kości niż określanie hydroksyproliny [37]. Wyniki badań wskazują na użyteczność oznaczania galaktozylohydroksylizyny do oceny przemian kostnych w osteoporozie [37].

Pirydynolina (Pyridinoline - PYR) i deoksypirydynolina (Deoxypyridinoline -DPYR)

Są to aminokwasy poprzecznych wiązań sieciowych, stabilizujących strukturę dojrzałego kolagenu. Pirydynolina występuje w kolagenie typu I kości, w kolagenie typu II chrząstki, w niewielkich ilościach również w innych tkankach łącznych, ale nie występuje w skórze. Deoksypirydynolina jest aminokwasem charakterystycznym dla kolagenu typu I zawartego w kości i zębinie [17, 18, 37, 51]. Podczas resorpcji kości i degradacji kolagenu są one uwalniane do krwi, a następnie wydalane z moczem w formie wolnej (40%) i związanej z peptydami (60%) [54]. Stężenia pirydynoliny, a w szczególności deoksypirydynoliny obecnie zostały uznane za najbardziej czułe i specyficzne markery resorpcji kości [53]. Do ich oznaczeń opracowano metody immunoenzymatyczne (ELISA) [55] oraz chromatografii cieczowej wysokociśnieniowej (HPLC) [54].

Wzrost stężeń PYR i DPYR w moczu stwierdzono w pierwotnej nadczynności przytarczyc, w złośliwej hyperkalcemii, a także u kobiet w okresie menopauzy [37]. W osteoporozie stężenia deoksypirydynoliny korelują z histomorfometrycznymi wskaźnikami resorpcji kości oraz z kinetyką obrotu wapnia [37].

PODSUMOWANIE

Do oceny gojenia się złamań kości próbowano wykorzystać większość dostępnych metod diagnostycznych, jednakże nie zawsze spełniają one oczekiwania klinicystów. Często są to badania inwazyjne, czasochłonne, stosunkowo kosztowne, a czasem trudno dostępne. Niektóre z nich opierają się w dużej mierze na ocenie subiektywnej. Nie pozwalają one na szybką ocenę przemian zachodzących w tkance kostnej, co ma duże znaczenie w monitorowaniu gojenia się złamań i opóźnia wykrywanie zaburzeń tego procesu. Wprowadzenie skutecznych metod terapii współistnieje ze wzrastającym zapotrzebowaniem na obiektywne, a szczególnie nieinwazyjne metody badań, cechujące się dużą skutecznością oceny gojenia się złamań. Postęp dokonany w poznaniu specyficznych białek macierzy kostnej i metabolizmu kolagenu, tj. produktów

jego syntezy i degradacji, czynników wzrostu oraz rozwój nowych metod badawczych umożliwił określenie roli kilku markerów obrotu kostnego [17, 18, 37]. Poszerzają one arsenał uzupełniających badań diagnostycznych w wielu jednostkach chorobowych tkanki kostnej. Umożliwiają zarówno monitorowanie przebiegu choroby jak i ocenę skuteczności stosowanego leczenia, ponieważ pozwalają na szybką ocenę zmian metabolizmu kostnego w krótkich odstępach czasowych. Wyróżnia je nieinwazyjność, a w porównaniu z innymi metodami powtarzalność i możliwość jednoczesnego stosowania różnych oznaczeń biochemicznych. Istotną ich zaletą jest także możliwość uzyskania oddzielnej oceny tworzenia i resorpcji, tj. podstawowych procesów przebudowy tkanki kostnej [18, 20, 24, 26]. W stosunku do innych technik oceny tkanki kostnej mogą one służyć jako metody komplementarne.

PIŚMIENNICTWO

1. Frost H.M.: The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. Clin. Orthop. Relat. Res., 1989, 248, 283-293.
2. Frost H.M.: The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part II. Clin. Orthop. Relat. Res., 1989, 248, 294-309.
3. Grabowska S.Z.: Współczesna koncepcja gojenia złamań kości. Czas. Stomat., 1994, XLVII, 625-631.
4. Grabowska S.Z.: Zachowanie się stężeń niektórych hormonów i substancji mineralnych w surowicy krwi i moczu u mężczyzn w przebiegu gojenia się złamań kości części twarzowej czaszki. Praca habilitacyjna. Wyd. Uczelniane, Białystok, 1994.
5. Niedźwiedzki T., Pawlikowski T.: Zjawiska mineralogiczne zachodzące w obszarze gojenia złamań kości długich. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1990, LV, 277-283.
6. Bednarzewski S., Reutt H., Szmurło J.: Przemiana białkowa a tworzenie się blizny kostnej u starych, dojrzałych i młodych szczurów. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1964, XXIX, 5-11.
7. Dryl D, Grabowska S. Z., Antonowicz B., Pałka J., Rogowski F., Borys J.: Czynnik wzrostowy insulinopodobny 1 (IGF1) i białka wiążące w przebiegu gojenia złamań. Nowa Klinika, 2000, 7, 7, 741-745.
8. Dryl D., Grabowska S. Z., Antonowicz B., Borys J, Szarmach J.: Assessment of blood serum concentrations of insulin-like growth factor 1 (IGF1) and binding proteins in the course of facial fracture healing. Polish Journal of Environmental Studies, 2009, 18, 6A, 141-146.
9. Dryl D., Grabowska S. Z., Citko A., Pałka J., Antonowicz B., Rogowski F.: Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in serum and bone tissue during rat mandible fracture healing. Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku, 2001, 46, 290-299.
10. Sananta P., Respati S., Dradjat R. S., Rosandi R. D., Siahaan L. D.: TGF-1 biomarker level evaluation on fracture healing in a murine model with a bone defect after stromal vascular fraction application. Med. Glas. (Zenica) 2022, 19, 63-67.
11. Borys J., Antonowicz B., Grabowska S. Z. : Changes of procollagen type III N-terminal propeptide (PIIINP) concentrations during healing of mandible fractures treated with biodegradable and titanium fixations. Advances in Medical Sciences, 2013, 58, 2,. 434-441.
12. Borys J., Grabowska S. Z., Antonowicz B, Citko A., Dryl D., Rogowski F.: Stężenia C-końcowego telopeptydu kolagenu typu I (ICTP) w surowicy mężczyzn w przebiegu gojenia zlamań żuchwy. Czas. Stomat., 2004, 57, 6, 399-406.
13. Borys J., Grabowska S. Z., Antonowicz B., Citko A., Dryl D., Rogowski F.: N-końcowy propeptyd prokolagenu typu III (PIIINP) w ocenie gojenia złamań żuchwy u mężczyzn. Czas. Stomat., 2004, 57, 4, 246-254.
14. Borys J., Grabowska S. Z., Antonowicz B., Citko A., Dryl D., Rogowski F.: Stężenia C-końcowego propeptydu prokolagenu typu I (PICP) w ocenie gojenia złamań żuchwy. Czas. Stomat., 2004, 57, 5, 333-340.

