

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

Marta Opalińska

**Scyntygrafia z użyciem znakowanej Interleukiny-2 w ocenie nieswoistego stanu zapalnego w obrębie ścian tętnic szyjnych u pacjentów leczonych nerkozastępczo z powodu schyłkowej niewydolności nerek**

*Praca doktorska*

Promotor: dr hab. med. Alicja Hubalewska – Dydejczyk, prof. UJ

Pracę wykonano w Pracowni Medycyny Nuklearnej Katedry Endokrynologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

Kierownik jednostki:

dr hab. med. Alicja Hubalewska – Dydejczyk, prof. UJ

Kraków, 2009 rok

*Serdeczne podziękowania składam mojemu promotorowi  
Pani prof. dr hab. Alicji Hubalewskiej - Dydejczyk  
za inspirację do pracy, wszechstronną pomoc  
oraz cenne uwagi przekazane w trakcie przygotowywania  
niniejszej pracy.*

*Podziękowania kieruje także  
do Pracowników Pracowni Medycyny Nuklearnej Katedry  
Endokrynologii UJCM  
za stworzenie miłych warunków pracy i pomoc  
w realizacji badania.*

## Wykaz skrótów

- <sup>123</sup>I-IL-2 – interleukina-2 znakowana jodem-123
- <sup>18</sup>F-FDG –fluorodeoksyglukoza znakowana fluorem-18
- <sup>99m</sup>Tc-MIBI- - metoksy-izobutylo-izonitryl znakowany technetem -99m
- <sup>99m</sup>Tc -IL-2 - interleukina-2 znakowana technetem -99m
- aHSP60 (ang. antibodies against heat shock proteins 60) – przeciwciała przeciw białkom szoku cieplnego 60
- ADMA - asymetryczna dimetylarginina
- ApoA-I – apolipoproteina A-I
- ApoB – apolipoproteina B
- BMI (ang. body mass index) – wskaźnik masy ciała
- CCA-IMT (ang. common carotid artery intima-media thickness) – grubość kompleksu błony wewnętrznej i środkowej w obrębie opuszki tętnicy szyjnej wspólnej
- CRP (ang. C reactive protein) – białko C-reaktywne
- EIA (ang. enzyme immuno assay) – test enzymoimmunologiczny
- ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay) – test immunoenzymosorbcyjny
- eNOS (ang. endothelial nitric oxide synthase) – śródłonkowa syntaza tlenu azotu
- GSPECT (ang. gated single-photon emission computed tomography) - badanie perfuzji mięśnia sercowego wykonywane bramkowaną techniką spect
- hcy - homocysteina
- HDL (ang. high density lipoproteins) - lipoproteiny wysokiej gęstości
- hsCRP (ang. high-sensitivity CRP) - białko C-reaktywne oznaczone metodą wysokiej czułości
- HYNIC – kwas 6-hydrazydopirydyno-3-karboksyłowy
- IL-2 – Interleukina-2
- IMT (ang. intima-media thickness) grubość kompleksu błony wewnętrznej i środkowej
- INF-gamma – interferon gamma
- IL-18 - interleukina-18
- IL-6 - interleukina-6

iPTH (ang. intact Parathormon) - immunoreaktywny hormon przytarczyc

IVUS (ang. intravascular ultrasound) - ultrasonografia wewnątrznaczyniowa

kDa - kilodalton

LDL - (ang. low density lipoproteins) – lipoproteiny o małej gęstości

Lp(a) – lipoproteina a

MBq - megabecquerel

MCP-1 (ang. monocyte chemoattractant peptide) – białko chemotaktyczne dla monocytów -1

MIA (ang. Malnutrition-Inflammation-Atherosclerosis) – zespół niedożywienie-zapalenie - miażdżycy

MRI (ang. magnetic resonance imaging) - magnetyczny rezonans jądrowy

MSCT (ang. multislice computed tomography) - wielorzędowa tomografia komputerowa

NIRS (ang. near-infrared spectroscopy) - spektroskopia bliskiej podczerwieni

NK (ang. natural killers cells) - limfocyty NK (biorące udział w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej)

NMR (ang. nuclear magnetic resonance) - Spektroskopia Magnetycznego Rezonansu Jądrowego

NO (ang. nitric oxide) - tlenek azotu

NS (ang. not significant) – nie istotny (statystycznie)

OBRI Polatom-Świerk - Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Izotopów POLATOM w Świerku

OCT (ang. optical coherence tomography) - optyczna tomografia koherencyjna

oxLDL (ang. oxidised LDL) - utlenione LDL

PAI-1 (ang. plasminogen activator inhibitor 1) – inhibitor 1 aktywatora plazminogenu

PDGF (ang. platelet-derived growth factor) - płytkowy czynnik wzrostu

PET (ang. positron emission tomography) - pozytronowa tomografia emisyjna

PGI<sub>2</sub> - prostaglandyna I<sub>2</sub>

PNN – przewlekła niewydolność nerek

PRB (ang. Peripheral benzodiazepin receptor) - obwodowy receptor dla benzodiazepiny

ROI (ang. region of interest) - obszar zainteresowania

SAA - ludzki amyloid A

sCDL40 - (ang. soluble CD40 ligand) rozpuszczalny ligand CD40

SPECT (ang. single photon emission computed tomography) - emisyjna tomografia komputerowa pojedynczego fotonu

sICAM (ang. soluble intercellular adhesion molecule) - rozpuszczalna międzykomórkowa molekula adhezyjna-1

sIL-2R (ang. plasma soluble interleukin-2 receptor) – rozpuszczalny receptor dla interleukiny 2

SNN – schyłkowa niewydolność nerek

SPECT (ang. single photon emission computed tomography) - tomografia emisyjna pojedynczych fotonów

SUV (ang. standardized uptake value) - standardowa wartość wychwytu

sVCAM (ang. soluble vascular cell adhesion molecule) -rozpuszczalna molekula adhezyjna-1 komórki naczyniowej

TF (ang. tissue factor) – czynnik tkankowy

TGF-beta (ang. transforming growth factor-beta) - transformujący czynnik wzrostu -  $\beta$ 1

TNF-alfa (ang. tumor necrosis factor ) - czynnik martwicy guza

T/nT - stosunek wychwytu znacznika w ROI do wychwytu znacznika w obrębie tła

t-PA (ang. tissue plasminogen activator) - tkankowy aktywator plazminogenu

VEGF (ang. vascular endothelial growth factor) - czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego

VICAM-1 (ang. vascular cell adhesion molecule-1) – naczyniowa międzykomórkowa molekula adhezyjna-1

VLDL (ang. very low density lipoproteins) - lipoproteiny bardzo małej gęstości

VSMC (ang. vascular smooth muscle cells) - komórki mięśni gładkich ścian naczyń

Wbc (ang. white blood count) - leukocytoza

WZW – wirusowe zapalenie wątroby

## Spis treści

<b>1. Wstęp</b> .....	<b>10</b>
1.1. Incydenty sercowo-naczyniowe.....	12
1.2. Dysfunkcja śródbłónka a proces miażdżycy .....	13
1.3. Rola IL-2 w procesie destabilizacji blaszek miażdżycowych.....	15
1.4. Rozpuszczalny receptor dla IL-2 .....	16
1.5. Dyslipidemia jako czynnik ryzyka rozwoju miażdżycy.....	17
1.6. Budowa blaszki miażdżycowej.....	18
1.7. Schyłkowa niewydolność nerek - model przyśpieszonej miażdżycy .....	21
1.8. Ocena grubości kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej wspólnej .....	23
1.9. Techniki obrazowania naczyń tętnicznych .....	24
1.10. Techniki obrazowania naczyń szyjnych w medycynie nuklearnej.....	25
1.10.1. Technika planarna.....	25
1.10.2. Technika SPECT.....	25
1.10.3. Technika PET.....	25
1.11. Znaczniki stosowane w obrazowaniu zapalenia naczyń tętnicznych .....	26
1.12. Obrazowanie naczyń wieńcowych metodami scyntygraficznymi .....	29
1.13. Biodystrybucja, farmakokinetyka oraz bezpieczeństwo stosowania znakowanej IL-2 oraz jej dotychczasowe zastosowanie w obrazowaniu stanu zapalnego w obrębie tętnic szyjnych.....	30
<b>2. Założenia i cel badania</b> .....	<b>32</b>
<b>3. Materiał i metody</b> .....	<b>34</b>
3.1. Badana grupa.....	34
3.2. Narażenie pacjentów na promieniowanie .....	36
3.3. Badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz badania laboratoryjne .....	36
3.3.1. Czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.....	36
3.3.2. Pomiar ciśnienia tętniczego krwi .....	37
3.3.3. Wskaźnik masy ciała .....	37
3.4. Dane demograficzne.....	38
3.4.1. Badanie z użyciem <sup>123</sup> I-IL-2 (badanie pilotażowe) .....	38
3.4.2. Badanie z użyciem <sup>99m</sup> Tc-IL-2 (badanie główne).....	39
3.5. Oznaczenia biochemiczne.....	40
3.6. Pobieranie krwi do badań laboratoryjnych .....	43

3.7. Badania obrazowe tętnic szyjnych .....	43
3.7.1. Technika badania usg tętnic szyjnych z oceną IMT .....	43
3.7.2. Technika badania scyntygraficznego.....	44
3.8. Znakowanie znaczników do badania scyntygraficznego .....	46
3.9. Scyntygrafia perfuzyjna mięśnia sercowego.....	47
<b>4. Analiza statystyczna.....</b>	<b>48</b>
<b>5. Wyniki .....</b>	<b>49</b>
5.1. Wyniki badań w grupie pacjentów u których badanie wykonano z użyciem <sup>123</sup> I-IL-2 (badanie pilotażowe) .....	50
5.1.2. Wyniki oznaczeń laboratoryjnych .....	51
5.1.3. Wyniki badań obrazowych.....	52
5.1.3.1. Wyniki badań usg tętnic szyjnych.....	52
5.1.3.2. Wyniki badań scyntygraficznych .....	52
5.1.3.3. Zależność wyniku badania scyntygraficznego od wartości CCA-IMT..	53
5.1.3.4. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej jodem-123 i wykonanych oznaczeń biochemicznych .....	54
5.1.3.5. Wyniki badania scyntygraficznego a wystąpienie incydentów sercowo- naczyniowych w grupie pacjentów poddanych badaniu scyntygraficznemu z użyciem IL-2 znakowanej jodem-123.....	56
5.1.3.6. Przykładowe obrazy scyntygraficzne uzyskane w badaniu z użyciem IL-2 znakowanej jodem 123. ....	57
5.2. Wyniki badań w grupie pacjentów u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem <sup>99m</sup> Tc-IL-2 (badanie główne).....	59
5.2.1. Charakterystyka grupy .....	59
5.2.2. Wyniki oznaczeń laboratoryjnych .....	60
5.2.3. Wyniki badań obrazowych.....	65
5.2.3.1. Wyniki badań usg tętnic szyjnych.....	65
5.2.3.1.1. Wyniki badań usg tętnic szyjnych w grupie pacjentów ze SNN.....	65
5.2.3.1.2. Ocena grubości kompleksu IMT w obrębie opuszki tętnicy szyjnej wspólnej w zależności od rodzaju dializoterapii .....	65
5.2.3.2. Wyniki badań scyntygraficznych .....	66
5.2.3.2.1. Wyniki badania scyntygraficznego u pacjentów z SNN .....	66

5.2.3.2.2. Przykładowe obrazy scyntygraficzne tętnic szyjnych otrzymane w badaniu z użyciem <sup>99m</sup> Tc-IL-2 .....	67
5.2.4. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej <sup>99m</sup> Tc i badania usg tętnic szyjnych .....	71
5.2.4.1. Wynik badania scyntygraficznego a obraz zmian miażdżycowych w obrębie naczyń szyjnych w usg .....	71
5.2.4.2. Wynik badania scyntygraficznego a uwapnienie blaszek miażdżycowych.....	71
5.2.4.3. Zależność wyniku badania scyntygraficznego od wartości CCA-IMT..	72
5.2.5. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej <sup>99m</sup> Tc i wykonanych oznaczeń biochemicznych .....	73
5.2.5.1. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz stężeń wybranych podstawowych oznaczeń laboratoryjnych u pacjentów z SNN	73
5.2.5.2. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz stężeniami cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy i markerami procesu zapalnego u pacjentów z SNN.....	75
5.2.5.3. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz parametrami gospodarki lipidowej u pacjentów z SNN .....	79
5.2.5.4. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz wskaźnikami gospodarki wapniowo-fosforanowej u pacjentów z SNN ....	82
5.2.5.5. Analiza wieloczynnikowa zależności wyników badania scyntygraficznego i oznaczeń biochemicznych .....	82
5.2.6. Wpływ rodzaju dializoterapii na wyniki oznaczeń laboratoryjnych oraz wyniki badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej <sup>99m</sup> Tc .....	84
5.2.6.1. Analiza wpływu rodzaju dializoterapii na wyniki oznaczeń laboratoryjnych i CCA-IMT .....	84
5.2.6.2. Analiza wpływu rodzaju dializoterapii na wynik badania scyntygraficznego .....	85
5.2.7. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej <sup>99m</sup> Tc i klasycznych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych .....	86



5.2.8. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej $^{99m}\text{Tc}$ i wyników badania perfuzyjnego mięśnia sercowego .....	88
5.2.9. Wyniki badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej technetem-99m a wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych .....	88
5.2.10. Wartości informacyjne badania scyntygraficznego w detekcji blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych względem usg tętnic szyjnych .....	89
5.2.11. Powtarzalność badania .....	90
5.2.12. Obraz scyntygraficzny u osób bez SNN .....	90
6. Omówienie wyników i dyskusja .....	91
6.1. Omówienie wyników badania .....	91
6.2. Scyntygrafia z użyciem znakowanej IL-2 w świetle dotychczasowych scyntygraficznych metod obrazowania zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych .....	94
6.3. Wyniki badań scyntygraficznych a stężenia wybranych markerów stanu zapalnego i innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego .....	99
6.4. Wyniki badań scyntygraficznych a wyniki obrazowania naczyń szyjnych w badaniu ultrasonograficznym .....	108
6.5. Porównanie badań scyntygraficznych z użyciem $^{123}\text{I}$ -IL-2 i $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 ....	110
6.6. Ograniczenia badania scyntygraficznego.....	111
6.7. Ograniczenia badania .....	112
<b>7. Podsumowanie.....</b>	<b>113</b>
<b>8. Wnioski .....</b>	<b>114</b>
<b>9. Streszczenie .....</b>	<b>115</b>
<b>10. Abstract .....</b>	<b>119</b>
<b>11. Spis tabel .....</b>	<b>123</b>
<b>12. Spis rycin .....</b>	<b>126</b>
<b>13. Piśmiennictwo.....</b>	<b>129</b>

## 1. Wstęp

Przełom XIX i XX wieku rozpoczął serię odkryć będących podstawą do rozwoju wiedzy o promieniotwórczości, a następnie medycyny nuklearnej.

W ciągu zaledwie jednego stulecia stworzono i opracowano nowe technologie, włączając w to coraz doskonalsze urządzenia do detekcji promieniowania oraz różnorodne radiofarmaceutyki. Rozwój ten zaowocował stworzeniem nowych technik obrazowania oraz pozwolił na opracowanie form celowanej radioterapii. Aktualnie badania diagnostyczne z zastosowaniem izotopów promieniotwórczych w badaniach tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu (SPECT, ang. Single Photon Emission Computed Tomography) i tomografii emisji pozytonów (PET, ang. Positron Emission Tomography) wykorzystywane są w wielu dziedzinach medycyny, szczególnie w onkologii, endokrynologii, kardiologii, nefrologii oraz neurologii.

Do badań układu krwionośnego, izotopy promieniotwórcze zostały zastosowane po raz pierwszy w 1927 r. przez Hermana Blumgarta i Soma Weiss. Posłużyły one do pomiaru szybkości przepływu krwi na podstawie różnicy pojawienia się aktywności pomiędzy jednym a drugim ramieniem. 20 lat później Myron Prinzmetal opracował pierwszą metodę rejestracji zmian aktywności nad sercem w trakcie przepływu radioizotopu przez krążenie centralne, a w 1973 roku H. William Strauss wprowadził do badań wysiłkową scyntyografię perfuzyjną mięśnia sercowego.

W 1937 roku Carl Anderson odkrył emitery pozytrononów, a pierwsze próby obrazowania za pomocą tomografii emisji pozytonów pochodzą z lat 50 ubiegłego wieku. W latach 70-tych Louis Sokoloff jako pierwszy zastosował deoksyglukozę znakowaną węglem-14 do zobrazowania metabolizmu glukozy w mięśniu sercowym i w mózgu.

Pomiar pojemności wyrzutowej serca oraz ocena przecieków wewnątrzsercowych stanowiły pierwsze wskazania do badań radioizotopowych serca, ale nigdy nie uzyskały znaczącego miejsca w diagnostyce kardiologicznej.

Aktualnie, dzięki zastosowaniu metody tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu, a w szczególności sekwencyjnej (zgodnej z zapisem EKG) rejestracji

obrazów podczas cyklu pracy serca (bramkowana emisyjna tomografia komputerowa pojedynczego fotonu - gated SPECT — GSPECT), możliwa jest nie tylko jakościowa ocena perfuzji z ilościową oceną funkcji miokardium (globalnej i regionalnej), ale także możliwe jest różnicowanie pomiędzy ogłuszonym, hibernowanym i martwym mięśniem sercowym. Te same informacje, ale z większą czułością, można uzyskać stosując w bramkowanym badaniu PET znaczniki przepływowe takie jak rubid-82 lub  $^{18}\text{F}$ -deoksyglukoza, (FDG, ang. fluorodeoxyglucose) w połączeniu z oceną przepływu przez naczynia wieńcowe z zastosowaniem amoniaku znakowanego azotem-13 czy wodę znakowaną tlenem-15. Zastosowanie znaczników metabolicznych takich jak  $^{11}\text{C}$ -palmitynian czy  $^{11}\text{C}$ -octan pozwala oceniać nasilenie tlenowych przemian metabolicznych zachodzących w miokardium, co wykorzystywane jest głównie do oceny rokowania u chorych z przewlekłą niewydolnością serca oraz skuteczności interwencji na naczyniach wieńcowych. Wprowadzenie urządzeń hybrydowych PET-CT (PET-MRI)<sup>1</sup> pozwoliło dodatkowo do uzyskanych informacji o perfuzji, czynności miokardium, czy nasileniu procesów metabolicznych, dodać dane o dokładnej lokalizacji zwężeń w tętnicach wieńcowych.

Wizualizacja stanu zapalnego w obrębie naczyń tętniczych jest jednym z nowszych trendów w rozwoju metod medycyny nuklearnej w kardiologii. Jej głównym zastosowaniem wydaje się być nieinwazyjne wykrywanie aktywnych metabolicznie zmian miażdżycowych, których to obecność koreluje z ryzykiem wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych.

---

<sup>1</sup> Badanie PET-MRI jest nadal mało dostępne w rutynowej diagnostyce klinicznej.

## 1.1. Incydenty sercowo-naczyniowe

W Europie choroby sercowo-naczyniowe są przyczyną 49% wszystkich zgonów. U osób przed 65 r.ż. śmiertelność z powodu zawału mięśnia sercowego lub udaru sięga 30% (17).

Szacuje się, że blaszki miażdżycowe obecne są u 50% osób w wieku 20-29 lat, a częstość ich występowania wzrasta do 80% w wieku 30-39 lat (180).

Szybkość rozwoju miażdżycy jest zależna od wielu czynników. Aktualnie najczęściej odległe ryzyko sercowo-naczyniowe ocenia się na podstawie występowania u pacjenta tradycyjnych czynników ryzyka takich jak wiek (35, 143), płeć męska (41, 79), palenie papierosów (48, 185), zaburzenia lipidowe (183, 184), cukrzyca (55, 72), nadciśnienie tętnicze (71, 150), niska aktywność fizyczna (46, 70) czy otyłość (43, 59). Taka ocena jest niedoskonała gdyż pozwala na oszacowanie jedynie długoterminowego ryzyka nie dostarczając nam informacji o ryzyku krótkoterminowym, co pozwalałoby wyodrębnić grupę pacjentów wymagających szybkiej intensyfikacji postępowania terapeutycznego.

Podobnie większość metod powszechnie używanych do oceny klinicznej nasilenia miażdżycy nie daje precyzyjnych informacji o ryzyku pęknięcia blaszki miażdżycowej, gdyż wielkość zwężenia światła tętnicy jest słabym wyznacznikiem następstw czynnościowych.

Wykazano ponadto, że ponad połowa incydentów sercowo-naczyniowych występuje u pacjentów bez wcześniejszych objawów niedokrwienia, w sytuacji, kiedy płytka miażdżycowa zwęży mniej niż połowę światła naczynia (2, 99, 122) tzn. pozostaje bezobjawowa w próbach obciążeniowych.

Wprowadzenie w ostatnim 10-leciu metod scyntygraficznych z użyciem markerów procesu zapalnego znakowanych radioizotopami otwiera nowe perspektywy w diagnostyce nasilenia oraz aktywności procesu zapalnego w blaszkach miażdżycowych.

Dodatkowo poznanie podłoża patofizjologicznego procesów zachodzących w obrębie blaszek miażdżycowych może w przyszłości przełożyć się na skuteczniejsze formy terapii.

## 1.2. Dysfunkcja śródbłonna a proces miażdżycy

Śródbłonek stanowi jednokomórkową warstwę komórek wyścielających światło naczyń krwionośnych tworząc barierę między krwią a ścianą naczynia. Jest on strukturą bardzo aktywną metabolicznie. Wydziela liczne substancje o działaniu auto- i parakrynnym, które oddziałują na ścianę naczynia, komórki krwi oraz inne czynniki regulujące stan równowagi w układzie naczyniowym.

Najważniejsze funkcje śródbłonna dotyczą:

- regulacji średnicy światła naczyń przez udział w syntezie substancji o działaniu: naczyniorozkurczowym jak np. tlenek azotu (NO), bradykinina czy prostacyklina oraz naczynioskurczowym jak np. endotelina I czy angiotensyna II,
- utrzymywania równowagi między procesami krzepnięcia za pomocą m.in.: czynnika tkankowego (TF, ang. tissue factor) i czynnika von Willebranda – (vWF, ang. von Willebrand factor) oraz fibrynolizy z użyciem inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1, ang. plasminogen activator inhibitor 1) i tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA, ang. tissue plasminogen activator).

Pod wpływem czynników uszkodzających, jakimi są wspomniane wcześniej klasyczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz podwyższone stężenia m.in. homocysteiny, CRP czy fibrynogeny u osób podatnych dochodzi do zapoczątkowania w ścianach tętnic reakcji zapalnej upośledzającej zdolności regulacyjne śródbłonna (38).

W sytuacji oddziaływania na śródbłonek czynników aktywujących i regulujących proces zapalny dochodzi do zwiększenia przez śródbłonek produkcji substancji o działaniu naczynioskurczowym, prozakrzepowym i prozapalnym kosztem czynników o działaniu przeciwnym, chroniącym przed nadmierną krzepliwością krwi lub nadmiernym skurczem tętnic (38). Taka zmiana w jego czynności określana jest mianem dysfunkcji śródbłonna i stanowi fundamentalny etap rozwoju miażdżycy, wyprzedzając rozwój zmian strukturalnych w ścianie naczynia oraz przyczyniając się do rozwoju blaszek miażdżycowych i powikłań związanych z ich obecnością.

Najważniejszym mediatorem ochronnych właściwości śródbłonka jest tlenek azotu (NO), który nie tylko rozszerza naczynie przez bezpośredni wpływ na mięśnie gładkie ściany naczynia (VSMC, ang. vascular smooth muscle cells), ale także hamuje większość procesów odpowiedzialnych za rozwój blaszki miażdżycowej i jej destabilizację. NO jest syntetyzowany w śródbłonku z L-argininy przez syntazę tlenku azotu - eNOS (ang. endothelial nitric oxide synthase) aktywowaną m. in. przez hipoksję, acetylocholinę, bradykininę, serotoninę (53) oraz siły ścinania, (32) czyli siły skierowane wzdłuż naczynia i związane z tarciem przepływającej krwi o śródbłonek.

Zmniejszenie biodostępności NO może wynikać ze zmniejszonej jego syntezy lub nasilonej inaktywacji. Z tego powodu coraz większą rolę w patogenezie zaburzeń czynności śródbłonka przypisuje się asymetrycznej dimetyloargininie (ADMA), która będąc inhibitorem kompetycyjnym dla L-argininy, substratu dla eNOS, obniża produkcję NO (171).

Ważną rolę w rozwoju blaszek miażdżycowych odgrywają wolne rodniki inicjujące niekorzystną kaskadę zdarzeń w ścianie naczynia (36). Kluczową rolę w ich patogenezie odgrywa oksydacja LDL. Utlenione LDL (oxLDL) działając toksycznie na endotelium, nasilają migrację i adhezję monocytów do komórek śródbłonka, a także peroksydację lipoprotein, co stanowi jeden z najwcześniejszych etapów w rozwoju procesu miażdżycowego (119).

Obecnie do pomiaru naczynioruchowej funkcji śródbłonka oprócz metod bezpośrednich używa się także szerokiego spektrum markerów biochemicznych. Największe znaczenie wydają się mieć:

- markery aktywacji śródbłonka takie jak cząsteczki adhezyjne: sICAM (ang. soluble intercellular adhesion molecule), sVCAM (ang. soluble vascular cell adhesion molecule), E-selektyna
- markery aktywacji prozakrzepowej śródbłonka (np. czynnik von Willebranda)
- markery ogólnoustrojowego procesu zapalnego (np. białko C-reaktywne (CRP), fibrynogen, cytokiny prozapalne - interleukiny 6 i 18)

Jednym z głównych mechanizmów działania cytokin prozapalnych, prowadzącym do nasilenia i przyspieszenia procesu miażdżycy, jest

zwiększenie ekspresji cząstek adhezyjnych przez komórki śródbłonna. Zwiększa to przyleganie leukocytów do intymy, przez co stanowi „wstęp” do uszkodzenia ścian naczyń.

Białko C-reaktywne także jest istotnym „mediatorem” i efektem szeregu procesów związanych z toczącym się zapaleniem. Ma zdolność wiązania szeregu antygenów drobnoustrojów, kompleksów immunologicznych, chromatyny, histonów, cząsteczek jądrowego RNA, dzięki czemu uczestniczy zarówno w procesach odporności nieswoistej skierowanej przeciwko drobnoustrojom, jak i ochronie przed procesem autoimmunologicznym. Według teorii „flip-flop” CRP ma zdolność przyłączania się do powierzchni uszkodzonych komórek (poddanych niedokrwieniu lub apoptozie) w związku ze zmianą układu lipidów błony komórkowej (zaburzenie architektury i utratę symetrii fosfolipidów błony komórkowej w wyniku czego dochodzi do ekspozycji uprzednio „schowanych” ligandów zdolnych do wiązania na powierzchni błony białka C-reaktywnego) (7). Obecność białka C na powierzchni takich komórek sprzyja ich uszkodzeniu, prowadzi do wiązania i aktywacji dopełniacza oraz zależnego od jonów wapnia wiązania i agregacji cząsteczek LDL i VLDL. Stymuluje także uwalnianie czynnika tkankowego przez makrofagi. Złogi CRP w kompleksie z dopełniaczem lub cząsteczkami LDL znajdowano w głębokich warstwach intymy naczyń krwionośnych, blaszkach miażdżycowych, komórkach piankowatych oraz obszarach mięśnia serca objętych zawałem.

### **1.3. Rola IL-2 w procesie destabilizacji blaszek miażdżycowych**

IL-2 została zidentyfikowana w roku 1975 jako czynnik wzrostowy limfocytów T. Jest ona drobną cząsteczką o masie 15,5 kDa, zbudowaną z 4 antyrównoległych alfa helis. Loci dla IL-2 zlokalizowane jest na długim ramieniu chromosomu 4 (chr. 4 q26-q27). Stanowi ona jeden z najważniejszych czynników regulujących procesy immunologiczne wpływając na indukcję oraz regulację procesu zapalnego. Dodatkowo jest czynnikiem wzrostu i proliferacji limfocytów oraz czynnikiem wpływającym na ich apoptozę (62).

Główną klasą limfocytów produkujących IL-2 są limfocyty CD4+. Aktywność biologiczną IL-2 uzyskuje po związaniu ze swoistym receptorem obecnym między innymi na tych samych limfocytach (102). Indukuje ona wzrost i autoproliferację limfocytów pomocniczych oraz cytotoksycznych, a także aktywację limfocytów B, NK i komórek pamięci (62). IL-2 stymulując wytwarzanie przez zaktywowane limfocyty innych czynników jak np. Interferonu gamma (IFN-gamma) czy czynnika martwicy nowotworów beta (TNF- beta, ang. tumor necrosis factor beta) wpływa na monocyty/makrofagi, komórki śródbłonna, komórki mięśniówki naczyń, fibroblasty i limfocyty NK przyczyniając się do zwiększenia produkcji czynników prozapalnych i uszkodzających ścianę naczynia.

Aktualnie znana jest budowa receptora dla IL-2 oraz podstawowe mechanizmy, które powodują, że związanie IL-2 z jej receptorem wywołuje efekt biologiczny. Za pomocą krystalografii z użyciem promieni X stwierdzono, że receptor dla IL-2 składa się z trzech nie połączonych kowalencyjnie ze sobą łańcuchów: alfa (CD 25 – zlokalizowany na chromosomie 10), beta (CD 122- na chromosomie 22) i gamma (CD 132 – na chromosomie X). Przy czym wykazano, że tylko łańcuchy beta i gamma biorą udział w transdukcji sygnału, natomiast łańcuch alfa jest niezbędny do uwrażliwienia komórek docelowych na fizjologiczne stężenia IL-2. W przypadku aktywacji podjednostek beta i gamma bez jednoczesowego połączenia IL-2 z łańcuchem alfa do uzyskania efektu biologicznego niezbędne są 10-50x wyższe stężenia IL-2 niż fizjologiczne (154).

#### **1.4. Rozpuszczalny receptor dla IL-2**

W 1985 r. pojawiły się pierwsze doniesienia o istnieniu rozpuszczalnej postaci receptora dla IL-2R (sIL-2R). Fizjologicznie w osoczu występuje niewielka ilość sIL-2R, która wiąże nadmiar IL-2. Jego pojawienie się w wysokim mianie związane jest z wcześniejszą stymulacją antygenową limfocytów. W wielu doniesieniach naukowych opisano przydatność sIL-2R w monitorowaniu przebiegu chorób nowotworowych krwi, guzów litych płuc, szyjki i trzonu macicy, a także chorób autoimmunologicznych, infekcyjnych i reakcjach odrzucania przeszczepów. sIL-2R może być także markerem



dysfunkcji nerek (61, 157, 179). Obserwowano także obecność podwyższonego poziomu sIL-2R u osób ze stabilną chorobą wieńcową, podczas gdy u osób z niestabilną chorobą wieńcową średnie stężenie sIL-2R pozostawało podobne jak w populacji ogólnej (152). Podejrzewa się, że wzrost stężenia sIL-2R w przypadku stabilnej choroby wieńcowej spowodowany jest przewlekłą aktywacją układu odpornościowego prowadzącą do zwiększonej ekspresji i uwalniania sIL-2R z pobudzonych limfocytów. Ponadto sugeruje się, że wiązanie IL-2 z jej rozpuszczalnym receptorem, mimo wydłużenia czasu połowicznego trwania IL-2 u osób ze schyłkową niewydolnością nerek (SNN), doprowadza do osłabienia zależnej od IL-2 odpowiedzi komórkowej (159).

### **1.5. Dyslipidemia jako czynnik ryzyka rozwoju miażdżycy**

Rola podwyższonego poziomu cholesterolu LDL, trójglicerydów (162) czy obniżonego poziomu cholesterolu HDL (199), w rozwoju miażdżycy jest dobrze udokumentowana, natomiast udział białkowych składowych lipoprotein (apolipoprotein (apo)) w patomechanizmie miażdżycy nie jest jednoznaczny. Wiadomo, iż stężenia ApoB i ApoA-I są markerami ryzyka sercowo-naczyniowego (178). Zarówno ApoB jak i ApoA-I pełnią kluczową rolę w formowaniu lipoprotein, wpływają na ich stabilność oraz szybkość usuwania z osocza. ApoB jest częścią składową głównie lipoprotein o bardzo niskiej gęstości (VLDL), lipoprotein o pośredniej gęstości (IDL) i lipoprotein o wysokiej gęstości (LDL). Z tego względu stężenia ApoB odzwierciedlają sumaryczną ilość aterogennych lipoprotein. ApoA-I jest główną białkową składową lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL). HDL wyptywa głównie na obniżenie poziomu cholesterolu we krwi oraz dodatkowo wykazuje działanie przeciwzapalne i antyoksydacyjne. Z tego powodu uważa się, że stężenie ApoA-I odzwierciedla ilość potencjalnie antyaterogennych lipoprotein (15, 177).

Stosunek ApoB/ApoA-I jest odzwierciedleniem równowagi między ilością aterogennych i antyaterogennych cząsteczek lipoprotein i uważany jest za silny wskaźnik ryzyka sercowo-naczyniowego i śmiertelności w populacji ogólnej. W kilku przeprowadzonych dotychczas badaniach wykazano wyższą wartość

predykcyjną ryzyka sercowo-naczyniowego dla wskaźnika ApoB/ApoA-I niż cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL czy trójglicerydów (14, 178).

Także stężenia adiponektyny oraz leptyny odgrywają ważną rolę w regulacji gospodarki lipidowej. Adiponektyna jest produktem tkanki tłuszczowej, która poprawia profil lipidowy zapobiegając zmianom naczyniowym oraz wpływa na zwiększenie nasilenia procesów metabolicznych ograniczając przyrost masy ciała. W populacji ogólnej u osób z niskimi stężeniami adiponektyny stwierdzono wyższe ryzyko zaburzeń metabolicznych w tym rozwoju miażdżycy i incydentów sercowo-naczyniowych. Wysokie stężenia adiponektyny wykazują działanie ochronne.

Natomiast uważana przez niektórych za białko ostrej fazy leptyna modyfikuje czynność śródbłonna (m.in. zwiększając na ich powierzchni ekspresję MCP-1), nasila procesy tworzenia wolnych rodników tlenowych i oksydacji lipidów. Efekty te mogą, przynajmniej częściowo tłumaczyć występujące w otyłości zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe. Związek pomiędzy rozwojem miażdżycy i stężeniem leptyny wydaje się być dobrze udokumentowany, zarówno w populacji ogólnej, jaki i w grupie pacjentów dializowanych. U pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek stężenie leptyny niekiedy znacznie przekracza wartości spotykane u osób z patologiczną otyłością i jest nieproporcjonalnie wysokie w porównaniu do rzeczywistych zasobów tkanki tłuszczowej. Istnieją także dane sugerujące stymulujący wpływ leptyny na procesy mineralizacji. Dotyczy to zarówno procesów kościotworzenia, fizjologicznej mineralizacji, jak i stymulacji kalcyfikacji ścian naczyń (57, 191).

## **1.6. Budowa blaszki miażdżycowej**

Wykładnikiem obecności miażdżycy jest występowanie płytek miażdżycowych w obrębie ścian tętnic. Ich skład i budowa jest zmienna, ale można w ich obrębie wyróżnić trzy grupy składników, które decydują o wielkości i trwałości blaszki. Należą do nich: pozakomórkowa tkanka łączna składająca się głównie z kolagenu, proteoglikanów, włókien elastynowych wytwarzanych przez komórki mięśni gładkich, substancje lipidowe obejmujące

głównie kryształki i estry cholesterolu, fosfolipidy oraz elementy komórkowe jak makrofagi tworzące komórki piankowe, limfocyty T, fibroblasty oraz komórki mięśni gładkich (98).

Strukturą oddzielającą rdzeń lipidowy od światła naczynia i tak naprawdę jedyną osłonę zabezpieczającą przed wykrzepianiem na powierzchni lipidów stanowi otoczka włóknista. Zbudowana jest ona z komórek mięśni gładkich, włókien kolagenowych I i III typu, elastyny oraz proteoglikanów. Dodatkowo w jej obrębie znajdują się nacieczenia makrofagów oraz limfocytów T (głównie Th1) (68).

Przełomem w postrzeganiu miażdżycy, jako choroby, którą można w pełni diagnozować za pomocą metod obrazujących szerokość światła tętnic np. angiografii było odkrycie, że blaszka miażdżycowa może ulegać przebudowie na dwa sposoby. Oprócz typowego modelu blaszki ulegającej przebudowie dośrodkowej ze zwężeniem światła naczynia (tzw. przebudowa ujemna) stwierdzono, że blaszka miażdżycowa nie przekraczająca 40% przekroju naczynia może być przesuwana odśrodkowo, doprowadzając do uwypuklenia zewnętrznej ściany naczynia, tak, że jego średnica pozostaje niezmienną (52) (tzw. przebudowa dodatnia (129)).

W takiej sytuacji nawet duża i podatna na pęknięcie blaszka może nie być widoczna w badaniu angiograficznym, co jest szczególnie istotne w świetle coraz większej grupy badań wykazujących, że dodatnia przebudowa naczyń ma miejsce w obszarach zajmowanych przez niestabilne blaszki miażdżycowe (45, 128, 139) i jest związana z obecnością nacieków makrofagów, złogów lipidowych, zwłóknień i zwapnień (172). Podobne wyniki jak te płynące z badań patomorfologicznych, uzyskane zostały przez badaczy wykorzystujących metody ultrasonografii wewnątrznacyniowej (IVUS, ang. intravascular ultrasound). Stwierdzili oni, że przebudowa dodatnia znamienne częściej występuje w przypadku blaszek niestabilnych, podczas gdy ujemna częściej uwidaczniana jest w przypadku zmian stabilnych (145, 188).

Sam termin niestabilna blaszka miażdżycowa oznacza zmianę, która wskutek aktywnie w niej przebiegających procesów destrukcyjno-naprawczych ma zwiększoną podatność na pęknięcie. Takie zdarzenie może doprowadzić do powstania zakrzepu na jej powierzchni i wystąpienia objawów klinicznych.

Stabilność blaszki miażdżycowej jest wynikiem równowagi między procesami naprawczymi osłonki włóknistej zależnej głównie od komórek naczyniowych mięśni gładkich i procesów destrukcji zależnych od aktywności komórek zapalnych. Blaszki bogate w VSMC zazwyczaj wytwarzają więcej kolagenu I i III typu, co zwiększa wytrzymałość okrywy włóknistej i wpływa na stabilność blaszki. Zwiększone wydzielanie pozakomórkowych substancji wzmacniających tę osłonę następuje pod wpływem transformującego czynnika beta (TGF-beta, ang. transforming growth factor beta) (137), płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF, ang. platelet-derived growth factor) (134) oraz czynników mechanicznych wywołujących rozciąganie ściany naczynia działających przez endotelinę I, angiotensynę II, interleukinę I. Wykazano, że min. INF-gamma wydzielany przez limfocyty T hamuje ten proces (3).

