

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA  
MARCINKOWSKIEGO  
W POZNANIU

*Lek. Med. Irmína Wietlicka*

Ocena stężenia neopteryny u pacjentów z przewlekłą  
niewydolnością serca

PRACA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH  
Z ZAKŁADU FARMAKOLOGII KLINICZNEJ  
KATEDRY KARDIOLOGII UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO  
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

**PROMOTOR:**  
**PROF. UM DR HAB. ANNA JABŁECKA**

Poznań 2011

*Rodzicom dedykuje*

*Składam serdeczne podziękowania:*

Pani Profesor dr hab. Annie Jabłeckiej za cenne rady metodyczne,  
motywację oraz pomoc przy realizacji niniejszej pracy  
oraz Panu dr. n. med. Mirosławowi Kaźmierczakowi za inspirację i  
wytyczenie ścieżek drogi naukowej.

<b>Wykaz skrótów stosowanych w pracy</b> .....	5
<b>1. WSTĘP</b> .....	6
<b>1.1 Ewolucja poglądów na patofizjologię niewydolności serca</b> .....	6
<b>1.2 Rola mediatorów zapalenia w niewydolności serca</b> .....	9
1.2.1 Wykładniki procesu zapalnego.....	9
1.2.2 Cytokiny prozapalne.....	10
1.2.3 Źródła cytokin prozapalnych.....	11
1.2.4 Efekty działania mediatorów zapalenia u chorych z niewydolnością serca.....	13
<b>1.3 Neopteryna</b> .....	13
1.3.1 Synteza neopteryny.....	16
1.3.2 Znaczenie neopteryny.....	18
1.3.3 Oznaczanie neopteryny w płynach ustrojowych.....	20
1.3.4 Wartość kliniczna oznaczania neopteryny.....	21
1.3.5 Znaczenie neopteryny w kardiologii.....	23
<b>2. CEL PRACY</b> .....	26
<b>3. MATERIAŁ</b> .....	27
<b>4. METODA</b> .....	30
4.1 Hospitalizacja.....	30
4.2 Badania laboratoryjne.....	30
4.3 Oznaczenie neopteryny.....	30
4.4 Badanie ankietowe.....	31
4.5 Analiza statystyczna wyników.....	32
<b>5. WYNIKI</b> .....	33
<b>6. DYSKUSJA</b> .....	37
<b>7. WNIOSKI</b> .....	43
<b>8. STRESZCZENIE</b> .....	44
<b>9. PIŚMIENNICTWO</b> .....	47
<b>10. ZAŁĄCZNIKI</b> .....	56

Wykaz skrótów stosowanych w pracy:

**ACE-I** ( ang. *ACE-inhibitors* ) - inhibitory enzymu konwertazy angiotensyny  
**ALAT** ( ang. *alanine aminotransferase* ) - aminotransferaza alaninowa  
**AMP** ( ang. *adenosine monophosphate* ) - monofosforan adenozyiny  
**ASPAT** ( ang. *aspartate aminotransferase* ) - aminotransferaza asparaginianowa  
**ATP** ( ang. *adenosine triphosphate* ) - trifosforan adenozyiny  
**BH4** - ( ang. *tetrahydrobiopterin* ) tetrahydrobiopteryna  
**BMI** ( ang. *body mass index* ) - wskaźnik masy ciała  
**CHF** ( ang. *chronic heart failure* ) - przewlekła niewydolność serca  
**ChNS** ( ang. *ischemic heart disease* ) - choroba niedokrwienna serca  
**cGMP** ( ang. *cyclic guanosine monophosphate* ) - cykliczny monofosforan guanidyny  
**CRP** ( ang. *C Reactive Protein* ) – białko C-reaktywne  
**EF** ( ang. *ejection fraction* ) – frakcja wyrzutowa  
**ET-1** ( ang. *endothelin* ) - endotelina 1  
**GTP** ( ang. *guanosine triphosphate* ) - trifosforan guanozyiny  
**GCH-1** ( ang. *GTP cyclohydrolase 1* ) - cyklohydrolaza 1  
**HGB** ( ang. *hemoglobin* ) - hemoglobina  
**HDL** ( ang. *high density lipoprotein* ) - lipoproteiny osocza o dużej gęstości  
**ICAM-1** ( ang. *intercellular adhesion molecule-1* ) - międzykomórkowa cząstka adhezyjna 1  
**IL** ( ang. *interleukin* ) - interleukina  
**INF $\gamma$**  ( ang. *Interferon-gamma* ) – interferon gamma  
**K** ( ang. *potassium* ) - potas  
**LDL** ( ang. *low density lipoprotein* ) - lipoproteiny osocza o małej gęstości  
**LVED** ( ang. *left ventricular end diastolic dimension* ) – wymiar końcoworozkurczowy komory lewej  
**Na** ( ang. *sodium* ) - sód  
**NADP** ( ang. *nicotinamide adinine dinucleotide phosphate* ) - fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego  
**NO** ( ang. *nitric oxide* ) - tlenek azotu  
**NOS** ( ang. *nitric oxide synthase* ) - syntaza tlenku azotu  
**OB** ( ang. *erythrocyte sedimentation rate* ) - odczyn Biernackiego  
**ONOO** ( ang. *peroxynitrite* ) - anion nadtlenoazotynowy / nadtlenoazotyn  
**NT** ( ang. *hypertension* ) - nadciśnienie tętnicze  
**OZW** ( ang. *acute coronary syndrom* ) - ostry zespół wieńcowy  
**PAI-1** ( ang. *plasminogen activator inhibitor* ) - inhibitor aktywatora plazminogenu 1  
**PGI<sub>2</sub>** ( ang. *prostacyclin* ) - prostacyklina  
**ROS** ( ang. *reactive oxygen species* ) - reaktywne formy tlenu  
**RAA** ( ang. *renin-angiotensin-aldosterone system* ) – układ renina-angiotensyna-aldosteron  
**SOD** ( ang. *superoxide dismutase* ) - dysmutaza ponadtlenkowa  
**Tchol** ( ang. *total cholesterol concentration* ) – całkowite stężenie cholesterolu  
**TG** ( ang. *triglyceride* ) - triglicerydy  
**TGF- $\beta$**  ( ang. *tumor growth factor beta* ) - czynnik wzrostowy beta  
**TM** - trombomodulina  
**TNF- $\alpha$**  ( ang. *tumor necrosis factor alpha* ) - czynnik martwicy nowotworu alfa  
**t-PA** ( ang. *tissue plasminogen activator* ) - tkankowy aktywator plazminogenu  
**VCAM-1** ( ang. *vascular cell adhesion molecule-1* ) - cząstka adhezyjna komórek naczyniowych 1

# 1.WSTĘP

## 1.4 Ewolucja poglądów na patofizjologię niewydolności serca:

Od nadmiaru „zimnego temperamentu”, poprzez zaburzenia hemodynamiczne, do odpowiedzi neurohormonalnej i prozapalnej [ 1 ].

Pierwszym medykiem, który dokładnie scharakteryzował objawy niewydolności serca był Hipokrates ( V w. p.n.e. ) Pisał on m.in.: „ miąższ zostaje skonsumowany i zmienia się w płyn... brzuch wypełnia się wodą, stopy i nogi puchną.” Postawienie prawidłowej diagnozy było jednak niemożliwe, gdyż uczone ten przyspieszonemu biciu serca oraz duszności przypisywał przepływ „flegmy”, „zimnego temperamentu” z mózgu do klatki piersiowej [ 1 ]. Hipokrates swoje interpretacje opierał na poglądach filozoficznych naturyzmu, według których serce stanowiło źródło ciepła – siły leczącej „vis medicatrix” – rozprowadzanego po całym ciele. Spadkobiercą i gorliwym orędownikiem teorii patologii humoralnej Hipokratesa był Galen ( II w n.e. ). Ich hipotezy zdominowały świat medycyny na ponad 2000 lat [ 2 ].

Zrozumienie objawów niewydolności serca stało się możliwe dopiero w 1628 roku dzięki opisowi budowy układu krążenia przez Harveya [ 3 ]. Na tej podstawie w roku 1674 Mayow stwierdził, że poszerzenie prawego przedsionka następuje z powodu utrudnienia odpływu krwi z płuc występującego w zwężeniu zastawki mitralnej. Znajomość zasad funkcjonowania układu krążenia pozwoliła także na postawienie Vieussensovi hipotezy, że duszność u chorych ze stenozą mitralną występuje wtedy, gdy krew cofa się poza zwężenie [ 4 ].

Wszystkie te odkrycia doprowadziły do obalenia wcześniejszych poglądów Hipokratesa, Galena i innych naukowców głoszących teorie patologii humoralnej. Musiało upłynąć jednak jeszcze ponad 100 lat, by błędne teorie zostały całkowicie wyparte z medycznego myślenia.

Dzięki odkryciom Harveya możliwe stało się hemodynamiczne wyjaśnienie objawów obserwowanych w przebiegu niewydolności serca. Szeroko prowadzone w następnych latach XVII i XIX wieku badania autopsyjne między innymi w ramach młodszej i starszej szkoły wiedeńskiej doprowadziły do stworzenia korelacji objawów klinicznych z obrazem anatomopatologicznym.

W XX wieku nastąpiła istotna zmiana etiologicznych przyczyn powstawania niewydolności serca – do lamusa w krajach rozwiniętych odeszła gorączka reumatyczna, która swoje żniwo zbierała już w czasach starożytnych. Głównymi przyczynami skurczowej

niewydolności serca stały się: choroba niedokrwienna serca oraz idiopatyczna kardiomiopatia rozstrzeniowa. Z uwagi na polepszenie warunków i wydłużenie czasu przeżycia do rangi epidemii urosła rozkurczowa niewydolność serca. Przewlekłe podwyższone obciążenie następcze komór i zmniejszenie podatności aorty towarzyszy bowiem fizjologicznemu procesowi starzenia się [ 5 ].

Lata 50. XX wieku to odkrycie Sarnoffa potwierdzające, że funkcja serca jest regulowana nie tylko przez objętość końcoworozkurczową ( prawo serca Starlinga ) [ 6 ], ale również przez „zmiany w kurczliwości mięśnia sercowego” [ 7 ]. W roku 1967 Braunwald i wsp. wykazali, że kurczliwość komórek miokardium zmniejsza się w eksperymentalnych modelach niewydolności serca [ 8 ]. Badania kliniczne potwierdziły towarzyszące niewydolności upośledzenie funkcji skurczowej serca. Do leczenia włączono preparaty o dodatnim działaniu inotropowym, które stały się kluczowym elementem strategii leczenia niewydolności serca.