15. Borys J., Grabowska S. Z., Antonowicz B., Dryl D., Citko A., Rogowski F.: The concentration of C-terminal propeptide of type 1 procollagen in blood serum in the course of mandibular fracture healing (preliminary report), Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku, 2001, 46, 251-262.
16. Borys J., Grabowska S. Z., Antonowicz B., Dryl D., Citko A., Rogowski F.: Collagen type I and III metabolism in assessment of mandible fractures healing. Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku, 2004, 49, 237-245.
17. Delmas P. D.: Biological markers of bone turnover. J. Bone Miner. Res., 1993, 2 suppl., 549-555.
18. Grabowska S. Z., Rogowski F., Citko A.: Wybrane markery biochemiczne procesu przebudowy tkanki kostnej. Czas. Stomat., 1996, XLIX, 436-439.
19. Risteli L., Risteli J.: Biochemical markers of bone metabolism. Ann. Med., 1993, 25, 385-393.
20. Calvo S. M., Eyre D. R., Gundberg C. M.: Molecular basis and clinical application of biologic markers of bone turnover. Endocrine Rev., 1996, 17, 333-368.
21. Galus K.: Choroby metaboliczne kości. Med. Tour Press International Wyd. Medyczne, Warszawa, 1994.
22. Demers L. M., Kleerekoper M.: Recent advances in biochemical markers of bone turnover. Clin. Chem., 1994, 40, 1994-1995.
23. Seibel M. J., Baylink D. J., Farley J. R., Epstein S., Yamauchi M., Eastell R., Pols H. A. P., Raisz L. G., Gundberg C. M.: Basic science and clinical utility of biochemical markers of bone tumover - a congress report. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 1997, 105, 125-133.
24. Weaver C. M., Peacock M., Martin B. R., Mccabe G. P., Zhao J., Smith D. L., Wastney M. E.: Quantification of biochemical markers of bone tumover by kinetic measures of bone formation and resorption in young healthy females. J. Bone Miner. Res., 1997, 12, 1714-1720.
25. Garnero P., Gineytis E., Riou J. P., Delmas P. D.: Assessment of bone resorption with a new marker of collagen degradation in patients with metabolic bone disease. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1994, 79, 780-785.
26. Taylor A. K., Lueken S. A., Libanati C., Baylink D. J.: Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. Rheum. Dis. Clin. North Am., 1994, 20, 589-607.
27. Antonowicz B., Grabowska S. Z, Dryl D., Borys J., Rogowski F., Citko A., Szmitkowski M.: Analiza stężeń osteokalcyny w przebiegu gojenia złamań żuchwy u szczurów. Czas. Stomat., 2001, 54, 9, 599-605.
28. Antonowicz B., Grabowska S. Z., Dryl D., Szmitkowski M., Borys J.: Aktywność fosfatazy zasadowej w procesie gojenia złamań żuchwy u szczurów. Czas. Stomat., 2001, 54, 10, 660-666.
29. Antonowicz B., Grabowska S. Z., Dryl D., Borys J., Citko A., Rogowski F.: Stężenia C-końcowego propeptydu prokolagenu typu I w przebiegu gojenia złamania żuchwy u szczurów. Czas. Stomat., 2001, 54, 11, 718-722.
30. Nowak Z., Konieczna M., Saracyn M., Wańkowicz Z.: Winianooporna kwaśna fosfataza – TRACP-5b jako nowoczesny marker resorpcji kości. Pol. Merk. Lek., 2008, 142, 351-354.
31. Hulth A.: Current concepts of fracture healing. Clin. Orthop. Relat. Res., 1989,249,265-284.
32. Favre G., Canal P., Soula G., Bagnoux J. P., Jardillier J. C.: Communiąue: Les phosphatases alcalines aspect genetique-identification et interpretation clinique. Ann. Biol. Clin. 1990, 48, 119-125.
33. Bruder S., Caplan A.: A monoclonal antibody against the surface of osteoblasts recognizes alkaline phosphatase isoenzymes in bone, liver, kidney, and intestine. Bone, 1990, 11, 133-139.
34. Bouman A. A., Scheffer P. G., Ooms M. E., Lips P., Netelenbos C.: Two bone alkaline phosphatase assays compared with osteocalcin as a marker of bone formation in healthy elderly women. Clin. Chem., 1995, 41, 196-199.
35. Garnero P., Delmas P. D.: Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patiens with metabolic bone disease. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1993, 77, 1046-1053.
36. Price C. P., Milligan T. P., Darte C.: Direct comparison of performance characteristics of two immunoassays for bone isoform of alkaline phosphatase in serum. Clin. Chem., 1997, 43, 2052-2057.
37. Delmas P. D.: Clinical use of biochemical markers of bone remodeling in osteoporosis. Bone, 1992, 13, 17-21.
38. Nyman M. T., Paavolainen P., Forsius S., Lamberg-Allardt C.: Clinical evaluation of fracture healing by serum osteocalcin and alkaline phosphatase. Ann. Chir. Gynaecol., 1991, 80, 289-293.
39. Lelung K. S., Fung K. P., Sher A. H. L., Li C. K., Lee K. M.: Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. J. Bone Joint Surg., Br., 1993, 75-B, 288-292.
40. Garnero P., Grimaux M., Seguin P., Delmas P. D.: Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated in vivo and in vitro. J. Bone Miner. Res., 1994, 9, 255-264.
41. Zdrojewicz Z., Zabel M., Drumlak G., Januszewski A.: Monitorowanie stężenia osteokalcyny jako metoda oceny przebudowy tkanki kostnej. Probl. Terapii Monitor., 1995, 6, 3-8.
42. Villa I., Banfi G., Daverio R., Resmini G., Rubinacci A.: Osteocalcin production in vivo and in vitro after l,25-dihydroxycholecalciferoł stimulation comparison of different assays. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1996, 34, 771-775.
43. Nakao M., Nishiuchi Y., Nakata M., Kimura T., Sakakibara S.: Synthesis of human osteocalcins: gamma-carboxyglutamic acid et position 17 is essential for a calcium-dependent confonnational transition. Pept. Res., 1994, 7, 171-174.
44. Masters P. W., Jones R. G., Purves D. A., Cooper E. H., Cooney J. M.: Commercial assays for serum osteocalcin give clinically discordant results. Clin. Chem., 1994, 40,3 5 8-3 63.