Proces utraty VSMC w pokrywie włóknistej np. w procesie apoptozy, zwiększa ryzyko pęknięcia blaszki (84, 85). Dodatkowo nacieczenie blaszki przez komórki zapalne, których produkty uszkodzają pokrywę włóknistą zwiększa niestabilność blaszki i ryzyko pęknięcia. Zostało określone jakie cechy morfologiczne blaszki miażdżycowej związane są z jej niestabilnością. Należą do nich: cienka okrywa włóknista (<65 um) o obniżonej zawartości kolagenu z nacieczeniem przez makrofagi (>25 w polu przekroju 0,3 mm) (86), duży rdzeń lipidowy, lokalny stan przewlekłego zapalenia z towarzyszącym wzrostem nacieczenia przez makrofagi i limfocyty T (głównie Th1) zwłaszcza na obwodzie blaszki (37, 97), wzmożone unaczynienie, obniżenie liczby VSMC, wzmożona ekspresja markerów zapalnych i czynnika tkankowego oraz zwiększone wydzielanie metaloproteinaz (94).

Niedługo po zdefiniowaniu pojęcia niestabilnej blaszki miażdżycowej (vulnerable plaque), została wysunięta koncepcja „pacjenta podatnego na powikłania” (vulnerable patient) (115, 116, 146). Według tej koncepcji do grupy osób szczególnie podatnych na ryzyko posiadania niestabilnych blaszek miażdżycowych są osoby z wysokim stężeniem cholesterolu całkowitego, wysokim współczynnikiem całkowitego cholesterolu do HDL oraz podwyższonym stężeniem CRP, które towarzyszy przewlekłemu procesowi zapalnemu.

Jedną z populacji, która spełnia laboratoryjne i kliniczne kryteria „pacjenta podatnego na powikłania” jest grupa pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek.

### **1.7. Schyłkowa niewydolność nerek - model przyspieszonej miażdżycy**

Wykazano w grupie osób ze schyłkową niewydolnością nerek (SNN), że w momencie rozpoczęcia leczenia nerkozastępczego 75% tej populacji ma cechy przerostu lewej komory serca, u 30% występuje klinicznie jawna choroba niedokrwienna serca, u 15% dysfunkcja skurczowa lewej komory, a u 8% choroba naczyń obwodowych (126, 173). Już u osób z nawet nieznacznie podwyższonym stężeniem kreatyniny objawy choroby niedokrwiennej serca występują częściej niż w populacji z prawidłową czynnością nerek (33).

W grupie pacjentów dializowanych obecne są wszystkie czynniki ryzyka wystąpienia miażdżycy spotykane w populacji ogólnej (tzn. u pacjentów z prawidłową czynnością nerek): palenie papierosów, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, siedzący tryb życia, dyslipidemie i inne. Dodatkowo występują znamienne wyższe stężenia substancji proaterogennych takich jak np. lipoproteina (a) czy homocysteina. Aktualne teorie dotyczące rozwoju miażdżycy wskazują na nasilenie procesów immunologiczno-zapalnych jako na najważniejszy czynnik progresji zmian miażdżycowych (80, 147). U pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek, wielokrotnie były opisywane zależności między przewlekłym stanem zapalnym, niedożywieniem białkowo-energetycznym oraz powikłaniami sercowo-naczyniowymi określone jako zespół MIA (Malnutrition-Inflammation-Atherosclerosis) (148, 163). W patogenezie tego zespołu za najważniejszy uważa się wpływ przewlekłego procesu zapalnego na śródbłonek naczyniowy, prowadzący do wystąpienia pozostałych składowych tego zespołu.

Wyznacznikiem toczącego się przewlekłego procesu zapalnego w grupie chorych z SNN, są utrzymujące się podwyższone wartości stężeń białek ostrej fazy: m.in. białka C-reaktywnego (CRP), fibrynogenu, osoczonego białka

amyloidowego (SAA) oraz cytokin prozapalnych takich jak interleukina-6 (IL-6), interleukina-18 (IL-18) oraz czynnika martwicy nowotworów (TNF-alfa).

IL-18 wpływająca na ekspresję ICAM-1 (186) została wskazana jako lepszy niż CRP, oznaczany metodą wysokiej czułości (hsCRP), niezależny, pojedynczy czynnik ryzyka incydentu sercowo-naczyniowego (30). Także ADMA została wielokrotnie wskazana jako niezależny istotny wskaźnik całkowitej śmiertelności oraz ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych w różnych grupach pacjentów obciążonych ryzykiem sercowo-naczyniowym (96) także u pacjentów z SNN (194), u których jej stężenie jest wg różnych autorów 3-6 krotnie wyższe niż u ludzi zdrowych (76, 170). Wykazano też, że stosowanie substancji obniżających produkcję ADMA wpływa korzystnie na funkcje nerek (104).

Utrzymującym się podwyższonym stężeniom białek ostrej fazy i cytokin prozapalnych (166) towarzyszy wzmożona ekspresja molekuł adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1, E i P-selektyny, podwyższona aktywność płytek krwi (w tym zwiększone stężenie CD 40L) oraz zaburzenia krzepliwości (13, 169). Dodatkowo uwalnianie czynników wpływających na przyspieszone wapnienie i stwardnienie ścian tętnic oraz stres oksydacyjny nasilają uszkodzenie śródbłonna oraz zwiększają produkcję modyfikowanych LDL (oxLDL). Także czynnikowi wzrostowemu śródbłonna (VEGF – vascular endothelial growth factor) przypisuje się coraz większą rolę jako wskaźnikowi ryzyka sercowo-naczyniowego (8-11).

Zaburzenia gospodarki lipidowej w patogenezie miażdżycy nabierają szczególnego znaczenia w grupie osób ze SNN. Oprócz opisanych powyżej zależności warto wspomnieć o Lp(a), jednym z parametrów gospodarki lipidowej. Zawiera ona w swoim składzie apolipoproteinę (a) o strukturze przypominającej cząsteczką plazminogenu i jest obecnie uważana za jeden z „klasycznych” czynników ryzyka miażdżycy w populacji ogólnej. Jej stężenie w surowicy krwi u 95% osób populacji ogólnej nie przekracza wartości 30 mg/dl; a u niektórych osób jest ona nieoznaczalna. Stężenie Lp(a) jest natomiast znacznie podwyższone u 30 – 50% chorych leczonych nerkozastępczo i ulega znacznemu obniżeniu po udanym przeszczepieniu nerki (74). Wykazano także, że u chorych z zespołem nerczykowym wysokie stężenie Lp(a) prowadzi do 5,5

- krotnego wzrostu ryzyka wystąpienia zawału serca i do 2,8 - krotnego wzrostu ryzyka zgonu z przyczyn wieńcowych (125).

Innym istotnym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego w przypadku chorych z SNN jest osteodystrofia nerkowopochodna prowadząca do zaburzeń równowagi wapniowo – fosforanowej. Hiperfosfatemia i podwyższony iloczyn CaxP uznawane są za niezależne czynniki ryzyka zgonów pacjentów dializowanych. Stężenie fosforanów w surowicy powyżej 2,9 mmol/l powoduje wzrost ryzyka zgonu o 100% w porównaniu do osób, u których utrzymuje się on poniżej 1,61 mmol/l (21).

W ostatnich latach stwierdzono, że zjawisko kalcyfikacji naczyń przypomina mineralizację kości oraz wskazano wiele nowych substancji wpływających na ten proces np. fetuinę A (26, 93), osteopontynę, osteokalcynę czy osteonektynę (51).

Mineralizacja błony wewnętrznej i środkowej naczyń doprowadza do uwapniania blaszek miażdżycowych oraz stwardnienia ścian tętnic, które są dwoma odrębnymi procesami patofizjologicznymi. Uwapnienie błony wewnętrznej występuje w obrębie blaszek miażdżycowych pod postacią ogniskowych zwapnień. Drugi typ zwapnień (typ Monckeberga) ma charakter rozsiany w obrębie całej warstwy środkowej. Ten typ zmian występuje w znacznie większym nasileniu u osób ze schyłkową niewydolnością nerek oraz cukrzycą niż w zdrowej populacji. Warto zauważyć, że stwardnienie tętnic typu Mockenberga może występować niezależnie od zaawansowania zmian miażdżycowych i prowadzi do zmniejszenia elastyczności ścian naczyń, co poprzez zwiększenie ich sztywności prowadzi do wzrostu szybkości fali tętna i jest związane z niekorzystnym rokowaniem u pacjentów z SNN (161).

## **1.8. Ocena grubości kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej wspólnej**

Grubość kompleksu intima – media w obrębie opuszki tętnicy szyjnej (CCA-IMT) uważana jest za marker uogólnionej miażdżycy (118). Związek między CCA-IMT a nasileniem zmian miażdżycowych został stwierdzony już dość dawno (130), a obecnie metody oceny grubości kompleksu intima-media

zyskują na znaczeniu ze względu na coraz większą ilość badań potwierdzających jej przydatność w ocenie ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych (44, 103). Wykazano że pomiar grubości intymy naczyniowej w tętnicach szyjnych może być wartościową metodą we wczesnej ocenie nasilenia miażdżycy oraz ocenie ryzyka progresji chorób sercowo-naczyniowych. Wielokrotnie potwierdzono, że CCA-IMT jest niezależnym predyktorem ryzyka udaru mózgu (22, 34, 42, 82, 113, 164, 173), a także, że grubość IMT koreluje z całkowitym ryzykiem wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych (120). Wzrost grubości IMT o 0,1 mm zwiększa ryzyko udaru mózgu o 13 - 18%, a zawału serca o 10 - 15% (141). Wykazano również zależność między IMT oraz klasycznymi czynnikami ryzyka miażdżycy (83), podwyższonym stężeniem fosforanów (73), CRP (1) i IL-6 (121).

U pacjentów z SNN obserwowano także zależność między CCA-IMT a stężeniami ADMA i CRP. U osób z wyjściowo prawidłową IMT, wysokie wartości ADMA oraz CRP korelowały ze zwiększeniem grubości IMT w ciągu wieloletniej obserwacji (194).

## **1.9. Techniki obrazowania naczyń tętniczych**

Aktualnie żadna z metod diagnostycznych samodzielnie nie dostarcza wystarczających informacji na temat ryzyka pęknięcia blaszki miażdżycowej i tym samym wystąpienia powikłań naczyniowo-mózgowych.

W ostatnich latach wiele badań naukowych poświęconych zostało poszukiwaniom metod umożliwiających identyfikację niestabilnej blaszki miażdżycowej.

Z pośród technik obrazowania próbuje się aktualnie stosować metody medycyny nuklearnej SPECT i PET jak również ultrasonografie wewnątrznaczyniową (IVUS) (91, 109), MRI (50), TK z kontrastem oraz wielorzędowe TK (MSCT) (112), optyczną tomografię koherencyjną (optical coherence tomography (OCT)) (91), obrazowanie termiczne (thermal imaging), MRI śródnaczyniowe oraz spektroskopię w bliskiej podczerwieni (near-infrared spectroscopy (NIRS)) (65).



## **1.10. Techniki obrazowania naczyń szyjnych w medycynie nuklearnej**

### **1.10.1. Technika planarna**

Technika planarna polega na rejestrowaniu obrazów przy stałej pozycji gammakamery względem ciała pacjenta przez 5-10 min lub do minimum ok. 700.000 zliczeń na projekcję. Scyntygrafia planarna zazwyczaj nie jest zadowalająca w dokładnym określaniu miejsca i rozległości blaszki miażdżycowej ze względu na niską rozdzielczość badania przy stosunkowo małej strukturze poddawanej badaniu. Wynika to z dwuwymiarowej prezentacji trójwymiarowych obiektów, w której każdy obraz zawiera zsumowaną informację o rozkładzie znacznika w ocenianej blaszce oraz w warstwach ciała znajdujących się nad lub pod obszarem zainteresowania. Obecnie zazwyczaj badania z użyciem radioznaczników wychwytywanych w obszarze patologii uzupełnia się badaniem wykonywanym techniką SPECT.

### **1.10.2. Technika SPECT**

W celu wykonania badania szyi techniką SPECT wykonuje się zazwyczaj serię 64 projekcji planarnych (planarnych obrazów zapisywanych cyfrowo w pamięci komputera jako 2-wymiarowe macierze) uzyskanych w równych odstępach kątowych podczas obrotu głowic (głowicy) gammakamery wokół głównej osi pacjenta ( $360^{\circ}$ ). Dzięki rekonstrukcji uzyskuje się trójwymiarowy obraz badanej struktury oraz po zrotowaniu danych odwzorowane przekroje szyi w płaszczyźnie strzałkowej, czołowej i poprzecznej.

### **1.10.3. Technika PET**

Badanie PET pozwala także na otrzymanie trójwymiarowego obrazu naczyń szyjnych ze standardową rozdzielczością obrazu 2 – 4 mm, a więc znacznie wyższą niż badania SPECT. Coraz szerzej dostępne są urządzenia hybrydowe, dzięki którym obraz PET jest nakładany poprzez rotację, przesunięcie i skalowanie na obraz anatomiczny o dużej rozdzielczości

uzyskany w badaniu CT lub MR, co pozwala na uzyskanie podczas jednego badania informacji zarówno o metabolizmie jak i szczegółach anatomicznych badanych struktur.

### **1.11. Znaczniki stosowane w obrazowaniu zapalenia naczyń tętniczych**

W przeszłości wielokrotnie podejmowano próby zastosowania radioznanek do obrazowania zmian miażdżycowych w obrębie naczyń tętniczych (tabela 1). Wiele z nich testowanych było jedynie na modelach zwierzęcych, a tylko kilka zostało poddanych badaniom klinicznym. Niemniej jednak żaden z nich nie zajął istotnego miejsca w praktyce klinicznej. Aktualnie przy wraz z postępem wiedzy o patofizjologii miażdżycy poszukuje się coraz nowszych znaczników umożliwiających obrazowanie czynnościowe zmian miażdżycowych.

Odrębnym zagadnieniem pozostają próby obrazowania zmian miażdżycowych badaniami PET, pozwalającymi w porównaniu do SPECT otrzymać obrazy o wyższej rozdzielczości. Jako pierwszy marker do badań PET zastosowano  $^{18}\text{F}$ -deoksyglukozę ( $^{18}\text{F}$ -FDG), gromadzoną w komórkach i narządach o wysokiej aktywności metabolicznej, w tym także w obrębie blaszek miażdżycowych. Wykazano zwiększony wychwyty znacznika w obrębie naczyń objętych miażdżycą u osób z czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (190). Także w badaniach tętnic szyjnych u pacjentów z klinicznie jawną miażdżycą stwierdzono zwiększony wychwyty  $^{18}\text{F}$ -FDG w tętnicach objętych chorobą, nie stwierdzono zaś zwiększonego wychwyty znacznika w obrębie ścian naczyń bez blaszek miażdżycowych (138). W innym badaniu stwierdzono przydatność  $^{18}\text{F}$ -FDG w obrazowaniu niewielkich blaszek miażdżycowych zlokalizowanych w tętnicach szyjnych (47).

Rozwijając techniki obrazowania zmian miażdżycowych w PET przeprowadzono badania z użyciem znakowanych galem-68 płytek krwi ( $^{68}\text{Ga}$ -oxine-tropolone,  $^{68}\text{Ga}$ -MPO) wykazując 3,5 krotnie wyższy wychwyty znacznika w obszarach tętnic z uszkodzoną ścianą naczynia niż w obszarach prawidłowych (189). Jednak ze względu na krótki półokres trwania  $^{68}\text{Ga}$ , niską

wydajność znakowania oraz stosunkowo wysoki odsetek wyznakowanych płytek w krwi krążącej nie wykazano dużej przydatności tych znaczników w obrazowaniu zakrzepów.

Alternatywą dla powyżej opisanych związków mogą być różne nanocząsteczki, które mogą służyć do obrazowania zmian zarówno w PET, NMR jak i metodach optycznych. VINP-28 ligand dla VICAM-1 (117) czy  $^{64}\text{Cu}$ -TNP (114) mający powinowactwo do receptora CD 68 znajdującego się głównie na makrofagach, a także innych komórkach zapalnych, są potencjalnymi kandydatami na nowe wielofunkcyjne znaczniki do obrazowania blaszek miażdżycowych.

W ostatnim czasie opracowano także ligand PK11195 łączący się z obwodowym receptorem dla benzodiazepiny (PRB), którego ekspresję stwierdza się na wielu tkankach i komórkach w tym makrofagach obecnych w zmianach miażdżycowych (49). Próbuje się także wprowadzić inhibitory metaloproteinaz do badań SPECT (175) i PET (175, 176).

W tym momencie jednak droga do rutynowego zastosowania PET/CT w obrazowaniu zmian miażdżycowych wydaje się daleka, a zastosowanie prostych i tanich znaczników dla SPECT wydaje się być kuszącą alternatywą.

<b>Autorzy</b>	<b>Cel obrazowania</b>	<b>Obrazowana molekula/mechanizm działania</b>	<b>Rodzaj znacznika</b>	<b>Rodzaj badanych naczyń</b>
Chang i wsp. (28)	Fagocytoza LDL, obrazowanie komórek piankowatych	Inkorporacja LDL w blaszkę miażdżycową	<sup>125</sup> I-LDL	Aorty królików
Shaw i wsp. (149)	Fagocytoza LDL, obrazowanie komórek piankowatych	LDL modyfikowane malonyldialdehydem	( <sup>125</sup> I)-IK17 (Przeciwciała anty-MDA-LDL)	Aorty mysz LDL r/-
Banyai i wsp. (12)	Fagocytoza LDL, obrazowanie komórek piankowatych	Inkorporacja LDL w blaszkę miażdżycową	<sup>123</sup> I-LDL, <sup>111</sup> In-LDL	Ludzkie tętnice szyjne
Lees i wsp.(95)	Fagocytoza LDL, obrazowanie komórek piankowatych	Inkorporacja LDL w blaszkę miażdżycową	<sup>99m</sup> Tc-LDL	Ludzkie tętnice szyjne
Tsimikas i wsp. (167)	Fagocytoza LDL, obrazowanie komórek piankowatych	oxLDL (monoklonalne przeciwciała przeciw epitopom malondialdehydowym LDL)	( <sup>125</sup> I)-MDA2 (mysie monoklonalne przeciwciała)	Aorty mysz Apo E-/- i królików WHHL
Iuliano i wsp. (63)	Fagocytoza LDL, obrazowanie komórek piankowatych	Inkorporacja oxLDL w blaszkę miażdżycową	<sup>99m</sup> Tc-oxLDL	Ludzkie tętnice szyjne
Demacker i wsp.(39)	Aktywność/naciek makrofagów	Powierzchnia makrofagów	Ludzkie poliklonalne <sup>111</sup> In-IgG	Aorty królików WHHL
Kritz i wsp.(90)	Aktywność/naciek makrofagów	Powierzchnia makrofagów	Ludzkie poliklonalne <sup>111</sup> In-IgG	Ludzkie tętnice szyjne
Kircher i wsp. (81)	Aktywność/naciek makrofagów	Inkorporacja monocytów w blaszkę miażdżycową	<sup>111</sup> In-monocyty	Aorty mysz Apo -/-

Autorzy	Cel obrazowania	Obrazowana molekula/mechanizm działania	Rodzaj znacznika	Rodzaj badanych naczyń
Moriwaki i wsp. (111)	Wykrzepianie	Skrzep	<sup>111</sup> In- płytki krwi	Ludzkie tętnice szyjne
Matter i wsp. (105)	Neowaskularyzacja	Ekstra domena B fibronektyny	Ludzkie przeciwciała <sup>125</sup> I-L19	Aorty mysz Apo E-/-
Carrio i wsp.(27)	Proliferacja mięśni gładkich	Proliferyjące mięśnie gładkie	<sup>111</sup> In- monoklonalne Z2D3 F(ab') <sub>2</sub>	Ludzkie tętnice szyjne
Klodgie i wsp. (87)	Apoptoza	Fosfatydyloseryna	<sup>99m</sup> Tc- Annexyna V	Aorty królików NZW
Kietselear i wsp. (77)	Apoptoza	Fosfatydyloseryna	<sup>99m</sup> Tc- Annexyna V	Ludzkie tętnice szyjne,
Schäfers i wsp. (142)	Aktywność metaloproteinaz	Metaloproteinazy	<sup>123</sup> IHO-CGS 27023A	Tętnice szyjne mysz Apo E-/-
Haider i wsp. (56)	Aktywność metaloproteinaz	Metaloproteinazy (aktywowana katalityczna domena metaloproteinaz)	<sup>99m</sup> Tc MPI	Aorty królików NZW

WHHL = Wantanabe heritable hyperlipidemic, Apo E-/- = apolipoprotein E null, NZW = New Zealand White, LDL r-/- = LDL receptor-deficient mice, MPI = metalloproteinase inhibitor

**Tabela 1.** Najważniejsze grupy znaczników używane w badaniach SPECT do obrazowania zmian miażdżycowych.

### 1.12. Obrazowanie naczyń wieńcowych metodami scyntygraficznymi

Najważniejsze z punktu widzenia epidemiologicznego i prewencji powikłań chorób sercowo-naczyniowych jest obrazowanie naczyń wieńcowych. Aktualnie ocenę naczyń wieńcowych w badaniach radioizotopowych wykonuje się pośrednio oceniając perfuzję mięśnia sercowego oraz jego metabolizm. Wizualizacja samych zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych jest

trudna. Główne trudności techniczne wynikają z małej średnicy naczyń, ruchu serca oraz wysokiej aktywności tła związanej z wypełnieniem komór serca krwią. Z tego powodu większość przeprowadzonych badań scyntygraficznych dotyczyła obrazowania tętnic obwodowych.

Jedyne badania dotyczące obrazowania tętnic wieńcowych w SPECT wykonał Johnson i wsp. (66, 67) wykazując na świniach możliwość *in vivo* obrazowania zmian w naczyniach wieńcowych za pomocą  $^{99m}\text{Tc}$ -Annexyny V i  $^{111}\text{In}$ -Z2D3. Badania te nie były jednak kontynuowane u ludzi.

Wychwyty  $^{18}\text{F}$ -FDG przez aktywne metabolicznie tkanki w tym także miokardium, ogranicza zastosowanie  $^{18}\text{F}$ -FDG do obrazowania zmian miażdżycowych w obrębie tętnic wieńcowych. Nie mniej jednak podjęte próby zastosowania zmodyfikowanego protokołu badania PET/CT z użyciem  $^{18}\text{F}$ -FDG umożliwiły zobrazowanie zwiększonego wychwyty znacznika w regionach tętnic wieńcowych objętych miażdżycą (187) oraz w rejonach objętych kalcyfikacją (181).

### **1.13. Biodystrybucja, farmakokinetyka oraz bezpieczeństwo stosowania znakowanej IL-2 oraz jej dotychczasowe zastosowanie w obrazowaniu stanu zapalnego w obrębie tętnic szyjnych**

Dotychczas znakowaną różnymi radionuklidami IL-2 stosowano w diagnostyce obrazowej stanu zapalnego w chorobach autoimmunologicznych jelit, a także w przebiegu chorób autoimmunologicznych tarczycy (5, 29, 151).

Jako pierwszą do użycia klinicznego wprowadzono IL-2 znakowaną jodem-123. Wykazano wówczas, że jest ona szybko usuwana z osocza głównie przez nerki, natomiast fizjologiczny wychwyty znacznika oprócz nerek występuje w wątrobie, śledzionie oraz w śladowej ilości w jelitach. W dawkach diagnostycznych nie wywołuje ona działań niepożądanych (151). Ze względu na wysoką cenę i względnie małą dostępność jodu-123 opracowano metodę znakowania IL-2 technetem-99m. Również w tym przypadku wykazano szybkie usuwanie znacznika z osocza przez nerki oraz fizjologiczną kumulację

znacznika w wątrobie i śledzionie. Analiza dystrybucji znacznika we krwi obwodowej wykazała 1,3% aktywności w obrębie leukocytów, 10% w obrębie erytrocytów i 88,7% w obrębie osocza. Najwyższy wychwyty znacznika nad nerkami obserwowano po 1 godzinie od dożylnego podania. Nie obserwowano ubocznych efektów podania  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 (29).

Przeprowadzone przez włoskich badaczy w 2006 roku badania ujawniły znamiennej korelację między wychwytem znakowanej IL-2 w badaniu scyntygraficznym a odsetkiem komórek posiadających receptor dla IL-2 w cytometrii przepływowej oraz w badaniu histopatologicznym. Wtedy to po raz pierwszy zastosowano IL-2 do obrazowania płytki miażdżycowej w obrębie naczyń szyjnych oraz wskazano na jej potencjalną użyteczność w obrazowaniu stanu zapalnego w obrębie blaszek miażdżycowych (6).

Opisane powyżej fakty dotyczące budowy blaszek miażdżycowych oraz patomechanizmów prowadzących do wystąpienia ostrych incydentów sercowo-naczyniowych zachęcają do poszukiwań metod uzupełniających klasyczne metody diagnostyczne o narzędzia do oceny czynnościowej zmian miażdżycowych.

## 2. Założenia i cel badania

Ponieważ aktualnie żadna z metod służących do obrazowania stopnia nasilenia zmian miażdżycowych w obrębie tętnic samodzielnie nie dostarcza wystarczających informacji na temat nasilenia procesu zapalnego w obrębie blaszek miażdżycowych i ryzyka ich pęknięcia, istotne wydaje się opracowanie metod obrazowania umożliwiające identyfikację pacjentów z wysokim krótkoterminowym ryzykiem wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych.

W związku z powyższym określono następujący cel badania:

Ocena przydatności znakowanej IL-2 w diagnostyce niespecyficznego przewlekłego stanu zapalnego w obrębie ściany tętnic szyjnych w modelu dynamicznej progresji miażdżycy w grupie chorych dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek.

Dla jego realizacji wykonano:

1. Opracowanie metodyki badania scyntygraficznego z użyciem znakowanej jodem-123 oraz technetem-99m IL-2 w ocenie nasilenia procesu zapalnego w obrębie ścian tętnic szyjnych.
2. Ocenę wpływu aktywności uogólnionego procesu zapalnego ocenianego na podstawie stężeń wybranych cytokin prozapalnych oraz markerów stanu zapalnego na miejscowe nasilenie procesu zapalnego w obrębie naczyń szyjnych oceniane pośrednio za pomocą badania scyntygraficznego z użyciem znakowanej IL-2.
3. Analizę wpływu klasycznych czynników ryzyka rozwoju i progresji miażdżycy (BMI, ciśnienie tętnicze, palenie papierosów, stężenie fibrynogenu i homocysteiny) na wynik badania scyntygraficznego.



4. Ocenę wpływu wybranych wskaźników gospodarki lipidowej (lipidogram, ApoB, ApoA-I, leptyna, adiponektyna) na wynik badania scyntygraficznego.

5. Ocenę wpływu wybranych parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej (iPTH, stężenie Ca i P oraz indeksu CaxP) na wynik badania scyntygraficznego.

6. Porównanie wyników badania scyntygraficznego z wynikami pomiarów IMT w obrębie opuszki tętnicy szyjnej wspólnej.

7. Ocenę czułości i swoistości badania scyntygraficznego w detekcji blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych.

### 3. Materiał i metody

#### 3.1. Badana grupa

Badaniem objęto łącznie 38 chorych (18 kobiet i 20 mężczyzn), leczonych nerkozastępczo w Klinice Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie z powodu schyłkowej niewydolności nerek (SNN).

Badanie scyntygraficzne wykonano z użyciem dwóch znaczników IL-2 znakowanej jodem-123 ( $^{123}\text{I}$ -IL-2) oraz IL-2 znakowanej technetem-99m ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2).

Znakowanie IL-2 za pomocą jodu-123 nie następuje dużych trudności technicznych, a uzyskany kompleks cechuje się dobrą stabilnością. Z tego powodu obrazowanie zmian w obrębie naczyń szyjnych rozpoczęto od wykonania badań scyntygraficznych z użyciem  $^{123}\text{I}$ -IL-2, w grupie pacjentów obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Po uzyskaniu wstępnych, zachęcających wyników oraz opracowaniu metody otrzymywania  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 przez OBRI Polatom Świerk zdecydowano o kontynuacji badania w pozostałej grupie chorych.

Protokół włączania chorych do badania, sposób pobierania krwi do badań laboratoryjnych, wykonania badania scyntygraficznego oraz usg tętnic szyjnych pozostawał w obu grupach pacjentów taki sam.

Ponieważ znakowana IL-2 jest nowo opracowanym markerem stosowanym w badaniach klinicznych, a celem badania było stwierdzenie użyteczności metody w obrazowaniu niestabilnych blaszek miażdżycowych w grupie chorych z wysokim ryzykiem sercowo-naczyniowym, do badania włączono chorych spełniających kryteria badania i nie przewidziano wykonania badań scyntygraficznych w grupie osób zdrowych.

U 10 osób (grupa kontrolna) bez niewydolności nerek oraz nieobciążonych zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym pobrano krew do oznaczeń biochemicznych identycznych jak w badanej grupie chorych. Wykonano dodatkowo 2 badania scyntygraficzne u osób bez niewydolności nerek, ale z wyższym niż w grupie kontrolnej ryzykiem sercowo-naczyniowym, leczonych z powodu hipercholesterolemii rodzinnej.

Pacjenci do badania kwalifikowani byli przez lekarzy Oddziału Klinicznego Kliniki Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Kryterium włączenia do badania był co najmniej 2 miesięczny okres poprzedzający wykonanie badania scyntygraficznego, w którym u pacjentów nie stwierdzono cech aktywnego stanu zapalnego w badaniu podmiotowym i przedmiotowym. Kryterium wyłączenia z badania było wystąpienie w okresie dwóch miesięcy poprzedzających badanie scyntygraficzne dodatkowego (poza niewydolnością nerek) stanu mogącego być przyczyną podwyższenia wartości parametrów zapalnych (incydenty sercowo-naczyniowe, choroba nowotworowa, leczenie immunomodulujące, poważne choroby przebiegające z odczynem zapalnym w tym dializacyjne zapalenie otrzewnej oraz zapalenia ujścia zewnętrznego i tunelu cewnika Tenchhoffa). Kryterium wyłączającym z badania była także ciąża, okres karmienia piersią oraz wiek poniżej 18 roku życia.

Podczas kwalifikacji do badania oprócz oceny klinicznej pacjenta wykonywano pomiar ciśnienia tętniczego, mierzono wzrost oraz masę ciała pacjenta.

W dniu wykonania scyntygrafii tętnic szyjnych z użyciem znakowanej jodem-123 lub technetem-99m interleukiny-2 w Pracowni Medycyny Nuklearnej Kliniki Endokrynologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie pobierano krew do zaplanowanych badań laboratoryjnych. Usg tętnic szyjnych celem określenia ilości oraz lokalizacji blaszek miażdżycowych wraz z oceną IMT wykonywano w II Klinice Kardiologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Badania biochemiczne i immunochemiczne wykonano w Zakładzie Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersyteckiego w Krakowie.

Projekt badawczy uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej UJ KBET/101/B/2004.

Udział w przeprowadzonym badaniu był dobrowolny i odbywał się po uzyskaniu pisemnej zgody.

## **3.2. Narażenie pacjentów na promieniowanie**

Technet-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ) jest izotopem promieniotwórczym o bardzo niskim stopniu radiotoksyczności (IV grupa radiotoksyczności;  $k=0,001$ ), krótkim czasie półtrwania – 6h i energii promieniowania 140 keV. Emituje promieniowanie gamma. Z punktu widzenia ochrony radiologicznej jest optymalnym radioizotopem używanym do obrazowania.

Jod-123 ( $^{123}\text{I}$ ) zalicza się do III grupy radiotoksyczności (niski stopień radiotoksyczności;  $k=0,01$ ), energia promieniowania 1,23 MeV, czas półtrwania 13,1 h.

$k$  – stała w przybliżeniu wskazująca krotność osłabienia skutków biologicznych przy zastosowaniu wymienionych izotopów o takiej samej aktywności).

## **3.3. Badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz badania laboratoryjne**

### **3.3.1. Czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych**

Ryzyko sercowo-naczyniowe określono na podstawie występowania klasycznych czynników ryzyka w tym wcześniejszego wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego.

Czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych identyfikowano na podstawie wywiadu, badania fizykalnego, pomiaru ciśnienia tętniczego oraz wyników badań biochemicznych.

Pomiary ciśnienia tętniczego wykonano zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego.

Występowanie chorób takich jak nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, hipercholesterolemia, stabilna choroba wieńcowa, występowanie incydentów sercowo-naczyniowych w przeszłości określano na podstawie wywiadu oraz wcześniejszych kart informacyjnych.

Otyłość stwierdzano, gdy wskaźnik masy ciała - BMI (ang. body mass indeks) przekraczał  $30 \text{ kg/m}^2$ .

Informację na temat palenia papierosów uzyskiwano na podstawie wywiadu.

### **3.3.2. Pomiar ciśnienia tętniczego krwi**

Ciśnienie tętnicze mierzono: na tętnicy ramiennej za pomocą sfigmomanometru rtęciowego zgodnie z zasadami rekomendowanymi przez Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego (69) tzw. spoczynkowe ciśnienie tętnicze – brBP (ang. brachial resting blood pressure). Pomiarów dokonywano w trakcie wizyty kwalifikacyjnej do badania scyntygraficznego.

Analizowano wartości ciśnienia:

skurczowego - SBP (ang. systolic blood pressure)

rozkurczowego – DBP (ang. diastolic blood pressure)

średniego – MBP (ang. mean blood pressure)

Średnie ciśnienie tętnicze obliczano według wzoru:

$$MBP = DBP + 1/3(SBP - DBP)$$

### **3.3.3. Wskaźnik masy ciała**

Wskaźnik masy ciała (BMI) obliczano na podstawie wzoru Quetela:

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

### 3.4. Dane demograficzne

Do badania zakwalifikowano łącznie 38 pacjentów, w tym 18 kobiet i 20 mężczyzn, pomiędzy 29. a 72. rokiem życia. Średnia wieku wynosiła  $61,7 \pm 9,8$  lat (K  $57,05 \pm 10,04$ , M  $56,43 \pm 9,81$ ).

#### 3.4.1. Badanie z użyciem $^{123}\text{I-IL-2}$ (badanie pilotażowe)

Jako pierwszych przebadano 10 pacjentów (5 kobiet, 5 mężczyzn, średnia wieku  $62,4 \pm 10,4$  (K  $59,5 \pm 13,48$ , M  $68,0 \pm 5,57$ ) z grupy pacjentów dializowanych otrzewnowo, obciążonych największym ryzykiem sercowo naczyniowym (4 osoby ze stabilną chorobą wieńcową bez zawału mięśnia sercowego w wywiadzie, 4 osoby po zawale mięśnia sercowego, 1 pacjent po udarze mózgu, 1 pacjent z zastoinową niewydolnością krążenia). Chorych wybrano z grupy 67 pacjentów przewlekle dializowanych otrzewnowo pozostających w stałej opiece Kliniki Nefrologii. Mediana długości uczestnictwa w programie dializ otrzewnowych wynosiła 32,5 miesiąca (przedział 12-55 miesięcy). Przyczyny SNN podano w tabeli. 2.

<b>Przyczyna schyłkowej niewydolności nerek</b>	<b>Ilość osób</b>
<b>Nefropatia cukrzycowa</b>	2
<b>Przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek</b>	2
<b>Nawracające infekcje dróg moczowych</b>	2
<b>Nieznana</b>	4

**Tabela 2.** Przyczyny SNN w populacji poddanej scyntygrafii tętnic szyjnych z użyciem  $^{123}\text{I-IL-2}$ .

### 3.4.2. Badanie z użyciem <sup>99m</sup>Tc-IL-2 (badanie główne)

Pozostałych 28 pacjentów przebadano po opracowaniu zestawu do znakowania IL-2 technetem 99m. Do grupy tej zakwalifikowano 13 kobiet oraz 15 mężczyzn. Średnia wieku wynosiła  $55,2 \pm 9,6$  lat (K  $59,00 \pm 8,58$ , M  $53,82 \pm 10,81$ ) a mediana długości pozostawania w programie dializ 38,4 miesiący (przedział 4 - 133). 17 pacjentów pochodziło z grupy chorych dializowanych otrzewnowo, 11 pacjentów zrekrutowano wśród osób hemodializowanych. 15 osób miało rozpoznaną chorobę niedokrwinną serca w okresie stabilnym (w tym 3 osoby z zawałem mięśnia sercowego w wywiadzie). Przyczyny SNN w badanej populacji podano w tabeli 3.

<b>Przyczyna schyłkowej niewydolności nerek</b>	<b>Ilość osób</b>
<b>Przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek</b>	6
<b>Wielotorbielowatość nerek</b>	3
<b>Nefropatia cukrzycowa</b>	5
<b>Nefrektomia</b>	2
<b>Nawracające infekcje dróg moczowych</b>	4
<b>Nefropatia nadciśnieniowa</b>	1
<b>Nieznana</b>	7

**Tabela 3.** Przyczyny SNN w populacji poddanej scyntygrafii tętnic szyjnych z użyciem <sup>99m</sup>Tc-IL-2.

### 3.5. Oznaczenia biochemiczne

Celem ogólnej oceny skuteczności dializ oznaczano stężenia mocznika, kreatyniny oraz albuminy w surowicy. Wykonano także morfologię krwi oraz oznaczenie fosfatazy alkalicznej (AP). Oznaczenia te wykonywano przy użyciu analizatorów biochemicznych Hitachi 917 Modular P (Roche Diagnostics, Division of Hoffman La Roche, Bazylea, Szwajcaria).

Dodatkowo wykonano oznaczenia:

#### I. W badaniu pilotażowym:

1. Lipidogramu oraz wybranych czynników regulujących gospodarkę lipidową:

- cholesterolu całkowitego, trójglicerydów oraz LDL (Hitachi 917, *Roche Diagnostics, Division of Hoffmann La Roche, Bazylea, Szwajcaria*)

- lipoproteiny A-I, apolipoproteiny B (monitorowanej także jako białko “ostrej fazy”) (metoda immunonefelometryczna, N Antisera Apolipoprotein A-I and Apolipoprotein B), *Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)

- adiponektyny (ELISA; Human Adiponectine, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)

- leptyny (ELISA; Human Leptin, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)

2. Wybranych cytokin:

- interleukiny 6 (ELISA; Quantikine HS Human IL-6, R&D Systems, Minneapolis, USA)

- interleukiny 18 (ELISA; Medical&Biological Laboratories CO., Naka-Ku Nagoya, Japan)

- TNF alfa (ELISA, Quantikine HS TNF alfa, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).