Powszechne przekonanie, iż za objawy niewydolności odpowiadają dwie składowe: upośledzone parametry hemodynamiczne oraz wazokonstrykcja naczyń obwodowych [ 9,10 ] obowiązywało do końca lat 80-tych. Dopiero niepowodzenia związane z zastosowaniem leków inotropowo-dodatnich, które poprawiając tolerancję wysiłku i jakość życia, w znaczący sposób pogarszały rokowanie, nakazały weryfikację założeń hemodynamicznego modelu niewydolności serca. Okazało się, że zespół ten może postępować, pomimo przejściowej poprawy parametrów hemodynamicznych, zmniejszenia nasilenia objawów subiektywnych i obiektywnych. Ten zwrot w rozumieniu istoty niewydolności serca zaowocował, sformułowaniem teorii neurohormonalnej [ 11 ].

W latach 90-tych XX wieku po raz pierwszy zwrócono uwagę, iż uszkodzenie mięśnia sercowego i upośledzenie jego funkcji uruchamia mechanizmy kompensacyjne, które przeciwdziałają spadkowi rzutu serca i utrzymują ciśnienie tętnicze na poziomie zabezpieczającym perfuzję obwodową. Pobudzenie neurohormonalne oraz aktywacja układu cytokin są najważniejszymi mechanizmami kompensacyjnymi uruchamianymi we wczesnym okresie rozwoju niewydolności serca. Zachowanie wydolności wysiłkowej oraz długi bezobjawowy okres choroby pociąga za sobą istotne konsekwencje. Nadmiernie pobudzony układ neurohormonalny oraz uwolnione cytokiny prozapalne oddziałują bowiem równolegle niekorzystnie na układ krążenia, w tym m.in. nasilają skurcz naczyń obwodowych, powodują retencję sodu i wody oraz wywierają bezpośredni toksyczny wpływ na serce i naczynia. Prowadzi to do postępującego uszkodzenia układu sercowo-naczyniowego, wystąpienia objawów klinicznych niewydolności i dalszej progresji choroby.

Wyniki badania ostatnich lat wskazały, że efekty biologiczne neurohormonów i cytokin obecnych w nadmiarze w niewydolności serca, obserwuje się przede wszystkim na poziomie tkankowym, co wskazuje na ich auto i parakryne działanie.

Model neurohormonalny stanowił przełom w rozumieniu istoty niewydolności serca. Najważniejszym dowodem potwierdzającym jego słuszność były wyniki dużych badań m klinicznych, w których farmakoterapię uzupełniono o leki blokujące nadmiernie pobudzone składowe neurohormonalne: układ renina-angiotensyna (inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę [ACE-I]) oraz układ współczulny (leki beta-adrenolityczne ). Leki te poprawiły stan kliniczny pacjentów, zmniejszyły częstość hospitalizacji oraz znacząco zredukowały śmiertelność niewydolności serca [ 12 ].

## **1.2 Rola mediatorów zapalenia w niewydolności serca**

Pierwsze wzmianki o roli „cząstek sprawczych” w patofizjologii niewydolności serca. pojawiły się w XVII wieku. Ojcem mediatorów zapalenia był angielski badacz R. Lower [ 13 ]. Trzeba było jednak czekać przeszło 300 lat, by wizjonerskie tezy tego uczonego zostały potwierdzone. W 1990 roku Levine i wsp. po raz pierwszy opisali cytokiny prozapalne u pacjentów z niewydolnością serca [ 14 ] – dotyczyły one czynnika martwicy nowotworów: TNF $\alpha$ . Odkrycie to zapoczątkowało rozwój badań nad układami neuroendokrynnym i immunologicznym i zmieniły kierunek prac badawczych u pacjentów z niewydolnością serca. Zainteresowanie aktywacją mediatorów zapalenia potwierdzono m.in. w badaniach SOLVD [ 15,16 ], PRAISE [ 17 ] oraz VEST [ 18 ]. Rola cytokin w regulacji czynności i struktury serca, a w szczególności w znaczeniu progresji niewydolności serca jest obecnie niepodważalna.

Udział cytokin prozapalnych potwierdzono w następujących stanach patologicznych układu sercowo-naczyniowego [ 19 ]:

- Ostre wirusowe zapalenie mięśnia sercowego
- Odrzucenie allogenicznego przeszczepu
- Zawał serca
- Niestabilna choroba niedokrwienna serca
- Uszkodzenie mięśnia serca na skutek reperfuzji
- Kardiomiopatia przerostowa
- Niewydolność serca
- Krążenie pozaustrojowe
- Nadmierne obciążenie ciśnieniowe.



### 1.2.1 Wykładniki procesu zapalnego:

Aktualnie większość badaczy dzieli markery stanu zapalnego na klasyczne oraz nowoczesne [ 20 ]. Podział ten opiera się głównie na uniwersalności oraz dostępności oznaczeń tych parametrów w praktyce klinicznej.

Do klasycznych wskaźników zapalenia zalicza się: OB., CRP, leukocyty oraz fibrynogen. Do grupy tej należą także rzadziej oznaczane białko amyloidowe A,  $\alpha$ 1-antytrypsyna i haptoglobina. W skład heterogennej grupy markerów nowoczesnych wchodzi: cytokiny, układ dopełniacza, molekuly adhezyjne ( VCAM-1, ICAM-1, integryny oraz selektyny ), aktywowane makrofagi i populacje limfocytów T, a także czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B. W fazie badań klinicznych, w tym także nad znaczeniem w patogenezie niewydolności serca pozostają również hormon wzrostu oraz adrenomedullina [ 21 ].



Rys. 1 Podział markerów stanu zapalnego

### 1.2.2 Cytokiny prozapalne

Cytokiny to cząstki białkowe o małej masie ( ok. 15-30kDa ) wpływające na wzrost, proliferację i pobudzenie komórek biorących udział w odpowiedzi odpornościowej oraz odpowiedzi komórek hemopoetycznych. Cytokiny mogą wybiórczo pobudzać odpowiedź komórkową lub humoralną, co w połączeniu z ich dużą ilością i wielokierunkowym działaniem powoduje, że powstaje niezwykle skuteczny, ale także bardzo skomplikowany i czuły system powiązań pomiędzy komórkami układu odpornościowego.

Do tej heterogennej grupy mediatorów zapalenia należą:

1. Czynniki martwicy nowotworów TNF-  $\alpha$
2. Interleukiny: Il 1 $\beta$ , Il-6, Il-10 oraz Il-18
3. Neopteryna
4. M-CSF, GM-CSF: czynniki pobudzające kolonie makrofagów i granulocytów.

### 1.2.3 Źródła cytokin prozapalnych w niewydolności serca.

Istnieje 5 hipotez pochodzenia cytokin prozapalnych w niewydolności serca. Najstarsza z nich zakłada, że synteza mediatorów zapalenia odbywa się poprzez aktywację układu immunologicznego ( prawdopodobnie w odpowiedzi na pewne formy uszkodzenia tkankowego ). Dowodem na to są badania, które wykazały zaburzoną zarówno odporność komórkową, jak i humoralną w niewydolnym sercu [ 22-24 ].

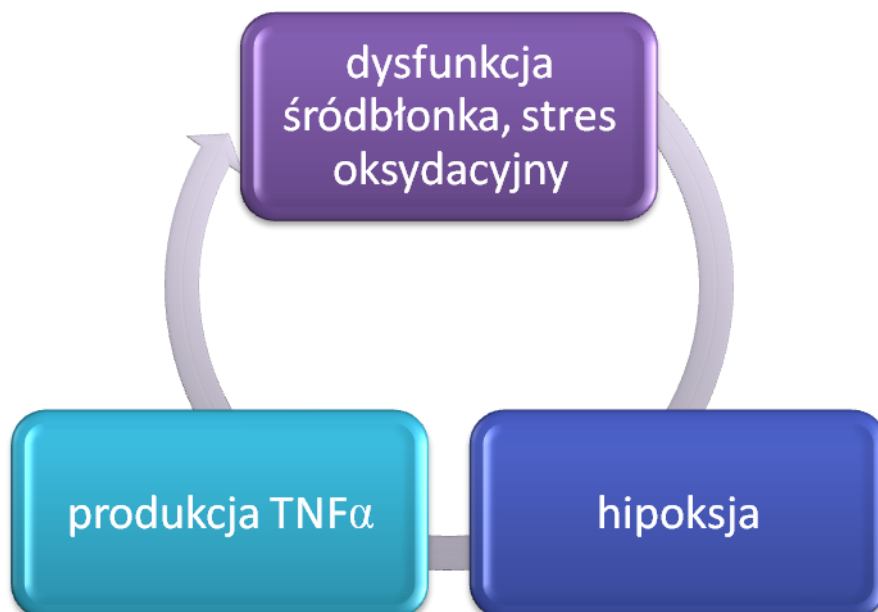
Hipoteza pokrewna teorii aktywacji immunologicznej zakłada, że samo niewydolne serce może być źródłem powstania cytokin. Zaobserwowano bowiem, że wszystkie typy komórek jądrazstych w obrębie mięśnia sercowego są zdolne do syntezy mediatorów zapalnych. Popierają tą tezę prace badawcze, w których wskazuje się, że w pewnych warunkach stresu, przeciążenia hemodynamicznego i/lub rozciągania, mięsień serca syntetyzuje TNF de novo [ 25-27 ].



Rys. 2. Hipoteza sercowej syntezy TNF $\alpha$

Teorie te próbowano ze sobą powiązać. Zdaniem Yourker'a i wsp. cytokiny prozapalne syntetyzowane w sercu w odpowiedzi na stres przechodzą do krążenia obwodowego, stymulując komórki jednojądrzaste do produkcji mediatorów zapalenia [ 28 ]. Hipoteza ta zakłada wzajemne przenikanie się i uzupełnianie układu krążenia oraz układu immunologicznego

Kolejna teoria dowodzi, że wytwarzanie TNF jest następstwem niedostatecznej perfuzji tkanek. Hipotezę tą ocenia się jako mało wiarygodną, wymagającą weryfikacji klinicznej na dużej populacji.