45. Parviainen M., Kuronen I., Kokko H., Lakaniemi M., Savolainen K., Mononen I.: Two-site enzyme immunoassay for monitoring intact human osteocalcin in serum. J. Bone Miner. Res., 1994, 9, 347-354.
46. Cole D. E. C., Carpenter T. O., Gundberg C. M.: Serum osteocalcin concentrations in children with metabolic bonę diseases. J. Pediatr., 1985, 106, 770-776.
47. Respati S., Dradjat R. S., Sananta P., Rosandi R. D., Siahaan L. D.: Osteocalcin biomarker level evaluation on fracture healing with bone defect after stromal vascular fraction application in murine model, Ann. Med. Surg (Lond), 2021, 2, 71, 103020.
48. Melkko J., Niemi S., Risteli L., Risteli J.: Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. Clin. Chem., 1990, 36, 1328-1332.
49. Cinaz P., Hasanoglu E., Gókęora N., Dogukan S., Demir A.: Serum levels of carboxyterminal propeptide of type I procollagen and aminoterminal propeptide of type III procollagen in children with growth retardation. Mat. Med. Pol., 1994, 26, 55-58.
50. Rico H., Villa L. F.: Serum tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) as a biochemical marker of bone remodeling. Calcif. Tissue Int., 1993, 52, 149-150.
51. Valimaki M.J., Tahtela R., Jones J. D., Peterson J. M., Riggs L. B.: Bone resorption in healthy and osteoporotic postmenopausal women: comparison markers for serum carboxy-terminal telopeptide of type I collagen and urinary pyridinium cross-links. Eur. J. Endocrinol., 1994, 131,258-262.
52. Mora S., San Raffaele H., Weber G., Bellini A., Bianchi C., Chiumello G.: Bone modeling alteration in premature infants. Arch. Pediatr. Adolesc. Med., 1994, 148, 1215-1217.
53. Bettica P., Baylink D. J., Moro L.: Galactosyl hydroxylysine and deoxypyridinoline: a methodological comparison. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1993, 31,459-465.
54. Uebelhart D., Gineyts E., Chapuy M. C., Delmas P. D.: Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. Bone Miner., 1990, 8, 87-96.
55. Robins S.P., Woitge H., Hesley R., Ju J., Seyedin S.M., Seibel M.J.: Direct enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. J. Bone Miner. Res., 1994, 9, 1643-1649.

METODY OCENY GOJENIA SIĘ ZŁAMAŃ KOŚCI W BADANIACH KLINICZNYCH I DOŚWIADCZALNYCH

Methods for assessing the healing of bone fracturesin clinical and experimental studies

Bożena Antonowicz[1*], Łukasz Woźniak[1], Kamila Łukaszuk[2], Żaneta Anna Mierzejewska, Jan Borys[2]

[1]Zakład Chirurgii Stomatologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[2]Klinika Chirurgii Szczękowej i Plastycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku;
[3]Instytut inżynierii Biomedycznej, Politechnika Białostocka;
antbo1@wp.pl (autor korespondencyjny)

WPROWADZENIE

Ocena gojenia się złamań kości, monitorowanie tego procesu i wczesne wykrywanie zaburzeń ma ogromne znaczenie w praktyce klinicznej. Chorzy z obrażeniami kości części twarzowej czaszki stanowią istotny problem terapeutyczny. Złamania szkieletu twarzowego prowadzą do zaburzeń morfologicznych oraz czynnościowych układu stomatognatycznego, a także defektów estetycznych twarzy [1]. Precyzyjna, łatwo dostępna i efektywna diagnostyka pozwala na ustalenie prawidłowego rozpoznania, co warunkuje włączenie właściwego leczenia. Terapia złamań kości części twarzowej czaszki ma na celu odtworzenie kształtu anatomicznego kości i zgryzu sprzed urazu, a także przywrócenie prawidłowych funkcji narządu żucia i estetyki twarzy. Umożliwia to uzyskanie dobrego efektu anatomicznego i czynnościowego oraz skrócenie okresu rekonwalescencji. Współczesna diagnostyka proponuje wiele metod, które pozwalają nie tylko na rozpoznanie rodzaju obrażeń kości, ale również umożliwiają ocenę zastosowanego leczenia i przebiegu gojenia się złamań [2].

METODY OCENY GOJENIA SIĘ ZŁAMAŃ

Ocena kliniczna

Przebieg gojenia się złamań kości na przestrzeni lat oceniany był różnymi metodami. Najstarszym sposobem badania tego procesu jest ocena kliniczna [3-6], która była stosowana już przez Hipokratesa [7]. Rozpoznanie złamania na podstawie badania klinicznego opiera się na stwierdzeniu wzajemnej ruchomości odłamów, bólu samoistnego, nasilającego się przy ruchach i badaniu palpacyjnym, zaburzenia funkcji złamanej kości oraz obecności odczynów pourazowych, obrzęku w obrębie tkanek miękkich w miejscu złamania i w jego najbliższym otoczeniu [3, 4, 6]. Objawy stanowiące kliniczne kryterium złamania w trakcie gojenia stopniowo ustępują. Z badań na zwierzętach wynika, że wyraźna ruchomość odłamów w fazie zapalnej stopniowo ulega ograniczeniu w okresie ziarniny [6]. W badaniu przedmiotowym podstawowym objawem fazy tworzenia kostniny w przebiegu gojenia się złamań jest brak ruchomości odłamów kostnych, co jest jednoznaczne z powstaniem zrostu klinicznego [3, 4, 6]. W tym okresie stwierdza się również miejscowe zgrubienia kości, będące wynikiem nadmiaru wytworzenia kostniny odokostnowej, zwanej też kołnierzową lub zewnętrzną [3, 4]. W kolejnym etapie gojenia, w fazie przebudowy kostniny objaw ten stopniowo ustępuje [3, 4]. Zdaniem wielu autorów dokładna ocena gojenia się złamań na podstawie badania klinicznego jest trudna, gdyż jest to metoda subiektywna, mało czuła i wymagająca znacznego doświadczenia [3].

Metody rentgenograficzne

Metody rentgenograficzne (klasyczne zdjęcia radiologiczne), do chwili obecnej, poza badaniem klinicznym są najbardziej rozpowszechnionym sposobem oceny złamań kości i ich regeneracji [2-4, 6, 8-12]. Pozwalają one na określenie rodzaju złamania, jego lokalizacji, stopnia przemieszczenia odłamów, są również pomocne w wyborze metody leczenia [3, 4]. Wykonywane w trakcie leczenia pozwalają na ocenę nastawienia i unieruchomienia odłamów. Umożliwiają także monitorowanie procesów naprawczych w przebiegu gojenia się

złamań, ponieważ poszczególnym fazom gojenia się kości odpowiadają różne obrazy na zdjęciach rentgenowskich [3, 4, 11, 12]. Początkowo szczelina złamania jest dobrze widoczna w postaci przejaśnienia przebiegającego przez całą szerokość kości [2-4, 12]. W okresie tworzenia ziarniny radiologicznie stwierdza się poszerzenie szczeliny złamania, które jest wynikiem osteolizy brzegów odłamów kostnych [3, 4, 6, 12]. W następnym etapie gojenia, tworzenie się kostniny widoczne jest w obrazie rentgenowskim w postaci delikatnego cienia pomiędzy odłamami, który w miarę upływu czasu, tj. stopnia mineralizacji staje się coraz bardziej wyraźny [3, 4]. W tej fazie gojenia widoczne są również zgrubienia zarysu kości wokół szczeliny złamania, spowodowane nadmiarem kostniny wytworzonej odokostnowo [4]. W ostatnim okresie gojenia się złamań, w fazie remodelacji, przebudowa kostniny radiologicznie uwidacznia się coraz silniejszym wysyceniem cienia w szparze złamania, tak że staje się ona niezauważalna. Wytworzone beleczki kostne stopniowo dopasowują się do warunków obciążenia, działających na kość sił fizycznych. Układają się one według architektonicznych praw statyki i dynamiki układu kostnego, dając w efekcie obraz radiologiczny rekonstrukcji tkanki bez śladów przebytego złamania [2, 3, 12]. W opinii wielu autorów, stosowanie konwencjonalnych, rentgenowskich metod obrazowania do oceny postępu gojenia się złamań może stwarzać trudności diagnostyczne wynikające, m.in. z nakładania się sąsiednich struktur kostnych, obecności aparatów unieruchamiających, czy też opatrunków gipsowych wykorzystywanych w leczeniu złamań kości długich [5].