### 3. Białek ostrej fazy:

- białka C-reaktywnego (metoda immunonefelometryczna, *Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)
- fibrynogenu (metoda immunonefelometryczna, *Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)

### 4. Wskaźników gospodarki wapniowo – fosforanowej:

- wapnia całkowitego i zjonizowanego (Hitachi 917, *Roche Diagnostics, Division of Hoffmann La Roche, Bazylea, Szwajcaria*)
- fosforanów (Hitachi 917, *Roche Diagnostics, Division of Hoffmann La Roche, Bazylea, Szwajcaria*)
- indeksu wapniowo – fosforanowego
- parathormonu (metoda chemiluminescencyjna; *Immulite 2000, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA*)

## II. W badaniu głównym:

1. Lipidogramu, wybranych czynników regulujących gospodarkę lipidową oraz markerów nasilenia stresu oksydacyjnego:

- cholesterolu całkowitego, trójglicerydów oraz LDL (Hitachi 917, *Roche Diagnostics, Division of Hoffmann La Roche, Bazylea, Szwajcaria*)
- lipoproteiny A-I, apolipoproteiny B (monitorowanej także jako białko “ostrej fazy”) (metoda immunonefelometryczna, *N Antisera Apolipoprotein A-I and Apolipoprotein B, Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)
- adiponektyny (ELISA; *Human Adiponectine, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA*)
- oxLDL (ELISA, *ox-LDL ELISA Kit, Immun Diagnostik AG, Bensheim, Germany*)
- anty oxLDL (ELISA, *anti ox-LDL IgG OLAB IgG, Biomedica Gruppe, GmbH & Co KG, Wien, Austria*)

## 2. Wybranych cytokin:

- interleukiny-6 (ELISA; Quantikine HS, Human IL-6, R&D Systems, Minneapolis, USA)
- interleukiny-18 (ELISA; Medical&Biological Laboratories CO., Naka-Ku Nagoya, Japan)
- rozpuszczalnego receptora dla IL-2 (ELISA; Quantikine, Human IL-2 sRalfa, R&D Systems, Minneapolis, USA)

## 3. Białek ostrej fazy i modulatorów procesu zapalnego:

- ludzkiego amyloidu A (SAA) (metoda immunonefelometryczna, SAA), *Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)
- białka C-reaktywnego (metoda immunonefelometryczna, *Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)
- fibrynogenu (metoda immunonefelometryczna, *Dade Behring GmbH, Marburg, Niemcy*)
- homocysteiny (EIA, Homocysteine Test, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)
- sICAM (EIA; human sICAM-1, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)
- aHSP60 (ELISA; Anti-Human Hsp60(total) ELISA Kit, Assay Designs Inc, Ann Arbor, MI, USA)
- sCDL40 (ELISA, Human sCD40L ELISA, Diaclone SAS, Besancon, France)
- ADMA (ELISA, ADMA direct ELISA Kit, Immun Diagnostik AG, Bensheim, Germany)

## 4. Wskaźników gospodarki wapniowo – fosforanowej:

- wapnia całkowitego i zjonizowanego (Hitachi 917)
- fosforanów (Hitachi 917)
- Indeksu wapniowo – fosforanowego
- parathormonu (metoda chemiluminescencyjna; *Immulite 2000, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA*)

### **3.6. Pobieranie krwi do badań laboratoryjnych**

W dniu badania scyntygraficznego pobierano krew na czczo, po co najmniej 12 godzinach od ostatniego posiłku. Pobraną krew odwirowywano w temperaturze pokojowej z prędkością 3000 obrotów/min przez 15-30 min, a następnie rozdzielano do probówek typu Eppendorf, zamrażano i przechowywano w temperaturze – 70°C do dnia oznaczenia.

### **3.7. Badania obrazowe tętnic szyjnych**

#### **3.7.1. Technika badania usg tętnic szyjnych z oceną IMT**

W dniu badania scyntygraficznego wykonywano badanie usg tętnic szyjnych celem oceny położenia i wielkości blaszek miażdżycowych w ich obrębie oraz grubości kompleksu intima-media.

Badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych wykonano aparatem GE Vivid 7 wyposażonym w liniową głowicę naczyniową i odpowiednią aplikacją naczyniową. Pacjenci badani byli w pozycji leżącej na plecach z lekko odchyloną głową do tyłu. Przebieg naczyń oraz opuszkę tętnicy szyjnej określano na podstawie obrazu w projekcji poprzecznej oraz podłużnej, badanie z użyciem Dopplera – w projekcji podłużnej. Badanie ultrasonograficzne dotyczyło tętnicy szyjnej wspólnej, wewnętrznej i zewnętrznej oraz tętnicy kręgowej i obejmowało anatomię naczyń w badaniu dwuwymiarowym, spektrum dopplerowskie fali przepływu oraz badanie kolorowym Dopplerem. Projekcja podłużna uzyskana była przy pomocy trzech uznanych miejsc przyłożenia głowicy: z przodu - między krtanią a mięśniem mostkowo-sutkowo-obojczykowym, z boku – przez mięsień mostko-sutkowo-obojczykowy, z tyłu – zza mięśnia mostkowo-sutkowo-obojczykowego. W trakcie badania dwuwymiarowego (B-mode) wiązka ultradźwięków padała prostopadle do badanego naczynia tak, by uzyskać jak najlepszy obraz w skali szarości. W badaniu dwuwymiarowym mierzono grubość kompleksu intima-media (IMT), brano pod uwagę średnią pomiarów wykonanych 1 cm dystalnie od opuszki na ścianie bliższej i dalszej tętnicy szyjnej wspólnej. Grubość tego

kompleksu mierzona była poza blaszkami miażdżycowymi. Przyjęto, iż grubość IMT powyżej 1 mm oznacza jego pogrubienie. Za blaszkę miażdżycową przyjęto IMT powyżej 1,3 mm, o gładkim obrysie i grubości o połowę większej od grubości pozostałej ściany naczynia. Następnie badano przepływ krwi przez naczynia w badaniu color-doppler przy optymalnym ustawieniu parametrów aparatu. Stenoza sugerowana była przy stwierdzeniu zjawiska aliasingu w badanym odcinku naczynia, natomiast okluzja podejrzewana była przy braku sygnału przepływu w naczyniu. W badaniu Dopplerem pulsacyjnym kąt intonacji był mniejszy niż 60 stopni. Przy interpretacji badania Dopplerem pulsacyjnym używano następujących parametrów: maksymalna prędkość skurczowa (PSV), końcowo-rozkurczowa prędkość przepływu (EDV) oraz widmo przepływu.

### **3.7.2. Technika badania scyntygraficznego**

Badanie scyntygraficzne z użyciem IL-2 znakowanej izotopem jodu-123 oraz izotopem technetu-99m wykonywane było z użyciem dwugłowicowej gamma kamery o dużym polu widzenia E.CAM 180 (Siemens) wyposażonej w niskoenergetyczny kolimator o wysokiej rozdzielczości (LEHR – Low Energy High Resolution). Wszystkie badania wykonano w Pracowni Medycyny Nuklearnej Katedry Endokrynologii CMUJ zgodnie z opracowanym w tutejszej Pracowni protokołem badania scyntygraficznego dla wykorzystanych radiofarmaceutyków.

#### **Protokół badania scyntygraficznego tętnic szyjnych:**

1. Badanie dynamiczne wykonywano bezpośrednio po dożylnym podaniu 100 - 150 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ - IL-2 lub  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w projekcjach: przednio-tylnej (anterior-posterior, AP) i tylnoprzodniej (posterior-anterior, PA), 60 klatek trwających po 30 sekund w matrycy 128x128.

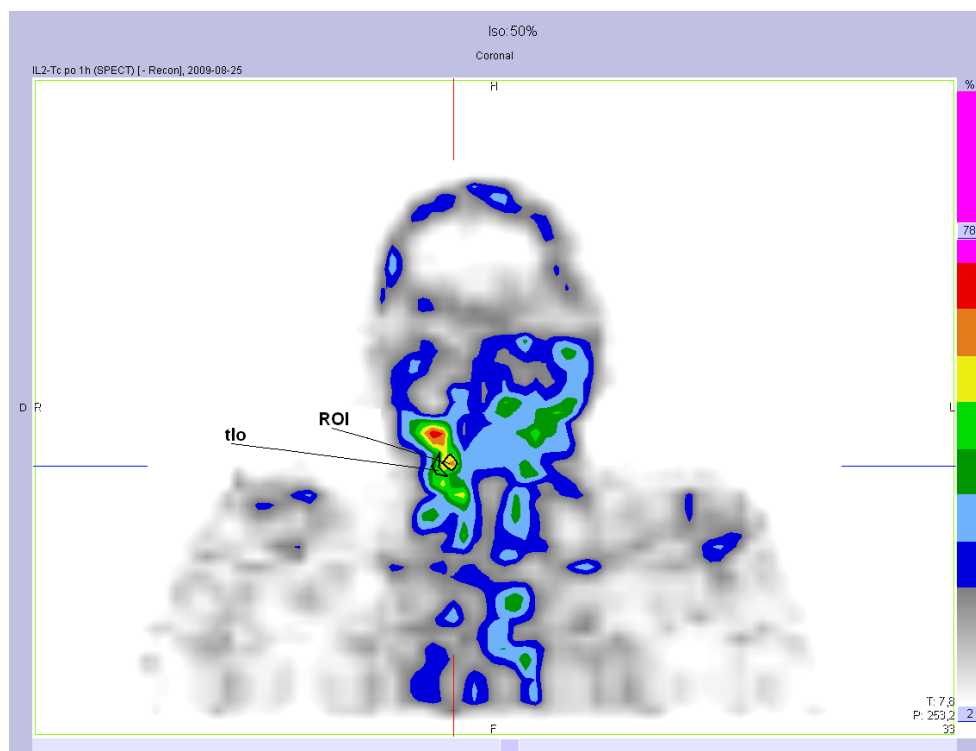
2. Badanie planarne szyi zostało wykonane czterdzieści pięć minut po podaniu znacznika w projekcjach: przednio-tylnej (anterior-posterior, AP),

tylno-przedniej (posterior-anterior, PA) oraz bocznej (lateral) w matrycy 256x256.

3. Badanie tomograficzne szyi (SPECT - Single Photon Emission Computed Tomography) wykonano po 1 godzinie od podania znacznika. Zostało wykonanych 128 projekcji w zakresie pełnego kąta obrotu gamma-kamery (360°), pojedyncza projekcja została zarejestrowana w matrycy o rozmiarze 64x64 i czas jej trwania wynosił 30 sekund.

Uzyskane w procesie akwizycji dane zostały opracowane na stacji procesingowej SyngoMi. Analiza obrazów SPECT została wykonana z użyciem iteracyjnej metody rekonstrukcji OSEM 3D FLASH (Ordered Subsets Expectation Maximization) z zastosowaniem 4 iteracji dla 8 przedziałów.

Każdorazowo obrysowywano obszary zainteresowania (ROI - region of interest) wokół blaszki miażdżycowej uprzednio uwidocznionej za pomocą usg. Obszar poza blaszką (non-Target - nT, tło) wyznaczany był dla każdego pacjenta w przyleganiu do ROI na zewnątrz od przebiegu naczynia (rycina 1).



**Rycina 1.** Sposób obrysowywania ROI oraz obszaru poza blaszką (tło).

Do oszacowania stopnia wychwytu  $^{123}\text{I}/^{99\text{m}}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie płytki miazdżycowej wyliczany był wskaźnik obiekt/tło (T/nT). Ponieważ ewentualne różnice w wartościach T/nT zależne były od różnic w wartości tła (nT), dla każdej z lokalizacji blaszki, dwóch niezależnych obserwatorów dokonywało trzy (w trzy różne dni) odczyty wartości, na podstawie których obliczano średnią wartość wskaźnika T/nT. Tak więc dla każdej zmiany obliczano wartość T/nT sześciokrotnie. Do analizy statystycznej użyto średnią wartość wskaźnika T/nT obliczoną na podstawie wszystkich sześciu odczytów. Oceniający badania scyntygraficzne nie znał danych klinicznych pacjenta.

Każdorazowo przed wykonaniem badania scyntygraficznego podawano pacjentom 8 kropli płynu Lugola 24 godziny (lub 16 kropli Irenatu 1 godzinę) przed planowanym wykonaniem badania scyntygraficznego celem zmniejszenia wychwytu znacznika przez tarczycę.

### **3.8. Znakowanie znaczników do badania scyntygraficznego**

Metody znakowania IL-2 za pomocą radioznanek opracowano w OBRI Polatom-Świerk. W przypadku znakowania IL-2 jodem-123 użyto metody bezpośredniej, w której dochodzi do nukleofilowego podstawiania radioaktywnego jodu w pierścień tyrozyny obecnej w łańcuchu peptydowym tego białka. Znakowana jodem-123 IL-2 jest jednorodna chemicznie i jej cząsteczka nie ulega istotnej modyfikacji w trakcie znakowania.

W przypadku znakowania IL-2 technetem-99m konieczne było przyłączenie HYNIC (kwas 6-hydrazypirydyno-3-karboksylowy) jako chelatora do IL-2. Pierwszy etap przygotowania zestawów do badań odbywał się w OBRI Polatom-Świerk, natomiast drugi etap wykonywano w Pracowni Medycyny Nuklearnej UJCM w dniu badań scyntygraficznych zgodnie z protokołem opracowanym przez OBRI Polatom-Świerk.

### 3.9. Scyntygrafia perfuzyjna mięśnia sercowego

U dziesięciu pacjentów poddanych badaniu scyntygraficznemu z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$  znakowanej technetem-99m, którzy wyrazili zgodę na badanie, wykonano scyntyografię perfuzyjną mięśnia sercowego z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI.

Badanie wykonano w Pracowni Medycyny Nuklearnej Kliniki Endokrynologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie przy współpracy z I Kliniką Kardiologii i Nadciśnienia Tętniczego CMUJ na bieżni ruchomej Marquette Electronic INC według protokołu Bruce'a.

W badaniach używano zestawu farmaceutycznego MIBI produkcji POLATOM OBRI Świerk. Po wyznakowaniu MIBI zgodnie z zaleceniami producenta, 500-740 MBq znacznika podawano pacjentom i.v. Akwizycję danych przeprowadzano w badaniu spoczynkowym po upływie 1 godziny, a w badaniu wysiłkowym po 40 min od podania znacznika. W trakcie badania wysiłkowego znacznik podawano i.v. na szczycie wysiłku kontynuując próbę wysiłkową przez ok. 2 min. Ze względu na eliminację znacznika wraz z żółcią, w celu uniknięcia artefaktów na ścianie dolnej po każdym podaniu  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI pacjent spożywał tłusty, niezbyt obfity posiłek. Akwizycji danych dokonywano przy pomocy dwugłowicowej gammakamery (łącznie 64 obrazy). Rekonstrukcji komputerowej dokonywano za pomocą programu Quantative Gated SPECT (Cedars Sinai).

Zaburzenia perfuzji oceniano metodą półilościową w 3 skali stopniowej:

1. – brak wysiłkowego niedokrwienia
2. – niewielkie niedokrwienie wysiłkowe
3. – typowy obraz wysiłkowego niedokrwienia

## 4. Analiza statystyczna

Do porównania grupy badanej z kontrolną dla zmiennych skategoryzowanych użyto testu  $\chi^2$ , a w przypadku małych liczebności testu dokładnego Fishera. Dla zmiennych ciągłych zastosowano test Manna-Whitneya. Ten ostatni został także użyty przy ocenie wyniku scyntygrafii w grupie badanej w zależności od zmiennych skategoryzowanych. Jeżeli przyjmowały one więcej niż dwie wartości zastosowano test Kruskala-Wallisa. Zależność tego wyniku od zmiennych ciągłych oceniano stosując regresję liniową.

W celu ustalenia jak badane czynniki wpływają na wyniki scyntygrafii, podzielono zmienną T/nT na dwie kategorie. Punktem odcięcia była mediana (wartość 2,2). Za pomocą modelu regresji logistycznej badano jak poszczególne zmienne wpływają na ryzyko wystąpienia wartości powyżej mediany. W testowanych modelach zmienne zależne wprowadzano zarówno jako zmienne ciągłe, jak i w podziale na tercyle.

We wszystkich obliczeniach za granicę istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ .

Obliczenia zostały wykonane za pomocą pakietu statystycznego STATA8.0.



## 5. Wyniki

Ze względu na różnice pomiędzy grupami badanymi oraz różnice związane z różnymi właściwościami izotopów użytych do znakowania radiofarmaceutyku, wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono odrębnie dla badania z użyciem IL-2 znakowanej jodem-123 oraz badania scyntygraficznego z użyciem IL-2 znakowanej technetem-99m.

Jako pierwszych przebadano 10 pacjentów z najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym (badanie pilotażowe). W tej grupie pacjentów wykonano badanie scyntygraficzne szyi z zastosowaniem IL-2 znakowanej jodem-123I. Pozostałą grupę stanowiło 28 pacjentów, u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem IL-2 znakowanej technetem-99m. Dodatkowo u 2 ochotników z hipercholesterolemią rodzinną, posiadających blaszki miażdżycowe w obrębie tętnic szyjnych, z ujemnym wywiadem w kierunku chorób sercowo-naczyniowych i innych obciążających chorób, w tym niewydolności nerek, wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2.

## 5.1. Wyniki badań w grupie pacjentów u których badanie wykonano z użyciem <sup>123</sup>I-IL-2 (badanie pilotażowe)

Przebadano 10 pacjentów z największym ryzykiem sercowo-naczyniowym zrekrutowanych spośród pacjentów dializowanych otrzewnowo.

### 5.1.1. Charakterystyka grupy

Występowanie klasycznych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów biorących udział w badaniu pilotażowym zostały przedstawione w tabeli 4.

		Grupa pacjentów poddana scyntygrafii z użyciem <sup>123</sup> I-IL-2
Płeć	K	5
	M	5
Wiek	K	66,33 ± 8,89
	M	62,5 ± 13,78
Wzrost [m]		1,64 ± 0,07
Waga [kg]		67 ± 11,34
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]		23 ± 3,70
Otyłość		0
Cukrzyca		3
Nadciśnienie tętnicze		10
SBP [mmHg]		151,86 ± 8,83
DBP [mmHg]		82,50 ± 17,73
MBP [mmHg]		105,60 ± 13,67
Hipercholesterolemia		5
Palenie papierosów		1
Choroba wieńcowa		9
Incydent sercowo-naczyniowy w wywiadzie		6

**Tabela 4.** Klasyczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w grupie chorych objętych badaniem pilotażowym.

### 5.1.2. Wyniki oznaczeń laboratoryjnych

Uzyskane wartości oznaczonych parametrów biochemicznych w grupie pacjentów poddanych scyntygrafii z użyciem <sup>123</sup>I-IL-2 oraz w grupie kontrolnej pokazano w tabeli 5. Z wyjątkiem składowych lipidogramu oraz stężenia CRP pozostałe oznaczenia tj. fibrynogenu, IL-6, iPTH, adiponektyny oraz indeks CaxP pozostawały znamienne wyższe w grupie pacjentów ze SNN niż w grupie kontrolnej.

Oznaczenie	Jednostka	Grupa pacjentów z SNN Wartość ± SD, mediana(przedział)	Grupa kontrola Wartość ± SD, mediana(przedział)	Wartości referencyjne	p
<b>Cholesterol całkowity</b>	mmol/l	5,17 (4,38 – 6,90)	5,28 (4,42 – 9,48)	3,20 – 5,20	NS
<b>HDL</b>		1,28 (1,09 - 2,17)	1,03 (1,03 – 2,40)	0,9 – 3,00	NS
<b>LDL</b>		3,03 (1,60 - 4,58)	3,17 (2,4 – 6,3)	0,2 – 3,40	NS
<b>TG</b>		1,66 (0,85 – 5,28)	1,39 (0,94 – 4,83)	0,2 – 2,30	NS
<b>Ca</b>		2,24 (2,15 – 2,62)	2,36 ± 0,07	2,02 – 2,61	NS
<b>P</b>		1,56 (1,10 – 2,38)	1,09 ±0,21	2,02 – 2,61	0,01
<b>iPTH</b>	pg/ml	304 (48,5 -1218)	179 (162 – 253)	150 - 300	<0,01
<b>fibrynogen</b>	g/l	5,10 (3,8- - 6,90)	2,76 (2,13 – 3,81)	1,8 – 3,5	0,01
<b>hsCRP</b>	mg/ml	3,8 (0,47 – 12,5)	0,98 (0,21 - 5,1)	0 – 3	NS
<b>hsTNF-alfa</b>	pg/ml	3,33 (1,49 – 5,14)	nb	0 – 4,71	-
<b>IL-6</b>		5,65 (2,7 – 31,4)	0,52 (0,27 – 1,85)	0,447 – 9,96	0,01
<b>Adiponektyna</b>	ng/ml	21050 (8800 – 30600)	5867 (4080 – 13346)	865 – 21424	0,02
<b>Leptyna</b>	ng/ml	24,1 (2,2 – 31,4)	nb	K 8,4 - 14,2 M 3,3 - 6,1	-

**Tabela 5.** Wartości wybranych stężeń cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, wartości frakcji lipidów oraz wskaźników równowagi wapniowo-fosforanowej w grupie pacjentów u których wykonano scyntyografię z użyciem <sup>123</sup>I-IL-2 oraz w grupie kontrolnej.

### **5.1.3. Wyniki badań obrazowych**

#### **5.1.3.1. Wyniki badań usg tętnic szyjnych**

Badaniem usg stwierdzono obecność blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych u 10/10 (100%) przebadanych pacjentów, w tym w 6/10 (60%) przypadków zmiany występowały obustronnie.

Średnia wartość grubości kompleksu intima-media po stronie blaszki o największym wychwycie znacznika wynosiła  $0,975 \pm 0,337$  mm (mediana 1,05, rozrzut 0,5 – 1,4). Uzyskana w tej grupie chorych wartość IMT była wyraźnie wyższa niż w populacji ogólnej (169), a także w pozostałej grupie chorych objętych badaniem scyntygraficznym z użyciem  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$ .

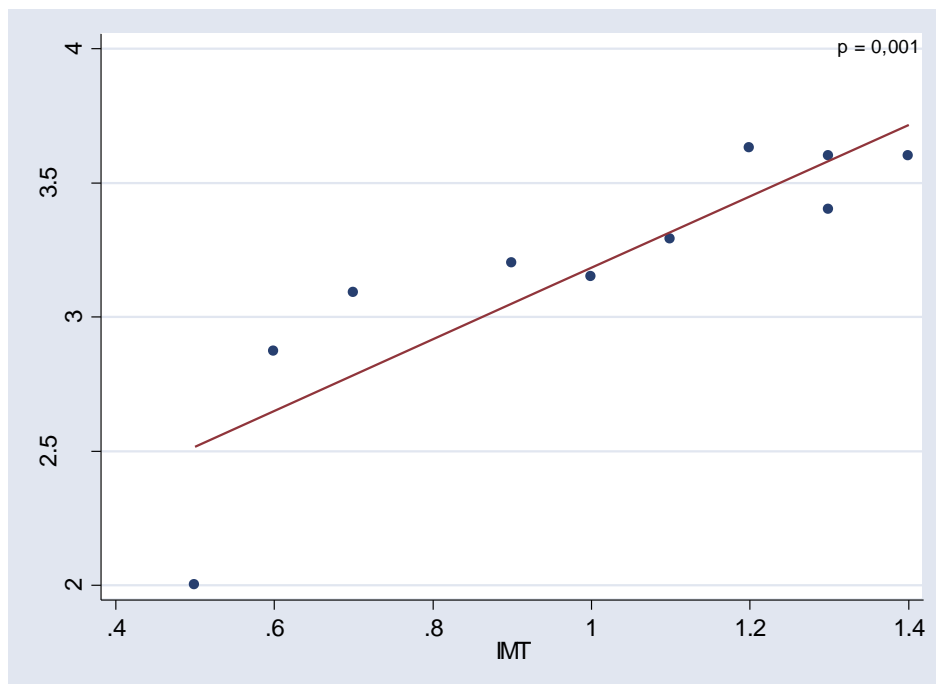
#### **5.1.3.2. Wyniki badań scyntygraficznych**

Badaniem scyntygraficznym stwierdzono zwiększony ogniskowy wychyt  $^{123}\text{I-IL-2}$  w obrębie 16/16 (100%) blaszek miażdżycowych uprzednio stwierdzonych badaniem usg. U chorych u których zmiany stwierdzone w badaniu usg tętnic szyjnych były jednostronne (4 przypadki) również obserwowano zwiększony wychyt znacznika na przebiegu naczyń szyjnych po stronie przeciwnej. Średni stosunek wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychytu  $^{123}\text{I-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych wynosił  $3,15 \pm 0,54$  (mediana 3,22, rozrzut 2,0 – 3,6).

Wyliczona na tej podstawie czułość badania scyntygraficznego względem badania usg tętnic szyjnych wynosiła 100%.

### 5.1.3.3. Zależność wyniku badania scyntygraficznego od wartości CCA-IMT

Stwierdzono wysoką statystycznie istotną korelację między grubością kompleksu intima-media po stronie badanej blaszki miażdżycowej a jej ogniskowym wychytem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 ( $R = 0,92$ ,  $p = 0,01$ ) w tej grupie pacjentów obarczonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Graficzny wynik badania przedstawiono na rycinie 2.



**Rycina 2.** Zależność pomiędzy grubością kompleksu intima-media (IMT) w obrębie tętnicy szyjnej wspólnej a stosunkiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w ścian tętnic szyjnych.

#### **5.1.3.4. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej jodem-123 i wykonanych oznaczeń biochemicznych**

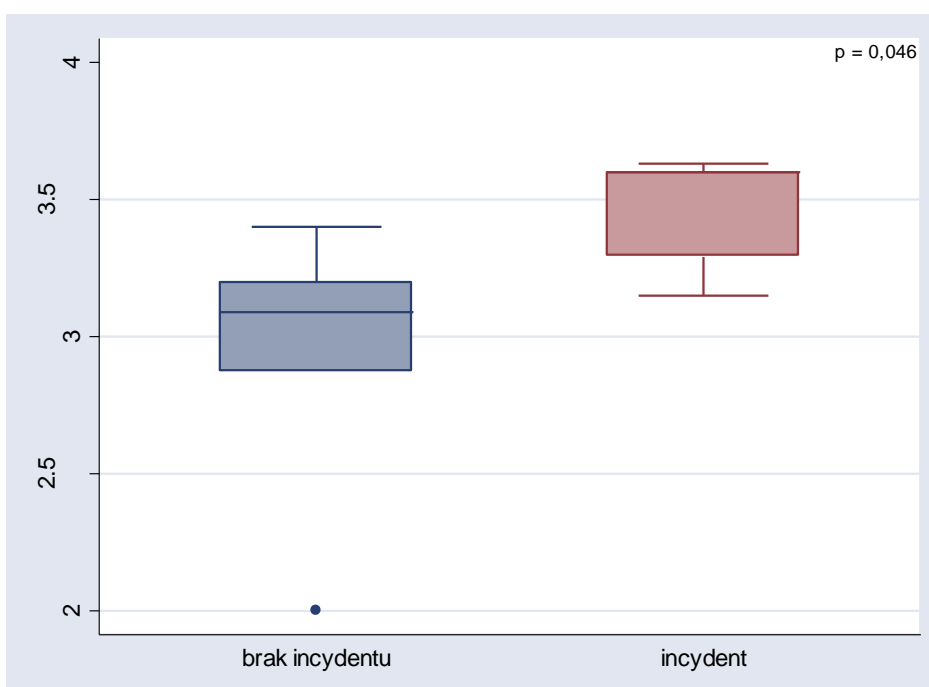
Analizując zależność pomiędzy biochemicznymi markerami procesu zapalnego, wartościami lipidogramu, parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej nie wykazano statystycznie istotnych zależności między wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych i wykonanymi oznaczeniami biochemicznymi (tabela 6). Jako przyczynę braku zależności pomiędzy tymi wynikami trzeba w pierwszej kolejności rozważyć niewielką liczebność badanej grupy, gdzie pojedyncze skrajne wartości oraz stosunkowo duży rozrzut wyników silnie wpływają na moc statystyczną obliczeń. Nie stwierdzono także istotnej statystycznie zależności między ogniskowym wychytem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych oraz wybranymi klasycznymi czynnikami ryzyka choroby wieńcowej (Tabela 6).

Wskaźnik biochemiczny		Współczynnik korelacji Spearmana ze wskaźnikiem T/nT ogniskowego wychwytu <sup>123</sup> I-IL-2	p
Fibrynogen		- 0,37	NS
CRP		- 0,51	NS
Cholesterol całk.		- 0,33	NS
Cholesterol HDL		0,26	NS
Cholesterol LDL		0,12	NS
Trójglicerydy		0,01	NS
Fosfor		0,66	NS
CaxP		0,12	NS
iPTH		0,02	NS
IL-6		- 0,30	NS
TNF - alfa		0,07	NS
BMI		- 0,22	NS
Adiponektyna		- 0,11	NS
Leptyna		- 0,16	NS
RR		- 0,28	NS
Palenie	Tak	3,15	NS
	Nie	3,15 ± 0,54	
Cukrzyca	Tak	3,20 ± 0,27	NS
	Nie	3,08 ± 0,93	
Incydent sercowo-naczyniowy w wywiadzie	Tak	3,36 ± 0,24	NS
	Nie	3,12 ± 0,60	

**Tabela 6.** Współczynniki korelacji pomiędzy wykonanymi oznaczeniami biochemicznymi, klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a ogniskowym wychwytem <sup>123</sup>I-IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych.

### 5.1.3.5. Wyniki badania scyntygraficznego a wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów poddanych badaniu scyntygraficznemu z użyciem IL-2 znakowanej jodem-123

W okresie obserwacji trwającej średnio 36 miesięcy spośród pacjentów poddanych scyntygrafii z użyciem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 zmarło z przyczyn sercowo-naczyniowych 4 pacjentów (40%). Dodatkowo u 1 pacjenta wystąpiło nagłe zatrzymanie krążenia spowodowane zawałem mięśnia sercowego (pacjenta zreanimowano). Stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy średnią wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej w grupie pacjentów, u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy w okresie obserwacji trwającym średnio 36 miesięcy oraz w grupie pacjentów, w której on nie wystąpił ( $3,45 \pm 0,22$  vs  $2,91 \pm 0,54$ ,  $p = 0,046$ ). Graficzną interpretację wyniku przedstawiono na rycinie 3.

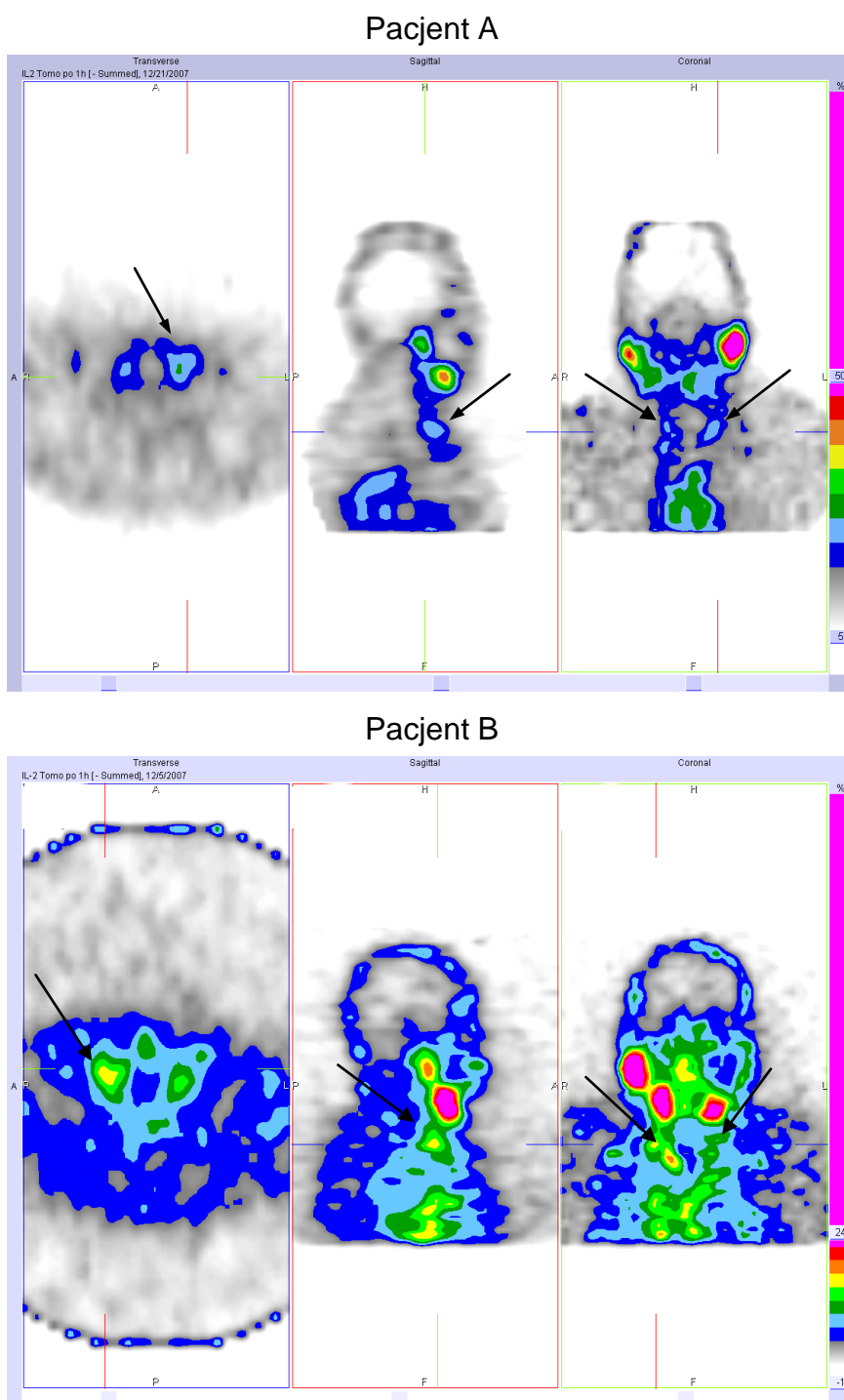


**Rycina 3.** Porównanie średnich dla ogniskowego wychwytu  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych w grupie pacjentów, u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy w okresie obserwacji i w grupie pacjentów, w której on nie wystąpił.



### 5.1.3.6. Przykładowe obrazy scyntygraficzne uzyskane w badaniu z użyciem IL-2 znakowanej jodem 123.

Na rycinie 4 przedstawiono przykładowe obrazy scyntygraficzne uzyskane w badaniu z użyciem IL-2 znakowanej jodem 123 u pacjentów dializowanych otrzewnowo z powodu SNN. W tabeli 7 pokazano uzyskane u tych pacjentów wartości parametrów biochemicznych.



	Wartości oznaczeń pacjenta A	Wartości oznaczeń pacjenta B
<b>Wiek</b>	74 lat	71 lata
<b>Płeć</b>	M	K
<b>T/nT</b>	3,19	3,60
<b>CCA-IMT [mm]</b>	0,9	1,2
<b>Długość dializ</b>	12	32
<b>Fibrynogen [ng/ml]</b>	4,2	5,1
<b>Leptyna [ng/ml]</b>	25,3	31,4
<b>PTH</b>	1218	126
<b>Ca x P [mmol/l]</b>	3,09	3,32
<b>hsTNF alfa [pg/ml]</b>	3,42	3,33
<b>IL-6 [pg/ml]</b>	7,6	31
<b>sCRP [mg/l]</b>	5,89	6,41
<b>Adiponektyna [ng/ml]</b>	9,2	15,5
<b>Ca score [Agat. Unit]</b>	2475,9	1747,1

**Rycina 4. Tabela 7.** Wyniki badania scyntygraficznego, pomiaru CCA-IMT, BMI, oznaczonych parametrów biochemicznych oraz calcium score u 2 wybranych pacjentów z grupy osób u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem <sup>123</sup>I-IL-2. Strzałkami zaznaczono płytki miażdżycowe.

## 5.2. Wyniki badań w grupie pacjentów u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem <sup>99m</sup>Tc-IL-2 (badanie główne)

### 5.2.1. Charakterystyka grupy

Charakterystykę pacjentów objętych badaniem przedstawiono w tabeli 8.

		Ilość osób/ Średnia ± SD
płeć	K	15
	M	13
wiek	K	59,00 ± 8,58
	M	53,82 ± 10,81
Wzrost [m]		1,68 ± 0,09
Waga [kg]		71,63 ± 14,26
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]		25,34 ± 3,83
Otyłość		5
Cukrzyca		7
Nadciśnienie tętnicze		38
SBP [mmHg]		133,75 ± 12,45
DBP [mmHg]		82,95 ± 7,21
MBP [mmHg]		99,69 ± 7,21
Hipercholesterolemia		12
Palenie papierosów		3
Choroba niedokrwienna		15
Incydent sercowo-naczyniowy		3

**Tabela 8.** Klasyczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów u których wykonano scyntyografię szyi z użyciem <sup>99m</sup>Tc-IL-2.

## **5.2.2. Wyniki oznaczeń laboratoryjnych**

Średnie wartości wybranych parametrów biochemicznych w tym cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, wskaźników gospodarki wapniowo-fosforanowej oraz lipidowej w grupie chorych u których wykonano scyntyografię z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 oraz w grupie kontrolnej przedstawiono w tabelach 9 – 12.

### **5.2.2.1. Wyniki oznaczeń stężeń wybranych podstawowych oznaczeń laboratoryjnych oraz BMI w badanej grupie oraz w grupie kontrolnej**

Wyniki oznaczeń stężeń wybranych parametrów opisujących stan ogólny pacjentów oraz BMI w badanej grupie oraz w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli 9.

Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy wartościami parametrów stanu ogólnego (Hb, albumina, kreatynina, mocznik) monitorowanymi w grupie osób dializowanych a grupą kontrolną. Niemniej jednak średnie wartości hemoglobiny oraz albuminy pozostawały w zakresie normy referencyjnej w grupie pacjentów ze SNN co stanowi jeden z elementów wskazujących na dobre wyrównanie dializowanych pacjentów. Nie obserwowano także istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami BMI w obu grupach. Wskaźnik BMI u żadnej z osób poddanej badaniu nie znajdował się poniżej dolnej granicy masy należnej.

Oznaczenie	Jednostka	Średnia ±SD, mediana (przedział) grupa pacjentów z SNN	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa kontrola	Wartości referencyjne	p
Hb	g/dl	2,18± 1,83	14,38 ± 1,20	11 - 17	<0,01
WBC	10 <sup>3</sup> /ul	5,93 (3,83 – 14,04)	6,25 ± 1,08	4 - 10	NS
Albumina	g/l	40,83 ± 6,10	46,80 ± 2,34	35,0 - 50,0	<0,01
Kreatynina	umol/l	742 ± 270,3	62,9 ± 16,13	45,0 – 97,0	<0,01
Mocznik	mmol/l	18,5 (12,5 -34,8)	4,85 (3,4 – 6,9)	1,7 – 8,3	<0,01
BMI	kg/m <sup>2</sup>	25,40 (19,43 – 34,60)	25,01 (20,82 -36,57)	18,5 - 24,99	NS

**Tabela 9.** Wartości stężeń wybranych parametrów biochemicznych opisujących stan ogólny chorych w grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej.