Rys. 3 Hipoteza pozasercowej syntezy TNF $\alpha$

Czwartym możliwym źródłem wytwarzania cytokin u chorych z niewydolnością serca jest krezka jelit. U pacjentów z niewydolnością serca dochodzi do zastoju żylnego w obrębie naczyń krezkowych i zwiększonej przepuszczalności jelit. Przemieszczenie się bakterii wg. Anker i wsp. [ 29 ] skutkuje wzrostem poziomu krążących endotoksyn aktywujących układ immunologiczny do produkcji TNF i jego receptorów. Teoria ta może tłumaczyć syntezę mediatorów zapalenia jedynie w zaawansowanych postaciach niewydolności serca. Mechanizm ten nie wyjaśnia natomiast szlaków produkcji cytokin w I i II stopniu niewydolności serca wg. klasyfikacji NYHA – kiedy nie występują jeszcze m.in.: obrzęki obwodowe.

Zakłada się możliwość wzbudzenia syntezy cytokin poprzez krążące neurohormony. Zauważono bowiem, że podwyższone stężenia angiotensyny II wywołuje produkcję TNF $\alpha$ . Ponadto antagoniści receptora angiotensyny I ( rec. AT I ) wyraźnie wpływają na obniżenie stężenia krążących cytokin oraz cząstek adhezyjnych VCAM-1 i ICAM-1 u pacjentów z niewydolnością serca [ 30 ] . Podobne wyniki badań uzyskano dla leków blokujących receptory  $\beta$ 1-adrenergiczne oraz karwedilolu [ 31 ] .

Powyższe dane dowodzą istnienia interakcji pomiędzy układem renina-angiotensyna-aldosteron i układem adrenergicznym oraz cytokinami prozapalnymi. Stanowi to także argument, że poprzez farmakoterapię niewydolności serca modulowana jest odpowiedź zapalna.

#### 1.2.4 Efekty działania mediatorów zapalenia u chorych z niewydolnością serca:

Istotną rolę cytokin prozapalnych w patofizjologii niewydolności serca potwierdziły obserwacje, z których wynika, że wiele objawów zespołu niewydolności serca można wytłumaczyć poprzez efekty biologiczne tych cząstek. Wysoka ekspresja cytokin powoduje wystąpienie objawów naśladujących niektóre aspekty fenotypu niewydolności serca, włączając postępujące upośledzenie funkcji lewej komory, obrzęk płuc, przebudowę lewej komory, ekspresję genów płodowych oraz kardiomiopatię [ 32 ] .

Wielorakie zmiany zachodzące w sercu, a obejmujące zmiany jego kształtu, wielkości i składu określa się pojęciem remodelingu. Mediatorom zapalenia przypisuje się liczne ważne następstwa biorące udział w wyżej wymienionym procesie. Należą do nich:

- zmiany w biologii miocytów: przerost, zaburzenie kurczliwości oraz ekspresja genu płodowego.
- zmiany w macierzy zewnątrzkomórkowej: jej degradacja i włóknienie
- postępująca utrata miocytów: martwica, apoptoza.

Istnieje coraz większa ilość dowodów, że mediatory zapalenia są również ważnymi czynnikami odpowiedzi immunologicznej, związanymi z dysfunkcją śródbłonna, decydującymi o postępie zmian miażdżycowych u chorych z chorobą wieńcową. Angoletti i wsp. wykazali, że TNF $\alpha$  ma zdolność indukcji apoptozy komórek endothelium oraz powoduje zahamowanie syntezy konstytutywnej syntetazy tlenu azotu w tych komórkach [ 33 ]. Mięsień sercowy podlega wzmożonemu stresowi oksydacyjnemu zarówno w wyniku niedokrwienia, jak i w momencie reperfuzji. Zaburzenie równowagi między produkcją reaktywnych postaci tlenu a mechanizmami antyoksydacyjnymi odpowiada za przejście od fazy przerostu do fazy dekompensacji w procesie rozwoju niewydolności serca. Niektóre cytokiny oraz angiotensyna II nasilają produkcję reaktywnych postaci tlenu, zwiększając tym samym stres oksydacyjny. Aktywacja układu renina–angiotensyna–aldosteron, będąca skutkiem upośledzenia wydolności serca, prowadzi do ich zwiększonej produkcji. W wyniku stresu oksydacyjnego dochodzi do aktywacji genów zależnych od potencjału oksydoredukcyjnego, odpowiedzialnych m.in. za produkcję cytokin prozapalnych, co prowadzi do dalszego nasilenia stresu oksydacyjnego, tworząc tym samym w mechanizmie dodatniego sprzężenia zwrotnego klasyczne błędne koło postępującej dysfunkcji narządu.

Aktualny stan wiedzy wskazuje, że stężenia TNF $\alpha$  oraz interleukin stwierdzane u pacjentów z niewydolnością serca mają zdolność wywoływania ujemnego działania inotropowego objawiającego się na poziomie kardiomiocytów. Istnieje kilka dróg modulującego wpływu cytokin prozapalnych na funkcję mięśnia sercowego. Za główny uważa się szlak aktywacji opóźnionej ( potrzeba kilku godzin, a nawet kilku dni ) przebiegający z udziałem wspomnianego już tlenu azotu [ 34 ].

Zgromadzone dane dowodzą, że aktywacja zarówno cytokin, jak i neurohormonów, może stanowić mechanizm biologiczny odpowiedzialny za postęp niewydolności serca [ 35 ].

### **1.3 Neopteryna**

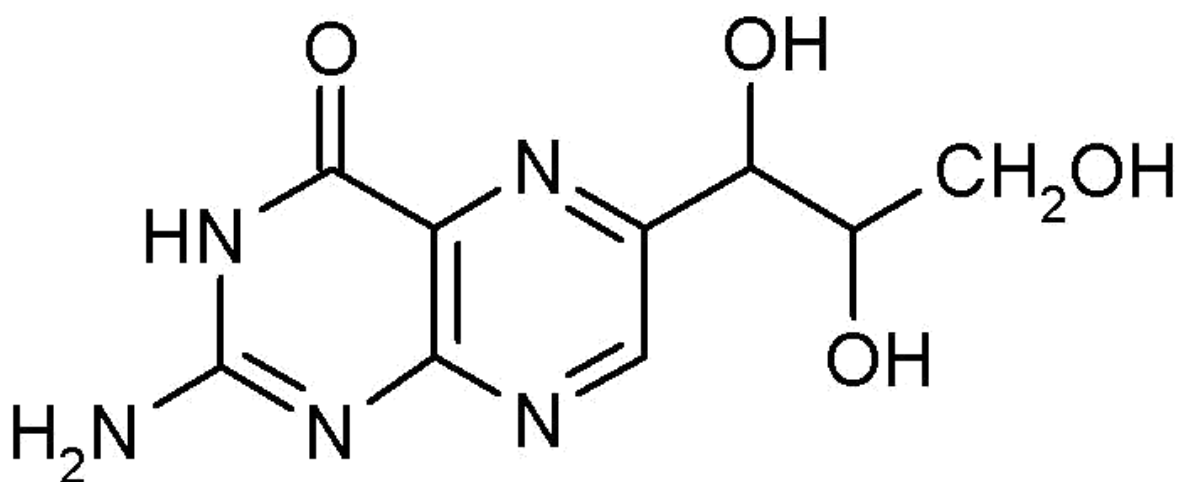
W roku 1889 F. Hopkins wyizolował po raz pierwszy pigment ze skrzydeł owadów błonkoskrzydłych [ 36 ]. Jego badania kontynuowali Wielad i Schopf [ 37 ], którzy nazwali odkrytą substancję pterydyną ( 1936 rok ). Etymologia tej nazwy wywodzi się od greckiego wyrazu *pteron*, czyli skrzydła. Próby określenia budowy chemicznej otrzymanej substancji udały się dopiero na początku lat 40-tych XX wieku, dzięki badaniom Purrmann'a [ 38, 39 ],

który wykazał obecność w związku bicyklicznego azotowego pierścienia piranozyno-pirymidynowego.

Neopteryna ze względu na swoją budowę chemiczną należy do klasy pterydyn. Jest to niskocząsteczkowe, stabilne białko o masie 255 D.

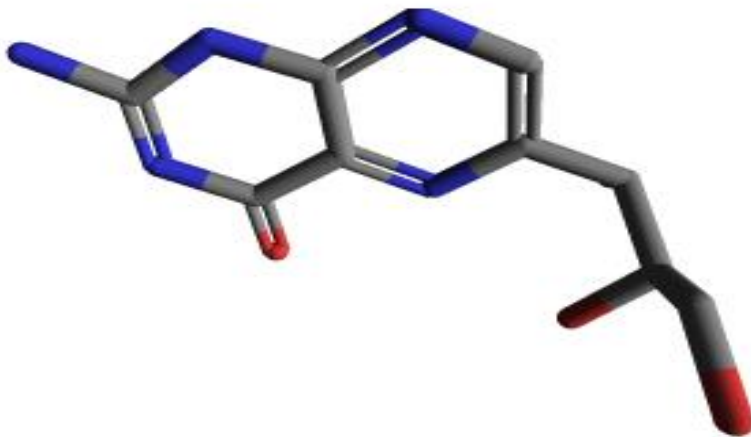
Związek ten po raz pierwszy wyizolowany został z larw pszczół i dorosłych postaci pszczół-robotnic oraz z mleczka pszczelego w roku 1963. Początkowo H. Rembold planował nazwać nową substancję „nowapteryną”. Nazwą tą chciał podkreślić, że jest to nowe białko ( łac. *novum* ) o strukturze pterydyny otrzymane z pszczół miodnych ( łac. *Apis* = miód ). Nazwę jednak skrócono do neopteryny [ 40 ].

U ludzi neopterynę wykryto w 1967 roku w moczu [ 41 ] Sakurai i Goto wyizolowali 25mg neopteryny z 500 litrów ludzkiego moczu. W swoich badaniach zauważyli również, że neopterynę wykrywa się znacznie wcześniej i występuje ona w wyższych stężeniach w moczu pacjentów z chorobą nowotworową. Prace Wachtera i wsp. oraz Hausena i wsp. pozwoliły na początku lat 80-tych wysunąć hipotezę, że pterydyna jest powiązana z odpowiedzią immunologiczną skierowaną przeciwko komórkom zmienionym nowotworowo lub poddanych działaniu wirusów [ 42,43 ].