Rozwój techniki umożliwił zmodyfikowanie powszechnie stosowanych badań radiologicznych wykonywanych w celu monitorowania gojenia się złamań, co pozwoliło na zwiększenie ich precyzyjności. Jedną z tych metod jest mikrorentgenoskopia, polegająca na wykonywaniu zdjęć rentgenowskich na kliszach drobnoziarnistych i oglądaniu ich w kilkunastokrotnym powiększeniu [13]. Pomocne są również kontrastowe, strukturalne zdjęcia makroradiograficzne (powiększone) [11], a także tomograficzne (warstwowe), umożliwiające uzyskanie ostrych obrazów elementów anatomicznych, znajdujących się w określonej warstwie [2, 4]. Zastosowanie natomiast metod pantomograficznych pozwala na

ocenę przebiegu gojenia się złamań kości w obrębie struktur zakrzywionych, m.in. łuków zębowych [2, 4].

Wśród klinicystów istnieje powszechny pogląd, że konwencjonalne badania radiologiczne stosunkowo późno ujawniają zmiany zachodzące podczas gojenia się złamań [5, 9, 14, 15]. Przedstawiają one głównie obraz końcowych faz tego procesu, jakimi są tworzenie kostniny i jej wewnętrzna przebudowa [9]. Określenie stopnia „konsolidacji i wytrzymałości" zrostu kostnego na podstawie obrazów radiologicznych jest możliwe tylko w łączności z innymi metodami [5]. Interpretacja zdjęć rentgenowskich ograniczona jest ponadto kompleksem czynników technicznych, wpływających na ich jakość, jak również subiektywizmem oceny obrazu radiologicznego [10, 16]. Dlatego też do analizy rentgenogramów układu kostnego stosuje się szereg metod pomocniczych, których głównym celem jest uzyskanie wysokiego stopnia obiektywizacji oceny tych zdjęć. Służą temu m.in. nowoczesne pomiary, polegające na przetwarzaniu analogowych obrazów radiologicznych na cyfrowe, które są następnie analizowane przy użyciu specjalistycznych systemów komputerowych [2, 10, 13]. Jest to szczególnie przydatne w ilościowej analizie zrostu kości po przebytym złamaniu [10].

Doceniając ogromne znaczenie nowych metod oceny gojenia się złamań kości, podkreśla się przydatność klasycznych zdjęć rentgenowskich, które w powiązaniu z wnikliwym badaniem klinicznym są bardzo użyteczne w rutynowej praktyce klinicznej [3].

Badania densytometryczne

Do oceny gojenia się złamań kości, szczególnie w okresie tworzenia kostniny i jej przebudowy stosowane były również metody densytometryczne [17-19]. Polegają one na ilościowym oznaczaniu zawartości składników mineralnych w tkance kostnej (Bone Minerał Content - BMC), wyrażonej w gramach hydroksyapatytu w jednostce objętości (np. w g/cm3). Pozwalają również na określenie jej gęstości (Bone Minerał Density - BMD), podawanej najczęściej

w g/cm2. Opierają się one na pomiarze absorpcji fotonów [13, 16-19] lub wiązki promieniowania rentgenowskiego po ich przejściu przez badaną kość [13, 16, 18-20].

Jedną z nich jest rentgenodensytometria pozwalająca na ocenę mineralizacji macierzy dzięki porównaniu stopnia zatrzymywania promieni X przez badaną tkankę kostną z ich absorpcją przez wzorcowe płytki aluminiowe [10, 13, 18, 19] lub miedziane [10]. Obraz płytek metalowych zawarty na kliszy służy do standaryzacji cyfrowych obrazów radiologicznych, poddawanych obróbce komputerowej. Jest to metoda cyfrowej analizy gęstości radiogramów kości (Computed Assisted Densitometric Image Analysis - CADIA), umożliwiająca śledzenie procesu mineralizacji osteoidu i przebudowy kostniny podczas gojenia się złamań [10, 21].

Do oceny postępu mineralizacji w przebiegu procesów regeneracyjnych wykorzystywano także ilościowe pomiary mikrodensytometryczne struktury kostnej na radiogramach, również połączone z komputerowym przetwarzaniem danych, pozwalające na określenie gęstości kości [22]. Gęstość nowo utworzonej tkanki kostnej w gojeniu się złamań oceniano przy użyciu absorpcjometrii wiązki fotonów o jednakowej energii (Single Photon Absorptiometry - SPA). Metoda ta polega na ocenie współczynnika osłabiania monochromatycznej wiązki promieniowania gamma emitowanego przez izotopy jodu: I2lJ [16] i I25J lub ameryku 241Am [18, 19]. Różnice w absorpcji fotonów pomiędzy badaną kością a tkankami miękkimi pozwalają oznaczyć gęstość masy kostnej wyrażonej w gramach hydroksyapatytu na 1 cm2 powierzchni (g/cm2). Warunkiem uzyskania dokładnych pomiarów z zastosowaniem SPA jest jednolita grubość tkanek miękkich wokół badanej kości [16]. Ogranicza to znacznie możliwości wykorzystania tej metody do oceny gojenia się złamań w praktyce klinicznej. Monitorowanie przebiegu procesów regeneracyjnych w okresie tworzenia kostniny, a następnie jej przebudowy w ostatnim etapie gojenia w ocenie SPA jest możliwe jedynie w przypadku złamań kości w odcinkach obwodowych, otoczonych jednolitą warstwą tkanek miękkich [17, 19]. Wadą badań densytometrycznych

z zastosowaniem SPA jest ponadto niemożność dokonania oddzielnych pomiarów gęstości kości zbitej i beleczkowej [13, 16]. Istnieje również konieczność okresowej wymiany izotopowego źródła promieniowania ze względu na jego rozpad i związane z tym malejące natężenie emitowanej wiązki promieniowania [13, 16].