#### **5.2.2.2. Wyniki oznaczeń stężeń cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, markerów nasilenia stanu zapalnego w badanej grupie oraz w grupie kontrolnej**

Wyniki oznaczeń stężeń cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, markerów nasilenia stanu zapalnego w badanej grupie oraz w grupie kontrolnej pokazano w tabeli 10.

Wszystkie, z wyjątkiem sCD40L, oznaczone w badaniu markery nasilenia procesu zapalnego pozostawały zmiennie wyższe w grupie osób z SNN w porównaniu do grupy kontrolnej.

Oznaczenie	Jednostka	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa pacjentów z SNN	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa kontrola	Wartości referencyjne	P
Fibrynogen	g/l	6,19 ± 1,84	2,76 (2,13 – 3,81)	1,8 – 3,5	<0,01
CRP	mg/l	3,87 (0,26 – 30,3)	0,98 (0,21 – 5,1)	0 – 3	0,02
IL-6	pg/ml	2,645 (0,67- 19,81)	0,52 (0,27 – 1,85)	0,447 – 9,96	<0,01
sIL-2R	pg/ml	2987,5 (1535 – 5739)	916 ± 173	458 – 1997	0,01
sICAM	ng/ml	304 (210 - 484)	231,26 ± 34,44	115 - 306	0,01
Amyloid A (SAA)	mg/l	5,7 (1,7 – 145)	2,3 (0,90 – 9,7)	5,0 - 6,4	0,01
IL-18	pg/ml	522,7 (318,4 – 1437,2)	286,35 (167,5 – 449,5)	37 – 215	<0,01
aHSP 60	ng/ml	29,21 (8,54 – 267,32)	23 (16,66 – 46,50)	brak danych	NS
ADMA	umol/l	0,923 (0,267 – 1,476)	0,579 (0,348 – 0,968)	0,26 – 0,64	0,047
Homocys- teina	umol/l	24,8 (8,5 – 67,2)	10,95 (5,3 -17)	3,6 – 15,0	<0,01
sCD40L	ng/ml	9,39 (2,92 -17,74)	14,49 (7,62 – 22,11)	1,13 – 3,13	<0,01

**Tabela 10.** Wartości surowicowych stężeń cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, markerów nasilenia stanu zapalnego w przebadanej grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej.

### 5.2.2.3. Wyniki oznaczeń lipidogramu oraz wskaźników gospodarki lipidowej w badanej grupie pacjentów oraz w grupie kontrolnej

Wyniki oznaczeń lipidogramu oraz wskaźników gospodarki lipidowej w badanej grupie pacjentów oraz w grupie kontrolnej pokazano w tabeli 11.

Nie stwierdzono występowania istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami cholesterolu całkowitego, HDL, LDL, ApoA-I oraz ApoB w grupie badanej oraz kontrolnej. Wartości adiponektyny i trójglicerydów pozostawały istotnie wyższe w grupie pacjentów z SNN. Średnia wartości oxLDL i antyoxLDL świadczące pośrednio o nasileniu stresu oksydacyjnego pozostawały nieznacznie wyższe w grupie pacjentów z SNN.

Oznaczenie	Jednostka	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa pacjentów z SNN	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa kontrolna	Wartości referencyjne	P
Cholesterol całk.	mmol/l	4,93 (3,46 – 12,73)	5,64 ± 1,47	3,20 – 5,20	NS
Cholesterol HDL		1,27 ± 0,34	1,36 ± 0,30	0,9 – 3,00	NS
Cholesterol LDL		2,6 (1,49 – 5,42)	3,17 (2,4 – 6,3)	0,2 – 3,40	NS
Trójglicerydy		1,805 (0,9 – 3,35)	1,39 (0,94 – 4,83)	0,2 – 2,30	<0,01
Adiponektyna	ng/ml	16846,5 (3437 – 43497)	5867 (4080 – 13346)	865 – 21424	<0,01
ApoA-I	g/l	1,51 ± 0,24	1,62 ± 0,22	K 1,25 - 2,15 M 1,10 - 2,05	NS
ApoB	g/l	0,95 (0,56 – 1,58)	0,96 (0,68 – 1,72)	K 0,55 - 1,25 M 0,55 - 1,40	NS
ApoB/AI	umol/l	0,59 (0,32 – 1,27)	0,61 (0,34 – 0,98)	K 0,3 - 0,9 M 0,55 - 1,0	NS
oxLDL	ng/ml	49,515 (4,13 – 2340,64)	41,41 (9,88 – 259,54)	18 – 2261	NS
Anty -oxLDL	mU/ml	163,25 (65,26 – 1200)	158,75 (37 – 1200)	brak danych	NS

**Tabela 11.** Wartości stężeń lipidów, wybranych apolipoprotein oraz czynników regulujących gospodarkę lipidową, oxLDL, antyoxLDL w przebadanej grupie osób ze SNN oraz w grupie kontrolnej.

#### 5.2.2.4. Wyniki oznaczeń wskaźników gospodarki wapniowo-fosforanowej w badanej grupie pacjentów oraz w grupie kontrolnej

Wyniki oznaczeń wskaźników gospodarki wapniowo-fosforanowej w badanej grupie pacjentów oraz w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli 12.

W badanej grupie chorych z SNN obserwowano wyższe niż w grupie kontrolnej wartości iPTH, które stanowi najbardziej dynamicznie zmieniający się parametr określający gospodarkę wapniowo-fosforanową. Średnie stężenie wapnia u większości chorych mieściło się w zakresie normy referencyjnej. Większej zmienności podlegały stężenia fosforu oraz iloczyn CaxP co mogłoby wynikać z różnego stopnia zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej u chorych dializowanych.

Oznaczenie	Jednostka	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa pacjentów z SNN	Średnia ± SD, mediana (przedział) grupa kontrola	Wartości referencyjne	p
Fosfor	mmol/l	1,70 ± 0,39	1,09 ± 0,21	0,87 – 1,45	<0,01
Wapń całkowity		2,21 ± 0,20	2,36 ± 0,07	2,02 – 2,61	0,02
CaxP	mmol <sup>2</sup> /l <sup>2</sup>	3,76 ± 0,84	2,58 ± 0,53	0 – 4,45	<0,01
iPTH	mg/ml	745,2 (270,3 – 1134,6)	233 (163 – 258)	150 - 300	<0,01

**Tabela 12.** Wartości surowicowych stężeń Ca i P oraz iPTH w przebadanej grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej.



## **5.2.3. Wyniki badań obrazowych**

### **5.2.3.1. Wyniki badań usg tętnic szyjnych**

#### **5.2.3.1.1. Wyniki badań usg tętnic szyjnych w grupie pacjentów ze SNN**

Badaniem usg stwierdzono obecność blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych u 22/28 (79%) przebadanych pacjentów, w tym w 17/28 (61%) przypadków zmiany występowały obustronnie.

Z pośród opisanych blaszek miażdżycowych uwapnionych w obrazie usg było 36/39 (92%) zmian. Uwapnione zmiany występowały obustronnie u 15/28 (53%) pacjentów.

Średnia wartość grubości kompleksu intima-media po stronie blaszki o największym wychwycie znacznika wynosiła  $0,79 \pm 0,18$  mm (rozrzut 0,5 – 1,275).

#### **5.2.3.1.2. Ocena grubości kompleksu IMT w obrębie opuszki tętnicy szyjnej wspólnej w zależności od rodzaju dializoterapii**

Przeanalizowano istnienie różnic w grubości IMT mierzonej w obrębie opuszki tętnicy szyjnej wspólnej w podgrupie pacjentów dializowanych otrzewnowo oraz hemodializowanych. Nieznacznie wyższą średnią CCA-IMT obserwowano w podgrupie osób dializowanych otrzewnowo (0,81 vs. 0,78 mm), jednak różnice te nie były istotne statystycznie (tabela 13).

Oznaczenie	Jednostka	Średnia ± SD, mediana (przedział) w grupie pacjentów z SNN leczonych za pomocą dializy otrzewnowej	Średnia ± SD, mediana (przedział) W grupie pacjentów leczonych za pomocą hemodializy	p
CCA-IMT	mm	0,81 ± 0,176 (0,5 – 1,275)	0,78 ± 0,182 (0,5 – 1,1)	NS

**Tabela 13.** Wartości grubości kompleksu CCA-IMT w grupie pacjentów dializowanych otrzewnowo oraz hemodializowanych.

### 5.2.3.2. Wyniki badań scyntygraficznych

#### 5.2.3.2.1. Wyniki badania scyntygraficznego u pacjentów z SNN

Badanie scyntygraficznie tętnic szyjnych wykonano u 28 pacjentów.

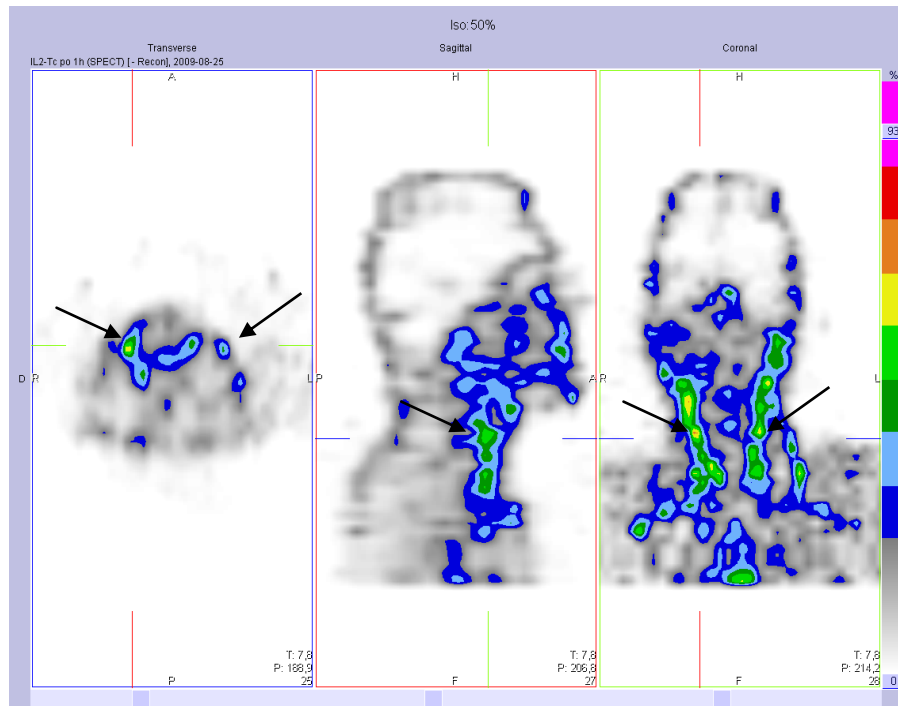
Za pomocą badania scyntygraficznego stwierdzono zwiększony wychwył znacznika w rzucie 51/56 (91%) tętnic szyjnych. Jednoznaczny oraz (łatwy do rozpoznania bez konieczności porównywania przebiegu tętnic szyjnych w obrazie usg) wychwył znacznika stwierdzono w rzucie 30/56 (53%) ścian tętnic szyjnych.

Mediana wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu znacznika w obrębie ścian tętnic szyjnych wynosiła 2,26 (rozrzut 1,23 – 3,63, średnia 2,24 ± 0,70).

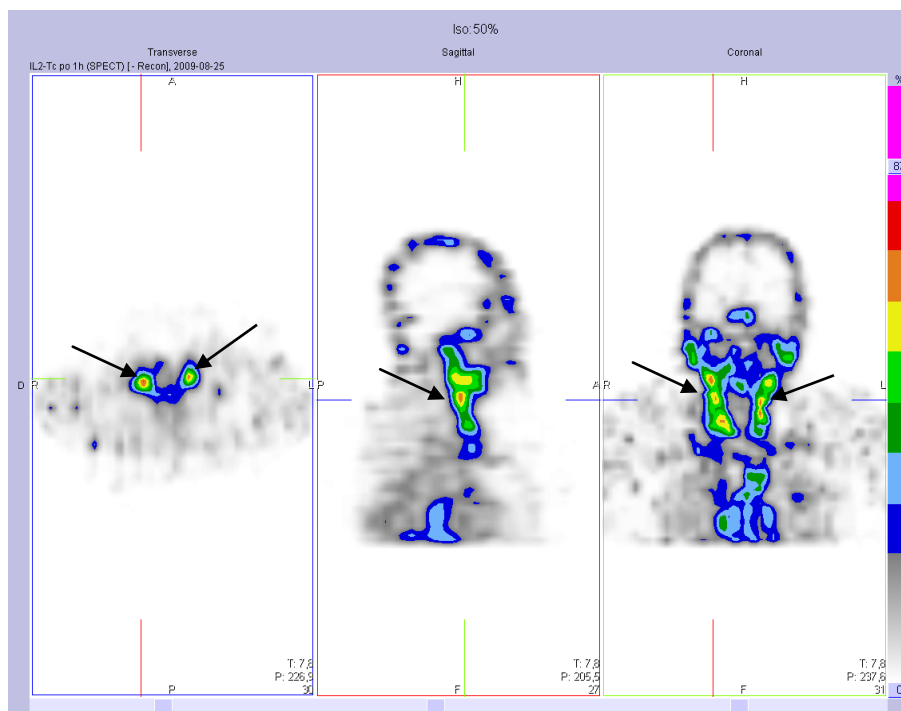
### 5.2.3.2.2. Przykładowe obrazy scyntygraficzne tętnic szyjnych otrzymane w badaniu z użyciem $^{99m}\text{Tc-IL-2}$

Przykładowe obrazy scyntygraficzne obrazujące obecność blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych uzyskane z użyciem  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  przedstawiono na rycinach 5 - 7.

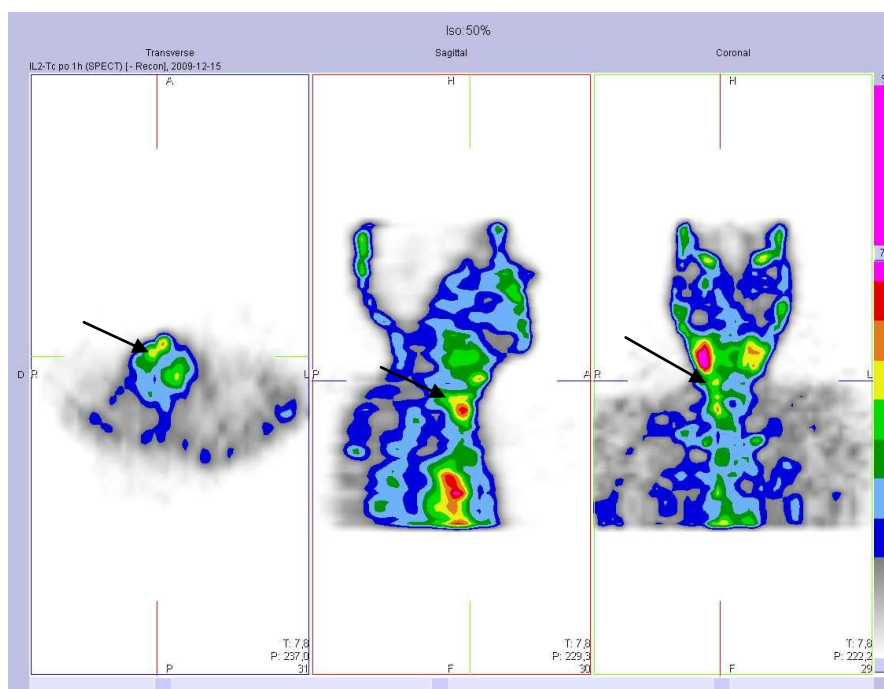
A)



B)



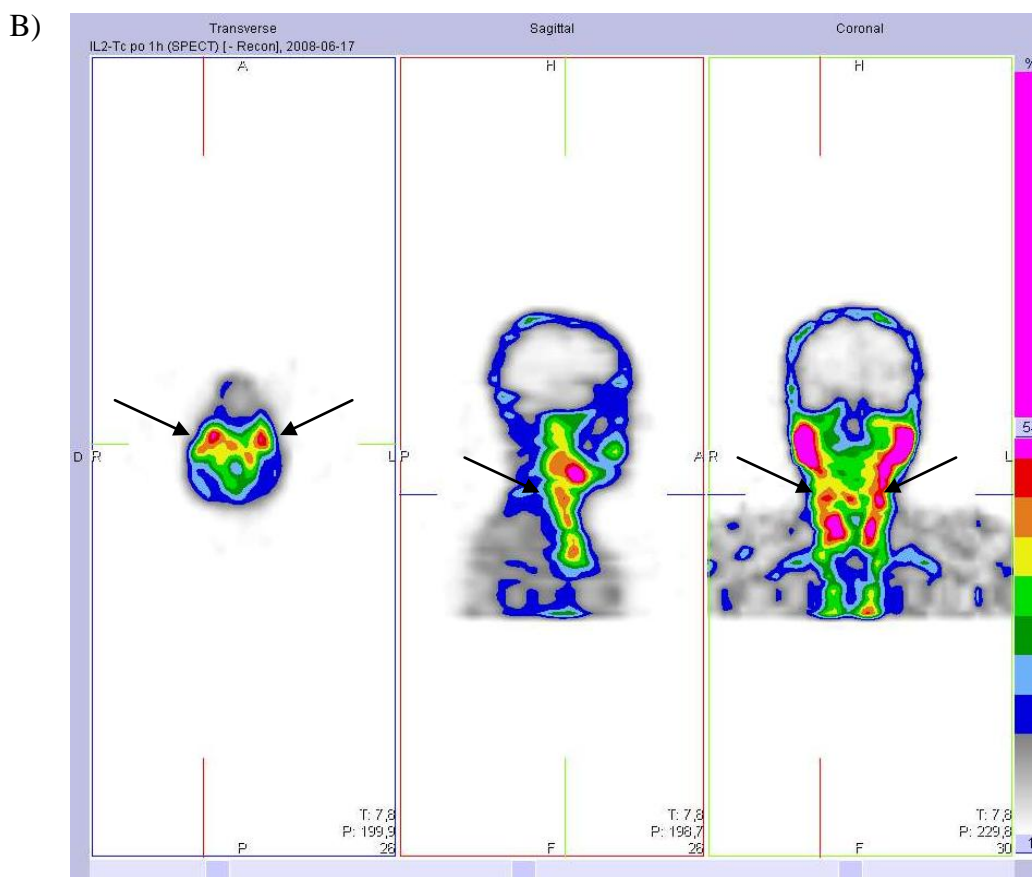
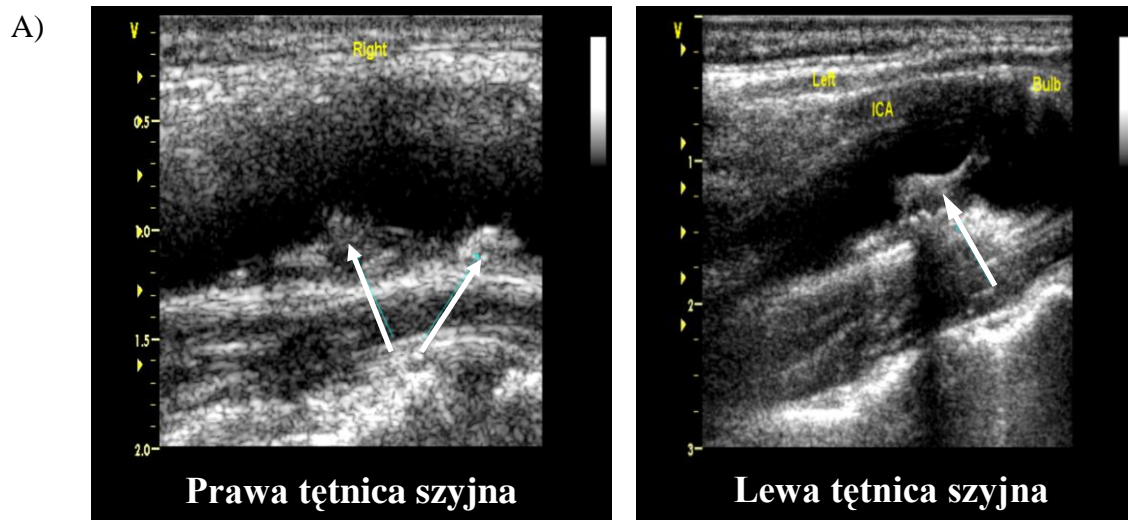
C)



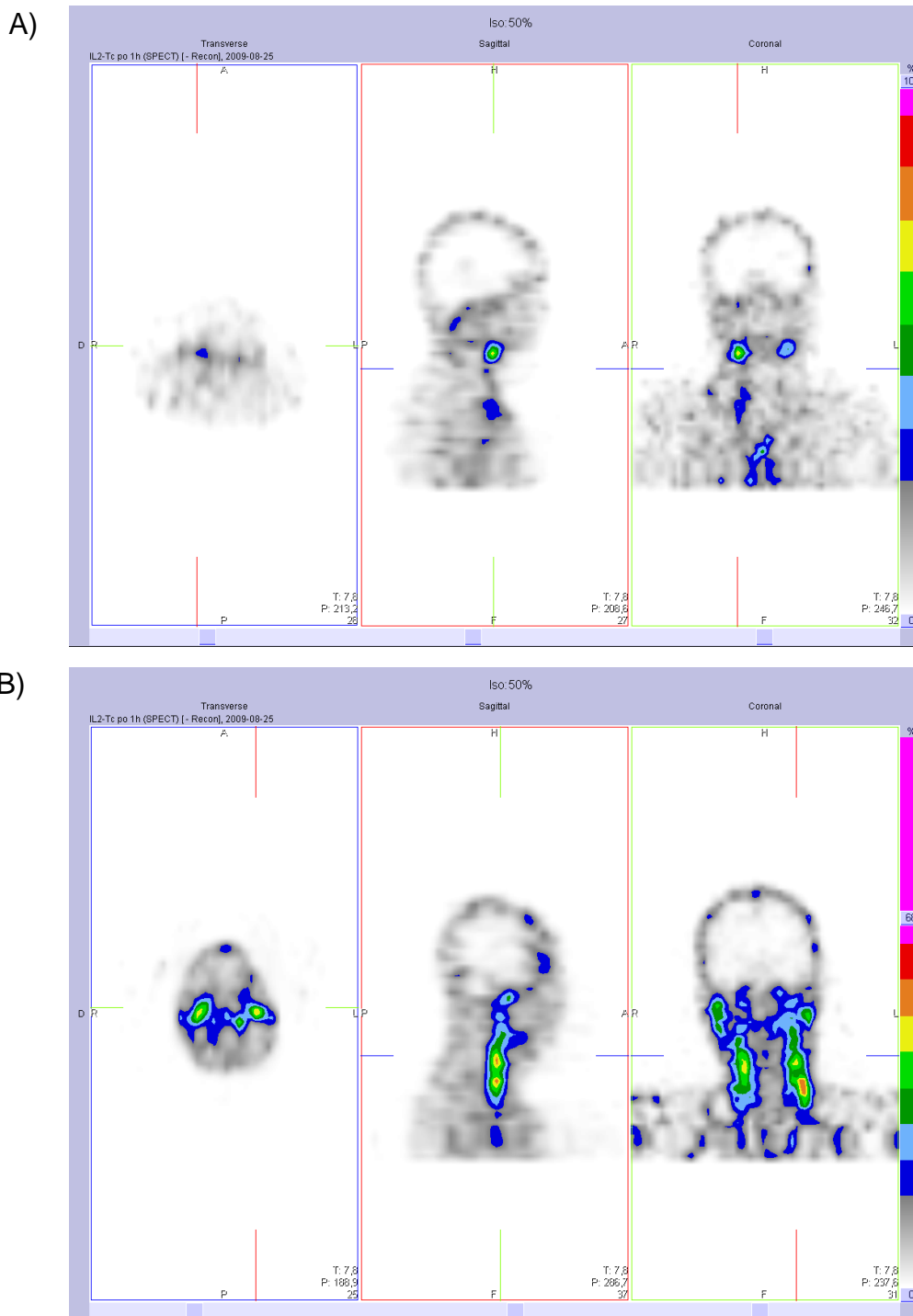
**Rycina 5.** Przykładowe wyniki badań scyntygraficznych:

- A) 54 – letniego mężczyzny dializowanego otrzewnowo (pacjent A) z obustronnymi zmianami miażdżycowymi ze zwapnieniami,
- B) 48 - letniego mężczyzny dializowanego otrzewnowo (pacjent B) z obustronnymi zmianami miażdżycowymi bez zwapnień,
- C) 46 – letniego mężczyzny leczonego w programie hemodializ (pacjent C) z obustronnymi zmianami miażdżycowymi ze zwapnieniami,

Strzałkami zaznaczono blaszki miażdżycowe.



**Rycina 6.** Wynik usg tętnic szyjnych (A) oraz wynik badania scyntygraficznego (B) u 51-letniego mężczyzny leczonego dializą otrzewnową. Strzałkami zaznaczono blaszki miażdżycowe.



**Rycina 7.** Wyniki badań scyntygraficznych u pacjentów bez zmian miażdżycowych w obrębie naczyń szyjnych:

- A) 59 – letnia pacjentka dializowana otrzewnowo bez cech zapalenia ścian tętnic szyjnych w badaniu scyntygraficznym,
- B) 29 – letni pacjent hemodializowany z zapaleniem ścian tętnic szyjnych widocznym w badaniu scyntygraficznym.

## **5.2.4. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej $^{99m}\text{Tc}$ i badania usg tętnic szyjnych**

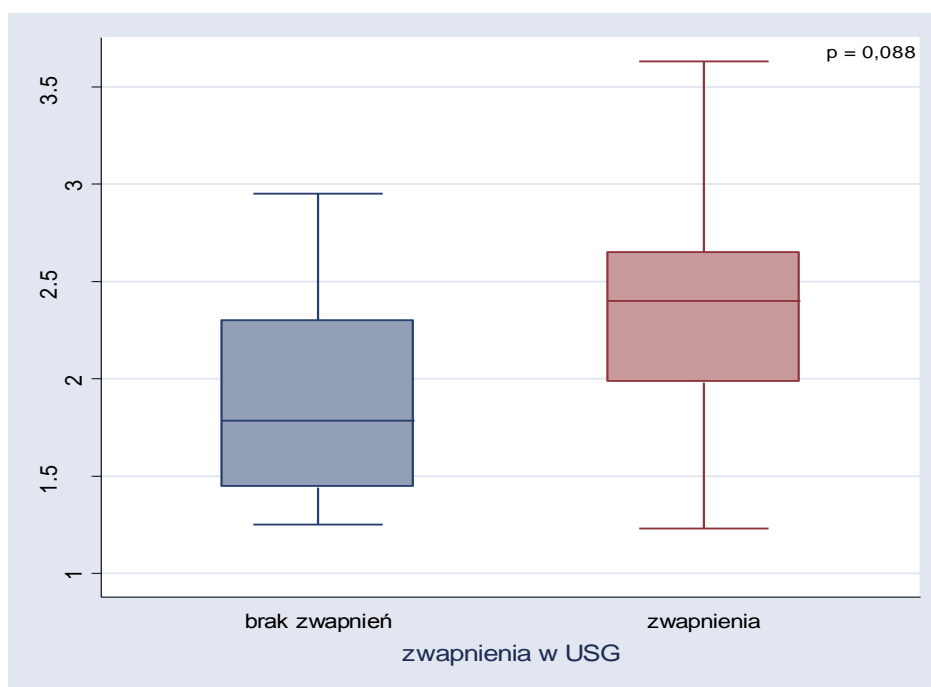
### **5.2.4.1. Wynik badania scyntygraficznego a obraz zmian miażdżycowych w obrębie naczyń szyjnych w usg**

Zwiększony wychwyty znacznika w badaniu scyntygraficznym w rzucie blaszek miażdżycowych widocznych w badaniu usg stwierdzono w 38/41 (91%) lokalizacjach. Jednoznaczny ogniskowy wychwyty znacznika w badaniu scyntygraficznym rozpoznano w rzucie 26/41 (63%) blaszek miażdżycowych. Zwiększony wychwyty znacznika w rzucie tętnic szyjnych bez obecności blaszek miażdżycowych w badaniu usg stwierdzono w 10/15 (66%) przypadków. Brak wychwyty znacznika w rzucie tętnic szyjnych bez obecności blaszek miażdżycowych w badaniu usg stwierdzono w 5/15 (33%) przypadków.

Mediana wartości stosunków T/nT dla ogniskowego wychwyty  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych wynosiła 2,35 (rozrzut 1,23– 3,63).

### **5.2.4.2. Wynik badania scyntygraficznego a uwapnienie blaszek miażdżycowych**

Analizując jakościowo (obecne vs brak) wpływ obecności zwapnień w obrębie blaszek miażdżycowych na wynik badania scyntygraficznego stwierdzono bliski istotności statystycznej wpływ obecności zwapnień na wartość wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwyty  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych. Wyliczono, iż zmiany posiadające zwapnienia mają wyższą w stosunku do blaszek nieposiadających zwapnień wartość wskaźnika T/nT ( $2,35 \pm 0,68$  vs  $1,924 \pm 0,55$  p = 0,088). Graficzną interpretację analizy przedstawiono na rycinie 8.



**Rycina 8.** Różnice wartości wskaźnika T/nT dla wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od obecności zwapnień w obrębie blaszek miażdżycowych w grupie pacjentów z SNN.

#### 5.2.4.3. Zależność wyniku badania scyntygraficznego od wartości CCA-IMT

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych, a wartością CCA-IMT po stronie ocenianej blaszki, ani średniej wartości IMT (tabela 14).



	<b>Współczynnik korelacji z T/nT</b>	<b>p</b>
<b>CCA-IMT średnie</b>	0,079	NS
<b>CCA-IMT po stronie blaszki</b>	0,082	NS

**Tabela 14.** Korelacja pomiędzy średnią wartością CCA-IMT oraz wartością CCA-IMT po stronie blaszki a wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w blaszkach miażdżycowych.

### **5.2.5. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej $^{99m}\text{Tc}$ i wykonanych oznaczeń biochemicznych**

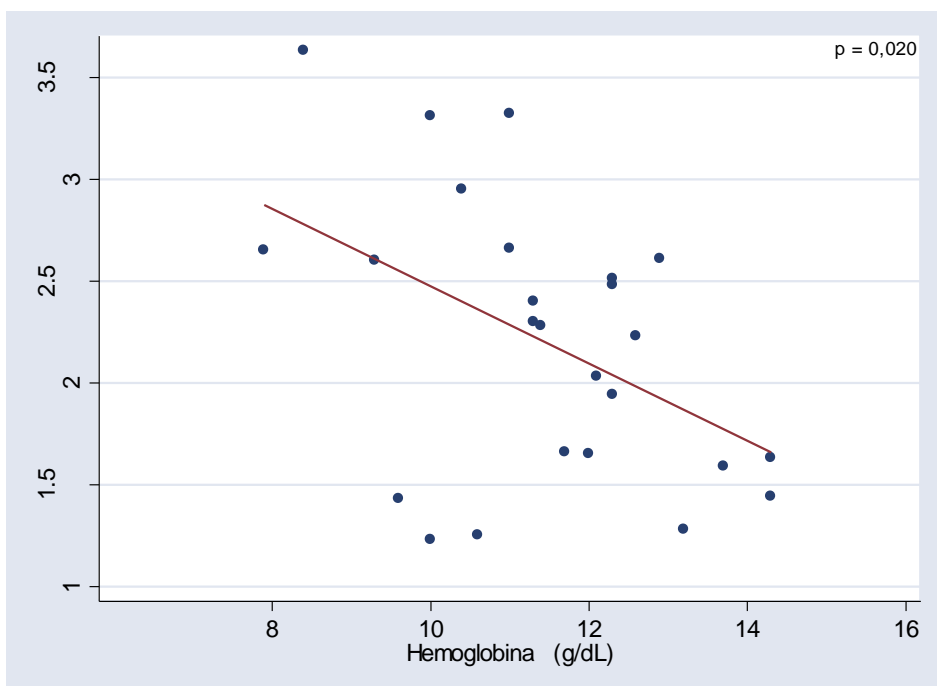
#### **5.2.5.1. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz stężeń wybranych podstawowych oznaczeń laboratoryjnych u pacjentów z SNN**

Spośród oznaczonych parametrów stwierdzono istnienie statystycznie istotnej odwrotnie proporcjonalnej zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego a wartością hemoglobiny ( $R = - 0,21$ ,  $p = 0,02$ ). Trend podobnej zależności widoczny jest dla stężenia albuminy nie mniej jednak w przebadanej grupie nie był on istotny statystycznie, ( $R = - 0,10$ ,  $p = 0,142$ ).

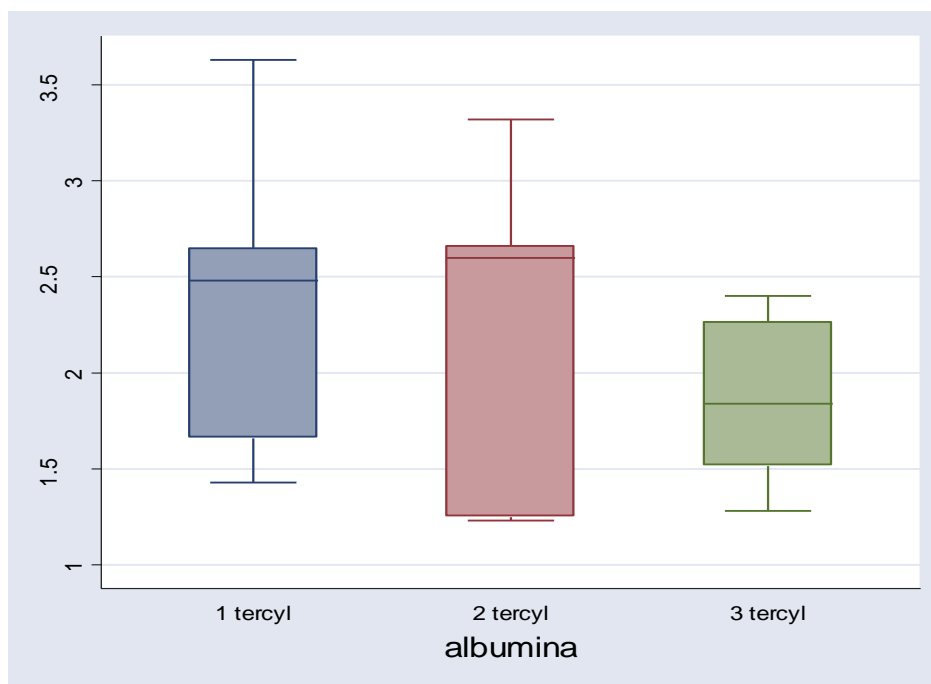
W przypadku analizy zależności wskaźnika T/nT w podgrupach, w zależności od stężeń albuminy, widać w podgrupie osób z najwyższymi wartościami albuminy, niższą średnią wartość wskaźnika T/nT w porównaniu do pozostałych podgrup. Graficzną prezentację powyższych zależności przedstawiono w tabeli 15 oraz na rycinach 9 i 10.

Oznaczenie	Współczynnik korelacji R Spearmana z T/nT	p
Hb	- 0,21	0,02
Albumina	- 0,10	NS
Kreatynina	0,02	NS
Mocznik	0,06	NS
WBC	0,08	NS

**Tabela 15.** Współczynniki korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wybranymi oraz stężeniami wybranych oznaczeń laboratoryjnych.



**Rycina 9.** Zależność pomiędzy poziomem hemoglobiny a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u dializowanych pacjentów.



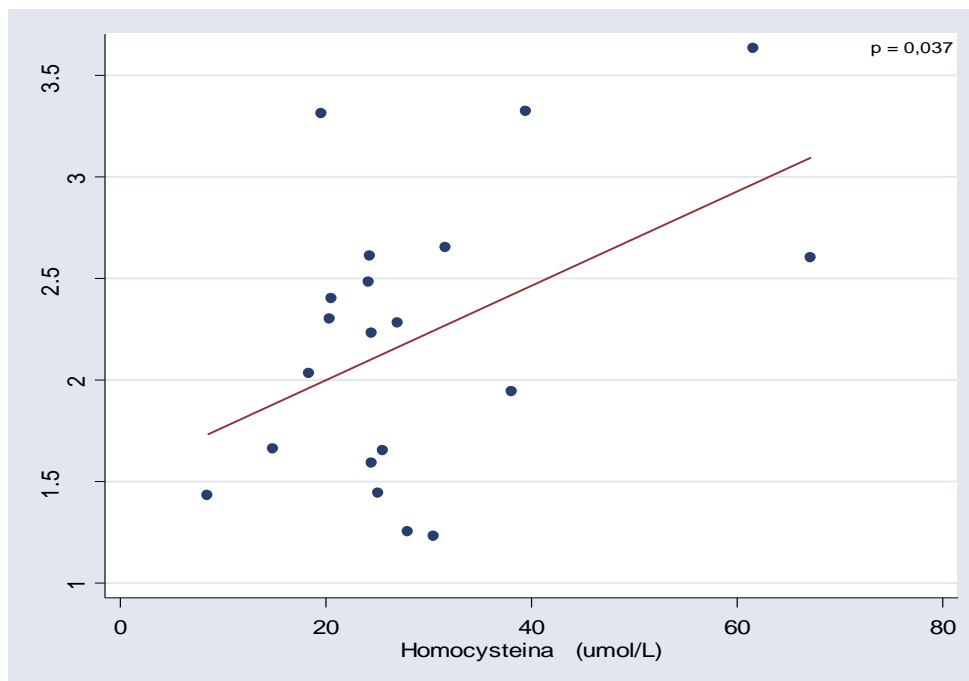
**Rycina 10.** Różnice wartości wskaźnika T/nT dla wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od wartości stężeń albuminy (tercyle) w grupie pacjentów z SNN.