**2-amino-4-hydroxy-6(1,2,3- trihydroksypropylo)-pterydyna**

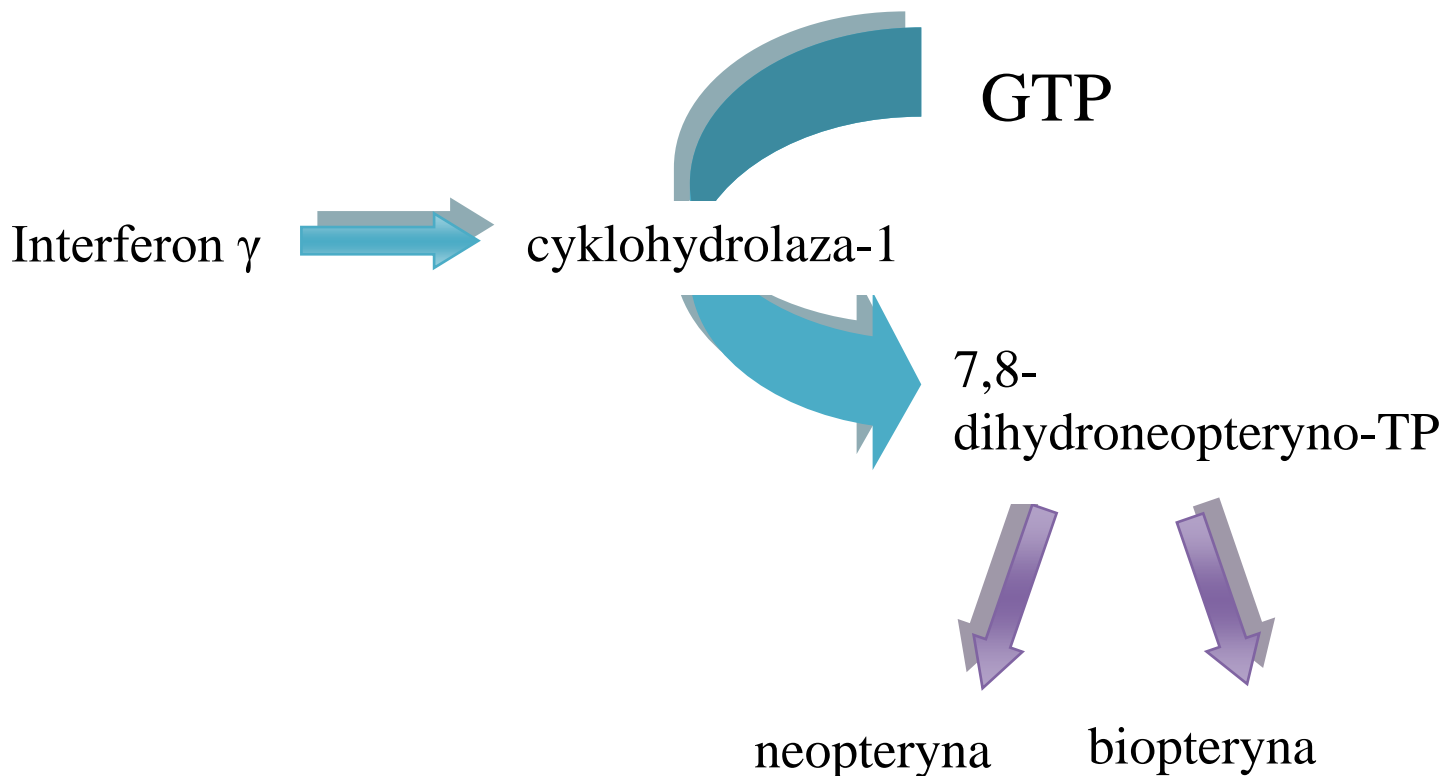
Rys. 5 Wzór strukturalny neopteryny



Rys. 6 Przestrzenna struktura neopteryny

### 1.3.1 Synteza neopteryny:

Przyjmuje się, że limfocyty T po rozpoznaniu nieznanej lub zmienionej komórki, rozpoczynają produkcję limfokin m.in. interferonu- $\gamma$ . Pod wpływem GTP-cyklohydrolazy-I następuje przekształcenie guanozyno-trifosforanu (GTP) do trifosforanu 7,8-dihydroneopteryny, z którego jest syntetyzowana neopteryna albo 5,6,7,8-tetrahydrobiopteryna ( $BH_4$ ). [ 44,45 ]  $BH_4$  jest donorem elektronów w hydrolizie fenyloalaniny do tyrozyny, tyrozyny do L-DOPA i tryptofanu do 5-hydroksytryptofanu. Jest także kofaktorem syntazy tlenku azotu. Prawie wszystkie ludzkie komórki wytwarzają  $BH_4$ , z wyjątkiem monocytów/makrofagów, z których jest uwalniana neopteryna po wcześniejszej hydrolizie i oksydacji trifosforanu 7,8-dihydroneopteryny [ 46 ].



Rys. 7 Synteza neopteryny z guanozotrifosforanu (GTP) [ 46 ]

Cyklohydrolaza 1 ( GCH-1) przekształca GTP do 7,8-dihydroneopteryno-TP. Z powodu względnego braku enzymu syntetazy tetrahydropteryny ( PTPS) w ludzkich monocytach/makrofagach neopteryna oraz 7,8-dihydroneopteryna są produkowane po defosforylacji i oksydacji pochodnych biopteryny.

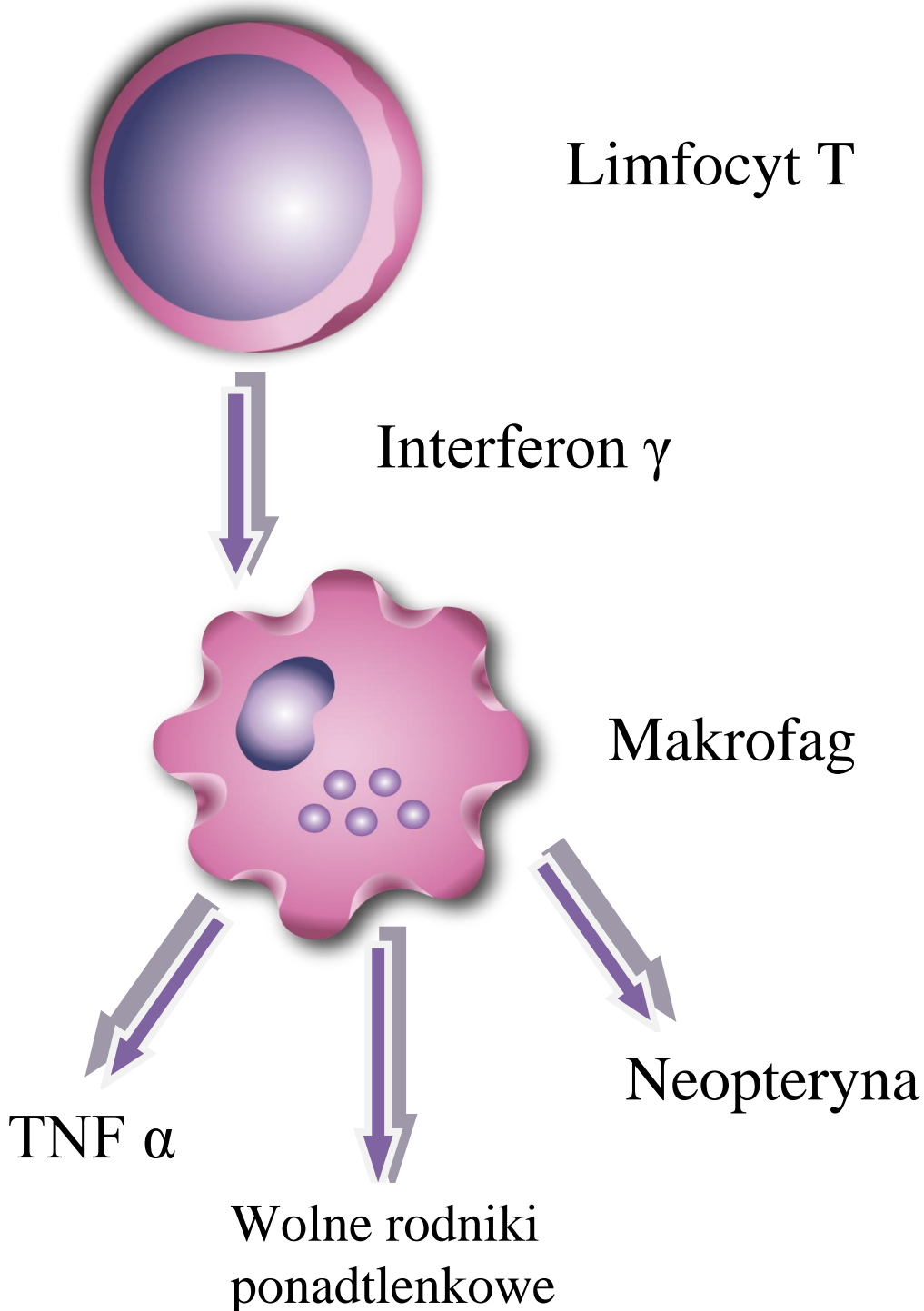
Interferon gamma jest jedynym bezpośrednim mediatorem produkcji neopteryny [ 47 ]. Inne cytokiny: TNF $\alpha$  i interleukiny oraz liposacharydy i czynniki powodujące fagocytozę np. zymozyn pobudzają syntezę neopteryny pośrednio poprzez uczynnienie interferonu  $\gamma$  [ 48, 49 ]. Przypuszcza się, że stopień syntezy neopteryny wpływa na down/up - regulację aktywności monocytów/ makrofagów pobudzanych INF $\gamma$ .