W innych badaniach densytometrycznych izotopowe źródło promieniowania zostało zastąpione lampą rentgenowską z filtrem rozdzielającym promienie na dwie oddzielne wiązki o różnych energiach lub wysyłającą je naprzemiennie w odstępach milisekundowych [13, 16]. Są to metody absorpcjometrii wiązek promieniowania o dwóch różnych energiach (Dual Energy X-ray Absorptiometry - DEXA) [13, 16-20, 23]. W opinii wielu autorów rentgenowskie badania densytometryczne - DEXA uznawane są za bardziej nowoczesne i precyzyjne sposoby pomiaru zawartości składników mineralnych oraz gęstości kości niż SPA [13, 16, 20]. Metody te rzadko jednak były stosowane do oceny gojenia się złamań o prawidłowym przebiegu [17-19, 24]. Wykorzystywano je częściej do diagnostyki zmian kostnych i złamań w przebiegu chorób metabolicznych kości [13, 16]. Jednym z ograniczeń pomiarów z użyciem DEXA jest to, iż płaszczyznowo odzwierciedlają trójwymiarowe struktury jakimi są kości [16].

Problem ten rozwiązano przez wprowadzenie tomografii komputerowej (Computed Tomography - CT) [2, 4, 12]. W badaniu tym nośnikiem informacji diagnostycznej jest emitowana z lampy rentgenowskiej wiązka promieniowania X, która przechodząc przez poszczególne elementy warstw tkanek miękkich i kości ulega odpowiednio osłabieniu. Istotą badania jest rejestracja przez detektory liniowych współczynników promieniowania rentgenowskiego, które w różnym stopniu ulega osłabieniu w tkankach poddanych badaniu. Względny współczynnik liniowego osłabienia zależny od gęstości tkanek, rejestrowany jest w postaci zapisu cyfrowego, poddawanego analizie komputerowej [2, 4, 12, 16]. Za pomocą tej techniki można dokonać przestrzennej wizualizacji dowolnego odcinka kości w projekcjach nieosiągalnych dotychczas przy zastosowaniu klasycznych metod rentgenowskich [2, 4, 5, 12, 25]. Uzyskane obrazy są bardziej

dokładne i szczegółowe ponieważ badanie to eliminuje nakładanie się sąsiednich struktur [5, 16]. Z przeprowadzonych badań wynika, że metoda ta pozwala na wcześniejsze i bardziej precyzyjne uchwycenie zmian, zachodzących w fazie mineralizacji macierzy i przebudowy kostniny w procesie gojenia się złamań, w porównaniu z innymi badaniami densytometrycznymi [5, 14].

Uważa się, że jedynie ilościowa tomografia komputerowa (Quantitative Computed Tomography - QCT) umożliwia rzeczywisty pomiar gęstości tkanki kostnej i wyrażenie go w rzeczywistych jednostkach objętościowych (g/cm3). Pozwala także na wybiórcze określenie gęstości mineralnej kości zbitej i gąbczastej, co jest bardziej czułym wskaźnikiem niż pomiar zintegrowany [13, 16]. W metodzie tej może być wykorzystana absorpcja jednej wiązki promieniowania rentgenowskiego o jednakowej energii (Single Energy Quantitative Computed Tomography - SEQCT) [13, 16] lub dwóch wiązek promieniowania X o różnych energiach (Dual Energy Quantitative Computed Tomography - DEQCT) [13, 16]. Metody te sporadycznie stosowano do oceny przebiegu gojenia się złamań z uwagi na dość dużą dawkę napromieniowania podczas wykonywania tych badań, stosunkowo wysoki ich koszt i ograniczoną dostępność [13, 16]. Obecnie wykorzystywane są one w rutynowej praktyce klinicznej.

Do oceny zjawisk zachodzących w procesie gojenia się złamań wykorzystywano również badania ultrasonograficzne - USG, w których nośnikiem informacji diagnostycznej są fale ultradźwiękowe o częstotliwości od 0,1 do 0,6 MHz, zdolne do rozprzestrzeniania się w tkance kostnej [13, 16, 26, 27]. Podczas przemieszczania się fal w kości zmieniają one swoją szybkość w zależności od architektury tkanki kostnej, zawartych w niej soli mineralnych, a także w zależności od liczby i jakości włókien kolagenowych [13, 16]. W obrazowaniu USG wykorzystuje się różnicę impedancji akustycznej badanych struktur oraz związane z tym odbicie fali ultradźwiękowej, które może być rejestrowane za pomocą aparatury elektronicznej i poddane analizie komputerowej [2, 13, 16]. Uzyskane wyniki przedstawiane są najczęściej w formie zapisu prędkości fali (SOS - Speed of Sound), zależnej od elastyczności i gęstości mierzonej tkanki

kostnej oraz w postaci tłumienia fali ultradźwiękowej (BUA - Broadband Ultrasound Attenuation), będącego funkcją jej pochłaniania i rozpraszania [16, 17]. Z dotychczasowych badań wynika, że USG może być użyte do oceny tworzenia macierzy organicznej, jej mineralizacji oraz przebudowy wewnętrznej kostniny [26, 27]. Badania Gerlanca i Abendscheina wykazały, że szybkość przechodzenia fali oraz jej tłumienie po przejściu przez tkankę regeneracyjną koreluje z oceną kliniczną i radiologiczną w tych fazach gojenia się złamań [26]. Wielu autorów podkreśla, że jest to metoda nieinwazyjna, wymaga krótkiego okresu badania i jest stosunkowo tania. Jednakże podobnie jak inne pomiary densytometryczne późno ujawnia zmiany zachodzące w przebiegu gojenia się złamań [13, 16].

Metabolizm kości i procesy, zachodzące po złamaniu próbowano oceniać również przy użyciu jądrowego rezonansu magnetycznego (Nuclear Magnetic Resonance - NMR, Magnetic Resonance Imaging - MRI) [2, 12, 13, 28, 29], wykorzystującego właściwości magnetyczne niektórych jąder atomowych [2, 4, 12]. Tomografia magnetycznego rezonansu jądrowego to technika obrazowania oparta na oddziaływaniu fal elektromagnetycznych na protony znajdujące się w zewnętrznym polu magnetycznym [2]. Postęp w technice NMR pozwolił na uzyskiwanie wzmocnienia sygnałów pochodzących z obszaru kości, skrócenie czasu badania oraz zwiększenie zdolności rozdzielczej, umożliwiającej bardziej precyzyjne odwzorowywanie struktury tkanki kostnej [2, 29]. Udoskonalenia te pozwoliły na wykorzystanie NMR w diagnostyce mikrozłamań z przeciążenia oraz tzw. złamań „ukrytych” [28, 29]. Badania z zastosowaniem NMR pozwoliły przybliżyć szereg przemian biochemicznych, zachodzących podczas gojenia się złamań, m.in. metabolizmu fosforanów [30]. Należy jednak podkreślić, iż jest to metoda dość skomplikowana, wymagająca dużego doświadczenia oraz kosztowna. Nie może być stosowana u ludzi z wszczepionymi urządzeniami elektronicznymi lub metalowymi, takimi jak elektrostymulatory i rozruszniki serca, sztuczne, metalowe zastawki serca, ferromagnetyczne klipsy naczyniowe czy ferromagnetyczne protezy wewnątrzstawowe, co znacznie ogranicza możliwości jej wykorzystania [2].