#### **5.2.5.2. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz stężeniami cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy i markerami procesu zapalnego u pacjentów z SNN**

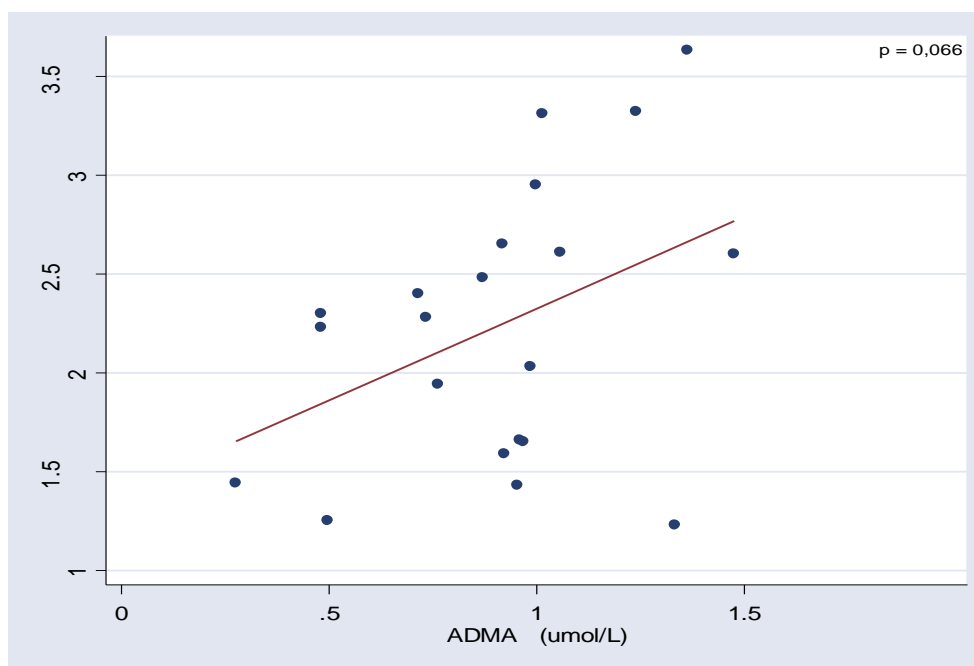
Z pośród dużej grupy oznaczonych markerów nasilenia procesu zapalnego, w przedstawionym badaniu uzyskano statystycznie istotne wyniki korelacji między wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu znacznika w obrębie blaszek miażdżycowych dla homocysteiny ( $R = 0,22$ ,  $p = 0,037$ ) oraz bliską istotności statystycznej korelację z ADMA ( $R = 0,17$ ,  $p = 0,066$ ) (tabela 16, rycina 11, 12). Na uwagę zasługuje istotny statystycznie wynik pokazujący znamienne wyższe wartości wskaźnika T/nT w tercylu pacjentów z najwyższym stężeniem ADMA ( $p=0,048$ ) (rycina 13). Pozostałe wyniki analizy zebrane w tabeli 16 nie wykazywały istotności statystycznej. Graficzną prezentację opisanych powyżej wyników przedstawiano na rycinach 11 - 13.

Oznaczenie	Współczynnik korelacji R Spearmana z T/nT	p
Fibrynogen	0,00	NS
CRP	- 0,02	NS
IL-6	- 0,10	NS
sIL-2R	- 0,12	NS
sICAM	- 0,07	NS
Amyloid A (SAA)	- 0,05	NS
IL-18	- 0,05	NS
aHSP 60	0,01	NS
ADMA	0,17	0,066
Homocysteina	0,22	0,037
sCD40L	0,00	NS

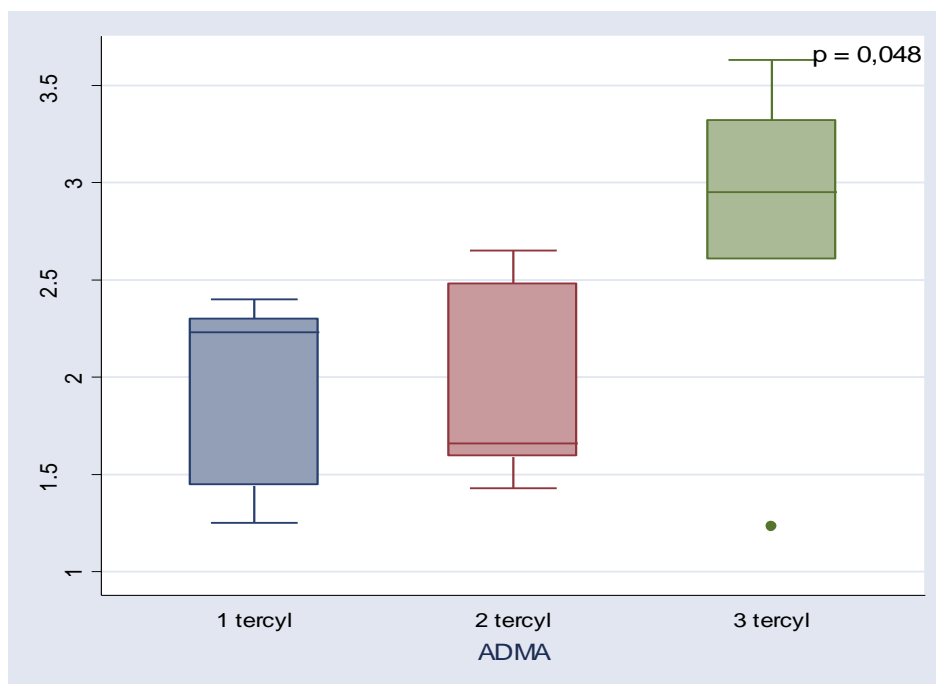
**Tabela 16.** Współczynniki korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wynikami oznaczeń biochemicznych (cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, markerów nasilenia stanu zapalnego) w przebadanej grupie osób z SNN.



**Rycina 11.** Zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny w surowicy a wskaźnikiem T/nT ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN.



**Rycina 12.** Zależność pomiędzy stężeniem ADMA w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN.



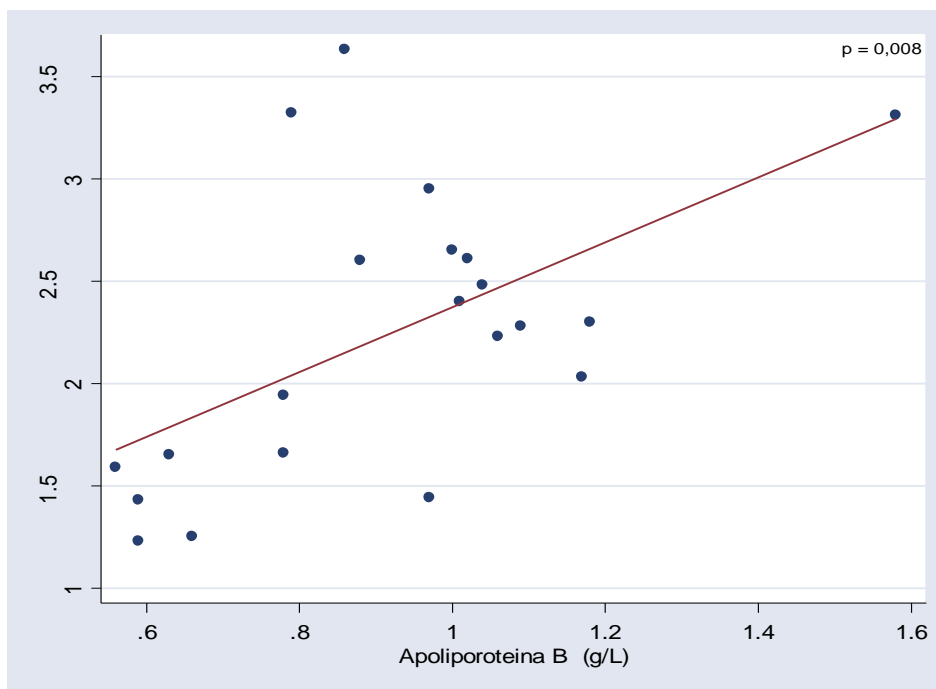
**Rycina 13.** Różnice wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od wartości ADMA (tercyle) w grupie pacjentów z SNN.

### 5.2.5.3. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz parametrami gospodarki lipidowej u pacjentów z SNN

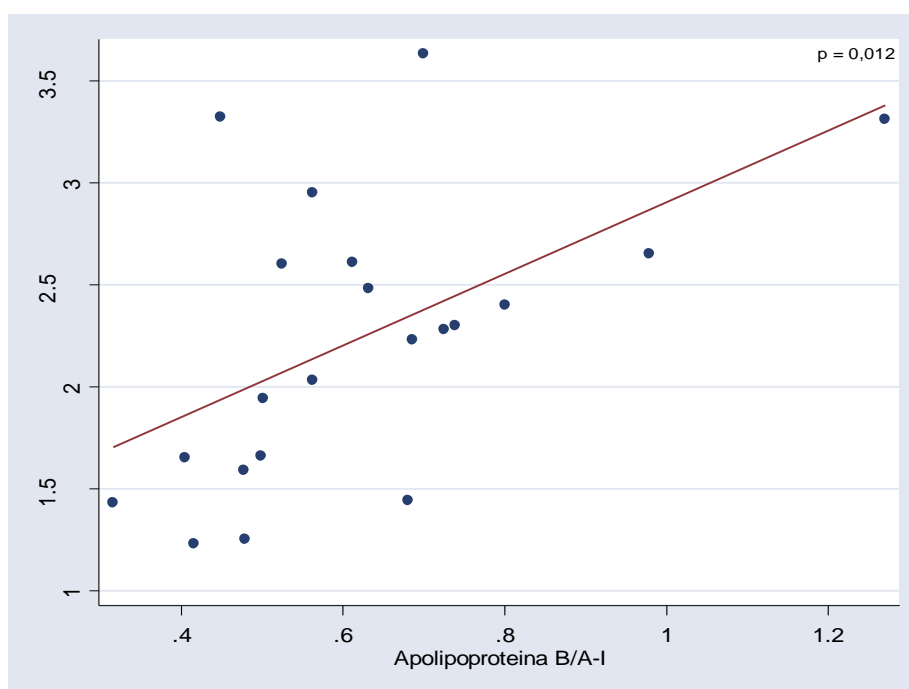
Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej w badaniu scyntygraficznym a oznaczonymi wartościami stężeń ApoB ( $R = 0,31$ ,  $p = 0,01$ ), ilorazu ApoB/ApoA-I ( $R = 0,31$ ,  $p = 0,01$ ) oraz stężeń trójglicerydów ( $R = 0,26$ ,  $p = 0,021$ ). W przypadku pozostałych oznaczeń, również wskaźników stresu oksydacyjnego (tabela 17) nie uzyskano istotnie statystycznych korelacji. Graficzną prezentację wykazanych zależności przedstawiono na rycinach 14 – 17.

Parametr	Współczynnik korelacji R Spearmana z T/nT	p
Cholesterol całk.	0,00	NS
Cholesterol HDL	0,06	NS
Cholesterol LDL	0,05	NS
Trójglicerydy	0,26	0,02
Adiponektyna	0,00	NS
ApoA-I	- 0,02	NS
ApoB	0,31	<0,01
ApoB/AI	0,29	0,01
oxLDL	- 0,06	NS
antyoxLDL	- 0,18	NS

**Tabela 17.** Współczynniki korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wynikami oznaczeń biochemicznych opisującymi gospodarkę lipidową oraz oxLDL i antyoxLDL w przebadanej grupie osób z SNN.

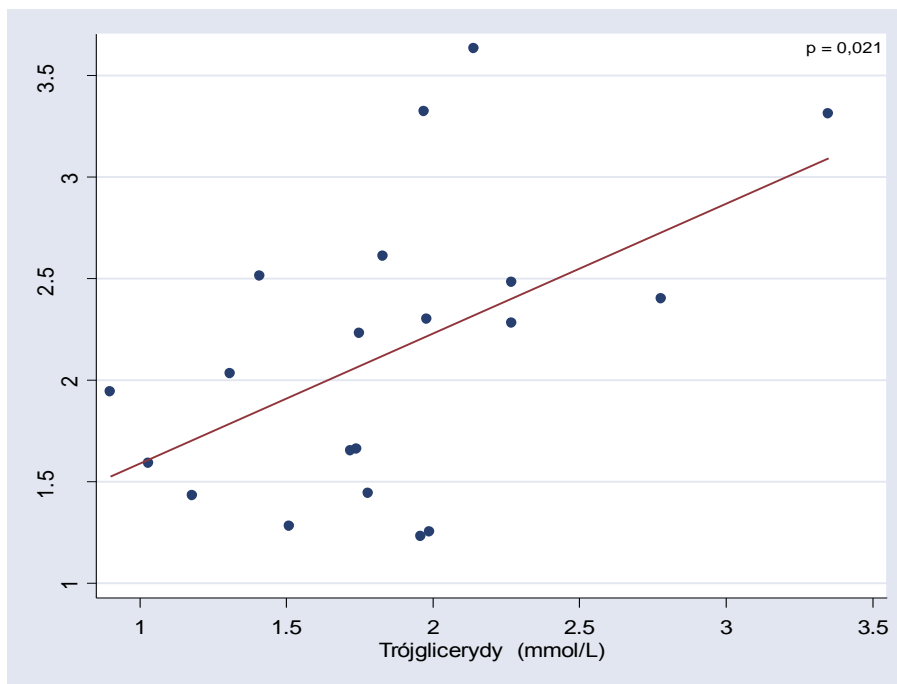


**Rycina 14.** Zależność pomiędzy stężeniem ApoB w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN.

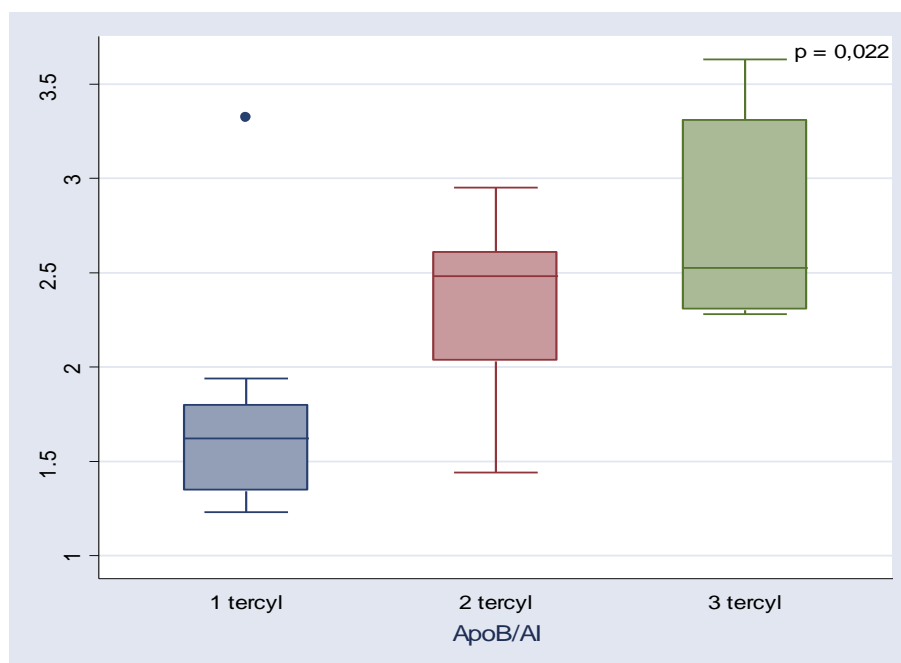


**Rycina 15.** Zależność pomiędzy stosunkiem stężeń ApoB/ApoA-I w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$  IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN.





**Rycina 16.** Zależność pomiędzy stężeniem trójglicerydów w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN.



**Rycina 17.** Różnice wartości wskaźnika T/nT dla wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od wartości wskaźnika ApoB/ApoA-I (tercyle) w grupie pacjentów z SNN.

#### 5.2.5.4. Zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego oraz wskaźnikami gospodarki wapniowo-fosforanowej u pacjentów z SNN

Wyliczone w tej części badania współczynniki korelacji Spearmana nie wykazały istnienia istotnej statystycznie korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego a parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej. Wyniki analizy statystycznej przedstawiono w tabeli 18.

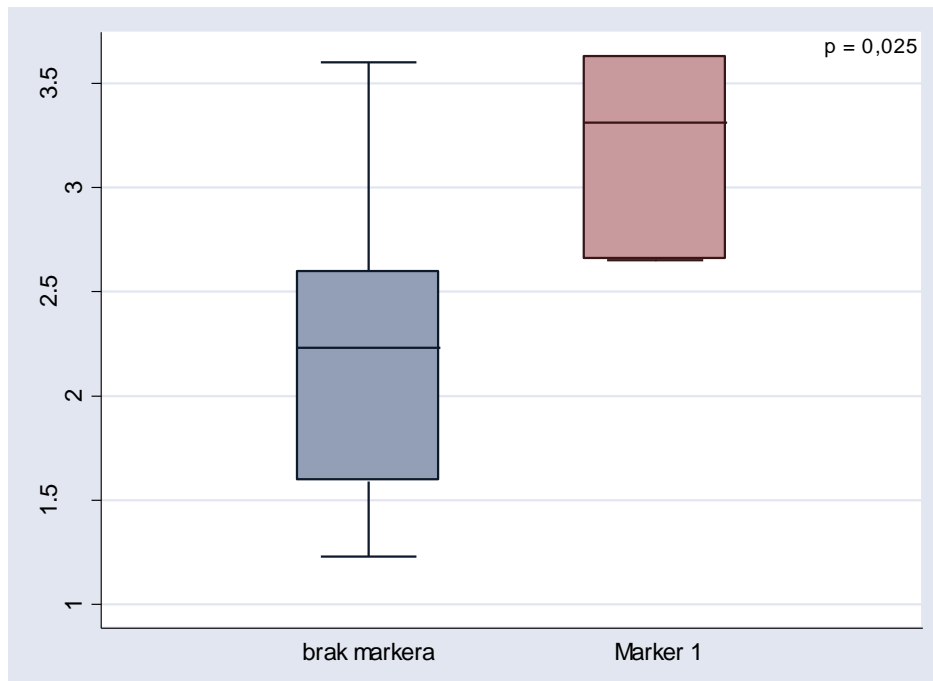
Oznaczenie	Współczynnik korelacji R Spearmana z T/nT	p
Fosfor	0,02	NS
Wapń całkowity	- 0,02	NS
CaxP	- 0,06	NS
iPTH	- 0,04	NS

**Tabela 18.** Korelacje pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu <sup>99m</sup>Tc-IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wynikami oznaczeń biochemicznych opisujących gospodarkę wapniowo-fosforanową w przebadanej grupie osób z SNN.

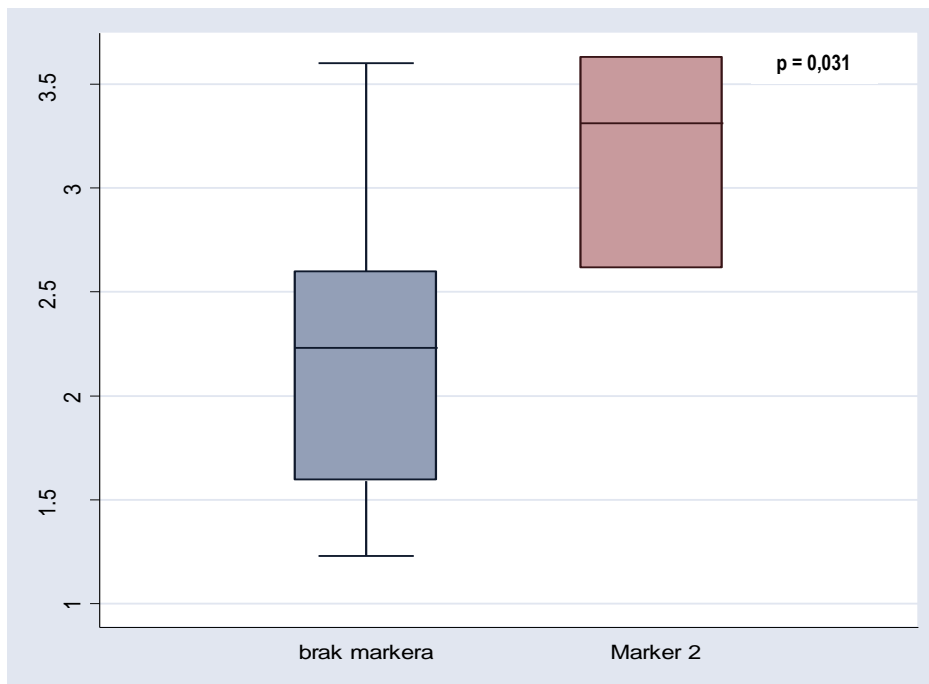
#### 5.2.5.5. Analiza wieloczynnikowa zależności wyników badania scyntygraficznego i oznaczeń biochemicznych

W wyniku przeprowadzonej analizy statystycznej stwierdzono występowanie istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w grupach pacjentów z wartościami hemoglobiny, albuminy, adiponektyny powyżej oraz poniżej mediany, wykazując wyższą wartość tego wskaźnika w grupie pacjentów z niższymi wartościami tych parametrów ( $3,2 \pm 0,5$  vs  $2,16 \pm 0,68$ ,  $p = 0,03$ ), a więc u pacjentów w gorszym stanie ogólnym (rycina 19).

Podobnie stwierdzono, w grupie pacjentów, u których jednocześnie występowały wysokie (powyżej mediany) wartości parametrów: ApoB, sCD40L i ADMA istnienie statystycznie istotnych wyższych wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych niż w grupie pacjentów, u których w/w oznaczenia pozostawały poniżej mediany ( $3,18 \pm 0,52$  vs  $2,16 \pm 0,68$   $p = 0,03$ ) (rycina 18).



**Rycina 18.** Średnie wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych w grupach pacjentów z SNN u których jednocześnie wystąpiły wartości hemoglobiny, albuminy i adiponektyny poniżej (marker 1) oraz powyżej mediany (brak markera).



**Rycina 19.** Średnie wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych w grupach pacjentów z SNN u których jednocześnie wystąpiły wartości ApoB, SCD40L i ADMA powyżej (marker 2) oraz poniżej mediany (brak markera).

## 5.2.6. Wpływ rodzaju dializoterapii na wyniki oznaczeń laboratoryjnych oraz wyniki badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej <sup>99m</sup>Tc

### 5.2.6.1. Analiza wpływu rodzaju dializoterapii na wyniki oznaczeń laboratoryjnych i CCA-IMT

Hemodializa i dializa otrzewnowa uważane są obecnie za równorzędne metody terapeutyczne, chociaż dane literaturowe wskazują na znamienne lepsze przeżycie pacjentów leczonych dializą otrzewnową w porównaniu z hemodializą w pierwszych 3–4 latach leczenia.

W dokonanej zestawieniu wszystkich oznaczonych parametrów biochemicznych, istotną statystycznie różnicę stężeń pomiędzy grupami stwierdzono w przypadku stężeń fibrynogenu oraz kreatyniny. W obu przypadkach niższe stężenia oznaczeń występowały u osób leczonych HD (w tabeli 19 pokazano tylko wyniki istotne statystycznie). Przyczyna

utrzymywania się wyższych wartości stężeń fibrynogenu w grupie DO nie jest jednoznacznie wyjaśniona. W większości badań nie stwierdzono większych różnic w długoterminowym przeżyciu chorych leczonych obiema metodami.

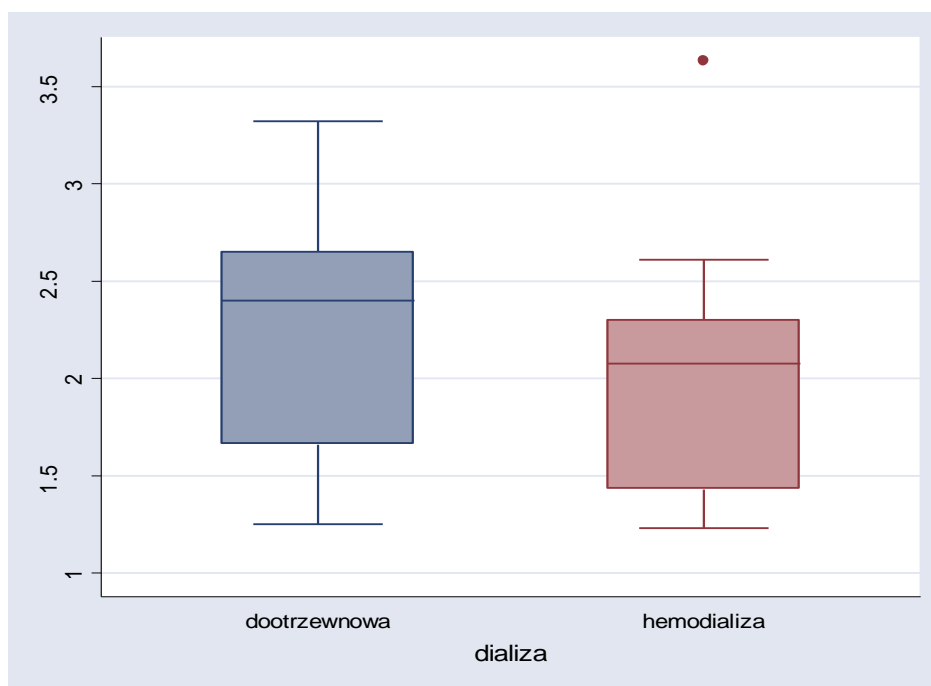
Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami CCA-IMT w grupie chorych leczonych DO i HD.

Oznaczenie	Jednostki	Wartość $\pm$ SD, mediana(przedział) grupa pacjentów z SNN leczonych za pomocą dializy otrzewnowej	Wartość $\pm$ SD, mediana(przedział) grupa pacjentów z SNN leczonych za pomocą hemodializy	p
Fibrynogen	g/l	6,19 $\pm$ 1,84	2,76 (2,13 – 3,81)	0,038
Kreatynina	umol/l	742 $\pm$ 270,3	611,52 $\pm$ 182,56	0,022

**Tabela 19.** Średnie wartości stężeń fibrynogenu i kreatyniny w grupie osób leczonych DO oraz w grupie leczonej HD.

#### 5.2.6.2. Analiza wpływu rodzaju dializoterapii na wynik badania scyntygraficznego

Średnia wartość wskaźnika T/nT w grupie pacjentów DO wynosiła 2,29  $\pm$  0,61, zaś w grupie HD 2,03  $\pm$  0,74. Podobnie jak w przypadku analizy statystycznej dotyczącej CCA-IMT (rozdział 5.2.3.1.2.), nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy rodzajem dializoterapii a wynikiem badania scyntygraficznego (p = 0,209). Graficzną prezentację wartości wskaźnika T/nT przedstawiono na rycinie 20.



**Rycina 20.** Wartości średnie wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych u pacjentów leczonych dializą otrzewnową oraz hemodializowanych ( $p = 0,209$ ).

### 5.2.7. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej $^{99m}\text{Tc}$ i klasycznych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych

Realizując cele pracy wyliczono zależność pomiędzy klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a wynikiem badania scyntygraficznego. Analizując wpływ wieku, masy ciała, BMI, płci, wartości ciśnienia tętniczego, palenia papierosów, czasu pozostawania w programie dializ nie stwierdzono zależności między ich obecnością a wielkością wychwytu  $^{99m}\text{Tc}$  IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych (tabela 20). Zwraca jednak uwagę wyjątkowo wysoka wartość wskaźnika T/nT wśród osób deklarujących palenie papierosów ( $T/nT = 2,60 \pm 1,01$ ). Stwierdzoną zależność między wynikiem badania scyntygraficznego a parametrami gospodarki lipidowej przedstawiano w rozdziale 5.2.1.3.

Oznaczenie		Współczynnik korelacji R Spearmana z T/nT średnie w podgrupach	p
wiek		-0,03	NS
wzrost		-0,04	NS
waga		0,03	NS
BMI		0,05	NS
SBP		-0,05	NS
DBP		-0,03	NS
MBP		-0,02	NS
płeć	K	2,28 ± 0,59	NS
	M	2,20 ± 0,83	
hipercholesterolemia	Tak	2,34 ± 0,85	NS
	Nie	2,29 ± 0,72	
palenie papierosów	Tak	2,60 ± 1,01	NS
	Nie	2,20 ± 0,67	
cukrzyca	Tak	2,05 ± 0,60	NS
	Nie	2,31 ± 0,73	
choroba wieńcowa w wywiadzie	Tak	2,28 ± 0,97	NS
	Nie	2,24 ± 0,77	
incydent sercowo-naczyniowy w wywiadzie	Tak	2,40 ± 0,29	NS
	Nie	2,23 ± 0,75	

**Tabela 20.** Korelacje pomiędzy klasycznymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych a wynikiem ilościowym badania scyntygraficznego z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w grupie pacjentów z SNN.

### **5.2.8. Zależność wyników badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej $^{99m}\text{Tc}$ i wyników badania perfuzyjnego mięśnia sercowego**

Badanie perfuzyjne mięśnia sercowego z użyciem  $^{99m}\text{TcMIBI}$  wykonano u 10 pacjentów (9 mężczyzn, 1 kobieta) w średnim wieku  $58 \pm 12,90$  lat. Spośród przebadanych osób 6 pozostawało w programie dializ otrzewnowych, 4 w programie hemodializ. Wysiłkowe niedokrwienie mięśnia sercowego stwierdzono u 9 przebadanych osób. U 7 pacjentów niedokrwienie występowało już w badaniu spoczynkowym i ulegało nasileniu w badaniu wysiłkowym. Zaobserwowano najniższą wartość wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  u pacjenta bez wysiłkowego niedokrwienia mięśnia sercowego (T/nT – 1,25) w pozostałych przypadkach średnia wartość wskaźnika T/nT wynosiła  $2,15 \pm 0,53$  (1,43 - 2,65). Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wynikiem badania perfuzyjnego, a wartością wskaźnika T/nT w obrębie ścian tętnic szyjnych.

### **5.2.9. Wyniki badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem IL-2 znakowanej technetem-99m a wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych**

W grupie u której wykonano badanie scyntygraficzne tętnic szyjnych z użyciem  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  (średni okres obserwacji 24 miesiące) zmarły z przyczyn sercowo naczyniowych 2 osoby (7%), u 1 pacjenta wystąpił zawał mięśnia sercowego nie zakończony zgonem. Jedna osoba zmarła z powodu udaru niedokrwiennego mózgu. Średnia wartość wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu znacznika w rzucie tętnic szyjnych u osób, u których wystąpił ostry incydent sercowo-naczyniowy wynosił  $2,27 \pm 0,39$  i był wyższy od uzyskanej średniej. Wartość wskaźnika T/nT u osoby u której wystąpił udar mózgu wynosiła 2,28.



#### **5.2.10. Wartości informacyjne badania scyntygraficznego w detekcji blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych względem usg tętnic szyjnych**

W tabeli 22 przedstawiono wartości informacyjne badania scyntygraficznego w detekcji blaszek miażdżycowych w grupie pacjentów z SNN w odniesieniu do badania ultrasonograficznego. Czułość badania wyniosła 91%, zaś swoistość 33%. Na podstawie wyliczonych parametrów można wnioskować, że w przypadku badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem znakowanej IL-2 konieczne jest wykonanie dodatkowego badania obrazowego celem potwierdzenia obecności blaszki miażdżycowej w tętnicach szyjnych. Wykonanie samego badania scyntygraficznego może prowadzić do stosunkowo dużej ilości fałszywie dodatnich wyników wynikających z występowania stanu zapalnego w obrębie ściany naczynia przy obecności blaszek miażdżycowych. Warto w tym miejscu raz jeszcze podkreślić, że opisywane badanie było wykonywane w grupie pacjentów obarczonych bardzo wysokim ryzykiem sercowo-naczynowym, a więc u pacjentów u których miejscowy stan zapalny występuje nie tylko w płytkach miażdżycowych ale również w ścianach tętnic, co z pewnością znacząco wpływa na swoistość badania.

<b>Wartość informacyjna</b>	<b>%</b>
<b>Czułość</b>	91
<b>Swoistość</b>	33
<b>Wartość predykcyjna dodatnia</b>	79
<b>Wartość predykcyjna ujemna</b>	63

**Tabela 21.** Wartości informacyjne badania scyntygraficznego w detekcji blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych względem usg tętnic szyjnych.

### **5.2.11. Powtarzalność badania**

Jak podano w części pracy dotyczącej metodyki dla każdej zmiany wartość T/nT obliczano sześciokrotnie. Różnice pomiędzy wyliczonymi maksymalnymi i minimalnymi wartościami T/nT wynosiły średnio 5 %.

### **5.2.12. Obraz scyntygraficzny u osób bez SNN**

U dwóch osób obciążonych zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym, ale bez niewydolności nerek, stosujących w terapii duże dawki satyn wykonano badanie scyntygraficzne. W tych dwóch przypadkach wartości T/nT wynosiły średnio 1,58 (1,5 – 1,63) i były wyraźnie niższe od uzyskanych w badanej grupie pacjentów z SNN.

## 6. Omówienie wyników i dyskusja

### 6.1. Omówienie wyników badania

Na podstawie przeprowadzonego badania wykazano, że zastosowanie scyntygrafii z użyciem znakowanej IL-2 może być metodą badawczą pozwalającą na obrazowanie nasilenia niespecyficznego procesu zapalnego w obrębie ścian tętnic szyjnych.

Możliwość wykonania badania scyntygraficznego jako uzupełnienia dotychczasowych metod diagnostycznych wydaje się być krokiem w kierunku lepszej oceny krótkoterminowego ryzyka sercowo-naczyniowego poprzez lepszą identyfikację „niestabilnych pacjentów” (vulnerable patients) dzięki ocenie nasilenia stanu zapalnego w obrębie płytek miażdżycowych.

Logiczną konsekwencją identyfikacji pacjentów zagrożonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym są próby zastosowania u tych osób bardziej agresywnego leczenia przeciwzapalnego i hipolipemizującego. Główne korzyści wynikające z intensyfikacji leczenia zachowawczego to niższe ryzyko powikłań w porównaniu z ryzykiem okołointerwencyjnym jakie niesie ze sobą leczenie miejscowe, a także dodatkowo, działanie stabilizacyjne na inne potencjalnie niestabilne blaszki miażdżycowe.

Aktualnie szeroko podkreślana jest niewydolność stosowanych metod diagnostycznych w ocenie krótkoterminowego ryzyka oraz prewencji incydentów sercowo-naczyniowych. Większość ogólnie dostępnych metod diagnostycznych opiera się na ocenie szerokości światła naczynia, wielkości zmiany miażdżycowej lub grubości ściany naczynia, co oznacza, że metody te mogą być nieprecyzyjne w rozpoznawaniu blaszek miażdżycowych obciążonych szczególnie wysokim ryzykiem pęknięcia.

Jedną z grup badań pozwalających oceniać aktywność stanu zapalnego w obrębie zmian miażdżycowych są badania scyntygraficzne.

Aktualnie w literaturze opisane jest tylko jedno badanie wykonane przez Annovazzi i wsp. dotyczące obrazowania zmian miażdżycowych w naczyniach szyjnych za pomocą IL-2 (<sup>99m</sup>Tc-IL-2) (6). Anovazzi i wsp. wykazał, co jest bardzo ważne z perspektywy także mojego badania, pozytywną korelację

pomiędzy wychwytem  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w SPECT, a ilością komórek w blaszce miażdżycowej posiadających receptor dla IL-2 ocenianych w badaniu histopatologicznym oraz ilością komórek posiadających receptor dla IL-2 w cytometrii przepływowej. Nie obserwował natomiast istnienia zależności pomiędzy echostrukturą i obrazem powierzchni blaszek miażdżycowych ocenianych w badaniu usg, a wynikiem badania scyntygraficznego. W moim badaniu za pomocą usg oceniano, oprócz lokalizacji blaszek miażdżycowych, także obecność zwapnień w blaszkach miażdżycowych oraz grubość kompleksu intima-media w opuszce tętnicy szyjnej. W przeprowadzonej analizie statystycznej stwierdzono w grupie pacjentów z najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym (badanie pilotażowe) wysoką korelację pomiędzy CCA-IMT ( $R = 0,92$ ,  $P = 0,01$ ) a wynikiem badania scyntygraficznego. Takiej zależności nie obserwowano dla grupy pacjentów obciążonych mniejszym ryzykiem (grupa główna).

W przypadkach dotyczących analizy wpływu uwapnienia zmian miażdżycowych na wynik badania scyntygraficznego w grupie głównej stwierdzono, iż zmiany posiadające zwapnienia mają wyższą w stosunku do blaszek nieposiadających zwapnień wartość wskaźnika T/nT ( $2,35 \pm 0,68$  vs  $1,92 \pm 0,55$ ,  $p = 0,088$ ). Fakt ten w połączeniu z wynikiem analizy wartości wskaźnika T/nT w grupie pacjentów, u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy wydaje się pozostawać w zgodności z wynikami innych badań opisywanych w literaturze, jak np. calcium scoring, gdzie wyższy stopień uwapnienia tętnic koreluje z większym nasileniem miażdżycy i zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

Wybór najlepszego wskaźnika biochemicznego do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego dla potrzeb codziennej praktyki klinicznej nie jest łatwy, między innymi z powodu współwystępowania wśród pacjentów z grup wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego wielu chorób wpływających na wartości takich oznaczeń. Niemniej jednak pomiary stężeń cytokin (np. IL-6, IL-18, TNF-alfa) czy białek ostrej fazy (np. CRP, fibrynogen) wydają się być rozsądnym sposobem określania natężenia przewlekłe utrzymującego się stanu zapalnego u chorych np. ze schyłkową niewydolnością nerek.

W przypadku badania pilotażowego nie uzyskano istotnych statystycznie zależności pomiędzy wynikami badań scyntygraficznych a wynikami oznaczeń biochemicznych. Brak zależności w tym przypadku wynikać może z małej liczebności badanej grupy, gdzie pojedyncze wartości mocno odbiegające od mediany znacząco wpływają na moc analizy statystycznej.

Analiza wyników badań w grupie pacjentów, u których wykonano scyntyografię szyi z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 wykazała występowanie zależności pomiędzy ilościowym wynikiem badania scyntygraficznego (T/nT) a stężeniami hemoglobiny, homocysteiny, ADMA, trójglicerydów, ApoB oraz wskaźnika ApoB/ApoA-I. Występowanie takich korelacji może w sposób pośredni potwierdzać istnienie zależności między nasileniem ogólnoustrojowego i miejscowego (w blaszkach miażdżycowych) procesu zapalnego z wynikiem badania scyntygraficznego.

Wartość wskaźnika T/nT w badaniu pilotażowym wynosiła  $3,15 \pm 0,54$  (mediana 3,22, rozrzut 2,0 – 3,6), podczas gdy w badaniu głównym  $2,35 \pm 0,70$  (mediana 2,35 rozrzut 1,23– 3,63). Wartości otrzymane w badaniu Anovazzi i wsp. były zbliżone do wartości uzyskanych w badaniu głównym ( $2,5 \pm 0,52$ ), pomimo różnic w protokole badania wynikającym m.in. z innego ustalania tła oraz rekrutacji do badania różnych grup chorych. W przypadku badania Anovazzi i wsp. do badania włączeni byli pacjenci z blaszkami miażdżycowymi zwiężającymi tętnicę minimum w 80%. Niestety autorzy tego badania nie oceniali nasilenia ogólnoustrojowego procesu zapalnego, ani też funkcji nerek w badanej populacji. W niniejszym badaniu stwierdzono natomiast, że chociaż, żaden z pacjentów nie miał zwiężenia tętnicy szyjnej przekraczającego 80% światła naczynia to wszyscy posiadali podwyższone wartości markerów zapalnych oraz liczne inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego. Różnica dotyczyła także wieku populacji biorących udział w badaniu. Grupa pacjentów z badania Anovazzi i wsp. była znacząco starsza ( $74,6 \pm 8,7$  lat) niż populacja w badaniu pilotażowym ( $62,1 \pm 10,4$  lat) i badaniu głównym ( $55,2 \pm 9,6$  lat).