Tak, więc INF  $\gamma$  produkowany przez uczynnione limfocyty T jest głównym czynnikiem spustowym produkcji neopteryny. Dlatego dla syntezy tej cytokiny ważna jest aktywacja subpopulacji limfocytów TH1, które są odpowiedzialne za syntezę INF  $\gamma$  oraz interleukiny-2. ( rys. 8) Substancje, które mogą wpływać na aktywność populacji komórek T są zdolne pośrednio modyfikować czynność monocytów/makrofagów i tym samym - wpływać na produkcję neopteryny. Egzogenne podanie IL-2 do peryferyjnych komórek mononuklearnych in vivo prowadzi także do wzrostu stężenia neopteryny na drodze aktywacji i namnażania limfocytów T,



choć nie obserwuje się bezpośredniego wpływu cytokiny na syntezę neopteryny przez monocyty/makrofagi. W sposób podobny na produkcję neopteryny wpływa IL-12.

Z drugiej strony, immunosupresant, jakim jest cyklosporyna A hamuje produkcję cytokin pod wpływem  $\text{INF } \gamma$ , jednocześnie zmniejszając poziom neopteryny.



Rys. 8 Schemat syntezy neopteryny

Podczas odpowiedzi typu komórkowego aktywowane limfocyty T ( subklasy T1 ) uwalniają interferon-gamma, który stymuluje ludzkie makrofagi i komórki dendrytyczne do produkcji neopteryny,  $\text{TNF}\alpha$  oraz wolnych rodników ponadtlenkowych ( ROS ).

### 1.3.2 Znaczenie neopteryny:

Aktualne doniesienia wskazują na możliwy udział pochodnych neopteryny w cytotoksycznych mechanizmach makrofagów. Znaleziono m.in.: silną korelację między obecnością neopteryny a zdolnością monocytów/makrofagów do produkcji wolnych rodników ponadtlennokowych [ 50 ]. Stąd też stężenie neopteryny może być rozważane jako pośredni marker stresu oksydacyjnego wywołanego czynnikami immunologicznymi. Z drugiej strony pochodne te wykazują wpływ na działanie wolnego rodnika ponadtlennokowego, azotowego i chlorkowego. W badaniu chemiluminescencyjnym stwierdzono, że neopteryna jest silnym „wzmacniaczem” rozmaitych substancji reaktywnych tj.: nadtlenu wodoru, wodorotlenku chloru, tlenku azotu, chloraminy. In vitro, spełnia rolę inhibitora niekompetytywnego oksydazy ksantynowej, który wpływa na wytwarzanie anionu ponadtlennokowego [ 51 ]. Zdolność pterydyn do inhibicji oksydazy ksantynowej zależy od ich struktury chemicznej. Zredukowane pterydyny z ugrupowaniem 7,8-dihydro nie wykazują działania hamującego. Podobnie podstawienie układu aromatycznego w pozycji 7 pterydyny zapobiega inhibicji oksydazy ksantynowej, z kolei podstawienie w tej samej pozycji grupy karboksylowej tłumi hamowanie. Obecność grupy aldehydowej w pozycji 6 powoduje pojawienie się działania silnie hamującego [ 52 ].

Wyniki te sugerują nową fizjologiczną rolę neopteryny jako endogennego regulatora cytotoksycznych funkcji oraz aktywności makrofagów. Jedną z najbardziej istotnych reakcji cytotoksycznych zachodzących w monocytach/makrofagach a stymulowanych przez  $INF \gamma$  jest produkcja tlenku azotu ( NO ). Związek ten powstaje z argininy pod wpływem pobudzonej NO syntetazy ( iNOS ). Mechanizm ten zachodzi u wielu gatunków. Jak dotąd u ludzi jego odkrycie było bardzo ograniczone [ 53 ]. iNOS wymaga bowiem jako kofaktora 5,6,7,8-tetrahydrobiopteryny, której poziom w ludzkich monocytach/makrofagach jest bardzo niski z powodu przewagi syntezy neopteryny. W tym kontekście wydaje się być logiczna teza, że w ludzkich makrofagach deficyt mechanizmów cytotoksycznych może być rekompensowany przez produkcję neopteryny [ 54 ]. Poza tym dowiedziono, że neopteryna wzmacnia efekty nadtlenoazotynu [ 55 ].

Pochodne neopteryny są zdolne także interferować ze szlakami metabolicznymi regulowanymi przez reakcje redox. In vitro wywołują one ekspresję czynnika komórkowego oraz genów syntetazy tlenku azotu [ 56 ]. Dowiedziono, że apoptoza jest indukowana lub też wzmacniana przez pochodne neopteryny [ 57 ]. Efekt antagonistyczny wywierają na syntezę erytropoetyny [ 58 ]. Aktualne badania pokazują, że neopteryna oraz 7,8-dihydroneopteryna

biorą udział w up- regulacji ekspresji protoonkogenu c-fos [ 59 ] oraz mogą być zaangażowane w złośliwą transformację komórek.

Podsumowując główne fizjologiczne właściwości neopteryny można stwierdzić, że substancja ta:

1. hamuje endogenną syntezę kwasu foliowego w obrębie drobnoustrojów wewnątrzkomórkowych
2. wzmacnia działania nadtlenu wodoru i chloraminy przy  $\text{pH} > 7,5$
3. wzmacnia działanie wolnych rodników ponadtlenkowych między innymi w procesie apoptozy komórek ludzkich
4. indukuje proces apoptozy niezależny od tlenu azotu
5. moduluje odpowiedź immunologiczną zależną od makrofagów
6. aktywuje czynniki transkrypcji reakcji redox
7. pobudza ekspresję genu syntetazy tlenu azotu
8. pobudza ekspresję genu HIV-1
9. wpływa na wewnątrzkomórkowe stężenie wapnia w ludzkich monocytach

### 1.3.3 Oznaczanie neopteryny w płynach ustrojowych:

Neopterynę można oznaczyć w surowicy krwi, osoczu, moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym, soku trzustkowym, ślinie oraz soku żołądkowym.

Za fizjologiczne stężenie neopteryny w surowicy krwi przyjmuje się stężenie  $<10\text{nmol/l}$ . Stężenie to zależy od wieku i stanu klinicznego badanego. Nie obserwuje się różnic w zależności od płci. Wyższe jej poziomy stwierdza się natomiast u dzieci i osób w wieku podeszłym [ 60 ]. Stężenie neopteryny zmienia się w ciąży, osiągając maksymalne wartości w trzecim trymestrze. U noworodków stężenia neopteryny są około trzy razy wyższe niż u ich matek, co wskazuje na wzrost aktywności monocytów/makrofagów w ciąży (brak jednak korelacji pomiędzy stężeniem neopteryny w surowicy noworodka i krwi matki).

Wiek ( w latach )	Średnie stężenie (nmol/l)	95 percentyl
<18	$6.8 \pm 3.6$	13.5
19-75	$5.3 \pm 2.7$	8.7
>75	$9.7 \pm 5.0$	19.0

Tabela 1. Zakresy norm stężenia neopteryny w surowicy krwi dla poszczególnych grup wiekowych

Neopteryna jest wydalana drogą nerkową i stężenie w surowicy krwi jest odzwierciedleniem jej poziomu w moczu dopóki, dopóty funkcja nerek nie jest istotnie zaburzona ( np. zaawansowana niewydolność nerek ) [ 61 ]. Czulość oznaczania neopteryny jest taka sama zarówno w surowicy , jak i w moczu. Ponieważ substancja ta jest wrażliwa na bezpośrednie działanie promieni słonecznych próbki do badania muszą być zabezpieczone przed dostępem światła podczas transportu, jak i w czasie przechowywania ( folią aluminiową lub ciemnymi ochroniaczami ).

Podwyższone stężenie neopteryny obserwuje się w chorobach przebiegających ze zwiększoną aktywnością monocytów/makrofagów, takich jak: procesy nowotworowe, zakażenia bakteryjne, zakażenia wirusowe, grzybicze i pierwotniakowe, choroby autoimmunologiczne oraz reakcje odrzucania przeszczepów [ 62-65 ].

#### 1.3.4 Wartość kliniczna oznaczania neopteryny:

Znaczenie monitorowania stężenia neopteryny wykazano w następujących stanach patologicznych:

1. *Choroby zakaźne:* wykazano pozytywną korelację pomiędzy stężeniem neopteryny a aktywnością choroby. Cytokina ta przydatna jest również w monitorowaniu terapii, szczególnie do wczesnego wykrywania zakażenia - stężenie neopteryny wzrasta przed serokonwersją.

a. infekcje wirusowe ( w tym zakażenie HIV ) [ 66-69 ]

b. zakażenia bakteriami wewnątrzkomórkowymi lub pasożytami [ 70 ]

2. *Choroby autoimmunologiczne i choroby o podłożu zapalnym:* wykazano, że stężenie neopteryny wzrasta proporcjonalnie do stopnia zaawansowania choroby. Na podstawie stężenia kontrolowana jest również skuteczność leczenia

a. reumatoidalnego zapalenia stawów [ 71,72 ]

b. toczenia układowego [ 73 ]

c. ziarniniaka Wegenera [ 74 ]

d. choroby Leśniowskiego-Crohna [ 75,76 ]

e. wrzodziejącego zapalenie jelita grubego [ 77 ]

3. *Choroby nowotworowe:* Stężenie neopteryny jest pomocniczym wskaźnikiem w ustaleniu rozpoznania oraz monitorowaniu przebiegu takich nowotworów, jak rak płuc, prostaty, jelit, rozrostów hematologicznych i ginekologicznych. [ 78-83 ]

W tabeli nr 2 zostały zebrane najczęstsze choroby nowotworowe, w przebiegu których dochodzi do wzrostu stężenia neopteryny oraz potencjalna wartość prognostyczna tego markera w chwili rozpoznania choroby.