Metody radioizotopowe - autoradiograficzne i scyntygraficzne

Proces gojenia się złamań oceniany był przy użyciu badań autoradiograficznych, polegających na wykrywaniu znaczników promieniotwórczych w preparatach cytologicznych. W badaniach tych wykorzystywano tymidynę znakowaną trytem, która była wbudowywana do jąder komórkowych szybko syntetyzujących DNA w okresie fazy przedpodziałowej [13]. Umożliwiło to określenie kinetyki oraz stopnia namnażania macierzystych komórek tworzących kość w przebiegu gojenia się złamań [13]. W badaniach tego procesu u myszy, największe nasilenie proliferacji prekursorów osteoblastów znajdujących się w okostnej stwierdzono po 32 godzinach od złamania [13].

Inną z metod służących do oceny gojenia się złamań jest scyntygrafia [3, 31, 32]. Badanie to polega na ustaleniu rozmieszczenia w tkance kostnej podanych pacjentowi związków znakowanych radioizotopami [3, 13]. Lokalizację radiofarmaceutyków przeprowadza się przy użyciu scyntylacyjnych kamer gamma lub tomografów automatycznie rejestrujących emitowane promieniowanie [2, 3]. Cechą charakterystyczną tych związków jest ich wybiórcze gromadzenie się w kości, w miejscach aktualnie zachodzącej mineralizacji nowo wytworzonej macierzy organicznej. Mogą się one odkładać również na zewnętrznych powierzchniach kryształów hydroksyapatytów, sąsiadujących z opływającym je płynem sieci kanalikowo-jamkowej [2, 3, 13]. Jak wynika z piśmiennictwa, na przestrzeni wielu lat do oceny gojenia się złamań kości wykorzystywano różne izotopy promieniotwórcze, m in. fluoru - 18F, fosforu - 32P, strontu - 85Sr, strontu - 87Sr i wapnia 47Ca [3, 13]. Stosuje się również bisfosfoniany znakowane promieniotwórczym izotopem technetu - 99mTc [3, 13, 33-35], który jest stosunkowo bezpieczny z uwagi na krótki czas połowiczego rozpadu (ok. 6 godzin) oraz szybkie jego wydalanie z organizmu [3]. Wyniki badań wskazują, że użycie bisfosfonianów pozwala na ocenę proliferacji i aktywności osteoblastów w fazie tworzenia macierzy i jej mineralizacji, ponieważ mają one duże powinowactwo do kryształów hydroksyapatytów i umiejscowiają się na świeżo umineralizowanych powierzchniach nowo wytworzonej tkanki regeneracyjnej [13]. Według niektórych autorów scyntygrafia umożliwia monitorowanie

przebiegu gojenia się złamań i pozwala również na wczesne wykrywanie zaburzeń tego procesu [2]. Wyniki badań radioizotopowych na zwierzętach wykazały, że gojenie się złamań jest procesem długotrwałym, przebiegającym ze zwiększeniem obrotu kostnego. Ocena radioizotopowa zmian zachodzących w tkance kostnej jest możliwa tylko w przypadku dobrego unaczynienia badanych struktur, co jest warunkiem dotarcia izotopu do tych obszarów kości [2, 3].

Badania przepływu krwi

Uwzględniając istotną rolę ukrwienia w prawidłowym przebiegu gojenia się złamań do oceny tego procesu stosowano badania przepływu krwi [36, 37]. Były one prowadzone na zwierzętach z zastosowaniem takich metod jak, angiografia i mikroangiografia. U ludzi stan krążenia obwodowego, a także przepływ krwi w obszarze gojenia się złamań oceniany był za pomocą tomografii komputerowej, jądrowego rezonansu magnetycznego oraz technik dopplerowskich (ultradźwiękowych) [36, 37]. We wszystkich tych badaniach wykazano, że w gojeniu się złamań o prawidłowym przebiegu szczyt przepływu występuje w fazie ziarniny, a następnie stopniowo zmniejsza się. W okresie zrostu klinicznego ulega stabilizacji [36].

Metody histologiczne i morfometryczne

Do oceny przebiegu procesów regeneracyjnych kości po złamaniach stosowane były także metody histologiczne. Wykorzystywano je do monitorowania tych procesów w badaniach na zwierzętach [6, 18, 19, 38]. Pozwoliły one na określenie szeregu zmian morfologicznych, zachodzących podczas gojenia się złamań i w oparciu o stwierdzone zmiany określono i nazwano poszczególne fazy tego procesu [6]. Z przeprowadzonych badań wynika, że ocena histologiczna koreluje z analizą morfometryczną gojenia się złamań [18, 19].

Metody morfometryczne takie jak mikrorentgenografia [18, 19] oraz pomiary histomorfometryczne wykonywano głównie w badaniach

doświadczalnych [18, 19, 38, 39]. Podstawą pomiarów mikrorentgenograficznych były zdjęcia radiologiczne cienkich skrawków nieodwapnionej kości, oglądane następnie pod mikroskopem. Umożliwiły one procentowe określenie powierzchni resorpcji oraz obszaru czynnej powierzchni tworzenia młodej tkanki kostnej [13], Z uwagi na to, że interpretacja obrazów mikroradiologicznych w znacznym stopniu zależy od doświadczenia badającego i jest wynikiem jego subiektywnej oceny, podejmowane były próby wykorzystania programów komputerowych do stworzenia zobiektywizowanych obrazów i ich ilościowej analizy [22].

Metody histomorfometryczne oceny gojenia się złamań kości oparte były na badaniach mikroskopowych, połączonych z pomiarem liczby i rozmiarów elementów morfologicznych tkanki kostnej w obrębie istoty gąbczastej i zbitej [13]. Pozwoliły one na obliczenie grubości warstw osteoidu, liczby osteoblastów i osteoklastów przypadającej na 1 mm2 powierzchni preparatu, wielkości jamek kostnych, a także szybkości mineralizacji, będącej jednym z najważniejszych wskaźników dynamiki przebudowy kości w przebiegu gojenia się złamań [13]. Znacznie częściej badaniom poddawano kość gąbczastą, z uwagi na intensywniejszy jej metabolizm, który w większym stopniu informuje o zmianach, zachodzących w tej tkance [13, 22]. Zdaniem Yashuoki badanie kości gąbczastej umożliwia wcześniejsze wykrycie zmian, czy ewentualnych zaburzeń w przebiegu tego procesu [39]. W celu poprawy dokładności oceny procesów naprawczych przy użyciu metod histomorfometrycznych wprowadzono ich modyfikacje. Polegały one na znakowaniu kości tetracyklinami, które po podaniu doustnym uwidaczniają czynne powierzchnie tworzenia tkanki regeneracyjnej, odkładając się wraz z solami wapnia w miejscach mineralizacji nowo powstałego osteoidu [13, 18]. Metoda tertracyklinowa jest bezpośrednim sposobem określenia aktywności procesów przebudowy tkanki kostnej, których oznaczenie jest bardzo istotne dla oceny przebiegu gojenia się złamań [39].

Należy jednak podkreślić, że metody histomorfometryczne, są badaniami czasochłonnymi, nie ujawniają dynamiki zmian zachodzących podczas gojenia

się złamań i z uwagi na swą inwazyjność sporadycznie były wykorzystywane do monitorowania tego procesu [18, 19, 39].