Zdecydowanie wyższe wartości wskaźnika T/nT, mimo różnych radioizotopów użytych w badaniach wskazują na występowanie wyższego ryzyka sercowo-naczyniowego w wśród chorych objętych badaniem pilotażowym. Potwierdzeniem takiej tezy wydaje się być wysoka śmiertelność

w tej grupie, gdzie w okresie obserwacji trwającym średnio 36 miesięcy z przyczyn sercowo-naczyniowych zmarło 4 pacjentów (40%). Dodatkowo u 1 pacjenta wystąpiło nagle zatrzymanie krążenia spowodowane zawałem mięśnia sercowego (pacjenta zreanimowano). W grupie pacjentów, u których ostry incydent sercowo-naczyniowy wystąpił w okresie obserwacji stwierdzono wyższe wartości wskaźnika T/nT niż grupie, w której on nie wystąpił ( $3,45 \pm 0,22$  vs  $2,91 \pm 0,54$ ,  $p = 0,046$ ).

Wykonanie dodatkowo badań scyntygraficznych u osób obciążonych zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym, z blaszkami miażdżycowymi w obrębie tętnic szyjnych, ale bez niewydolności nerek, stosujących w terapii duże dawki statyn ujawniło niski wychwyty znacznika w obrębie blaszek (średnio 1,58 (1,5 – 1,63)). Większość wykonanych u tych osób oznaczeń markerów procesu zapalnego pozostawało poniżej średnich wartości uzyskanych w grupie pacjentów z SNN. Obserwacja ta dodatkowo wydaje się potwierdzać istnienie zależności pomiędzy nasileniem procesu zapalnego, a ilościowym wynikiem badania scyntygraficznego i może wskazywać na najwyższą przydatność opisywanej metody w grupach chorych obciążonych największym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

## **6.2. Scyntygrafia z użyciem znakowanej IL-2 w świetle dotychczasowych scyntygraficznych metod obrazowania zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych**

Coraz lepsze poznanie patomechanizmów prowadzących do rozwoju i progresji miażdżycy jest stymulatorem olbrzymiego postępu w zakresie technik obrazowania. Zainteresowanie wizualizacją blaszek miażdżycowych widoczne jest praktycznie we wszystkich dziedzinach obrazowania włączając w to badania nad rozwojem nowych multipotencjalnych znaczników opartych o nanotechnologię, platform obrazowania rezonansu magnetycznego, zintegrowane systemy medycyny nuklearnej i tomografii komputerowej, techniki obrazowania optycznego i ultrasonograficznego. Na razie jednak żadna z tych metod nie uzyskała istotnego znaczenia klinicznego.

Z perspektywy badacza główna wartość badań scyntygraficznych wynika z możliwości użycia w tego typu badaniach znaczników mających powinowactwo do różnych składowych blaszki miażdżycowej. Trudno jest jednak na dzień dzisiejszy wskazać, która ze składowych blaszki byłaby najlepszym celem dla tego typu badań.

Teoretycznie, idealny radioznacznik powinien umożliwiać obrazowanie niestabilnych zmian miażdżycowych z wysoką czułością i swoistością. Ponadto powinien wiązać się ze zmianami miażdżycowymi we wszystkich lokalizacjach oraz dawać informację o ryzyku wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych zarówno w grupie pacjentów z objawami jak i bez objawów miażdżycy. Dodatkowo powinien być szeroko dostępny, łatwy w przygotowaniu, trwały i szybko usuwany z krwi po podaniu, co umożliwiłoby osiągnięcie wysokich wartości wskaźnika T/nT.

Najważniejsze problemy dotychczas spotykane przy próbach zastosowania metod scyntygraficznych w ocenie nasilenia aktywności procesu zapalnego w obrębie naczyń dotyczyły bezpieczeństwa stosowanych znaczników, uzyskiwania niskich wartości wskaźnika T/nT, niskiej rozdzielczości przestrzennej wykonanych badań oraz konieczności wykonywania dodatkowych badań obrazowych potwierdzających lokalizację zmiany.

Z licznej grupy radioznaczników testowanych w przeszłości tylko kilka ominęło, przynajmniej częściowo, wyżej wymienione trudności i zostało zastosowane w badaniach u ludzi. Jak dotąd jednak żaden z nich nie uzyskał szerokiego znaczenia klinicznego. Podobnie nowo opracowywane dla potrzeb PET znaczniki, chociaż dają dużą nadzieję na przyszłość, to mało prawdopodobne wydaje się ich rutynowe użycie w diagnostyce klinicznej w ciągu najbliższych lat.

Dotychczas opracowane i przedstawione w literaturze grupy radioznaczników mogących służyć obrazowaniu zmian miażdżycowych w scyntygrafii, można podzielić, ze względu na miejsce docelowego wiązania znacznika, na cztery grupy:

1. Znaczniki aktywnie wychwytywane przez komórki nagromadzone w blaszkach miażdżycowych.
2. Znaczniki wiążące się z receptorami komórkowymi w obrębie blaszek miażdżycowych.
3. Znaczniki wiążące się z powierzchnią świeżego zakrzepu.
4. Znaczniki obrazujące apoptozę.

Jako pierwszy znacznik w badaniach blaszek miażdżycowych zastosowano znakowane LDL. Użycie substancji kumulowanej w stosunkowo dużej ilości w obrębie rdzenia blaszki miażdżycowej oraz odgrywającego ważną rolę w pęknięciu blaszki i formowaniu zakrzepu wydawało się korzystnym rozwiązaniem. Chang i wsp. stwierdzili kumulację  $^{99m}\text{Tc}$ -LDL w obrębie blaszek miażdżycowych u królików (28), a następnie Lees i wsp. u ludzi (95). Jednak ze względu na długi czas utrzymywania się znacznika we krwi nie uzyskano satysfakcjonujących wyników. Użycie oxLDL znakowanego  $^{99m}\text{Tc}$  przez Iuliano i wsp. poprawiało techniczne warunki badania niemniej jednak ze względu na niskie otrzymywane wartości wskaźnika wychwyty/tło ( $1,46 \pm 0,32$ ) nie znalazł on zastosowania w praktyce klinicznej (63).

Kolejnym krokiem w rozwoju badań scyntygraficznych było użycie mysich monoklonalnych przeciwciał (MDA2) przeciw oxLDL. Tsimikas i wsp. stwierdzili na modelu zwierzęcym możliwość nie tylko uwidocznienia blaszek miażdżycowych, ale także możliwość oceny ich wielkości w badaniu scyntygraficznym, co mogłoby dawać szansę na ocenę monitorowania wielkości płytek miażdżycowych np. w trakcie leczenia (167). Niestety ze względu na potencjalnie mutagenne właściwości znacznika nie wykonano badań na ludziach.

Następnym celem obrazowania, ze względu na swoją kluczową rolę w procesie patogenezy miażdżycy, stały się komórki zapalne: makrofagi i monocyty. Demacker i wsp. użyli znakowane  $^{111}\text{In}$  poliklonalne przeciwciała IgG wiążące się z powierzchnią makrofagów (39), jednak również i tym razem, ze względu na otrzymane niskie wartości wskaźnika T/nT, nie kontynuowano badań z użyciem tego znacznika.



Ohtsuki i wsp. przy użyciu MCP-1 (monocyte chemoattractant peptide – 1) znakowanego jodem-125 na modelu zwierzęcym stwierdzili silną zależność między wychwytem znacznika w scyntygrafii, a koncentracją makrofagów w blaszkach miażdżycowych (123). Hartung i wsp. również na zwierzętach stwierdził 4 krotnie wyższy wychwyty MCP-1 w blaszkach miażdżycowych w porównaniu z prawidłowymi naczyniami oraz silną zależność między wychwytem MCP-1, a ilością makrofagów w badaniu histopatologicznym (58). Jak do tej pory nie opublikowano badań z użyciem tego znacznika u ludzi.

Obiecującym krokiem w obrazowaniu blaszek miażdżycowych okazały się próby podjęte przez Johnson i wsp. w obrazowaniu apoptozy mięśni gładkich w obrębie okrywy włóknistej za pomocą Annexyny V. Annexyna V jest małym białkiem mającym zdolność wiązania fosfatydyloseryny na powierzchni zaktywowanych płytek krwi oraz ulegających apoptozie VMSC. W badaniu z użyciem Annexyny V znakowanej  $^{99m}\text{Tc}$  wykazano 2-krotnie wyższy wychwyty znacznika w aorcie u świń z blaszkami miażdżycowymi niż w grupie kontrolnej (66). Prowadzone później przez Kietselaer i wsp. próby zastosowania znakowanej Annexyny V u pacjentów ze zmianami w tętnicach szyjnych wykazały zwiększony wychwyty znacznika u osób bezpośrednio po epizodzie TIA, natomiast nie wykazały wychwyty znacznika u osób, które przebyły epizod TIA minimum 3 miesiące przed wykonaniem badania scyntygraficznego, a od czasu TIA były leczone statyną i lekiem przeciwplateczkowym (77). Niestety w badaniu tym przebadano łącznie tylko 4 osoby, co nie pozwala na jednoznaczną ocenę użyteczności opisanej metody. Nie obserwowano, w wykonanym przez mnie badaniu, różnic pomiędzy wartościami wskaźnika T/nT u pacjentów z SNN stosującymi i nie stosującymi statyn. Otrzymane, w wykonanych dodatkowo badaniach scyntygraficznych, u pacjentów bez niewydolności nerek leczonych przewlekłe statynami, znacznie niższe wartości wskaźnika T/nT w pierwszym rzędzie wynika prawdopodobnie z mniejszego w tej grupie pacjentów nasilenia przewlekłego stanu zapalnego, a ewentualnie w znacznie mniejszym stopniu jest wynikiem stosowania w tej grupie statyn w dużych dawkach. W opisywanym badaniu w grupie osób z SNN w odróżnieniu od wyników badań Kietselaer i wsp. nie obserwowano przypadków występowania dużych blaszek miażdżycowych zupełnie

niewidocznych w badaniu scyntygraficznym. Lokalizacja zobrazowanych za pomocą specyficznych przeciwciał przeciw proliferującym mięśniom gładkim znakowanych indem-111 ( $^{111}\text{In-Z2D3F(ab')}_2$ ) blaszek miażdżycowych dobrze korelowała z ich angiograficzną lokalizacją w badaniach zarówno u królików jak i w wykonanych przez Carrió i wsp. badaniach u ludzi (27). Jednak w świetle aktualnej wiedzy, ryzyko ostrego incydentu sercowo-naczyniowego wzrasta wraz ze ścieńczeniem pokrywy włóknistej, a więc ze zmniejszeniem liczby komórek VSMC, zatem wyniki tego badania należy interpretować ostrożnie.

Przeprowadzone badania z użyciem znakowanych  $^{111}\text{In}$  płytek krwi dały różne wyniki. Co prawda w dwóch badaniach użycie znakowanych płytek krwi pozwalało obrazować blaszki miażdżycowe, to tylko w badaniu Moriwaki i wsp. wyniki scyntygrafii korelowały ze stopniem uszkodzenia blaszek oraz występowaniem owrzodzenia stwierdzonego w badaniu ultrasonograficznym (111), natomiast w badaniu przeprowadzonym przez Minar i wsp. takich zależności nie potwierdzono (110). Użycie znakowanych indem-111 płytek krwi ma poważne ograniczenia. Z powodu wolnego wypłukiwania znacznika z krwi akwizycja w pierwszym badaniu wykonywana była po 48 godzinach od podania znacznika, w drugim po 24-26h. Kolejnym jeszcze istotniejszym ograniczeniem dla zastosowania tego znacznika w badaniach klinicznych jest brak możliwości stosowania leków przeciwplatek u pacjentów poddawanych badaniu, co jest szczególnie istotne w przypadku prewencji incydentów sercowo-naczyniowych.

Podjęte przez Mettinger i wsp. próby z użyciem fibrynogenu znakowanego jodem-123, wcześniej użytego do diagnostyki zakrzepicy żył głębokich, wykazały powolne gromadzenie tego znacznika w blaszce miażdżycowej (108). Taka właściwość farmakokinetyczna czyni ten znacznik mało użytecznym w obrazowaniu blaszek miażdżycowych.

Być może obrazowanie z użyciem przeciwciał przeciw receptorowi GPIIb/IIIa dotychczas stosowanych w obrazowaniu zakrzepicy żył głębokich przyniesie bardziej zadowalające rezultaty (16, 100).

Nie przeprowadzono do tej pory badań z użyciem znakowanych izotopami produktów rozpadu fibrynogenu w obrazowaniu zmian miażdżycowych.

W ostatnim czasie opracowano białko B2702-p specyficznie wiążące się z VCAM-1, ligandem dla integryny  $\alpha\beta 1$  prezentowanym na powierzchni leukocytów i komórkach endotelium. VCAM-1 przyspiesza tworzenie się blaszek miażdżycowych i ich progresję w kierunku blaszek niestabilnych. Broisat A i wsp. skutecznie znakowali białko B2702-p jodem-123 oraz technetem-99m (24) osiągając u królików znamienne wyższy wychwyty w blaszkach miażdżycowych w aorcie w stosunku do niezmiętej części naczynia. Warto podkreślić otrzymanie w tym badaniu wyższego wskaźnika T/B dla białka B2702 znakowanego  $^{123}\text{I}$  niż  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (2,7 vs 1,9).

Na tle przedstawianych powyżej badań obrazowanie niestabilnych blaszek miażdżycowych przy użyciu znakowanej jodem-123, czy technetem-99m IL-2 wydaje się być bardzo obiecującą metodą.

### **6.3. Wyniki badań scyntygraficznych a stężenia wybranych markerów stanu zapalnego i innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego**

Jak do tej pory w literaturze brak jest doniesień naukowych dotyczących porównywania wyników badań scyntygraficznych obrazujących blaszki miażdżycowe ze stężeniami markerów stanu zapalnego, wskaźnikami gospodarki lipidowej i fosforanowo-wapniowej. Tym samym, nie podejmowano też prób analizy wpływu takich czynników ryzyka sercowo-naczyniowego na jakościowy i ilościowy wynik scyntygrafii.

Wykonana w niniejszej pracy analiza statystyczna wykazała istnienie istotnej statystycznie wprost proporcjonalnej zależności między wynikiem badania scyntygraficznego określonego na podstawie wartości wskaźnika T/nT a stężeniami ApoA-I oraz stosunkiem ApoB/A-I, trójglicerydów oraz homocysteiny. Bliskie istotności statystycznej zależności uzyskano z ADMA.

Uzyskane zależności są zgodne z danymi z literatury mówiącymi o udziale zaburzeń gospodarki lipidowej w patogenezie powikłań sercowo-naczyniowych. Wysokie stężenie cholesterolu we krwi, a zwłaszcza frakcji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) stanowi dobrze poznany czynnik ryzyka rozwoju miażdżycy

naczyń krwionośnych. Wyniki badań przeprowadzonych u chorych bez chorób nerek dostarczyły dowodów, iż zaburzenia lipidowe stanowią jedną z istotnych przyczyn rozwoju miażdżycy naczyń (198).

Zaburzenia gospodarki lipidowej u chorych leczonych za pomocą dializy wydają się w odmienny sposób wpływać na ryzyko sercowo-naczyniowe niż w populacji ogólnej prowadząc do tzw. paradoksu związanego z czynnikami ryzyka. Zjawisko to polega na zwiększeniu ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych w przypadku pacjentów z SNN z hypocholesterolemią (101). Utrzymujący się przewlekłe stan zapalny prowadzi do postępujących wraz z rozwojem mocznicy zmian stężeń poszczególnych składowych lipidogramu (174). U pacjentów z SNN i cechami niedożywienia często obserwuje się, wtórnie do podwyższonego katabolizmu lipidów oraz zmniejszonego apetytu, niskie stężenia cholesterolu, które korelują ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym (101). Spośród klasycznych składowych lipidogramu w moim badaniu zaobserwowano wprost proporcjonalną statystycznie istotną zależność między wynikiem badania scyntygraficznego a stężeniami trójglicerydów, które pozostają ważnym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego w populacji ogólnej ( $R = 0,26$ ,  $p = 0,02$ ).

Zdaniem niektórych autorów indeks ApoB/ApoA-I jest bardziej przydatny niż inne wskaźniki lipidogramu w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego w populacji ogólnej (20, 140). Natomiast dane dotyczące zachowania się indeksu ApoB/ApoA-I u dorosłych chorych na PNN nie są jednoznaczne. Chmielewski i wsp. zaobserwowali, że wysoki stosunek ApoB/ApoA-I w ciągu pierwszego roku dializ u chorych z SNN jest związany z przejściowym wzrostem długości przeżycia w porównaniu do pacjentów z niskim indeksem ApoB/ApoA-I, nie mniej jednak brak jest tego korzystnego efektu w dłuższej obserwacji (31). W tym samym badaniu stwierdzono także, że u pacjentów z SNN stosunek ApoB/ApoA-I był niższy w populacji ogólnej. Fakt ten pozostaje niezgodny z wcześniejszymi doniesieniami, w których obserwowano wysokie wartości ApoB i niskie wartości ApoA-I w grupie z SNN (133). W omawianym badaniu zarówno stężenia ApoB, ApoA-I oraz stosunek ApoB/ApoA-I w grupie pacjentów z SNN nie różniły się znamienne od wyników uzyskanych w grupie kontrolnej, pomimo istnienia statystycznie istotnych różnic pomiędzy stężeniami

większości oznaczonych cytokin prozapalnych oraz białek ostrej fazy w obu grupach.

Oprócz opisywanych powyżej zależności „paradoks związany z czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego” dotyczy także wartości BMI. Podobnie jak niskie stężeniem cholesterolu, niskie wartości BMI korelują ze zwiększoną śmiertelnością chorych dializowanych (18, 199). Badania Beddahu i wsp. wskazują na istotnie większe znaczenie proporcji ilości posiadanej tkanki mięśniowej do tłuszczowej w określaniu ryzyka sercowo-naczyniowego, niż tylko wartości BMI, która tych informacji nam nie dostarcza. W badaniach przeprowadzonych przez tego autora korzyść z posiadania wysokiego BMI była ograniczona do osób posiadających normalną lub zwiększoną masę mięśniową (tzn. z niską masą tkanki tłuszczowej). U osób z wysokim BMI i wysoką zawartością tkanki tłuszczowej ogólna śmiertelność jak i śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych była zwiększona. Także Iseki i wsp. wykazali, że u chorych z SNN bez cech niedożywienia wysokie stężenie cholesterolu w surowicy było czynnikiem ryzyka zwiększonej śmiertelności (64). W przedstawionym badaniu pomimo stwierdzenia wyższych niż w grupie kontrolnej stężeń cytokin prozapalnych oraz markerów nasilenia stanu zapalnego nie obserwowano niskich wartości wskaźnika BMI w grupie głównej badanych pacjentów z SNN. Taka obserwacja pozwala pośrednio wnioskować o dość dobrym stanie wyrównania metabolicznego tych pacjentów oraz może częściowo tłumaczyć uzyskaną zależność pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego a parametrami gospodarki lipidowej.

Anovazzi i wsp. oceniali wpływ terapii atorwastatyną oraz diety ubogocholesterolowej na zmianę wychwyty  $^{99m}\text{Tc}$ -IL-2 w badaniu scyntygraficznym. W przypadku zastosowania atorwastatyny w dawce 80 mg/dobę przez okres 3 m-cy redukcja wychwyty IL-2 mierzona jako stosunek zmiana/tło wynosiła 19%, nie obserwowano zmian wychwyty IL-2 związanej z dietą ubogocholesterolową. Ograniczeniem tej obserwacji z pewnością jest liczebność próby (5 osób pod koniec obserwacji). Także okres 3 miesięcy wydaje się zbyt krótki do zobrazowania zmian metabolicznych uwarunkowanych dietą. Wykonane przeze mnie dodatkowe badanie 2 osób stosujących wysokie dawki statyn przez długi (kilkumiesięczny) okres czasu wydaje się potwierdzać

obserwację Anovazziego. Średni wychwyty znacznika w tej próbie wynosił 1,58 (1,50 - 1,63) i był znamienne niższy w porównaniu do głównej badanej próby (mediana 2,26 (rozrzut 1,23 – 3,63)). Nie zaobserwowano w badaniu istotnych statystycznie różnic między wychwytem IL-2 u pacjentów z SNN w trakcie terapii statyną i u osób nie otrzymujących takiej terapii.

Warte podkreślenia są uzyskane wyniki porównujące wartości wskaźnika T/nT w obrębie ścian tętnic szyjnych w grupie pacjentów z najniższymi wartościami albumin, hemoglobiny oraz adiponektyny w stosunku do pacjentów z najwyższymi wartościami tych parametrów. U pacjentów z najniższymi wartościami tych parametrów uzyskano statystycznie istotne wyższe wartości wskaźnika T/nT w porównaniu do pacjentów z najwyższymi parametrami ( $3,2 \pm 0,5$  vs  $2,16 \pm 0,68$ ,  $p = 0,025$ ). Wynik ten pozostaje w zgodności z wcześniej opisanymi obserwacjami i potwierdza w populacji osób z SNN większe nasilenie procesu zapalnego u pacjentów z niższymi wartościami wskaźników opisujących stan dobrego wyrównania pacjenta.

Interesujące są również doniesienia na temat wpływu adiponektyny na ryzyko sercowo-naczyniowe w grupie pacjentów z niewydolnością nerek. Kolletrits i wsp. stwierdzili wzrost stężenia adiponektyny postępujący wraz z pogorszeniem funkcji nerek (88). Menon i wsp. zaobserwowali obecność odwrotnej zależności pomiędzy stężeniem adiponektyny a śmiertelnością w grupie pacjentów z niewydolnością nerek - wyższe stężenie adiponektyny korelowało ze wzrostem śmiertelności (107). Podobne obserwacje wśród pacjentów ze SNN przeprowadził Drechsler i wsp. stwierdzając o 66% większe ryzyko zawału serca i o 33% wyższe ryzyko jakiegokolwiek incydentu sercowo-naczyniowego w ciągu czteroletniej obserwacji u pacjentów, u których poziom adiponektyny przyrósł najwięcej w ciągu 6 miesięcy (III tercyl vs I tercyl) (40). Ci sami autorzy zaobserwowali istotną statystycznie zależność pomiędzy wzrostem wartości adiponektyny, a spadkiem wartości CRP, co wydaje się potwierdzać przeciwzapalny efekt działania adiponektyny również u osób z SNN. W opozycji do powyższych badań pozostaje wynik badania Zoccali i wsp. pokazujący, iż wyższe stężenia osoczowe adiponektyny u pacjentów z niewydolnością nerek są związane z niższym ryzykiem sercowo-naczyniowym (197). W przedstawionym badaniu poziom adiponektyny był statystycznie

istotnie wyższy w badanej grupie niż grupie kontrolnej. Nie obserwowano natomiast bezpośredniego wpływu stężenia adiponektyny na wynik analizy ilościowej badania scyntygraficznego.

Pacjentom ze SNN bardzo często towarzyszy przewlekły proces zapalny i niedożywienie. Stenvinkel i wsp. zasugerowali, że niedożywienie u chorych z SNN wynika z nakładania się dwóch mechanizmów. Z jednej strony mocznica per se prowadzi do utraty apetytu, z drugiej strony zwiększone stężenie substancji zapalnych prowadzi do zwiększenia podstawowego metabolizmu w dalszej konsekwencji prowadząc do zespołu niedożywienie-zapalenie-miażdżyca (MIA) (156), nierozzerwalnie związany ze wzrostem ryzyka sercowo-naczyniowego. Dlatego oznaczanie poziomu stężeń cytokin prozapalnych oraz białek ostrej fazy jest metodą wyznaczania takiego ryzyka zarówno w populacji ogólnej jak i u chorych z SNN. Do najczęściej oznaczanych wskaźników należą: CRP, fibrynogen, homocysteina, albumina, IL-6, IL-18 oraz nowsze: ADMA, SAA, sICAM, sCD40L, aHSP (8-11, 60).

Wielu autorom udało się wykazać związek pomiędzy stopniem zaawansowania miażdżycy potwierdzonym badaniami obrazowymi oraz stężeniami w/w substancji. W powyższym badaniu spośród oznaczonych substancji CRP, fibrynogen, homocysteina, SAA, IL-6, IL-18, sCD40L, ADMA były zamiennie wyższe u pacjentów z SNN niż w grupie kontrolnej (tabela 10). Spośród wszystkich oznaczonych parametrów zapalnych, z wynikiem badania scyntygraficznego korelowało najlepiej oznaczenie homocysteiny (hcy). Występowanie wyższych niż w populacji ogólnej wartości hcy wśród osób z niewydolnością nerek było już opisywane wcześniej. Również wpływ hcy na zwiększenie ryzyka sercowo-naczyniowego w populacji ogólnej jest szeroko znany. Zoccali i wsp. zbierając wyniki badań badających wpływ hcy na ryzyko sercowo-naczyniowe w populacji osób z SNN natrafili na rozbieżne wyniki. W części opisywanych badań podobnie jak dla BMI oraz stężeń parametrów gospodarki lipidowej stwierdzono niższą częstość incydentów sercowo-naczyniowych u osób z wyższym stężeniem hcy, natomiast pozostałe wskazywały na istnienie zależności podobnej jak w populacji ogólnej. Istnienie tych rozbieżności może wynikać z różnych stężeń albuminy w badanych populacjach, z którą w ok 70% związana jest hcy (196). W tym kontekście

w grupie pacjentów bez cech niedożywienia i z prawidłowymi stężeniami albumin wysokie stężenia hcy powinny korelować z większym ryzykiem CV. Taką obserwację potwierdza opisywane badanie, w którym stężenie hcy korelowało z ilościowym wynikiem badania scyntygraficznego ( $R = 0,22$ ,  $p = 0,04$ ).

Pozostałe z oznaczonych cytokin i białek ostrej fazy jako pojedyncze zmienne nie korelowały w sposób istotny statystycznie z wynikiem badania scyntygraficznego. Wynik taki trudno interpretować jednoznacznie. W przebadanej grupie stężenia cytokin pozapalnych oraz białek ostrej fazy, pomimo selekcji pacjentów do badania, zależą nie tylko od stopnia zaawansowania i długości trwania choroby nerek, ale też od nakładających się na nią innych czynników zewnętrznych (leki, używki, dieta) i wewnętrznych (masa ciała, nadciśnienie tętnicze, choroby współtowarzyszące). Możliwe jest, że brak związku między pojedynczymi markerami nasilenia procesu zapalnego a wynikiem badania scyntygraficznego w badanej przez mnie grupie jest wynikiem złożoności problemu ryzyka sercowo-naczyniowego, w którym rola pojedynczego czynnika ryzyka jest zwykle niewielka, natomiast ich współistnienie zwiększa ryzyko sercowo-naczyniowe. Ponadto stosunkowo mała liczebność pacjentów poddana badaniu scyntygraficznemu utrudnia uzyskanie istotności statystycznej w analizach wieloczynnikowych.

U chorych dializowanych zwykle występują zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej. Są one w pierwszym rzędzie związane z wtórną nadczynnością przytarczyc i prowadzą do zaburzeń architektury kości, mineralizacji i zwapnień tkanek miękkich, w tym kalcyfikacji naczyń. Dodatkowo hiperlipidemia, a w szczególności wysokie stężenie LDL wpływają na nasilenie procesu kalcyfikacji naczyń w tym naczyń wieńcowych (144). Stwierdzono, że komórki mięśni gładkich naczyń wykazują ekspresję receptorów dla lipoprotein, a cholesterol LDL nasilając utlenianie lipidów przyspiesza zwapnienie VSMC [132]. Także same VSMC mogą po aktywacji odpowiednich genów brać udział w osteogenezie (127). Wydaje się ponadto, że stres oksydacyjny oraz leptyna wydają się przyspieszać proces mineralizacji naczyń (153).



Taylor i wsp. stwierdzili w populacji ogólnej słabą zależność pomiędzy ryzykiem sercowo-naczyniowym obliczonym na podstawie skali Framingham oraz obecnością zwapnień w naczyniach wieńcowych u pacjentów z nagłym zgonem sercowym. Spośród przebadanych pacjentów, u których wystąpił zakończony zgonem zawał mięśnia sercowego tylko 63,3% miało wysoką (>10%) wartość 10-letniego ryzyka sercowo-naczyniowego oraz wysoki stopniem zwapnień w naczyniach wieńcowych. W tym samym badaniu autorzy analizując podgrupę osób, u których wystąpił nagły zgon sercowy spowodowany wykrzepieniem na powierzchni blaszki miażdżycowej z nadżerką, stwierdzili, że u 63% pacjentów 10-letnie ryzyko sercowo-naczyniowe wyliczone na podstawie skali Framingham oraz stopień kalcyfikacji naczyń wieńcowych były niskie. Dodatkowym wnioskiem płynącym z tej pracy jest fakt, iż stopień nasilenia zwapnień w tętnicach wieńcowych nie jest wystarczający jako pojedynczy predyktor do określania ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych. Ci sami autorzy wskazali, że jednoczesne określenie ryzyka na podstawie skali Framingham oraz ocena stopnia uwapnienia zmian może zwiększyć czułość wykrywania pacjentów obarczonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym (160).

W metaanalizie, która ukazała się w 2009 roku, przygotowanej przez Rennenberga i wsp. dotyczącej ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych w zależności od stopnia zwapnienia aorty lub naczyń wieńcowych obrazowanych za pomocą różnych metod stwierdzono, że posiadanie zwapnień w obrębie naczyń tętniczych wiąże się w ciągu 10 letniej obserwacji z 4,62-krotnym (CI 2,24 – 9,53) ryzykiem zgonu z jakiegokolwiek przyczyny, 3,94-krotnym ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, 3,74-krotnym ryzykiem zawału mięśnia sercowego, 2,21-krotnym ryzykiem udar mózgu i 3,41-krotnym ryzykiem jakiegokolwiek incydentu sercowo-naczyniowego (136).

Ta sama analiza pokazuje zestawienie wyników badań przeprowadzonych wśród osób z niewydolnością nerek. Iloraz szans jakiegokolwiek incydentu sercowo-naczyniowego w tej grupie chorych, w przypadku występowania zwapnień wynosił 6,22, a więc był znacznie wyższy niż w populacji ogólnej. Częściowo zbieżne z powyższymi obserwacjami są wyniki badań uzyskane

w niniejszej pracy, gdzie wśród pacjentów poddanych scyntygrafii z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ , u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy w okresie obserwacji, pacjenci ze zwapnieniami w obrębie blaszek miażdżycowych stanowili 75 % chorych (3 z 4 pacjentów).

Jednym z badań ujętych w opisanej powyżej metaanalizie była praca Raggi i wsp. W cytowanej pracy, oprócz istotnej zależności pomiędzy obecnością zwapnień w naczyniach wieńcowych a występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych na tle miażdżycy, autorzy wskazują na zależność nasilenia zwapnień od wieku badanych, płci, rasy, czasu trwania dializ, obecności cukrzycy, wysokości stężeń wapnia i fosforu. Ci sami autorzy nie obserwowali zależności stopnia nasilenia zwapnień od stężeń cholesterolu całkowitego, LDL, trójglicerydów, hemoglobiny i albuminy (135).

W opisywanej pracy stężenia w surowicy Ca, P, iPTH oraz indeksu Ca $\times$ P były podwyższone w grupie pacjentów z SNN w stosunku do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Nie wykazano natomiast bezpośredniego wpływu tych parametrów na wynik badania scyntygraficznego. Nie mniej jednak w wyniku analizy wpływu występowania zwapnień w obrębie zmian miażdżycowych na wynik badania scyntygraficznego, stwierdzono bliską istotności statystycznej, wyższą wartość wskaźnika T/nT w blaszkach miażdżycowych posiadających zwapnienia w stosunku do blaszek nieposiadających zwapnień ( $2,35 \pm 0,68$  vs  $1,924 \pm 0,55$ ,  $p = 0,088$ ). Taka obserwacja pozostaje w zgodzie z wielokrotnie wcześniej opisywanym wzrostem ogólnego ryzyka sercowo-naczyniowego związanego ze wzrostem stopnia zwapnień w obrębie blaszek miażdżycowych określanych np. w calcium scoring.

Aktualnie brak jest również prac porównujących wyniki badań scyntygraficznych z ryzykiem sercowo-naczyniowym wyliczonym na podstawie klasycznych czynników ryzyka. W przedstawionej pracy nie stwierdzono istotnej zależności między ogniskowym wychwytem IL-2 w blaszce miażdżycowej a ryzykiem sercowo-naczyniowym uwzględniającym klasyczne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego. Niemniej jednak w prezentowanej pracy, w odróżnieniu od wielu opublikowanych badań, nie uzyskano także zależności między oznaczonymi parametrami biochemicznymi a wielkością ryzyka

sercowo-naczyniowego obliczonego na podstawie klasycznych czynników ryzyka. Oceniając przedstawione wyniki należy wziąć także pod uwagę fakt, że badaną grupę stanowiły osoby intensywnie leczone z powodu zaburzeń towarzyszących SNN, w tym choroby wieńcowej, nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, a także cukrzycy. Długość okresu narażenia na poszczególne czynniki ryzyka, stopień ich kontroli, współwystępowanie z innymi czynnikami, genetycznie uwarunkowana podatność na ich działanie oraz ochronny efekt stosowanego leczenia mogły mieć istotny wpływ na ukształtowanie się wyników analizy zależności między wynikami badania scyntygraficznego i czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.

Odrębnym zagadnieniem jest wpływ stężenia rozpuszczalnego receptora dla IL-2 (sIL-2R) na wynik badania scyntygraficznego. Jak zostało powyżej opisane, wyższe stężenia klasycznych czynników zapalnych, związane są z krótszym przeżyciem zarówno w populacji ogólnej jak i wśród pacjentów z SNN. Zaobserwowano natomiast wśród pacjentów z chorobami nowotworowymi zmniejszenie śmiertelności u osób z wysokimi wartościami cytokin związanych z funkcją limfocytów T jak IL-2 oraz IL-12 (182). Natomiast podwyższony wskaźnik sIL-2R/IL-2 świadczy o immunosupresji i jest czynnikiem rokowniczo niekorzystnym (124). W populacji osób z chorobą wieńcową Kervinen i wsp. obserwowali u osób z wysokim stężeniem sIL-2R (powyżej mediany) 2,34 krotnie wyższe ryzyko wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego (75). Z kolei dane z badań dotyczących osób hemodializowanych sugerują, że wysokie wartości sIL-2R związane są z nieprawidłową aktywacją limfocytów T na błonach dializacyjnych, co prawdopodobnie jest jednym z czynników podtrzymujących stan zapalny (62). Wykazano też, że wykonanie zabiegu HD nie ma wpływu na stężenie sIL-2R (157). Podobnie u osób dializowanych otrzewnowo stwierdzono wyższe stężenia sIL-2R, niż w populacji ogólnej (89). Zgodne z powyższymi obserwacjami pozostają wyniki niniejszej pracy, w której stwierdzono istotnie wyższe stężenia sIL-2R wśród pacjentów z SNN w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazano natomiast różnic w stężeniu sIL-2R pomiędzy pacjentami dializowanymi otrzewnowo i hemodializowanymi (rozdział 5.2.6.2.). Analiza wpływu stężenia sIL-2R na wynik badania scyntygraficznego wykazała

nieistotny statystycznie trend odwrotnie proporcjonalnej zależności między tymi parametrami. Pozostaje to w niezgodzie z wcześniej opisanymi zależnościami między stężeniem sIL-2R a ryzykiem sercowo-naczyniowym w populacji ogólnej. Należy jednak podkreślić, że brak jest obecnie dowodów na występowanie takiej samej zależności wśród pacjentów z SNN. Ponadto w przypadku opisywanej pracy obrazowano ilość receptora dla IL-2 (CD25) związanej z powierzchnią limfocytów T. W sytuacji wysokich stężeń sIL-2R istnieje potencjalna możliwość większego zużycia znakowanego znacznika poza miejscami wiązań na powierzchni limfocytów i przez to wpływu stężenia sIL-2R na wynik badania scyntygraficznego. W tym miejscu należy także jeszcze raz przypomnieć uzyskaną przez Anovazzi i wsp. zależność pomiędzy ilościowym wynikiem badania scyntygraficznego a ilością komórek CD4<sup>+</sup> oraz ilością receptorów dla IL-2 obecnych na tych komórkach w cytometrii przepływowej (6).

#### **6.4. Wyniki badań scyntygraficznych a wyniki obrazowania naczyń szyjnych w badaniu ultrasonograficznym**

Badanie usg jest aktualnie złotym standardem w ocenie obecności blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych i kluczem do podejmowania decyzji terapeutycznych. Uzyskane za pomocą usg informacje pozwalają na określenie obecności blaszki, jej morfologii, stopnia zwężenia naczynia i ograniczenia w przepływie krwi. Nie pozwalają jednak ocenić nasilenia aktywności metabolicznej w obrębie blaszki. Pośrednim sposobem uzyskania informacji o ryzyku sercowo-naczyniowym w badaniu usg tętnic szyjnych jest ocena grubości kompleksu intima-media w opuszcze tętnic szyjnych wspólnych, której przydatność wykazano zarówno dla populacji ogólnej jak i pacjentów z SNN. Szczególnie cenne w tym aspekcie wydają się być wyniki badań obserwacyjnych dotyczące dłuższych przedziałów czasowych. Aminbakhsh i wsp. zaobserwowali, że roczny wzrost IMT u osób z SNN wynosi 0,034/rok i jest 10 krotnie większy niż u osób zdrowych. Taki przyrost grubości IMT jest istotnie związany z częstością incydentów sercowo-naczyniowych przy czym ryzyko pierwszego zawału serca wzrasta przy wartości IMT>0,82mm, a ryzyko

udarów mózgu przy  $IMT > 0,75\text{mm}$  (4). Benedetto i wsp. obserwując chorych z SNN przez 15 miesięcy nie zaobserwowali istotnego statystycznie wzrostu grubości CCA-IMT, pomimo wystąpienia, w okresie obserwacji, u 37% pacjentów incydentów sercowo-naczyniowych. W tym przypadku brak oczekiwanego wzrostu IMT mógł wynikać ze zbyt krótkiego okresu obserwacji. Ci sami autorzy zaobserwowali natomiast, iż wyjściowa grubość CCA-IMT miała wpływ na ilość nowych blaszek w kontrolnym badaniu USG (19). W badaniu, Zoccali i wsp. CCA-IMT i liczba stwierdzonych badaniem usg blaszek miażdżycowych korelowała ze stężeniem CRP zarówno u chorych hemodializowanych jak i chorych leczonych dializą otrzewnową (193). Innym ważnym badaniem dotyczącym kompleksu intima-media u chorych dializowanych jest badanie Wang i wsp., gdzie wykazano zależność grubości kompleksu intima-media od wieku, a także od skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego, palenia papierosów, stężeń CRP, fibrynogenu oraz lipoproteiny (a). Podobne zależności obserwowali Szeto i wsp. badając wpływ wieku, stężenia LDL i CRP na IMT. Nie prowadzono natomiast wcześniej porównań między wynikami badań scyntygraficznych a IMT. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki nie dają jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o zgodność pomiaru IMT z wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu znacznika w obrębie naczyń szyjnych. W grupie pacjentów obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo naczyniowym, u których w przedstawionym badaniu wykonano scyntygrafię z użyciem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 stwierdzono bardzo wysoką zależność między tymi parametrami, podczas gdy w grupie pacjentów z niższym ryzykiem sercowo-naczyniowym i mniejszymi blaszkami miażdżycowymi nie uzyskano zależności istotnej statystycznie. W tym miejscu warto przypomnieć, że również Anovazzi i wsp. w swoim badaniu oceniając korelację między obrazem scyntygraficznym a obrazem blaszki miażdżycowej w usg nie znaleźli powiązań między wynikami obu badań.