Choroba	Częstość wzrostu stężenia neopteryny ( % )	Potwierdzona wartość prognostyczna neopteryny
Ch. Hodgkina	70-100	+
Rak jajnika	82	+
Rak pęcherza moczowego	78	Nie badano
Rak trzustki	69	Nie badano
Rak płuca	58	+
Rak j. grubego	48	+

Tabela 2. Stężenie neopteryny w surowicy krwi i jej wartość prognostyczna w chwili rozpoznania choroby

#### 4. *Transplantacje narządów:*

Cytokina ta może być markerem powikłań po allogenicznych przeszczepach serca, przeszczepach nerek tj.: infekcji czy reakcji odrzucenia przeszczepu. [ 84-86 ]

#### 5. *Choroby ośrodkowego układu nerwowego:*

- a. zapalenia mózgu na podłożu bakteryjnym i wirusowym [ 87,88 ]
- b. neuroborelioza [ 89 ]
- c. udary niedokrwienne mózgu [ 90 ]

#### 6. *Monitorowanie leczenia*

np. terapii antyretrowirusowej HIV, leczenia gruźlicy, wstrząsu septycznego [ 66,67, 91,92 ]

#### 7. *Choroby układu sercowo-naczyniowego:*

- a. ostre zespoły wieńcowe [ 93-96 ]
- b. przewlekła niewydolność serca [ 97-100 ]
- c. choroba Kawasaki [ 101 ]
- d. ostry rzut gorączki reumatycznej [ 102 ]

8. *Transfuzjologia:* Oznaczanie neopteryny jest uważane przez niektórych badaczy jako metoda przesiewowa wykrywania ostrych infekcji oraz innych chorób zapalnych [ 103 ]

Zastosowanie kliniczne	Autorzy publikacji
Różnicowanie chorób zapalnych OUN oraz monitorowanie aktywności choroby	Dale RC i wsp. [ 87 ]
Czynnik rokowniczy rozwoju nadciśnienia indukowanego ciążą	von Versen-Hoeynck F i wsp. [ 104 ]
Różnicowanie nowotworów oraz wo guzkowego od innych schorzeń tarczycy	Sahin T i wsp. [ 105 ]
Różnicowanie nowotworów od przewlekłego zapalenia trzustki	Piecuch J i wsp. [ 106 ]
Monitorowanie przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna	Nancey S i wsp. [ 107 ]
Ocena zapalenia błony śluzowej żołądka	Mierzwa G i wsp. [ 108 ]
Ocena ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów dializowanych	Avci E i wsp. [ 109 ]
Czynnik prognostyczny wystąpienia OZW chorych z cukrzycą t. 2	Vengen IT i wsp. [ 110 ]
Wykluczenie serododatności u dawców krwi	Schennach H i wsp. [ 111 ]
Wczesne wykrywanie powikłań u biorców przeszczepie allogenicznym	Chin G i wsp. [ 112 ]
Ocena ryzyka przerzutów w raku piersi	Yildirim Y i wsp. [ 113 ]
Ocena ryzyka OWZ u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową	Paciolo M i wsp. [ 114 ] Avanzas P i wsp. [ 115 ]
Ocena skuteczności leczenia chorych z postacią płucną sarkoidozy	Kuśnierz-Cabala B i wsp. [ 116 ]
Pozwala ustalić strategię leczenia w chorobie Alzheimera	Hull M i wsp. [ 117 ]

Tabela 3. Przydatność oznaczania stężenia neopteryny w praktyce klinicznej

### 1.3.5 Znaczenie neopteryny w kardiologii:

W chorobach układu sercowo-naczyniowego stwierdza się zwiększoną liczbę krążących leukocytów, szczególnie monocytów i makrofagów oraz ich wzmożoną aktywność.

Dlatego też pierwsza publikacja z końca lat 80-tych dotyczyła zagadnień przeszczepu serca i przydatności neopteryny, jako parametru stanu immunologicznego organizmu. Marker ten, jako miernik pobudzenia limfocytów T stał się dobrym czynnikiem prognostycznym reakcji wczesnego odrzucania przeszczepu ( przeszczep przeciwko gospodarzowi ) [ 84,85 ]. Badania nad przydatnością neopteryny w transplantacjach serca poprzedzone były wieloletnimi obserwacjami nad allogenicznymi przeszczepami nerek. To właśnie wnioski płynące z tych badań dały podstawy, by neopteryna znalazła zastosowanie w transplantologii nie tylko w nefrologii, ale i kardiologii [ 86 ].

Podwyższone stężenie neopteryny wykazano także u pacjentów z ostrym rzutem gorączki reumatycznej [ 102 ]. W badaniu Samsonova i wsp. stężenie tego markera korelowało z zakresem uszkodzenia aparatu zastawkowego serca. Eksperyment ten został jednak przeprowadzony na zbyt małej populacji chorych, dlatego do jego wyniku podchodzić należy z dużą ostrożnością.

Ten sam zespół badał również wartość prognostyczną neopteryny u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową. Wykazano, że wysokie stężenia tej cytokiny prozapalnej wraz z badaną jednocześnie  $\beta$ 2-mikroglobuliną odzwierciedlają możliwą progresję kardiomiopatii oraz są czynnikiem prognozującym wysokie ryzyko zgonu sercowego [ 118 ].

Neopteryna badana była również jako marker zapalenia mięśnia sercowego w przebiegu kardiomiopatii. W pracach cytowanego już zespołu uzyskano wyniki istotnie statystycznie sugerujące, że wysokie stężenie tej cytokiny koreluje z zapaleniem mięśnia serca potwierdzonym w materiale biopsyjnym miokardium [ 119,120 ].

Zależność pomiędzy stężeniem neopteryny a stopniem zaawansowania choroby dowiedziono na początku lat 90-tych u dzieci z chorobą Kawasaki [ 101 ]. Podczas badania retrospektywnego jej stężenie było wyznacznikiem efektywności leczenia choroby m.in.: immunoglobulinami.

W ostatnich 10 latach ubiegłego stulecia zwrócono szczególną uwagę na znaczenie zapalenia w patogenezie miażdżycy – w tym miażdżycy naczyń wieńcowych. Makrofagi i monocyty krwi uczestniczą już w najwcześniejszej fazie tworzenia się płytki miażdżycowej. Osoczowe poziomy neopteryny, jako wykładnika reakcji zapalnej, mogą być zatem cennym parametrem oceny natężenia zmian miażdżycowych [ 121 ].

Aktywacja makrofagów i monocytów krwi przyczynia się również do destabilizacji i pęknięcia blaszek w obrębie naczyń wieńcowych, co daje podłoże do rozwoju ostrego zespołu wieńcowego ( OZW ). Zasugerowano, że neopteryna jako marker pobudzenia układu immunologicznego może być skutecznym i czułym parametrem wyodrębniającym pacjentów z dużym ryzykiem OZW lub też może prognozować prawdopodobieństwo zgonu odległego z powodu przyczyn sercowo-naczyniowych [ 122 ].

W roku 2006 zakończone zostało badanie PROVE IT – TIMI 22, w którym oceniana była wartość prognostyczna neopteryny u pacjentów z zawałem serca z uniesieniem odcinka ST, zawałem serca bez uniesienia odcinka ST oraz w niestabilnej chorobie niedokrwiennej serca [ 94 ]. Badaniu poddanych zostało prawie 4000 chorych, w którym wykazano, że stężenie neopteryny – jako wykładnika aktywacji monocytów i makrofagów - jest podwyższone w OZW

i ściśle koreluje z długoterminowym ryzykiem śmierci lub prawdopodobieństwem powtórnego OZW.

Dodatkowo należy podkreślić, że nie wykazano korelacji pomiędzy podwyższonym stężeniem neopteryny, a wartościami markerów martwicy mięśnia sercowego m. in.: kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej, co sugeruje że aktywacja układu immunologicznego odzwierciedla rzeczywiste ryzyko zgonu sercowego i nie jest odpowiedzią na uszkodzenie mięśnia serca w przebiegu ostrego niedokrwienia.

Znaleziono również pozytywną korelację pomiędzy stężeniem neopteryny, a ilością zmienionych miażdżycowo tętnic wieńcowych. Wyższe stężenia tego markera sugeruje cięższą stenozę naczyń wieńcowych lub większą ogólną liczbą zwężeń [ 95, 96 ]. Wyniki badań Gurfinkel i wsp. nad stężeniem neopteryny u chorych z zawałem mięśnia sercowego wskazują, że jej podwyższony poziom jest lepszym wskaźnikiem występowania ostrego zespołu wieńcowego bez uniesienia odcinka ST niż wstępne badanie elektrokardiograficzne [ 123 ]. Wnioski z tej obserwacji potwierdzono również 4 lata później z udziałem zespołu naukowców holenderskich [ 124 ].

Neopteryna, jako marker aktywności płytki miażdżycowej, jest przydatna również w monitorowaniu stabilnej fazy choroby niedokrwiennej serca. Zgodnie z badaniem Avanzas i wsp. [ 125 ] wysokie stężenia neopteryny są silniejszym predyktorem niestabilności płytek miażdżycowych niż ogólna liczba leukocytów, czy stężenie białka C-reaktywnego. Wzrost stężenia tej cytokiny może sygnalizować także wysokie ryzyko wystąpienia incydentu wieńcowego. W badaniu retrospektywnym 297 osobowej grupy chorych dowiedziono, że stabilny klinicznie obraz choroby wieńcowej w ok. 20% przypadków nie pokrywa się ze stabilnością blaszki miażdżycowej [ 126 ]. U tych pacjentów mimo braku objawów klinicznych istnieje krytyczne zwężenie naczyń wieńcowych predysponujące do wystąpienia ostrego incydentu sercowo-naczyniowego. Odzwierciedleniem toczącego się procesu zapalenia i niestabilności blaszki miażdżycowej jest między innymi stężenie neopteryny, która stanowić może dobry marker prognostyczny ostrego zespołu wieńcowego przebiegającego na podłożu stabilnej choroby wieńcowej.

U osób zdrowych ze zwiększonym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych również obserwuje się wyższe poziomy neopteryny w stosunku do osób z małym ryzykiem ww. zmian. Należy jednak zaznaczyć, że obie subpopulacje mieszczą się w obrębie zakresu norm tej cytokiny dla osób zdrowych.