Pomiary biomechaniczne

Przebieg gojenia się złamań kości w badaniach na zwierzętach oceniano przy użyciu metod biomechanicznych [18, 19, 40-43]. Badania te polegają na wykonywaniu testów wytrzymałościowych złamanej kości w celu określenia własności mechanicznych, tworzącej się tkanki regeneracyjnej, takich jak: odporność na ściskanie, skręcanie i rozciąganie. Obejmują one także oznaczenie granicy sprężystości i ocenę sztywności tej tkanki w porównaniu z kością zdrową. Badania te wykazały znaczne osłabienie wytrzymałości nowo wytworzonej tkanki w początkowym okresie gojenia [40]. Zwiększenie jej sprężystości i elastyczności odnotowano w fazie tworzenia się macierzy organicznej. Wraz ze wzrostem liczby włókien kolagenowych zwiększał się stopień odporności na rozciąganie. Wzrost wytrzymałości przy próbach ściskania stwierdzano już w okresie mineralizacji [40]. Zastosowanie tego typu badań biomechanicznych do monitorowania gojenia się złamań nie jest możliwe w praktyce klinicznej, a jedynie w badaniach doświadczalnych, ponieważ w czasie wykonywania testów wytrzymałościowych dochodzi do destrukcji nowo wytworzonej tkanki kostnej. Metody biomechaniczne są porównywalne w ocenie procesu gojenia się złamań z badaniami SPA, QCT i USG, w mniejszym stopniu również z DEXA [17-19].

PODSUMOWANIE

Proces gojenia się złamań można oceniać przy użyciu wielu współczesnych metod diagnostycznych. Obecnie obserwuje się znaczący postęp szczególnie w zakresie radiologicznych technik obrazowania, związany przede wszystkim z cyfrowymi systemami rejestrowania obrazów, które zastępują w większości metody analogowe. Pozwala to na dokładniejszą ocenę zjawisk zachodzących podczas gojenia się złamań kości i wcześniejsze wykrywanie

zaburzeń tego procesu. Ponadto cyfryzacja w diagnostyce radiologicznej stwarza możliwości postprocessingu obrazów, cyfrowej radiografii substrakcyjnej, teleradiologii, a także tzw. uczenia maszynowego jako odmiany sztucznej inteligencji co jeszcze bardziej poszerza możliwości diagnostyczne [2].

PIŚMIENNICTWO

1. Yildirgan K., Zahir E., Sharafi S., Ahmad S., Schaller B., Ricklin M. E., Exadaktylos A. K.: Mandibular Fractures Admitted to the Emergency Department: Data Analysis from a Swiss Level One Trauma Centre. Emerg. Med. Int., 2016, 24, 155-162.
2. Różyło-Kalinowska I., Różyło T. K.: Współczesna radiologia stomatologiczna, Wydawnictwo Czelej Sp. z o,o, Lublin, 2021.
3. Borejko M., Dziak A.: Badanie radiologiczne w ortopedii. PZWL, Warszawa, 1988.
4. Mlosek K.: Radiologia stomatologiczna i szczękowa. Meddentpress, Warszawa, 1995.
5. Schnarkowski P., Redei J., Peterfy Ch. G., Weidenmaier W., Mutschler W., Arand M., Reiser M. F.: Tibial shaft fractures: assessment of fracture healing with computed tomography. J. Comput. Assist. Tomogr., 1995, 19, 777-781.
6. Wołkowycka-Romańczuk N., Grabowska S. Z., Kuczyński M.: Kliniczna, radiologiczna i histologiczna ocena gojenia złamań żuchwy u szczurów. Czas. Stomat., 1979, XXXII, 247-254.
7. Hatzifotiadis D.: Nauka Hipokratesa i złamania żuchwy . Mag. Stomat., 1991,2,32-33.
8. Nicholls P. J., Berg E., Bliven F. E., Kling J. M.: X-ray diagnosis of healing fractures in rabbits. Clin. Orthop., 1979, 142, 234-236.
9. Niedźwiedzki T., Dąbrowski Z., Brudnicki J., Januszewski M.: Zależność pomiędzy poziomem osteokalcyny w surowicy krwi a obrazem rentgenowskim w przebiegu gojenia złamań kości długich - doniesienie wstępne. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1997, LXII, 149-154.
10. Słomczykowski M., Kmieciak M., Wolf L., Kołodziejczyk K.: Metoda cyfrowej oceny radiogramów kości. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1995, LX, 211-215.
11. Weisflog G.: Znaczenie normo- i makroradiografii w rozpoznawaniu zaburzeń zrostu kostnego przy złamaniach kości długich. Pol. Przeg. Radiol. I Med. Nukl., 1963, XXVII, 57-61.
12. White S. C., Pharoah M. J.: Radiologia stomatologiczna, Wydawnictwo Czelej Sp. z o,o, Lublin, 2002.
13. Galus K.: Choroby metaboliczne kości. Med. Tour Press International Wyd. Medyczne, Warszawa, 1994.
14. Braunstein E. M., Goldstein S. A., Ku J., Smith P., Matthews L. S.: Computed tomography and plain radiography in experimental fracture healing. Skeletal. Radiol., 1986, 15, 27-31.
15. Fellinger M., Leitgeb N., Szyszkowitz R., Peicha G., Passler J., Seggl W., Schanner A.: Early detection of delayed in lower leg fractures using a computerised analysis of mechanical vibration reactions of bone for assessing the state of fracture healing. Arch. Orthop. Trauma Surg., 1994, 1 13,93-96.
16. Badurski J., Sawicki A., Boczoń S.: Osteoporoza. Osteoprint, Białystok, 1994.
17. Markel M. D., Chao E. Y. S.: Noninvasive monitoring techniques for quantitative description of callus mineral content and mechanical properties. Clin. Orthop. Relat. Res., 1993, 293, 37-45.
18. Markel M. D., Wikenheiser M. A., Morin R. L., Lewallen D. G., Chao E. Y. S.: Quantification of bone healing. Comparison of QCT, SPA, MRI and DEXA in dog osteotomies. Acta Orthop. Scand., 1990, 61,487-498.
19. Markel M. D., Wikenheiser M. A., Morin R. L., Lewallen D. G., Chao E. Y. S.: The determination of bone fracture properties by dual energy x-ray absorptiometry and single photon absorptiometry. A comparative study. Calcif. Tissue Int. 1991, 48, 392-399.
20. Kaleta M., Tokarowski A., Kusz D., Wójcik B., Bożek M.: Powtarzalność badania densytometrycznego trzonu kości piszczelowej. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1996, LXI, 473-478.
21. Tiedeman T., Lippiello L., Connolly J., Strates B.: Quantitative roentgenographic densitometry for assessing fracture healing. Clin. Orthop., 1990, 253, 279-285.
22. Czerwiński E., Białas B., Sadlik J., Kobyłecka K.: Zależność obrazu radiologicznego struktury kostnej od zawartości minerałów i cech morfometrycznych kości gąbczastej. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1990, LV, 269-275.
23. Janes G. C., Collopy D. M., Priece R., Sikorski J. M.: Bone density after rigid plate fixation of tibial fractures. A dual-energy x-ray absorptiometry study. J. Bone Joint Surg. Br, 1993, 75-B, 914-917.
24. Cattermole H. C., Cook J. E., Fordham J. N., Muckle D. S., Cunningham J. L.: Bone mineral changes during tibial fracture healing. Clin. Orthop. Relat. Res., 1997, 339, 190-196.
25. Avrahami E., Frishman E., Weiss-Peretz J., Horowitz. I.: Computed tomography of healing condylar fractures with some clinical correlations. Clin. Radiol., 1993,47, 269-273.
26. Gerlanc M., Haddad D., Hyatt G. W., Langloh J. T., Hilaire P. S.: Ultrasonic study of normal and fractured bone. Clin. Orthop. Relat. Res., 1975, 9, 175-180.