W przytoczonych wcześniej pracach dotyczących obrazowania blaszek miażdżycowych metodami scyntygraficznymi jedynie kilku autorów oprócz Anovazzi i wsp. dokonało porównania wyników badania scyntygraficznego z obrazami blaszek miażdżycowych widocznych w ultrasonografii. Tylko w badaniu Moriwaki i wsp. (111) stwierdzono istnienie zależności między

wychwytem znakowanych płytek krwi a morfologią blaszek miażdżycowych w tym obecnością nadżerek na powierzchni blaszek oraz stopniem zwężenia tętnicy. Natomiast Kritz i wsp. (90) nie obserwowali zależności między morfologią zmian miażdżycowych ocenianych w usg a wynikiem badania scyntygraficznego. W przedstawianej pracy natomiast stwierdzono bliską istotności statystycznej zależność pomiędzy obecnością w blaszce miażdżycowej zwapnień a wzrostem wychwytu znacznika w badaniu scyntygraficznym.

Reasumując, w grupie pacjentów, u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem znakowanej IL-2 stwierdzono zależności między ilościowymi wynikami badania scyntygraficznego a wybranymi biochemicznymi wskaźnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, CCA-IMT w grupie pacjentów obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym oraz obecnością zwapnień w blaszkach miażdżycowych.

## **6.5. Porównanie badań scyntygraficznych z użyciem**

### **$^{123}\text{I}$ -IL-2 i $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2**

Na podstawie przeprowadzonego badania można stwierdzić, że badanie scyntygraficzne w użyciem znakowanej IL-2 pozwala na nieinwazyjne obrazowanie zmian miażdżycowych w obrębie naczyń szyjnych w grupie pacjentów ze SNN i zarówno  $^{123}\text{I}$ -IL-2 jak i  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 mogą służyć do tego celu.

Nie da się bezpośrednio porównać wartości obu badań, w tym wartości wskaźnika T/nT ogniskowego wychwytu IL-2 w badaniu z użyciem jodu-123 oraz technetu-99m ze względu na różnice w parametrach dozymetrycznych pomiędzy  $^{123}\text{I}$  a  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . W obu badaniach widoczne są różnice między średnimi wartościami wskaźnika T/nT. W grupie osób, u których wykonano obrazowanie z użyciem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 średnie wartości wskaźnika T/nT pozostawały wyższe niż w grupie poddanej scyntygrafii z użyciem  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 ( $3,15 \pm 0,54$  (rozzrzt 2,0 – 3,60) vs  $2,35 \pm 0,70$  (rozzrzt 1,23 – 3,63). W tym miejscu ponownie potrzeba podkreślić, iż pierwsza z wymienionych grup charakteryzowała się wyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Dla oceniającego badanie łatwiejsza była interpretacja obrazów badań z użyciem  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 z powodu lepszej

dyskryminacji zmian miażdżycowych. Wysoka cena i ograniczony dostęp do jodu-123, opracowanie metody znakowania IL-2 technetem-99m oraz lepsza jakość otrzymanych obrazów sugerują wyższą potencjalną wartość obrazowania naczyń szyjnych z użyciem  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$ .

## 6.6. Ograniczenia badania scyntygraficznego

Ograniczeniem dla zastosowania markerów stanu zapalnego, w tym IL-2 do oceny nasilenia stanu zapalnego w obrębie blaszek miażdżycowych jest obecność nacieczenia komórek zapalnych w obrębie ściany badanego naczynia, a zlokalizowanego poza blaszką. Ze względu na niską swoistość badania scyntygraficznego konieczne jest wykonanie drugiego badania obrazowego szyi, np. badania usg tętnic szyjnych. Natomiast wykonanie badania scyntygraficznego dodatkowo do badania obrazowego tętnic szyjnych np. tomografii komputerowej i następnie wykonanie fuzji tych obrazów mogłoby być dużym krokiem w kierunku identyfikacji pacjentów obarczonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

U części pacjentów występowały trudności z uwidocznieniem naczyń szyjnych na całej długości. Wynikały one w przypadku zastosowania  $^{123}\text{I-IL-2}$  lub  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  z wychwytu wolnego jodu lub technetu przez tarczycę oraz ślinianki, a to w niektórych przypadkach ograniczało prawidłową ocenę tętnic szyjnych. Zastosowanie preparatów hamujących wychwyt  $^{123}\text{I}$  przez tarczycę ułatwiało interpretację wykonanych badań. Z wcześniejszych doświadczeń wynika, że płyn Lugola skutecznej niż Irenat (nadchloran sodu) blokuje wychwyt jodu. Jednak nawet w przypadku zastosowania płynu Lugola, prawie u wszystkich pacjentów poddanych badaniu z użyciem  $^{123}\text{I-IL-2}$  widoczny był wychwyt znacznika w obrębie gruczołu tarczowego.

W przypadku badań wykonywanych z użyciem  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  także wielokrotnie uwidacziano gruczoł tarczowy. Chianelli i wsp. opisali, iż wychwyt  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  przez tarczycę występuje jedynie w przypadku pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi tarczycy, nie występuje zaś w przypadku gruczołów nie objętych procesem zapalnym (29). W omawianym badaniu nie oznaczano przeciwciał pozwalających na rozpoznanie autoimmunologicznej

choroby tarczycy ani nie wykonywano subtrakcji obrazów scyntygraficznych z użyciem  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  oraz  $^{99m}\text{Tc}$ . Ważnym czynnikiem utrudniającym interpretację ilościową wyników scyntyigrafii jest wybór odpowiedniego miejsca do zakreślenia regionu zainteresowania dla odczytu ilości zliczeń z tła. O ile ilościowa ocena zmian w obrębie tętnic szyjnych nie przysparza dużego problemu o tyle ustalenie tła może powodować trudności. Stosunkowo niskie wartości zliczeń w obrębie ROI oraz zaznaczonego tła, a co za tym idzie uzyskane niskie wartości wskaźnika T/nT, są bardzo podatne nawet na niewielką zmianę wartości dzielnika (tła). Przesunięcie miejsca, z którego wyliczane jest tło o kilka milimetrów względem założonej pozycji często powoduje zmianę wartości T/nT o 10-20%, co znacząco utrudnia ilościową ocenę zmian. W prezentowanym badaniu każde badanie oceniano min. sześciokrotnie (w trzy różne dni), a do analizy statystycznej użyto wyniku uśrednionego. Jednak takie postępowanie jest czasochłonne i trudne do realizacji w praktyce.

## 6.7. Ograniczenia badania

Najważniejszym ograniczeniem wydaje się brak histopatologicznej weryfikacji składu blaszek miażdżycowych. Badań tych nie wykonywano, ponieważ pacjenci zrekrutowani do badania posiadali w większości niekrytycznie zwężenia miażdżycowe w tętnicach szyjnych, a więc nie byli poddawani interwencjom chirurgicznym.

Dodatkowo ograniczenie badania wynika z wykorzystania w badaniu stosunkowo heterogenicznej grupy chorych u której, oprócz schyłkowej niewydolności nerek i chorób układu sercowo-naczyniowego występowały także inne choroby, o których wiadomo, iż wpływają bezpośrednio na osoczowe stężenia markerów procesu zapalnego. Ponadto pacjenci objęci badaniem stosowali różnorodną farmakoterapię.

Wyniki badania nie są reprezentatywne dla ogólnej populacji, charakteryzującej się mniejszym uogólnionym nasileniem stanu zapalnego. Nie można na podstawie przeprowadzonego badania mieć pewności czy metoda



scyntygrafii z użyciem znakowanej, IL-2 mogłaby być przydatna w diagnostyce u chorych obciążonych średnim bądź niskim ryzykiem sercowo-naczyniowym.

## **7. Podsumowanie**

Powyższe badanie stanowi pierwszą próbę scyntygraficznego obrazowania zmian miażdżycowych wśród pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek.

Przeprowadzona analiza wyników potwierdziła, że wśród osób z SNN częściej niż w populacji ogólnej występują klasyczne oraz związane z podwyższeniem markerów zapalnych czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowego, a IL-2 znakowana jodem-123 lub technetem-99m jest skuteczna w obrazowaniu aktywnych metabolicznie zmian miażdżycowych w naczyniach szyjnych.

Uzyskanie znakowanej IL-2 i opracowanie metodologii badania scyntygraficznego pozwoliło uzyskać nieinwazyjny test diagnostyczny o dużym stopniu czułości w obrazowaniu stanu zapalnego w obrębie ścian tętnic szyjnych. Proponowana metoda badań mogłoby także być instrumentem do określania krótkoterminowego ryzyka sercowo-naczyniowego.

Wykorzystanie wyników przeprowadzonego badania może także w przyszłości znaleźć miejsce w opracowaniu form terapii celowanych umożliwiających stabilizację niestabilnych blaszek miażdżycowych.

## 8. Wnioski

1. Scyntygrafia z użyciem znakowanej Interleukiny-2 umożliwia zobrazowanie zmian zapalnych w obrębie naczyń szyjnych u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego i w przyszłości może stanowić narzędzie ułatwiające ocenę krótkoterminowego ryzyka sercowo-naczyniowego.
2. Celem rozróżnienia obecności stanu zapalnego ściany naczynia bez obecności blaszki miażdżycowej od obecności aktywnej metabolicznie blaszki miażdżycowej konieczne jest wykonanie dodatkowego badania obrazowego.
3. Wyniki ilościowe badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem znakowanej IL-2 (T/nT) u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek korelują z markerami procesu zapalnego oraz parametrami gospodarki lipidowej.
4. Ilościowy wynik badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem znakowanej IL-2 (T/nT) koreluje z ryzykiem wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego w ciągu trzyletniej obserwacji w grupie pacjentów obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym.
5. Użycie Interleukiny-2 znakowanej technetem-99m w porównaniu do IL-2 znakowanej jodem-123 ułatwia ilościową i jakościową interpretację badania scyntygraficznego naczyń szyjnych.

## 9. Streszczenie

**Wstęp:** Choroby sercowo-naczyniowe stanowią główną przyczynę zgonów w krajach rozwiniętych. W wybranych populacjach, w tym wśród pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek, roczna śmiertelność spowodowana chorobami układu krążenia jest nawet 30-krotnie wyższa niż w populacji ogólnej. Ponad połowa incydentów sercowo-naczyniowych występuje u osób bez wcześniejszych objawów niedokrwienia, w sytuacji kiedy płytka miażdżycowa zwęża mniej niż połowę światła naczynia.

Większość dostępnych obecnie metod diagnostycznych opiera się na ocenie szerokości światła naczynia, wielkości zmiany miażdżycowej lub grubości ściany naczynia, co nie zawsze pozwala na identyfikację zmian miażdżycowych obarczonych szczególnie wysokim ryzykiem wywołania incydentu sercowo-naczyniowego. Niewydolność aktualnie rutynowo stosowanych metod diagnostycznych w ocenie krótkoterminowego ryzyka oraz prewencji incydentów sercowo-naczyniowych wskazuje na konieczność opracowania narzędzi umożliwiających taką ocenę. Jedną z dostępnych aktualnie możliwości jest ocena nasilenia aktywności procesu zapalnego w obrębie zmian miażdżycowych.

Badania histopatologiczne składu niestabilnych płytek miażdżycowych wykazały, że co najmniej 20% komórek zapalnych w ich obrębie stanowią zaktywowane limfocyty, na powierzchni których występuje receptor dla Interleukiny-2. Receptor ten może być wykorzystany do obrazowania nasilenia procesu zapalnego w obrębie zmian miażdżycowych w naczyniach krwionośnych za pomocą badania scyntygraficznego.

**Cel pracy:** Ocena przydatności badania scyntygraficznego z użyciem znakowanej

IL-2 (OBRI Polatom, Świerk) w diagnostyce niespecyficznego przewlekłego stanu zapalnego w obrębie ściany tętnic szyjnych w grupie chorych dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek z dynamiczną progresją miażdżycy.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto łącznie 38 chorych (15 kobiet i 23 mężczyzn), leczonych nerkozastępczo w Klinice Nefrologii Szpitala

Uniwersyteckiego w Krakowie z powodu schyłkowej niewydolności nerek (SNN). Grupę kontrolną, u której wykonano badania biochemiczne, stanowiło 10 ochotników nieobciążonych zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Badaniem pilotażowym z użyciem IL-2 znakowanej jodem-123 objęto 10 pacjentów (5 kobiet, 5 mężczyzn, średnia wieku  $62,4 \pm 10,4$ ) dializowanych otrzewnowo, obciążonych największym ryzykiem sercowo naczyniowym. W badaniu głównym wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem IL-2 znakowanej technetem-99m u 28 pacjentów (13 mężczyzn oraz 15 kobiet, średnia wieku  $55,2 \pm 9,6$  lat), 17 dializowanych otrzewnowo, 11 hemodializowanych.

U wszystkich pacjentów wykonano badanie usg tętnic szyjnych celem stwierdzenia obecności i określenia lokalizacji blaszek miażdżycowych oraz pomiar grubości kompleksu intima-media w opuszce tętnicy szyjnej wspólnej. Wykonano także oznaczenia biochemiczne obejmujące badania podstawowe, wskaźniki oceny gospodarki lipidowej, wapniowo-fosforanowej, oznaczono stężenia cytokin prozapalnych oraz białka ostrej fazy.

### **Wyniki:**

**Badanie pilotażowe:** badaniem objęto grupę 10 pacjentów obarczonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym. W wykonanym badaniu scyntygraficznym stwierdzono zwiększony ogniskowy wychwyty  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie 16/16 (100%) blaszek miażdżycowych uprzednio stwierdzonych badaniem usg. Średni stosunek T/nT dla ogniskowego wychwyty  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych wynosił  $3,15 \pm 0,54$  (mediana 3,22, rozrzut 2,0 – 3,6). Stwierdzono wysoki współczynnik zależności między grubością kompleksu intima-media w obrębie opuszki tętnicy szyjnej po stronie ocenianej w scyntygrafii zmiany, a współczynnikiem ogniskowego wychwyty  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych ( $R = 0,92$ ,  $p = 0,01$ ). Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwyty  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej w grupie pacjentów u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy w okresie obserwacji trwającym średnio 36 miesięcy oraz w grupie pacjentów w której on nie wystąpił ( $3,45 \pm 0,22$  vs  $2,91 \pm 0,54$ ,  $p = 0,046$ ). W tej grupie pacjentów nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między ogniskowym

wychwytem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych, a wartościami oznaczonych parametrów biochemicznych, wartością calcium score ani wybranymi klasycznymi czynnikami ryzyka choroby wieńcowej.

**Badanie główne:** Przebadano 28 pacjentów. Zwiększony wychwyty znacznika w rzucie blaszek miażdżycowych widocznych w badaniu usg uwidoczniono (badaniem scyntygraficznym w 38/41 (91%) lokalizacjach. Mediana stosunków T/nT dla ogniskowego wychwyty  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych wynosiła 2,35 (rozrzut 1,23– 3,63, średnia  $2,34 \pm 0,70$ ).

Średnia wartość grubości kompleksu intima-media po stronie blaszki o największym wychwyty znacznika wynosiła  $0,79 \pm 0,18$  mm (mediana 0,8, rozrzut 0,5 – 1,275). Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwyty IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych, a średnią wartością IMT. Stwierdzono wyższe wartości wskaźnika T/nT w obrębie blaszek miażdżycowych posiadających zwapnienia w stosunku do blaszek w których zwapnień nie uwidoczniono ( $2,35 \pm 0,68$  vs  $1,924 \pm 0,55$   $p = 0,088$ ). Wykazano istnienie statystycznie istotnej odwrotnie proporcjonalnej zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego a wartością hemoglobiny ( $R = - 0,21$ ,  $p = 0,02$ ) oraz pozytywną korelację pomiędzy wartościami wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwyty znacznika i homocysteiny ( $R = 0,22$ ,  $p = 0,037$ ), Apo B ( $R = 31$ ,  $p = 0,008$ ), ilorazu ApoB/ApoA-I ( $R = 0,29$ ,  $p = 0,012$ ) oraz stężeń trójglicerydów ( $R = 0,26$ ,  $p = 0,021$ ). Stwierdzono także występowanie niższych wartości wskaźnika T/nT w grupach pacjentów z wyższymi wartościami wskaźników lepszego stanu ogólnego (hemoglobina, albumina, adiponektyna) niż w grupie z niskimi wartościami ( $3,2 \pm 0,5$  vs  $2,16 \pm 0,68$ ,  $p = 0,025$ ) oraz różnicę wartości T/nT w podgrupach pacjentów z wartościami ApoB, sCD40L i ADMA powyżej i poniżej mediany ( $3,18 \pm 0,52$  vs  $2,16 \pm 0,68$ ,  $p = 0,031$ ). Wykonanie badań scyntygraficznych u 2 osób bez niewydolności nerek, stosujących w terapii duże dawki statyn ujawniło niski wychwyty znacznika w obrębie blaszek (średnio 1,58 ( $1,5 - 1,63$ )). Obserwacja ta dodatkowo wydaje się wskazywać na najwyższą przydatność opisywanej metody w grupach chorych obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

**Podsumowanie:** Aktualnie szeroko podkreślana jest niewydolność stosowanych metod diagnostycznych w ocenie krótkoterminowego ryzyka oraz prewencji incydentów sercowo-naczyniowych. Większość ogólnie dostępnych metod diagnostycznych opiera się na ocenie szerokości światła naczynia, wielkości zmiany miażdżycowej lub grubości ściany naczynia, co oznacza, że metody te mogą być nieprecyzyjne w rozpoznawaniu blaszek miażdżycowych obciążonych szczególnie wysokim ryzykiem pęknięcia.

Możliwość wykonania badania scyntygraficznego jako uzupełnienia dotychczasowych metod diagnostycznych wydaje się być krokiem w kierunku lepszej oceny krótkoterminowego ryzyka sercowo-naczyniowego poprzez lepszą identyfikację „niestabilnych pacjentów” (vulnerable patients) dzięki ocenie nasilenia stanu zapalnego w obrębie płytek miażdżycowych. Konsekwencją lepszej identyfikacji pacjentów zagrożonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym byłoby zastosowanie w tej grupie bardziej agresywnego leczenia, także zachowawczego, które działałoby stabilizacyjnie również na inne potencjalnie niestabilne blaszki miażdżycowe.

Na podstawie przeprowadzonego badania wykazano, że scyntygrafia z użyciem znakowanej Interleukiny-2 umożliwia zobrazowanie zmian zapalnych w obrębie naczyń szyjnych u pacjentów z grupy ryzyka sercowo-naczyniowego. Analiza wyników ilościowych badania scyntygraficznego tętnic szyjnych z użyciem znakowanej IL-2 wykazała korelację pomiędzy stężeniami markerów ryzyka sercowo-naczyniowego oraz ryzykiem wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego w ciągu trzyletniej obserwacji w grupie pacjentów obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

Wykonanie badania scyntygraficznego z użyciem IL-2 znakowanej dwoma różnymi radioizotopami oraz w dwóch nieco różniących się grupach chorych pozwoliło zauważyć różnice sugerujące najwyższą korzyść z wykonania badania w grupie osób obciążonych najwyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Ponadto użycie Interleukiny-2 znakowanej technetem-99m w porównaniu do IL-2 znakowanej jodem-123 pozwalało na uzyskanie obrazów ułatwiających ilościową i jakościową interpretację badania.

## 10. Abstract

**Background:** Cardiovascular diseases are the main cause of death in developed countries. In some patient's populations, including those with end-stage renal disease (ESRD), cardiovascular related mortality is 30 times higher comparing to general population.

More than half of the cardiovascular events occur among the patients without any previous symptoms of cardiovascular disease and in situation when atherosclerotic plaques obliterate less than 50% of arterial lumen. Majority of currently available methods provide good assessment of arterial lumen diameter, atherosclerotic plaque size and arterial wall thickness. Those morphologic parameters not always enable the detection of vulnerable plaque and selection of patients who may benefit most from prompt treatment intensification. Routine diagnostic methods are insufficient in short-term risk assessment and prevention of cardiovascular event; therefore there is a necessity to develop new diagnostic tools.

Among imaging techniques, methods, which enable to visualize and estimate the intensity of inflammatory process within atherosclerotic lesions, seem to play the most important diagnostic role.

The histopathological studies of the atherosclerotic plaque have revealed that activated lymphocytes T, which contain IL-2 receptors on their surfaces, comprise at least 20 % of inflammatory cells in unstable plaques. Those receptors can be used to assess the intensity of the inflammatory process within atherosclerotic plaques with the use of scintigraphy and labeled IL-2.

**The aim of this study** was an assessment of usage of IL-2 scintigraphy for unspecific inflammatory process detection within carotid arteries in ESRD patients with accelerated atherosclerosis.

**Materials and methods:** Total number of patients included in this study was 38 (15 women, 23 men). All of them were treated with dialysis due to ESRD in University Hospital in Krakow. In the pilot study with the use of  $^{123}\text{I}$ -IL-2 10 patients (5 women, 5 men, aged  $62,4 \pm 10,4$ ) treated with peritoneal dialysis, with the highest cardiovascular risk was surveyed. In the main study 28 patients undergone scintigraphy with the use of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 (13 men, 15 women, aged  $55,2 \pm 9,6$ , 17 on peritoneal dialysis, 11 on hemodialysis). In all cases,

additionally to the scintigraphy, ultrasound examination of the carotid arteries was performed to obtain information about localization, numbers of atherosclerosis plaques and intima-media thickness (IMT) measurement. Furthermore levels of selected proinflammatory factors, atherogenic markers and calcium-phosphate balance parameters were measured. Finally target/non-target (T/nT) ratio of IL-2 uptake in atherosclerotic plaques confirmed by carotid USG with IMT and concentration of measured agents were compared.

### **Results:**

**The pilot study:** 10 patients treated with peritoneal dialysis with the highest cardiovascular risk were included. In performed scintigraphies increased focal  $^{123}\text{I}$ -IL-2 uptake in 16/16 (100%) atherosclerotic plaques previously visualized by neck ultrasound was detected. Mean T/nT ratio of focal  $^{123}\text{I}$ -IL-2 uptake within atherosclerotic plaques was  $3,15 \pm 0,54$  (median 3,22, range 2,0 – 3,6). The levels of the most important inflammatory and atherogenic factors were increased in majority of patients. High, positive correlation between  $^{123}\text{I}$ -IL-2 uptake within atherosclerotic plaques and IMT in corresponding artery was observed ( $R= 0.92$ ,  $p= 0.01$ ). Significantly higher  $^{123}\text{I}$ -IL-2 uptake on scintigraphy in patients who developed cardiovascular event during observation period (average 36 months) comparing to patients without cardiovascular event was revealed ( $3,45 \pm 0,22$  vs  $2,91 \pm 0,54$ ,  $p = 0,046$ ). No statistically significant association was found neither between  $^{123}\text{I}$ -IL-2 uptake and levels of measured agents, calcium score nor classical risk factors.

To **the main study** 28 patients were included. Increased  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 uptake in atherosclerotic plaques previously visualized by neck ultrasound in 38/41 (91%) cases was detected. Lack of IL-2 uptake in the projection of carotid arteries without atherosclerotic plaques was revealed in 5/15(33%) cases. Median T/nT ratio of focal  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ IL-2 uptake in atherosclerotic plaque was 2,35 (range 1,23– 3,63, average  $\acute{s}$ rednia  $2,35 \pm 0,70$ ). Mean IMT value on the side of assessed in scintigraphy plaque was  $0,79 \pm 0,18$  mm (median 0,8, range 0,5 – 1,275).

No statistically significant association was found between  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 T/nT ratio and mean value of IMT. The differences in T/nT ratio between atherosclerotic plaques with or without calcifications almost reach statistical significance ( $2,35 \pm$



0,68 vs  $1,924 \pm 0,55$   $p = 0,088$ ). Statistically significant, inversely proportional dependence between scintigraphy results and hemoglobin concentration ( $R = -0,21$ ,  $p = 0,02$ ) was found. Furthermore directly proportional relationships between T/nT ratio and homocysteine ( $R = 0,22$ ,  $p = 0,037$ ), ApoB ( $R = 0,31$ ,  $p = 0,008$ ), ApoB/ApoA-I ratio ( $R = 0,29$ ,  $p = 0,012$ ) and triglycerides concentration ( $R = 0,26$ ,  $p = 0,021$ ) were detected. Lower T/nT ratio in patients with better parameters of nutrition state (hemoglobin, albumin, adiponectin) in comparison with patients with worse nutritional parameters ( $3,2 \pm 0,5$  vs  $2,16 \pm 0,68$ ,  $p = 0,025$ ) was revealed as well as the difference between values of T/nT ratio in groups of patients with values of ApoB, SCD40L i ADMA above and below median ( $3,18 \pm 0,52$  vs  $2,16 \pm 0,68$   $p = 0,031$ ). The correlation between scintigraphy results and classical cardiovascular risk factors was not found.

**Summary:** Inefficiency of the routinely used methods of the short-term cardiovascular risk quantification is widely known. Majority of widely available methods of cardiovascular risk estimation is based on arterial lumen assessment, estimation of atherosclerotic plaque size or on intima – media complex measurements. It means, that those methods may be imprecise in identification of plaques on the highest risk of rupture.

Performing the scintigraphy with labeled IL-2 in addition to currently available methods seems to be step forward to better short-term cardiovascular risk assessment by identification of the vulnerable patients through assessment of inflammatory process in atherosclerotic plaques.

As a result of better identification of vulnerable patients, it will give a possibility of early, aggressive treatment, including conservative methods, which may lead to stabilization of other potentially vulnerable plaques.

Performed research revealed that scintigraphy with the use of labeled IL-2 enables visualization of inflamed atherosclerotic (vulnerable) plaque within common carotid arteries in end-stage renal disease patients.

Analysis of the quantitative results of the carotid arteries scintigraphy with labeled IL-2 reveals positive correlation with serum concentration of cardiovascular risk markers and with the risk of cardiovascular event during 3 years of follow-up among patients with the highest cardiovascular risk.

Performing the research with the use of IL-2 labeled with two different isotopes in two partially different groups of patients has suggested the greatest benefits of IL-2 scintigraphy in the group of patients with the highest cardiovascular co-morbidities. The use of IL-2 labeled with technetium-99m in comparison with IL-2 labeled with iodine-123 facilitates qualitative and quantitative scintigraphy interpretation.

## 11. Spis tabel

Tabela 1. Najważniejsze grupy znaczników używane w badaniach SPECT do obrazowania zmian miażdżycowych. ....	29
Tabela 2. Przyczyny SNN w populacji poddanej scyntygrafii tętnic szyjnych z użyciem $^{123}\text{I}$ -IL-2. ....	38
Tabela 3. Przyczyny SNN w populacji poddanej scyntygrafii tętnic szyjnych z użyciem $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2. ....	39
Tabela 4. Klasyczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w grupie chorych objętych badaniem pilotażowym. ....	50
Tabela 5. Wartości wybranych stężeń cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, wartości frakcji lipidów oraz wskaźników równowagi wapniowo-fosforanowej w grupie pacjentów u których wykonano scyntyografię z użyciem $^{123}\text{I}$ -IL-2 oraz w grupie kontrolnej. ....	51
Tabela 6. Współczynniki korelacji pomiędzy wykonanymi oznaczeniami biochemicznymi, klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a ogniskowym wychwytem $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych. ....	55
Tabela 7. Wyniki badania scyntygraficznego, pomiaru CCA-IMT, BMI, oznaczonych parametrów biochemicznych oraz calcium score u 2 wybranych pacjentów z grupy osób u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem $^{123}\text{I}$ -IL-2 ....	58
Tabela 8. Klasyczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów u których wykonano scyntyografię szyi z użyciem $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2. ....	59

Tabela 9. Wartości stężeń wybranych parametrów biochemicznych opisujących stan ogólny chorych w grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej. .....	61
Tabela 10. Wartości surowicowych stężeń cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, markerów nasilenia stanu zapalnego w przebadanej grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej. ....	62
Tabela 11. Wartości stężeń lipidów, wybranych apolipoprotein oraz czynników regulujących gospodarkę lipidową, oxLDL, antyoxLDL w przebadanej grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej.....	63
Tabela 12. Wartości surowicowych stężeń Ca i P oraz iPTH w przebadanej grupie osób z SNN oraz w grupie kontrolnej. ....	64
Tabela 13. Wartości grubości kompleksu CCA-IMT w grupie pacjentów dializowanych otrzewnowo oraz hemodializowanych.....	66
Tabela 14. Korelacja pomiędzy średnią wartością CCA-IMT oraz wartością CCA-IMT po stronie blaszki a wartością wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu <sup>99m</sup> Tc-IL-2 w blaszkach miażdżycowych. .	73
Tabela 15. Współczynniki korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu <sup>99m</sup> Tc-IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wybranymi oraz stężeniami wybranych oznaczeń laboratoryjnych.....	74
Tabela 16. Współczynniki korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu <sup>99m</sup> Tc-IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wynikami oznaczeń biochemicznych (cytokin prozapalnych, białek ostrej fazy, markerów nasilenia stanu zapalnego) w przebadanej grupie osób z SNN. ....	76

Tabela 17. Współczynniki korelacji pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu <sup>99m</sup> Tc-IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wynikami oznaczeń biochemicznych opisującymi gospodarkę lipidową oraz oxLDL i antyoxLDL w przebadanej grupie osób z SNN. ....	79
Tabela 18. Korelacje pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego (wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu <sup>99m</sup> Tc-IL-2 w obrębie blaszki miażdżycowej) oraz wynikami oznaczeń biochemicznych opisujących gospodarkę wapniowo-fosforanową w przebadanej grupie osób z SNN. ....	82
Tabela 19. Średnie wartości stężeń fibrynogenu i kreatyniny w grupie osób leczonych DO oraz w grupie leczonej HD.. ....	85
Tabela 20. Korelacje pomiędzy klasycznymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych a wynikiem ilościowym badania scyntygraficznego z użyciem <sup>99m</sup> Tc-IL-2 w grupie pacjentów z SNN. ....	87
Tabela 21. Wartości informacyjne badania scyntygraficznego w detekcji blaszek miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych względem usg tętnic szyjnych .....	89

## 12. Spis rycin

- Rycina 1. Sposób obrysowywania ROI oraz obszaru poza blaszką (tło)..... 45
- Rycina 2. Zależność pomiędzy grubością kompleksu intima-media (IMT) w obrębie tętnicy szyjnej wspólnej a stosunkiem T/nT dla ogniskowego wychwytu..... 53
- Rycina 3. Porównanie średnich dla ogniskowego wychwytu  $^{123}\text{I}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych w grupie pacjentów, u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy w okresie obserwacji i w grupie pacjentów w której on nie wystąpił. .... 56
- Rycina 4. Wyniki badania scyntygraficznego, pomiaru CCA-IMT, BMI, oznaczonych parametrów biochemicznych oraz calcium score u 2 wybranych pacjentów z grupy osób u których wykonano badanie scyntygraficzne z użyciem  $^{123}\text{I}$ -IL-2 ..... 58
- Rycina 5. Przykładowe wyniki badań scyntygraficznych ..... 68
- Rycina 6. Wynik usg tętnic szyjnych (A) oraz wynik badania scyntygraficznego (B) u 51-letniego mężczyzny leczonego dializą otrzewnową. .... 69
- Rycina 7. Wyniki badań scyntygraficznych u pacjentów bez zmian miażdżycowych w obrębie naczyń szyjnych.....70
- Rycina 8. Różnice wartości wskaźnika T/nT dla wychwytu  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od obecności zwapnień w obrębie blaszek miażdżycowych w grupie pacjentów z SNN..... 72
- Rycina 9. Zależność pomiędzy poziomem hemoglobiny a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u dializowanych pacjentów. .... 74

- Rycina 10. Różnice wartości wskaźnika T/nT dla wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od wartości stężeń albuminy (tercyle) w grupie pacjentów z SNN. .... 75
- Rycina 11. Zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny w surowicy a wskaźnikiem T/nT ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN. .... 77
- Rycina 12. Zależność pomiędzy stężeniem ADMA w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN. .... 77
- Rycina 13. Różnice wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od wartości ADMA (tercyle) w grupie pacjentów z SNN. .... 78
- Rycina 14. Zależność pomiędzy stężeniem ApoB w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN. .... 80
- Rycina 15. Zależność pomiędzy stosunkiem stężeń ApoB/ApoA-I w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN. .... 80
- Rycina 16. Zależność pomiędzy stężeniem trójglicerydów w surowicy a wskaźnikiem T/nT dla ogniskowego wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych u pacjentów z SNN. .... 81
- Rycina 17. Różnice wartości wskaźnika T/nT dla wychwytu  $^{99m}\text{Tc-IL-2}$  w obrębie ścian tętnic szyjnych w zależności od wartości wskaźnika ApoB/ApoA-I (tercyle) w grupie pacjentów z SNN. .... 81

- Rycina 18. Średnie wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych w grupach pacjentów z SNN u których jednocześnie wystąpiły wartości hemoglobiny, albuminy i adiponektyny poniżej (marker 1) oraz powyżej mediany (brak markera)..... 83
- Rycina 19. Średnie wartości wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie ścian tętnic szyjnych w grupach pacjentów z SNN u których jednocześnie wystąpiły wartości ApoB, SCD40L i ADMA powyżej (marker 2) oraz poniżej mediany (brak markera). ..... 84
- Rycina 20. Wartości średnie wskaźnika T/nT dla ogniskowego wychwytu IL-2 w obrębie blaszek miażdżycowych u pacjentów leczonych dializą otrzewnową oraz hemodializowanych ( $p=0,209$ ). ..... 86



### 13. Piśmiennictwo

1. Ahmad J, Ahmed F, Siddiqui MA, Khan AR, Katyal P, Hameed B, Ahmad I. Inflammatory markers, insulin resistance and carotid intima-media thickness in North-Indian type 2 diabetic subjects. *J Assoc Physicians India*. 2007 Oct;55:693-9.
2. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, Borrico S, Gorlin R, Fuster V. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1988 Jul;12(1):56-62.
3. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, Libby. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler*. 1991;11:1223-30.
4. Aminbakhsh A, Mancini GB. Carotid intima-media thickness measurements: what defines an abnormality? A systematic review. *Clin Invest Med*. 1999 Aug;22(4):149-57.
5. Annovazzi A, Biancone L, Caviglia R, Chianelli M, Capriotti G, Mather SJ, Caprilli R, Pallone F, Scopinaro F, Signore A. 99mTc-interleukin-2 and (99m)Tc-HMPAO granulocyte scintigraphy in patients with inactive Crohn's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003 Mar;30(3):374-82.
6. Annovazzi A, Bonanno E, Arca M, D'Alessandria C, Marcoccia A, Spagnoli LG, Violi F, Scopinaro F, De Toma G, Signore A. 99mTc-interleukin-2 scintigraphy for the in vivo imaging of vulnerable atherosclerotic plaques. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006 Feb;33(2):117-26.
7. Arici M, Walls J. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int*. 2001 Feb;59(2):407-14.
8. Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part I: introduction and cytokines. *Circulation*. 2006 Feb 14;113(6):e72-5.
9. Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part II: acute-phase reactants and biomarkers of endothelial cell activation. *Circulation*. 2006 Feb 21;113(7):e152-5.
10. Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part III: biomarkers of oxidative stress and angiogenic growth factors. *Circulation*. 2006 Feb 28;113(8):e289-92.
11. Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part IV: matrix metalloproteinases and biomarkers of platelet activation. *Circulation*. 2006 Mar 7;113(9):e382-5.
12. Banyai M, Lupattelli G, Li SR, Pongratz S, Yang Q, Böck P, Angelberger P, Virgolini I. Comparison of iodine-123 low-density lipoprotein (LDL) and indium-111 LDL binding to mononuclear cells of healthy normolipemic controls and patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur J Nucl Med*. 1994 Jul;21(7):634-9.
13. Bartens W, Nauck M, Schollmeyer P, Wanner C. Elevated lipoprotein(a) and fibrinogen levels [corrected] increase the cardiovascular risk in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*. 1996 Jan-Feb;16(1):27-33. Erratum in: *Perit Dial Int* 1996 Mar-Apr;16(2):193.

14. Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R, Castro Cabezas M, Chapman MJ, Couture P, de Graaf J, Durrington PN, Faergeman O, Frohlich J, Furberg CD, Gagne C, Haffner SM, Humphries SE, Jungner I, Krauss RM, Kwiterovich P, Marcovina S, Packard CJ, Pearson TA, Reddy KS, Rosenson R, Sarrafzadegan N, Sniderman AD, Stalenhoef AF, Stein E, Talmud PJ, Tonkin AM, Walldius G, Williams KM. Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and in guiding therapy: report of the thirty-person/ten-country panel. *J Intern Med.* 2006 Mar;259(3):247-58.
15. Barter PJ, Rye KA. The rationale for using ApoA-I as a clinical marker of cardiovascular risk. *J Intern Med.* 2006 May;259(5):447-54.
16. Bates SM, Lister-James J, Julian JA, Taillefer R, Moyer BR, Ginsberg JS. Imaging characteristics of a novel technetium Tc 99m-labeled platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist in patients With acute deep vein thrombosis or a history of deep vein thrombosis. *Arch Intern Med.* 2003 Feb 24;163(4):452-6.
17. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, Ebrahim S, Faergeman O, Graham I, Mancia G, Manger Cats V, Orth-Gomér K, Perk J, Pyörälä K, Rodicio JL, Sans S, Sansoy V, Sechtem U, Silber S, Thomsen T, Wood D; Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J.* 2003 Sep;24(17):1601-10.
18. Beddhu S, Pappas LM, Ramkumar N, Samore M. Effects of body size and body composition on survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Sep;14(9):2366-72.
19. 314. Benedetto FA, Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Rate of atherosclerotic plaque formation predicts cardiovascular events in ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2008 Apr;19(4):757-63
20. Biswas S, Ghoshal PK, Mandal SC, Mandal N. Association of low-density lipoprotein particle size and ratio of different lipoproteins and apolipoproteins with coronary heart disease. *J Cardiol.* 2008 Oct;52(2):118-26.
21. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis.* 1998 Apr;31(4):607-17.
22. Bonithon-Kopp C, Touboul PJ, Berr C, et al. Relation of intima-media thickness to atherosclerotic plaques in carotid arteries. The Vascular Aging (EVA) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:310–16.
23. Brauner A, Hylander B, Jacobson SH, Moshfegh A, Lundahl J. Increased expression of CD25 and HLA-DR on lymphocytes recruited into the peritoneal cavity in non-infected CAPD patients. *Inflammation.* 2001 Dec;25(6):399-404.
24. Broisat A, Riou LM, Ardisson V, Boturyn D, Dumy P, Fagret D, Ghezzi C. Molecular imaging of vascular cell adhesion molecule-1 expression in experimental atherosclerotic plaques with radiolabelled B2702-p. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2007 Jun;34(6):830-40.
25. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336:1276-82.
26. Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Kilic S, Sonmez A, Eyiletten T, Yenicesu M, Oguz Y, Tasar M, Vural A, Ikizler TA, Stenvinkel P, Lindholm B. Serum fetuin-a

concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract.* 2008;108(3):c233-40.