Pierwsze doniesienia odnośnie roli mediatorów zapalenia w rozwoju i progresji niewydolności serca pojawiły się połowie w latach 90-tych XX wieku [ 127-129 ]. Dotyczyły



one głównie cytokin, w tym najbardziej popularnego TNF- $\alpha$ . Te pionierskie badania dowodziły, że w przebiegu niewydolności serca dochodzi do aktywacji odpowiedzi zapalnej i wzrostu poziomu cytokin pozapalnych, w tym neopteryny. Coraz szerzej zakrojone badania z ostatnich lat potwierdzają istotną rolę cytokin w rozwoju i progresji niewydolności serca [ 130-132 ]. Neopteryna, jako marker stanu zapalnego oraz wykładnik aktywacji układu immunologicznego, badana była po raz pierwszy przez naukowców austriackich. Fuchs i wsp. w badaniach nad odpowiedzią immunologiczną typu komórkowego w chorobach układu sercowo-naczyniowego potwierdzili wzrost stężenia neopteryny u pacjentów z niewydolnością serca [ 99 ]. W badaniach przeprowadzonych przed 10. laty przez P.Ankrusta i wsp. wykazano, że poziom neopteryny wzrasta w miarę zaawansowania niewydolności serca [ 100 ]. W pracy tej potwierdzono pozytywną korelację między natężeniem odpowiedzi zapalnej a stopniem zaawansowania choroby. Wykazano, że im wyższa klasa niewydolności wg. klasyfikacji NYHA, tym wyższe stężenie neopteryny. Jednocześnie w cytowanym badaniu nie brano pod uwagę potencjalnego wpływu neopteryny na dalszy przebieg choroby i jej rokowanie.

Istnienie dodatkowej zależności pomiędzy wysokim stopniem zaawansowania choroby a poziomem mediatorów zapalenia (m.in. IL-6 i TNF- $\alpha$ ) potwierdzają także wyniki uzyskane przez naukowców polskich z ośrodka krakowskiego [ 133 ].

W badaniach Rivera i wsp. [ 134 ] wykazano wyższy poziom mediatorów zapalenia w grupie chorych z niedokrwinną etiologią kardiomiopatii w porównaniu z etiologią rozstrzeniową na podłożu nadciśnienia tętniczego. Do chwili obecnej nie pojawiły się jednak prace badające zależność pomiędzy poziomem neopteryny a podłożem niewydolności serca. Dlatego celem pracy jest ocena stężenia neopteryny w zależności od etiologii niewydolności serca oraz jej znaczenie jako czynnika prognostycznego w ocenie przebiegu tego zespołu.

## 2. CEL:

Celem pracy była ocena stężenia neopteryny u chorych z niewydolnością serca oraz określenie, czy stężenie neopteryny zależy od stopnia i etiologii niewydolności serca.

Dla realizacji tego celu przeprowadzono:

- Ocena stężenia neopteryny u pacjentów z niewydolnością serca w stopniu II i III wg. NYHA oraz
- Retrospektywną ocenę kliniczną pacjentów pod kątem postępu niewydolności serca i/lub zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych po 12 miesiącach po opuszczeniu szpitala.

Hipotezy, zmienne i określenie parametrów badania

W oparciu o dane z piśmiennictwa założono następujące hipotezy badawcze:

- A. Stężenie neopteryny, jako wykładnik reakcji zapalnej, wzrasta u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca wraz ze stopniem zaawansowania choroby
- B. Stężenie neopteryny nie zależy od etiologii niewydolności serca
- C. Wzrost stężenia tej cytokiny jest czynnikiem prognostycznym postępu niewydolności serca i/lub zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych.

### 3. MATERIAŁ:

Badaną grupę stanowili pacjenci hospitalizowani w Oddziale Wewnętrznym Szpitala Powiatowego w Środzie Wlkp. w latach 2007-2008 z powodu wystąpienia lub zaostrzenia niewydolności serca w klasie II lub III wg NYHA (objawy niewydolności serca występowały lub nasiliły się w ciągu ostatnich 2 tygodni przed hospitalizacją i włączeniem do badania).

Oznaczenie stężenia neopteryny we krwi przeprowadzono łącznie u 47 pacjentów ( 28 kobiet, 19 mężczyzn ) w wieku od 53 do 84 lat ( średnio  $61 \pm 10$  ) i masie ciała od 52 do 98 kg ( średnio  $78 \pm 6$  ).

Wśród chorych wyróżniono 2 podgrupy:

- 21 pacjentów z CHF, u podłoża której leżało nadciśnienie tętnicze
- 26 pacjentów z CHF, u podłoża której leżała choroba niedokrwienna serca [ tabela 4 ]

Potwierdzenie wystąpienia lub zaostrzenia niewydolności serca rozpoznawano na podstawie następujących badań:

1. podmiotowego
2. przedmiotowego
3. badań dodatkowych: ekg spoczynkowe, rtg klatki piersiowej, pomiar ciśnienia tętniczego, badanie echokardiograficzne serca.

Na podstawie występujących objawów klinicznych chorzy byli kwalifikowani do poszczególnych klas niewydolności serca zgodnie z klasyfikacją NYHA – na podstawie aktualnych wytycznych ESC 2008 ( 19 pacjentów zakwalifikowano do II klasy NYHA, 28 pacjentów do klasy III NYHA ) [ tabela 4 ].

Ustalono następujące kryteria wyłączenia z badania:

- stan zapalny współistniejący z niewydolnością serca ( wartości OB. i/lub CRP powyżej referencyjnych norm )
- niewydolność serca w klasie IV NYHA
- choroba nowotworowa
- niewydolność nerek
- niewydolność wątroby
- ostry zespół wieńcowy

Grupę kontrolną stanowiło 20 zdrowych ochotników ( 12 kobiet, 8 mężczyzn ) rekrutowanych spośród członków rodzin hospitalizowanych pacjentów w wieku od 38 do 62 lat ( średnio  $49 \pm 8$  )

) i o masie ciała od 55 do 95 kg ( średnio  $74 \pm 7$  ), nie wykazujących w badaniu podmiotowym, przedmiotowym, badaniach biochemicznych (morfologia krwi, OB, gospodarka lipidowa, próby wątrobowe, badania ogólne moczu), a także w badaniach dodatkowych (pomiar ciśnienia tętniczego, EKG spoczynkowe) cech patologii narządowej, w tym w szczególności dotyczącej układu sercowo-naczyniowego, czynności wątroby i nerek oraz chorób o charakterze zapalnym. Wszystkie osoby zakwalifikowane do badań, informowano o celu i sposobie ich przeprowadzenia. Badane osoby wyraziły pisemną zgodę na ich wykonanie. Zaproponowana metodyka badań została zatwierdzona przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowego w Poznaniu (nr-1072/07).

	Wiek ( lata )	Płeć (mężczyźni/ kobiety)	Ilość pacjentów:	
			NT	ChNS
<b>Grupa kontrolna</b> (n=20)	$49 \pm 8$	8/12	-	-
<b>Klasa II NYHA</b> (n=19)	$71 \pm 9$	8/11	10	9
<b>Klasa III NYHA</b> (n=28)	$60 \pm 6$	11/17	11	17

Tabela 4. Podział chorych na podstawie klasyfikacji NYHA

U każdego pacjenta w trakcie hospitalizacji przeprowadzano określony zestaw rutynowych badań laboratoryjnych:

- Morfologia krwi obwodowej
- Elektrolity: stężenie  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  w surowicy
- Stężenie mocznika, kreatyniny w surowicy
- Aminotransferazy: AlAT, AspAT w surowicy
- Stężenie glukozy na czczo
- OB.
- CRP
- Gospodarka lipidowa: cholesterol całkowity, LDL, HDL, %HDL, TG
- Badanie ogólne moczu

- W trakcie hospitalizacji wykonano u każdego pacjenta badania dodatkowe:
- rtg klatki piersiowej
- ekg spoczynkowe
- badanie echokardiograficzne serca
- 3-krotny pomiar ciśnienia tętniczego

Charakterystykę kliniczno-laboratoryjną chorych z uwzględnieniem podziału na grupy wydolności serca ( wg. NYHA ) przedstawia tabela 5.

	<b>Grupa kontrolna (n=20)</b>	<b>klasa II (n=19)</b>	<b>klasa III (n=28)</b>	<b>klasa II+III (n=47)</b>
<b>HGB [mmol/l]</b>	8.72±0.74	9.16±0.65	10.83±1.32	10.02±1.23
<b>OB [mm/h]</b>	7±3	11±6	13±5	12±6
<b>Tchol [mmol/l]</b>	4.69±0.34	5.12±0.49	5.40±0.54	5.25±0.61
<b>LDL [mmol/l]</b>	2.34±0.54	2.91±0.42	3.22±0.48	3.11±0.54
<b>HDL [mmol/l]</b>	1.55±0.51	1.22±0.26	1.24±0.34	1.24±0.33
<b>TG [mmol/l]</b>	1.34±0.72	1.78±0.36	1.97±0.44	1.89±0.52
<b>AlAT [U/l]</b>	25.60±10.14	25.80±12.07	26.19±13.71	26.02±14.58
<b>AspAT [U/l]</b>	24.83±12.81	27.87±6.37	27.25±7.58	27.42±7.79
<b>Kreatynina[mmol/l]</b>	81.66±15.26	81.02±12.27	89.91±16.00	86.67±18.79
<b>Mocznik [mmol/l]</b>	5.22±1.08	5.27±1.13	5.31±1.23	5.28±1.26
<b>Na<sup>+</sup> [mmol/l]</b>	141.1±2.65	140.9±2.43	140.8±2.26	140.8±2.42
<b>K<sup>+</sup> [mmol/l]</b>	4.42±0.36	4.30±0.29	4.21±0.46	4.26±0.49
<b>Glukoza [mmol/l]</b>	5.13±0.63	5.45±0.57	5.41±0.56	5.43±0.58
<b>EF [%]</b>	65±6	50±8	39±10	47±16
<b>LVED [mm]</b>	49±5	56±9	63±11	59±13

Tabela 5. Charakterystyka grup badanych

## 4. METODA:

### 4.1 Hospitalizacja

Badania przeprowadzono w standardowych warunkach szpitalnych Oddziału Wewnętrznego Szpitala Powiatowego w Środzie Wlkp.

W trakcie hospitalizacji oraz po opuszczeniu szpitala chorzy zostali poddani standardowej farmakoterapii zgodnie z wytycznymi ESC

Pacjenci otrzymywali leki z następujących grup:

- ACE- I ( perindopryl, ramipryl )
- $\beta$  – blokery ( metoprolol, bisoprolol )
- Diuretyki ( diuretyki pętłowe - Furosemid, antagoniści aldosteronu - Spironolakton )

Dodatkowo stosowano obligatoryjnie:

- ASA w dawce 75mg/ dobę lub w przypadku p/wskazań Tiklopidynę w dawce 2 x 250mg
- Statyny ( simvastatyna w dawce 20mg/dobę, atorvastatyna w dawce 40mg/dobę )

### 4.2 Badania laboratoryjne

Wszystkie badania biochemiczne wykonano w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej SPSK nr 1 im. Przemienienia Pańskiego w Poznaniu oraz Samodzielnego Publicznego Zespołu Opieki Zdrowotnej im. J. Dietla w Środzie Wlkp.