27. Ricciardi L., Perissinotto A., Dabala M.: Mechanical monitoring of fracture healing using ultrasound imaging. Clin. Orthop. Relat. Res., 1993, 293, 71-76.
28. Yao L., Lee J.K.: Occult intraosseous fracture: Detection with MR imaging. Radiology, 1988, 167, 749-751.
29. Ziemiański A., Bruszewski J.: Wskazania do tomografii rezonansu magnetycznego w chorobach narządu ruchu. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1993, LYIII, 41-45.
30. Słowiński K., Fibak J.: Wpływ urazu mózgu na szybkość zrastania się złamań kości. Wiad. Lek., 1990, XLI1I, 1059-1062.
31. Muheim G.: Assessment of fracture healing in man by serial 87mStrontium - scintimetry. Acta Orthop. Scand., 1973, 44, 621-627.
32. Wallace A. L., Strachan R. K., Blane A., Best J. J., Hughes S. P.: Quantitative early phase scintigraphy in the prediction of healing of tibial fractures. Skeletal Radiol., 1992, 21, 241-245.
33. Broeng L., Hansen L. B., Sperling K., Kanstrup I. L.: Postoperative Tc-scintimetry in femoral neck fracture. Acta Orthop. Scand., 1994, 65, 171-174.
34. Greiff J.: Autoradiographic studies of fracture healing using 99mTc-Sn- polyphosphate. Injury, 1978, 9, 271-277.
35. Spitz J., Lauer I., Tittel. K, Weigand H.: Scintimetric evaluation of remodeling after bone fractures in man. J. Nuci. Med., 1993, 34, 1403-1409.
36. Ashcroft G. P., Evans N. T. S., Roeda D., Dodd M., Mallard J. R., Porter R. W., Smith F. W.: Measurements of blood flow in tibial fracture patients using positron emission tomography. J. Bone Joint Surg. Br., 1992, 74-B, 673-677.
37. Jackowiak M.: Ultradźwiękowe badanie przepływu krwi w przebiegu gojenia się złamań kości goleni leczonych operacyjnie. Doniesienie wstępne. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol., 1994, LIX, 4 supl., 71-73.
38. Postacchini F., Gumina S., Perugia D., De Martino C.: Early fracture callus in the diaphysis of human long bones. Histologic and ultrastructural study. Clin. Orthop. Relat. Res. 1995, 310, 218-228.
39. Yasuoka T., Oka N.: Histomorphometric study of trabecular bone remodeling during condylar process fracture healing in the growing period: experimental study. J. Oral. Maxillofac. Surg., 1991, 49, 981-988.
40. Bak B., Andreassen T. T.: The effect of aging on fracture healing in the rat. Calcif. Tissue Int., 1989, 45, 292-297.
41. Bak B., Jorgensen P. H., Andreassen T. T.: Increased mechanical strength of healing tibial fractures treated with biosynthetic human growth hormone. Bone, 1990, 11, 233-239.
42. Carpenter J. E., Hipp J. A., Gerhart T. N., Rudman Ch. G., Hayes W. C., Trippel S. B.: Failure of growth hormone to alter the biomechanics of fracture healing in a rabbit model. J. Bone J. Surg. Am., 1992, 74-A, 359-366.
43. Laura P.A.A., Rossi R.E., Maurizi M.J.: Dynamie analysis of simpliefied bonę model during the process of fracture healing. J. Biomed. Eng., 1990, 12, 157-160.

27. Hensley K., Maidt M.L., Yu Z., Sang H., Markesbery W.R., Floyd R.A.: Electrochemical analysis of proteins nitrotyrosine and dityrosine in Alzheimer brain indicates region-specific accumulation. J. Neurosci., 1998; 18: 8126–8132
28. Horiguchi T., Uryu K., Giasson B.I., Ischiropoulos H., LightFoot R., Bellmann C., Richter-Landsberg C., Lee V.M., Trojanowski J.Q.: Nitration of tau protein is linked to neurodegeneration in tauopathies. Am. J. Pathol., 2003; 163: 1021–1031
29. Takeuchi M., Bucala R., Suzuki T.: Neurotoxicity of advanced glycationend-products for cultured cortical neurons. J Neuropathol Exp Neurol. 2000; 59(12) 1094-1105
30. Chen J., Mooldijk S.S., Licher S., Waqas K., Ikram M.K.: Assessment of Advanced Glycation End Products and Receptors and the Risk of Dementia. JAMA Netw Open. 2021 Jan; 4(1): e2033012
31. Wang P., Huang R., Lu S., Xia W., Cai R., Sun H., Wang S.: RAGE and AGEs in Mild Cognitivie Imparment of Diabetic Patients: A Cross-Sectional Study. PloS One. 2016 Jan 8;11(1): 0145521
32. Gorska-Ciebiada M., Saryusz-Wolska M., Borkowska A., Ciebiada M., Loba J.; C-Reactive Protein, Advanced Glycation End Products, and Their Receptor in Type 2 Diabetic, Elderly Patients with Mild Cognitive Impairment. Front Aging Neurosci. 2015 Oct 29:7:209
33. Choromańska M., Klimiuk A., Kostecka-Sochoń P., Wilczyńska K., Kwiatkowoski M., Okuniewska N., Waszkiewicz N., Zalewska A., Maciejczyk M.: Antioxidant Defence, Oxidatve Stress and Oxidative Damage in Saliva, Plasma and Erythrocytes of Dementia Patients. Can Salivary AGE be a Marker of Dementia? Int J Mol Sc. 2017 Oct 20;18(10):2205

FREE OF CHARGE international conference | **ACTIVE** and **PASSIVE** participation | **HYBRID** event online and stationary | **LANGUAGE** - English and Polish | **EDUCATIONAL CREDITS** | certified **WORKSHOPS**

ICYS

INTERNATIONAL CONFERENCE FOR YOUNG SCIENTISTS "BIOMARKERS OF CIVILIZATION DISEASES"

26TH APRIL, 2024

BRANICKI PALACE, BIALYSTOK

www.umb.edu.pl/en/biomarkery