27. Carrió I, Pieri PL, Narula J, Prat L, Riva P, Pedrini L, Pretolani E, Caruso G, Sarti G, Estorch M, Berná L, Riambau V, Matías-Guiu X, Pak C, Ditlow C, Chen F, Khaw BA Noninvasive localization of human atherosclerotic lesions with indium 111-labeled monoclonal Z2D3 antibody specific for proliferating smooth muscle cells. *J Nucl Cardiol.* 1998 Nov-Dec;5(6):551-7.
28. Chang MY, Lees AM, Lees RS. Time course of <sup>125</sup>I-labeled LDL accumulation in the healing, balloon-deendothelialized rabbit aorta. *Arterioscler Thromb.* 1992 Sep;12(9):1088-98.
29. Chianelli M, Mather SJ, Grossman A, Sobnak R, Fritzberg A, Britton KE, Signore A. (99m)Tc-interleukin-2 scintigraphy in normal subjects and in patients with autoimmune thyroid diseases: a feasibility study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2008 Dec;35(12):2286-93.
30. Chiang CK, Hsu SP, Pai MF, Peng YS, Ho TI, Liu SH, Hung KY, Tsai TJ. Interleukin-18 is a strong predictor of hospitalization in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2004 Nov;19(11):2810-5.
31. Chmielewski M, Carrero JJ, Qureshi AR, Axelsson J, Heimbürger O, Berglund L, Bárány P, Rutkowski B, Lindholm B, Stenvinkel P. Temporal discrepancies in the association between the ApoB/ApoA-I ratio and mortality in incident dialysis patients. *J Intern Med.* 2009 Jun;265(6):708-16.
32. Corson MA, James NL, Latta SE, et al: Phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase in response to fluid shear stress. *Circ Res* 1996;79:984-991.
33. Culleton BF, Larson MG, Evans JC, Wilson PW, Barrett BJ, Parfrey PS, Levy D. Prevalence and correlates of elevated serum creatinine levels: the Framingham Heart Study. *Arch Intern Med.* 1999 Aug 9-23;159(15):1785-90.
34. Cupini LM, Pasqualetti P, Diemedi M, et al. Carotid artery intima-media thickness and lacunar versus nonlacunar infarcts. *Stroke* 2002;33:689–942.
35. D'Agostino RB, Kannel WB, Belanger AJ, Sytkowski PA. Trends in CHD and risk factors at age 55-64 in the Framingham Study. *Int J Epidemiol.* 1989;18(3 Suppl 1):S67-72.
36. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(suppl III):27-32.
37. Davies MJ, Woolf N, Rowles P, Richardson PD. Lipid and cellular constituents of unstable human aortic plaques. *Basic Res Cardiol* 1994; 89(suppl 1):33-9.
38. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction. Testing and clinical relevance. *Circulation* 2007;115:1285-1295.
39. Demacker PN, Dormans TP, Koenders EB, Corstens FH. Evaluation of indium-111-polyclonal immunoglobulin G to quantitate atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits with scintigraphy: effect of age and treatment with antioxidants or ethinylestradiol. *J Nucl Med.* 1993 Aug;34(8):1316-21.
40. Drechsler C, Krane V, Winkler K, Dekker FW, Wanner C. Changes in adiponectin and the risk of sudden death, stroke, myocardial infarction, and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2009 Sep;76(5):567-75.
41. Eaker ED. Psychosocial risk factors for coronary heart disease in women. *Cardiol Clin.* 1998 Feb;16(1):103-11.

42. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: The British Regional Heart Study. *Stroke* 1999;30:841–50.
43. Eckel RH. Obesity and heart disease: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation*. 1997 Nov 4;96(9):3248-50.
44. Eigenbrodt ML, Bursac Z, Tracy RE, Mehta JL, Rose KM, Couper DJ. B-mode ultrasound common carotid artery intima-media thickness and external diameter: cross-sectional and longitudinal associations with carotid atherosclerosis in a large population sample. *Cardiovasc Ultrasound*. 2008 Mar 5;6:10.
45. Farb A, Weber DK, Kolodgie FD, Burke AP, Virmani R. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. *Circulation*. 2002 Jun 25;105(25):2974-80.
46. Fletcher GF, Balady G, Blair SN, Blumenthal J, Caspersen C, Chaitman B, Epstein S, Sivarajan Froelicher ES, Froelicher VF, Pina IL, Pollock ML. Statement on exercise: benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans. A statement for health professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation*. 1996 Aug 15;94(4):857-62.
47. Font MA, Fernandez A, Carvajal A, Gamez C, Badimon L, Slevin M, Krupinski J. Imaging of early inflammation in low-to- moderate carotid stenosis by 18-FDG-PET. *Front Biosci*. 2009 Jan 1;14:3352-60.
48. Freund KM, Belanger AJ, D'Agostino RB, Kannel WB. The health risks of smoking. The Framingham Study: 34 years of follow-up. *Ann Epidemiol*. 1993 Jul;3(4):417-24.
49. Fujimura Y, Hwang PM, Trout Iii H, Kozloff L, Imaizumi M, Innis RB, Fujita M. Increased peripheral benzodiazepine receptors in arterial plaque of patients with atherosclerosis: An autoradiographic study with [(3)H]PK 11195. *Atherosclerosis*. 2008 Nov;201(1):108-11.
50. Fuster V, Fayad ZA, Moreno PR, Poon M, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: Part II: approaches by noninvasive computed tomographic/magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Oct 4;46(7):1209-18.
51. Gadeau AP, Chaulet H, Daret D, Kockx M, Daniel-Lamazière JM, Desgranges C. Time course of osteopontin, osteocalcin, and osteonectin accumulation and calcification after acute vessel wall injury. *J Histochem Cytochem*. 2001 Jan;49(1):79-86.
52. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987 May 28;316(22):1371-5.
53. Govers R, Rabelink TJ. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;280:F193-F206.
54. de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, Kastelein JJ. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):II33-8
55. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SC Jr, Sowers JR. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for

- healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999 Sep 7;100(10):1134-46.
56. Haider N, Hartung D, Fujimoto S, Petrov A, Kolodgie FD, Virmani R, Ohshima S, Liu H, Zhou J, Fujimoto A, Tahara A, Hofstra L, Narula N, Reutelingsperger C, Narula J. Dual molecular imaging for targeting metalloproteinase activity and apoptosis in atherosclerosis: molecular imaging facilitates understanding of pathogenesis. *J Nucl Cardiol*. 2009 Sep-Oct;16(5):753-62.
  57. Handschin AE, Trentz OA, Hemmi S, Wedler V, Trentz O, Giovanoli P, Wanner GA. Leptin increases extracellular matrix mineralization of human osteoblasts from heterotopic ossification and normal bone. *Ann Plast Surg*. 2007 Sep;59(3):329-33.
  58. Hartung D, Petrov A, Haider N, Fujimoto S, Blankenberg F, Fujimoto A, Virmani R, Kolodgie FD, Strauss HW, Narula J. Radiolabeled Monocyte Chemoattractant Protein 1 for the detection of inflammation in experimental atherosclerosis. *J Nucl Med*. 2007 Nov;48(11):1816-21.
  59. Higgins M, Kannel W, Garrison R, Pinsky J, Stokes J 3rd. Hazards of obesity--the Framingham experience. *Acta Med Scand Suppl*. 1988;723:23-36.
  60. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Lindholm B. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis*. 2006 Jan;47(1):139-48.
  61. Hory B, Racadot E, Saint-Hillier Y, Peters A, Perol C. Soluble interleukin-2 receptors in chronic renal failure. *Am J Nephrol* 1991; 11: 276-80.
  62. Hoyer KK, Dooms H, Barron L, Abbas AK. Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease. *Immunol Rev*. 2008 Dec;226:19-28.
  63. Iuliano L, Signore A, Vallabajosula S, Colavita AR, Camastra C, Ronga G, Alessandri C, Sbarigia E, Fiorani P, Violi F. Preparation and biodistribution of 99m technetium labelled oxidized LDL in man. *Atherosclerosis*. 1996 Sep 27;126(1):
  64. Iseki K, Yamazato M, Tozawa M, Takishita S. Hypocholesterolemia is a significant predictor of death in a cohort of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002 May;61(5):1887-93
  65. Jaffer FA, Libby P, Weissleder R. Optical and multimodality molecular imaging: insights into atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009 Jul;29(7):1017-24.
  66. Johnson LL, Schofield L, Donahay T, Narula N, Narula J. 99mTc-annexin V imaging for in vivo detection of atherosclerotic lesions in porcine coronary arteries *J Nucl Med*. 2005 Jul;46(7):1186-93.
  67. Johnson LL, Schofield LM, Weber DK, Kolodgie F, Virmani R, Khaw BA. Uptake of 111In-Z2D3 on SPECT imaging in a swine model of coronary stent restenosis correlated with cell proliferation. *J Nucl Med*. 2004 Feb;45(2):294-9
  68. Jonasson L, Holm J, Skali O et al., Regional accumulation of T cells, macrophages and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 131-8.
  69. Juul K, Nielsen LB, Munkholm K, Stender S, Nordestgaard BG. Oxidation of plasma low-density lipoprotein accelerates its accumulation and degradation in the arterial wall in vivo. *Circulation*. 1996;94:1698-1704.
  70. Kannel WB, Belanger A, D'Agostino R, Israel I. Physical activity and physical demand on the job and risk of cardiovascular disease and death: the Framingham Study. *Am Heart J*. 1986 Oct;112(4):820-5.

71. Kannel WB, Dawber TR, McGee DL. Perspectives on systolic hypertension. The Framingham study. *Circulation*. 1980 Jun;61(6):1179-82.
72. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. *Diabetes Care*. 1979 Mar-Apr;2(2):120-6.
73. Kawagishi T, Nishizawa Y, Konishi T, Kawasaki K, Emoto M, Shoji T, Tabata T, Inoue T, Morii H. High-resolution B-mode ultrasonography in evaluation of atherosclerosis in uremia. *Kidney Int*. 1995 Sep;48(3):820-6.
74. Kerschdorfer L, König P, Neyer U, Bösmüller C, Lhotta K, Auinger M, Hohenegger M, Riegler P, Margreiter R, Utermann G, Dieplinger H, Kronenberg F. Lipoprotein(a) plasma concentrations after renal transplantation: a prospective evaluation after 4 years of follow-up. *Atherosclerosis*. 1999 Jun;144(2):381-91.
75. Kervinen H, Mänttari M, Kaartinen M, Mäkynen H, Palosuo T, Pulkki K, Kovanen PT. Prognostic usefulness of plasma monocyte/macrophage and T-lymphocyte activation markers in patients with acute coronary syndromes. *Am J Cardiol*. 2004 Oct 15;94(8):993-6.
76. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schäffer J, Barbey M, Koch KM, Frölich JC. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol*. 1999 Mar;10(3): 594-600.
77. Kietselaer BL, Reutelingsperger CP, Heidendal GA, Daemen MJ, Mess WH, Hofstra L, Narula J. Noninvasive detection of plaque instability with use of radiolabeled annexin A5 in patients with carotid-artery atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2004 Apr 1;350(14):1472-3.
78. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, Cruz I, Yanovski JA, Veis JH. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 236-244.
79. King KB. Psychologic and social aspects of cardiovascular disease. *Ann Behav Med*. 1997 Summer;19(3):264-70.
80. Kinlay S, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease and implications for therapy. *Am J Cardiol*. 1997 Nov 6;80(9A):111-161.
81. Kircher MF, Grimm J, Swirski FK, Libby P, Gerszten RE, Allport JR, Weissleder R. Noninvasive in vivo imaging of monocyte trafficking to atherosclerotic lesions. *Circulation*. 2008 Jan 22;117(3):388-95.
82. Kitamura A, Iso H, Imano H, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004;35:2788–94.
83. Knoflach M, Kiechl S, Kind M, Said M, Sief R, Gisinger M, van der Zee R, Gaston H, Jarosch E, Willeit J, Wick G. Cardiovascular risk factors and atherosclerosis in young males: ARMY study (Atherosclerosis Risk-Factors in Male Youngsters). *Circulation*. 2003 Sep 2;108(9):1064-9.
84. Kockx MM, De Meyer GR, Buysens N, Knaapen MW, Bult H, Herman AG. Cell composition, replication, and apoptosis in atherosclerotic plaques after 6 months of cholesterol withdrawal. *Circ Res*. 1998 Aug 24;83(4):378-87.
85. Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, Jacob W, Bult H, Herman AG. Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation*. 1998 Jun 16;97(23):2307-15.

86. Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Gold HK, Yuan J, Narula J, Finn AV, Virmani R. The thin cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque The major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* 2001; 16: 285-92.
87. Kolodgie FD, Petrov A, Virmani R, Narula N, Verjans JW, Weber DK, Hartung D, Steinmetz N, Vanderheyden JL, Vannan MA, Gold HK, Reutelingsperger CP, Hofstra L, Narula J. Targeting of apoptotic macrophages and experimental atheroma with radiolabeled annexin V: a technique with potential for noninvasive imaging of vulnerable plaque. *Circulation*. 2003 Dec 23;108(25):3134-9.
88. Kollerits B, Fliser D, Heid IM, Ritz E, Kronenberg F; MMKD Study Group. Gender-specific association of adiponectin as a predictor of progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease Study. *Kidney Int*. 2007 Jun;71(12):1279-86.
89. Koziol-Montewka, M., Ksiazek, A., Janicka, L., Baranowicz I. Serial cytokine changes in peritoneal effluent and plasma during peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Inflamm Res*. 1997 Apr;46(4):132-6.
90. Kritz H, Rodrigues M, Sinzinger H. [Imaging of early carotid artery atherosclerotic lesions with 111In-labeled polyelonalhuman IgG (HIG)] *Nuklearmedizin*. 1997 Dec;36(8):270-5. [Article in German]
91. Kubo T, Imanishi T, Takarada S, Kuroi A, Ueno S, Yamano T, Tanimoto T, Matsuo Y, Masho T, Kitabata H, Tsuda K, Tomobuchi Y, Akasaka T. Assessment of culprit lesion morphology in acute myocardial infarction: ability of optical coherence tomography compared with intravascular ultrasound and coronary angiography. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50(10):933-9.
92. Kubota R, Kubota K, Yamada S, Tada M, Ido T, Tamahashi N. Microautoradiographic study for the differentiation of intratumoral macrophages, granulation tissues and cancer cells by the dynamics of fluorine-18-fluorodeoxyglucose uptake. *J Nucl Med*. 1994 Jan;35(1):104-12.
93. Kuźniar J, Porazko T, Klinger M. Relationship between fetuin-A concentration, elevated levels of inflammatory markers, and arterial wall stiffness in end-stage kidney disease. *J Ren Nutr*. 2008 Jan;18(1):83-6.
94. Kullo IJ, Edwards WD, Schwartz RS. Vulnerable plaque: pathobiology and clinical implications. *Ann Intern Med*. 1998 Dec 15;129(12):1050-60.
95. Lees AM, Lees RS, Schoen FJ, Isaacsohn JL, Fischman AJ, McKusick KA, Strauss HW. Imaging human atherosclerosis with 99mTc-labeled low density lipoproteins. *Arteriosclerosis*. 1988 Sep-Oct;8(5):461-70.
96. Leong T, Zylberstein D, Graham I, Lissner L, Ward D, Fogarty J, Bengtsson C, Björkelund C, Thelle D; Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 May;28(5):961-7.
97. Lendon CL, Davies MJ, Born GVR, Richardson PD. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophage density is increased. *Atherosclerosis* 1991; 87: 87-91.
98. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 1995 Jun 1;91(11):2844-50.
99. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, Kutcher MA, Burrows MT, Kahl FR, Santamore WP. Can coronary angiography predict the site of a subsequent

- myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation*. 1988 Nov;78(5 Pt 1):1157-66.
100. Lister-James J, Knight LC, Maurer AH, Bush LR, Moyer BR, Dean RT. Thrombus imaging with a technetium-99m-labeled activated platelet receptor-binding peptide. *J Nucl Med*. 1996 May;37(5):775-81.
  101. Liu Y, Coresh J, Eustace JA, Longenecker JC, Jaar B, Fink NE, Tracy RP, Powe NR, Klag MJ.: Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *JAMA*, 2004, 291,451-459.
  102. Malek TR, The main function of IL-2 is to promote the development of T regulatory cells *J. Leukoc. Biol*. 2003 74: 961–965.
  103. Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007 Jan 30;115(4):459-67.
  104. Matsumoto Y, Ueda S, Yamagishi S, Matsuguma K, Shibata R, Fukami K, Matsuoka H, Imaizumi T, Okuda S. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase prevents progression of renal dysfunction by inhibiting loss of peritubular capillaries and tubulointerstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2007 May;18(5):1525-33.
  105. Matter CM, Schuler PK, Alessi P, Meier P, Ricci R, Zhang D, Halin C, Castellani P, Zardi L, Hofer CK, Montani M, Neri D, Lüscher TF. Molecular imaging of atherosclerotic plaques using a human antibody against the extra-domain B of fibronectin. *Circ Res*. 2004 Dec 10;95(12):1225-33.
  106. Menon V, Greene T, Wang X, Pereira AA, Marcovina SM, Beck GJ, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2005 Aug;68(2):766-72.
  107. Menon V, Li L, Wang X, Greene T, Balakrishnan V, Madero M, Pereira AA, Beck GJ, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. Adiponectin and mortality in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Sep;17(9):2599-606.
  108. Mettinger KL, Larsson S, Ericson K, Casseborn S. Detection of atherosclerotic plaques in carotid arteries by the use of 123I-fibrinogen. *Lancet*. 1978 Feb 4;1(8058):242-4.
  109. McKay CR, Shavelle DM Intravascular ultrasound in the coronary arteries. *Semin Vasc Surg*. 2006 Sep;19(3):132-8.
  110. Minar E, Ehringer H, Dudczak R, Schöfl R, Jung M, Koppensteiner R, Ahmadi R, Kretschmer G. Indium-111-labeled platelet scintigraphy in carotid atherosclerosis. *Stroke*. 1989 Jan;20(1):27-33.
  111. Moriwaki H, Matsumoto M, Handa N, Isaka Y, Hashikawa K, Oku N, Nakamura M, Kamada T, Nishimura T. Functional and anatomic evaluation of carotid atherothrombosis. A combined study of indium 111 platelet scintigraphy and B-mode ultrasonography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995 Dec;15(12):2234-40.
  112. Motoyama S, Kondo T, Anno H, Sugiura A, Ito Y, Mori K, Ishii J, Sato T, Inoue K, Sarai M, Hishida H, Narula J. Atherosclerotic plaque characterization by 0.5-mm-slice multislice computed tomographic imaging. *Circ J*. 2007 Mar;71(3):363-6.
  113. Nagai Y, Kitagawa K, Sakaguchi M, et al. Significance of earlier carotid atherosclerosis for stroke subtypes. *Stroke* 2001;32:1780–85.



114. Nahrendorf M, Zhang H, Hembrador S, Panizzi P, Sosnovik DE, Aikawa E, Libby P, Swirski FK, Weissleder R. Nanoparticle PET-CT imaging of macrophages in inflammatory atherosclerosis. *Circulation*. 2008 Jan 22;117(3):379-87.
115. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, Badimon JJ, Stefanadis C, Moreno P, Pasterkamp G, Fayad Z, Stone PH, Waxman S, Raggi P, Madjid M, Zarrabi A, Burke A, Yuan C, Fitzgerald PJ, Siscovick DS, de Korte CL, Aikawa M, Airaksinen KE, Assmann G, Becker CR, Chesebro JH, Farb A, Galis ZS, Jackson C, Jang IK, Koenig W, Lodder RA, March K, Demirovic J, Navab M, Priori SG, Rekhater MD, Bahr R, Grundy SM, Mehran R, Colombo A, Boerwinkle E, Ballantyne C, Insull W Jr, Schwartz RS, Vogel R, Serruys PW, Hansson GK, Faxon DP, Kaul S, Drexler H, Greenland P, Muller JE, Virmani R, Ridker PM, Zipes DP, Shah PK, Willerson JT. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*. 2003 Oct 7;108(14):1664-72.
116. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, Badimon JJ, Stefanadis C, Moreno P, Pasterkamp G, Fayad Z, Stone PH, Waxman S, Raggi P, Madjid M, Zarrabi A, Burke A, Yuan C, Fitzgerald PJ, Siscovick DS, de Korte CL, Aikawa M, Airaksinen KE, Assmann G, Becker CR, Chesebro JH, Farb A, Galis ZS, Jackson C, Jang IK, Koenig W, Lodder RA, March K, Demirovic J, Navab M, Priori SG, Rekhater MD, Bahr R, Grundy SM, Mehran R, Colombo A, Boerwinkle E, Ballantyne C, Insull W Jr, Schwartz RS, Vogel R, Serruys PW, Hansson GK, Faxon DP, Kaul S, Drexler H, Greenland P, Muller JE, Virmani R, Ridker PM, Zipes DP, Shah PK, Willerson JT. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. *Circulation*. 2003 Oct 14;108(15):1772-8.
117. Nahrendorf M, Jaffer FA, Kelly KA, Sosnovik DE, Aikawa E, Libby P, Weissleder R. Noninvasive vascular cell adhesion molecule-1 imaging identifies inflammatory activation of cells in atherosclerosis. *Circulation*. 2006 Oct 3;114(14):1504-11.
118. Naqvi TZ. Ultrasound vascular screening for cardiovascular risk assessment. Why, when and how? *Minerva Cardioangiol*. 2006 Feb;54(1):53-67.
119. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, Witko-Sarsat V, Drüeke TB, Lacour B, Thévenin M.: Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2001, 16: 335-340.
120. Nishizawa Y, Shoji T, Maekawa K, Nagasue K, Okuno S, Kim M, Emoto M, Ishimura E, Nakatani T, Miki T, Inaba M. Intima-media thickness of carotid artery predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2003 Mar;41(3 Suppl 1):S76-9.
121. Nishida M, Moriyama T, Ishii K, Takashima S, Yoshizaki K, Sugita Y, Yamauchi-Takahara K. Effects of IL-6, adiponectin, CRP and metabolic syndrome on subclinical atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2007 Sep;384(1-2):99-104.
122. Nobuyoshi M, Tanaka M, Nosaka H, Kimura T, Yokoi H, Hamasaki N, Kim K, Shindo T, Kimura K. Progression of coronary atherosclerosis: is coronary spasm related to progression? *J Am Coll Cardiol*. 1991 Oct;18(4):904-10.
123. Ohtsuki K, Hayase M, Akashi K, Kapiwoda S, Strauss HW. Detection of monocyte chemoattractant protein-1 receptor expression in experimental atherosclerotic lesions: an autoradiographic study. *Circulation*. 2001 Jul 10;104(2):203-8.

124. Orditura M, De Vita F, Roscigno A, Auriemma A, Infusino S, Catalano G. Soluble interleukin-2 receptor and soluble CD8 antigen levels in serum from patients with solid tumors. *Int J Mol Med*. 1998 Jul;2(1):75-9.
125. Ordoñez JD, Hiatt RA, Killebrew EJ, Fireman BH. The increased risk of coronary heart disease associated with nephrotic syndrome. *Kidney Int*. 1993 Sep;44(3):638-42.
126. Parfrey PS, Harnett JD, Foley RN. Heart failure and ischemic heart disease in chronic uremia. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1995 Mar;4(2):105-10.
127. Parhami F, Morrow AD, Balucan J, Leitinger N, Watson AD, Tintut Y, Berliner JA, Demer LL. Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation. A possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Apr;17(4):680-7
128. Pasterkamp G, Schoneveld AH, van der Wal AC, Haudenschild CC, Clarijs RJ, Becker AE, Hillen B, Borst C. Relation of arterial geometry to luminal narrowing and histologic markers for plaque vulnerability: the remodeling paradox. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Sep;32(3):655-62.
129. Pasterkamp G, Wensing PJ, Post MJ, Hillen B, Mali WP, Borst C. Paradoxical arterial wall shrinkage may contribute to luminal narrowing of human atherosclerotic femoral arteries. *Circulation*. 1995 Mar 1;91(5):1444-9.
130. Persson J, Stavenow L, Wikstrand J, Israelsson B, Formgren J, Berglund G. Noninvasive quantification of atherosclerotic lesions. Reproducibility of ultrasonographic measurement of arterial wall thickness and plaque size. *Arterioscler Thromb*. 1992 Feb;12(2):261-6.
131. Pocock SJ, McCormack V, Gueyffier F, Boutitie F, Fagard RH, Boissel JP. A score for predicting risk of death from cardiovascular disease in adults with raised blood pressure, based on individual patient data from randomised controlled trials. *BMJ*. 2001 Jul 14;323(7304):75-81
132. Proudfoot D, Davies JD, Skepper JN, Weissberg PL, Shanahan CM. Acetylated low-density lipoprotein stimulates human vascular smooth muscle cell calcification by promoting osteoblastic differentiation and inhibiting phagocytosis. *Circulation*. 2002 Dec 10;106(24):3044-50.
133. Quaschnig T, Krane V, Metzger T, Wanner C. Abnormalities in uremic lipoprotein metabolism and its impact on cardiovascular disease. *Am J Kidney Dis*. 2001 Oct;38(4 Suppl 1).
134. Raines EW. PDGF and cardiovascular disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2004 Aug;15(4):237-54.
135. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, Chertow GM. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol*. 2002 Feb 20;39(4):695-701
136. Rennenberg RJ, Kessels AG, Schurgers LJ, van Engelshoven JM, de Leeuw PW, Kroon AA. Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: A meta analysis *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5(1):185-97.
137. Roberts AB., Molecular and cell biology of TGF-beta. *Miner Electrolyte Metab*. 1998;24(2-3):111-9.
138. Rudd JH, Warburton EA, Fryer TD, Jones HA, Clark JC, Antoun N, Johnström P, Davenport AP, Kirkpatrick PJ, Arch BN, Pickard JD, Weissberg PL. Imaging

- atherosclerotic plaque inflammation with [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation*. 2002 Jun 11;105(23):2708-11.
139. Sabaté M, Kay IP, de Feyter PJ, van Domburg RT, Deshpande NV, Ligthart JM, Gijzel AL, Wardeh AJ, Boersma E, Serruys PW. Remodeling of atherosclerotic coronary arteries varies in relation to location and composition of plaque. *Am J Cardiol*. 1999 Jul 15;84(2):135-40.
  140. Sabino AP, De Oliveira Sousa M, Lima LM, Ribeiro DD, Dusse LM, Carvalho MD, Fernandes AP. ApoB/ApoA-I ratio in young patients with ischemic cerebral stroke or peripheral arterial disease *Transl Res*. 2008 Sep;152(3):113-8.
  141. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. 1993 Mar;87(3 Suppl):II56-65.
  142. Schäfers M, Riemann B, Kopka K, Breyholz HJ, Wagner S, Schäfers KP, Law MP, Schober O, Levkau B. Scintigraphic imaging of matrix metalloproteinase activity in the arterial wall in vivo. *Circulation*. 2004 Jun 1;109(21):2554-9.
  143. Schildkraut JM, Myers RH, Cupples LA, Kiely DK, Kannel WB. Coronary risk associated with age and sex of parental heart disease in the Framingham Study. *Am J Cardiol*. 1989 Sep 15;64(10):555-9
  144. Schmermund A, Baumgart D, Möhlenkamp S, Kriener P, Pump H, Grönemeyer D, Seibel R, Erbel R. Natural history and topographic pattern of progression of coronary calcification in symptomatic patients: An electron-beam CT study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Mar;21(3):421-6
  145. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, Crowe TD, Nissen SE, Tuzcu EM. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes : an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2000 Feb 15;101(6):598-603.
  146. Schwartz RS, Bayes-Genis A, Lesser JR, Sangiorgi M, Henry TD, Conover CA. Detecting vulnerable plaque using peripheral blood: inflammatory and cellular markers. *J Interv Cardiol*. 2003 Jun;16(3):231-42
  147. Selwyn AP, Kinlay S, Creager M, Libby P, Ganz P. Cell dysfunction in atherosclerosis and the ischemic manifestations of coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1997 Mar 6;79(5A):17-23.
  148. Shahab I, Nolph KD. MIA syndrome in peritoneal dialysis: prevention and treatment. *Contrib Nephrol*. 2006;150:135-43.
  149. Shaw PX, Hörkkö S, Tsimikas S, Chang MK, Palinski W, Silverman GJ, Chen PP, Witztum JL. Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesions in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Aug;21(8):1333-9.
  150. Shea S, Cook EF, Kannel WB, Goldman L. Treatment of hypertension and its effect on cardiovascular risk factors: data from the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1985 Jan;71(1):22-30.
  151. Signore A, Chianelli M, Annovazzi A, Rossi M, Maiuri L, Greco M, Ronga G, Britton KE, Picarelli A. Imaging active lymphocytic infiltration in coeliac disease with iodine-123-interleukin-2 and the response to diet. *Eur J Nucl Med*. 2000 Jan;27(1):18-24
  152. Simon AD, Yazdani S, Wang W, Schwartz A and Rabbani LE. Elevated plasma levels of interleukin-2 and soluble IL-2 receptor in ischemic heart disease. *Clin Cardiol* 2001, 24:253-256.

153. Silverstein DM. Inflammation in chronic kidney disease: role in the progression of renal and cardiovascular disease. *Pediatr Nephrol*. 2009 Aug;24(8):1445-52.
154. Stauber DJ, Debler EW, Horton PA, Smith KA, Wilson IA. Crystal structure of the IL-2 signaling complex: paradigm for a heterotrimeric cytokine receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Feb 21;103(8):2788-93.
155. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 36-40
156. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant*. 2000 Jul;15(7):953-60.
157. Takamatsu T, Yasuda N, Ohno T, Kanoh T, Uchino H, Fujisawa A. Soluble interleukin-2 receptors in the serum of patients with chronic renal failure. *Tohoku J Exp Med*. 1988; 155: 343–7.
158. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, et al. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997;95:1119–1121.
159. Takemasa A, Yorioka N, Oda H, Amimoto D, Ito T, Yamakido M. Mechanism of Increased Serum Soluble Interleukin-2 Receptor Levels in Patients on Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis, *Scand J Urol Nephrol* (2001)35: 141–146.
160. Taylor AJ, Burke AP, O'Malley PG, Farb A, Malcom GT, Smialek J, Virmani R. A comparison of the Framingham risk index, coronary artery calcification, and culprit plaque morphology in sudden cardiac death. *Circulation*. 2000 Mar 21;101(11):1243-8
161. Toussaint ND, Kerr PG. Vascular calcification and arterial stiffness in chronic kidney disease: implications and management. *Nephrology (Carlton)*. 2007 Oct;12(5):500-9.
162. Tirosh A, Rudich A, Shochat T, Tekes-Manova D, Israeli E, Henkin Y, Kochba I, Shai I. Changes in triglyceride levels and risk for coronary heart disease in young men. *Ann Intern Med*. 2007 Sep 18;147(6):377-85.
163. Tonbul HZ, Demir M, Altintepe L, Güney I, Ekrem Y, Türk S, Yeksan M, Yildiz A. Malnutrition-inflammation-atherosclerosis (MIA) syndrome components in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Ren Fail*. 2006;28(4):287-94.
164. Touboul PJ, Elbaz A, Koller C, et al. Common carotid artery intima-media thickness and brain infarction: the Etude du Profil Genetique de l'Infarctus Cerebral (GENIC) case-control study: the GENIC Investigators. *Circulation* 2000;102:313–18.
165. Touboul PJ, Labreuche J, Vicaute E, et al. GENIC Investigators. Carotid intima-media thickness, plaques, and Framingham risk score as independent determinants of stroke risk. *Stroke* 2005;36:1741–45.
166. Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Mar;16 Suppl 1:S83-8.
167. Tsimikas S. Noninvasive imaging of oxidized low-density lipoprotein in atherosclerotic plaques with tagged oxidation-specific antibodies. *Am J Cardiol*. 2002 Nov 21;90(10C):22L-27L.

168. Tsimikas S, Shortal BP, Witztum JL, Palinski W. In vivo uptake of radiolabeled MDA2, an oxidation-specific monoclonal antibody, provides an accurate measure of atherosclerotic lesions rich in oxidized LDL and is highly sensitive to their regression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Mar;20(3):689-97.
169. Undas A, Kolarz M, Kopeć G, Tracz W. Altered fibrin clot properties in patients on long-term haemodialysis: relation to cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Jun;23(6):2010-5
170. Uzun H, Konukoglu D, Besler M, Erdenen F, Sezgin C, Muderrisoglu C. The effects of renal replacement therapy on plasma, asymmetric dimethylarginine, nitric oxide and C-reactive protein levels. *Clin Invest Med.* 2008;31(1):E1-7.
171. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet.* 1992 Mar 7;339(8793): 572-5.
172. Varnava AM, Mills PG, Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. *Circulation.* 2002 Feb 26;105(8):939-43.
173. Vanholder R, Massy Z, Argiles A, Spasovski G, Verbeke F, Lameire N; European Uremic Toxin Work Group. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant.* 2005 Jun;20(6):1048-56.
174. Vaziri ND. Dyslipidemia of chronic renal failure: the nature, mechanisms, and potential consequences. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006 Feb;290(2):F262-72.
175. Wagner S, Breyholz HJ, Faust A, Hölzke C, Levkau B, Schober O, Schäfers M, Kopka K. Molecular imaging of matrix metalloproteinases in vivo using small molecule inhibitors for SPECT and PET. *Curr Med Chem.* 2006;13(23):2819-38.
176. Wagner S, Breyholz HJ, Hölzke C, Faust A, Schober O, Schäfers M, Kopka K. A new <sup>18</sup>F-labelled derivative of the MMP inhibitor CGS 27023A for PET: radiosynthesis and initial small-animal PET studies. *Appl Radiat Isot.* 2009 Apr;67(4):606-10.
177. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein A-I versus HDL cholesterol in the prediction of risk for myocardial infarction and stroke. *Curr Opin Cardiol.* 2007 Jul;22(4):359-67.
178. Walldius G, Jungner I. Is there a better marker of cardiovascular risk than LDL cholesterol? Apolipoproteins B and A-I--new risk factors and targets for therapy. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007 Oct;17(8):565-71.
179. Walz G, Kunzendorf U, Josimovic-Alasevic O, Preuschoff L, Schwarz A, Keller F, Asmus G, Offermann G, Diamantstein T, Distler A. Soluble interleukin 2 receptor and tissue polypeptide antigen serum concentrations in end-stage renal failure. *Nephron* 1990; 56: 157–61.
180. Wexler L, Brundage B, Crouse J, Detrano R, Fuster V, Maddahi J, Rumberger J, Stanford W, White R, Taubert K. Coronary artery calcification: pathophysiology, epidemiology, imaging methods, and clinical implications. A statement for health professionals from the American Heart Association. Writing Group. *Circulation.* 1996 Sep 1;94(5):1175-92.
181. Williams G, Kolodny GM. Retrospective study of coronary uptake of <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose in association with calcification and coronary artery disease: a preliminary study. *Nucl Med Commun.* 2009 Apr;30(4):287-91.
182. Wigginton JM, Wiltrout RH. IL-12/IL-2 combination cytokine therapy for solid tumours: translation from bench to bedside. *Expert Opin Biol Ther.* 2002 Jun;2(5):513-24

183. Wilson PW, Christiansen JC, Anderson KM, Kannel WB. Impact of national guidelines for cholesterol risk factor screening. The Framingham Offspring Study. *JAMA*. 1989 Jul 7;262(1):41-4.
184. Wilson PW, Garrison RJ, Castelli WP, Feinleib M, McNamara PM, Kannel WB. Prevalence of coronary heart disease in the Framingham Offspring Study: role of lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol*. 1980 Oct;46(4):649-54.
185. Wolf PA, D'Agostino RB, Kannel WB, Bonita R, Belanger AJ. *JAMA*. Cigarette smoking as a risk factor for stroke. The Framingham Study. 1988 Feb 19;259(7):1025-9.
186. Wood IS, Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. The pro-inflammatory cytokine IL-18 is expressed in human adipose tissue and strongly upregulated by TNFalpha in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Nov 18;337(2):422-9.
187. Wykrzykowska J, Lehman S, Williams G, Parker JA, Palmer MR, Varkey S, Kolodny G, Laham R. Imaging of Inflamed and Vulnerable Plaque in Coronary Arteries with 18F-FDG PET/CT in Patients with Suppression of Myocardial Uptake Using a Low-Carbohydrate, High-Fat Preparation. *J Nucl Med*. 2009 Apr;50(4):497-500.
188. Yamagishi M, Terashima M, Awano K, Kijima M, Nakatani S, Daikoku S, Ito K, Yasumura Y, Miyatake K. Morphology of vulnerable coronary plaque: insights from follow-up of patients examined by intravascular ultrasound before an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Jan;35(1):106-11.
189. Yano Y, Budinger TF, Ebbe SN, Mathis CA, Singh M, Brennan KM, Moyer BR. Gallium-68 lipophilic complexes for labeling platelets. *J Nucl Med*. 1985 Dec;26(12):1429-37.
190. Yun M, Jang S, Cucchiara A, Newberg AB, Alavi A. 18F FDG uptake in the large arteries: a correlation study with the atherogenic risk factors. *Semin Nucl Med*. 2002 Jan;32(1):70-6
191. Zeadin M, Butcher M, Werstuck G, Khan M, Yee CK, Shaughnessy SG. Effect of Leptin on Vascular Calcification in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009 Dec;29(12):2069-2075.
192. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D'Andrea F, Molinari AM, Giugliano D. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation*. 2002 Feb 19;105(7):804-9.
193. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Focà A, Paroni R, Malatino LS.: Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. Creed Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients *J Hypertens*. 2000 Sep;18(9):1207-13.
194. Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino LS, Böger R; J Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *Am Soc Nephrol*. 2002 Feb;13(2):490-6.
195. Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich J, Böger R. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet*. 2001 Dec 22-29;358(9299):2113-7.
196. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. It is important to lower homocysteine in dialysis patients. *Semin Dial*. 2007 Nov-Dec;20(6):530-3.

197. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, Parlongo S, Malatino LS, Bonanno G, Seminara G, Rapisarda F, Fatuzzo P, Buemi M, Nicocia G, Tanaka S, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Jan;13(1):134-41.
198. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Panel III). *JAMA*. 2004 Jan 28;291(4):451-9
199. Clinical practice guidelines for managing dyslipidemias in chronic kidney disease. National Kidney Foundation. Clinical practice guidelines for managing dyslipidemias in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003 Apr;41(4 Suppl 3):S1-91
200. ESC Committee for Practice Guidelines. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. *Atherosclerosis*. 2007 Sep;194(1):1-45.