Badania dodatkowe wykonano w Oddziale Wewnętrznym Szpitala Powiatowego w Środzie Wlkp.

Morfologię oznaczano na analizatorze ABZ Penta 120.

Badania biochemiczne wykonano przy użyciu analizatora Konelab 30i.

Badanie ogólne moczu wykonywano na analizatorze Clinitek 50 firmy Bayer, osad oceniano metodą mikroskopową.

Badanie stężenia neopteryny wykonano w Zakładzie Farmakologii Klinicznej UM w Poznaniu.

### 4.3 Oznaczenie neopteryny

W celu oznaczenia stężenia neopteryny zarówno w grupie kontrolnej jak i u pacjentów z niewydolnością serca, pobierano krew z żyły łokciowej w ilości około 2 ml, po co najmniej 8-godzinnym spoczynku nocnym.

Oznaczenia stężenia neopteryny w surowicy krwi wykonano metodą radioimmunologiczną za pomocą testu MP BIOMEDICALS

#### 4.4 Badanie ankietowe

W okresie 9-12 miesięcy tj. od momentu opuszczenia szpitala u pacjentów przeprowadzono telefoniczne badanie ankietowe na temat objawów niewydolności serca. Osobie, która została poddana leczeniu lub jej najbliższej rodzinie zadano pytania mające na celu określenie stanu zdrowia oraz występujących obecnie objawów mogących sugerować poprawę bądź też progresję choroby. ( Treść ankiety prezentuje załącznik nr 1. )

Na tej podstawie wyodrębniono 2 podgrupy chorych ( wg. klas czynnościowych NYHA )

- grupa A: chorzy z poprawą lub bez pogorszenia (NYHA I i II): 23 osoby
- grupa B: pacjenci z pogorszeniem stanu zdrowia (NYHA III i IV) oraz zgon: łącznie 24 osoby - odpowiednio: 18 i 6 osób

<b>Hospitalizacja</b>	<b>Po 12 miesiącach</b>
NYHA II – 19 chorych	NYHA I – 7 chorych
	NYHA II – 7 chorych
	NYHA III – 2 chorych
	NYHA IV – 0
	Zgon – 3 chorych
NYHA III – 28 chorych	NYHA I – 1 chory
	NYHA II – 7 chorych
	NYHA III – 4 chorych
	NYHA IV – 11 chorych
	Zgon – 5 chorych

Tabela 6. Kliniczna klasyfikacja pacjentów po 12-miesięcznej standardowej farmakoterapii

#### 4.5 Analiza statystyczna wyników

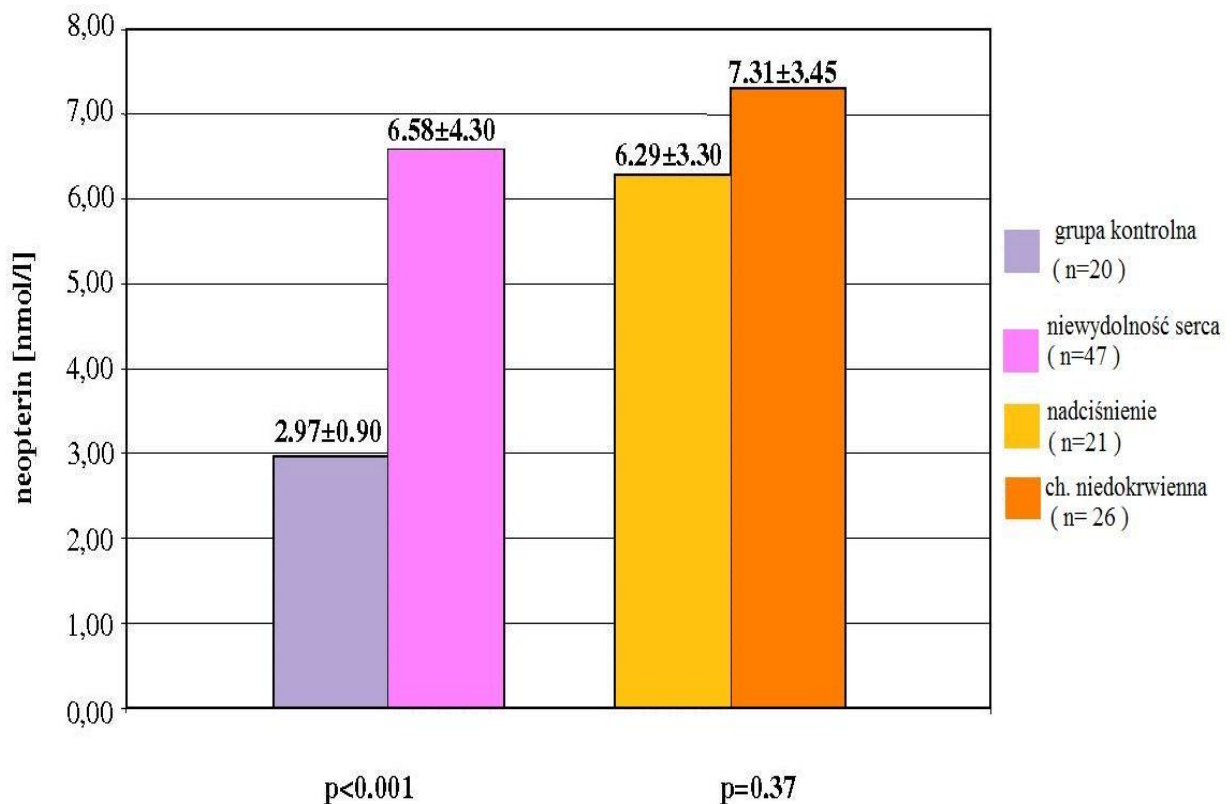
Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy zastosowaniu programu komputerowego STATISTICA 6.0 firmy StatSoft. Średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe otrzymanych wyników wykonano procedurą Statystyki Opisowej. Dla oceny normalności rozkładu analizowanych wartości zastosowano Test W Shapiro-Wilka. Ocenę istotności różnic wartości średnich przeprowadzono przy pomocy Testu t dla prób niezależnych z oddzielną oceną wariancji.



## 5. WYNIKI:

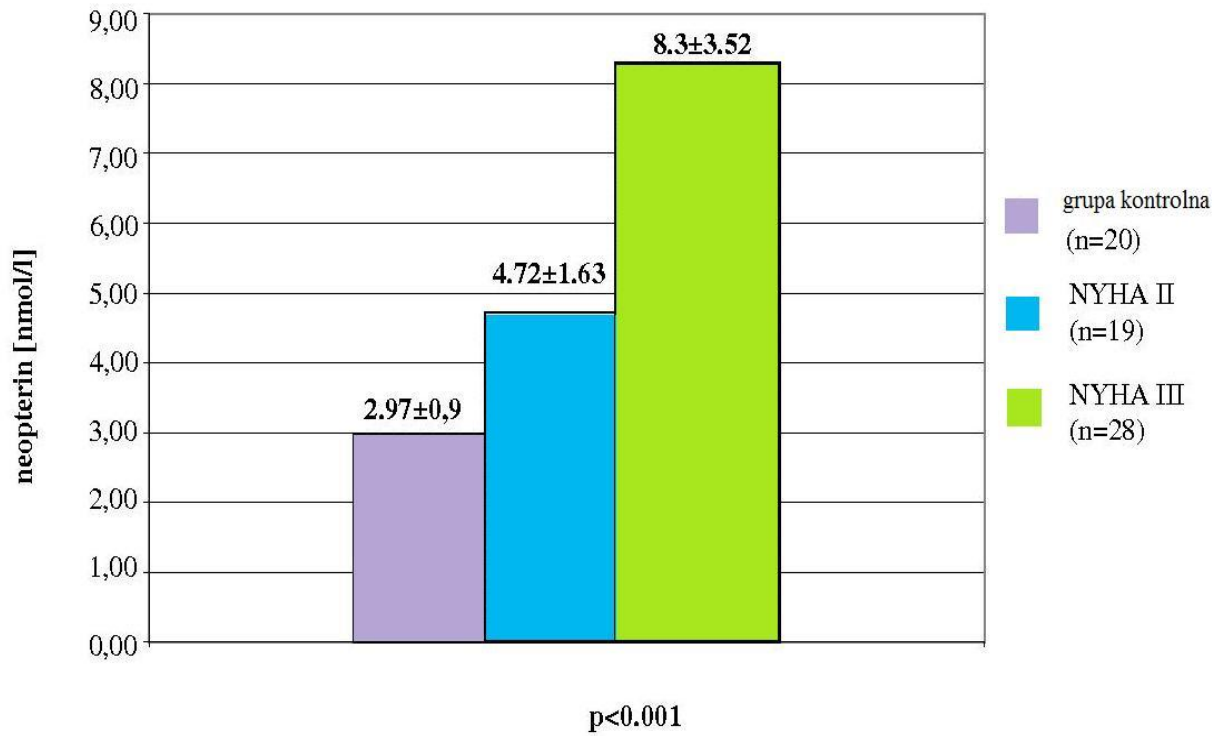
W grupie chorych z niewydolnością serca obserwowano wyższe stężenia neopteryny w stosunku do grupy kontrolnej:  $6,58 \pm 4,3 \text{ nmol/l}$  vs.  $2,97 \pm 0,9 \text{ nmol/l}$ , ( $p < 0,001$ ) [ wykres 1 ].

Nie stwierdzono jednocześnie różnic w stężeniu neopteryny pomiędzy grupą chorych z niewydolnością serca, u podłoża której leżało nadciśnienie tętnicze a grupą pacjentów, u której przyczyną niewydolności była ch. niedokrwienna serca:  $6,29 \pm 3,30 \text{ nmol/l}$  vs.  $7,31 \pm 3,45 \text{ nmol/l}$  ( $p = 0,37$ ) [ wykres 1 ]



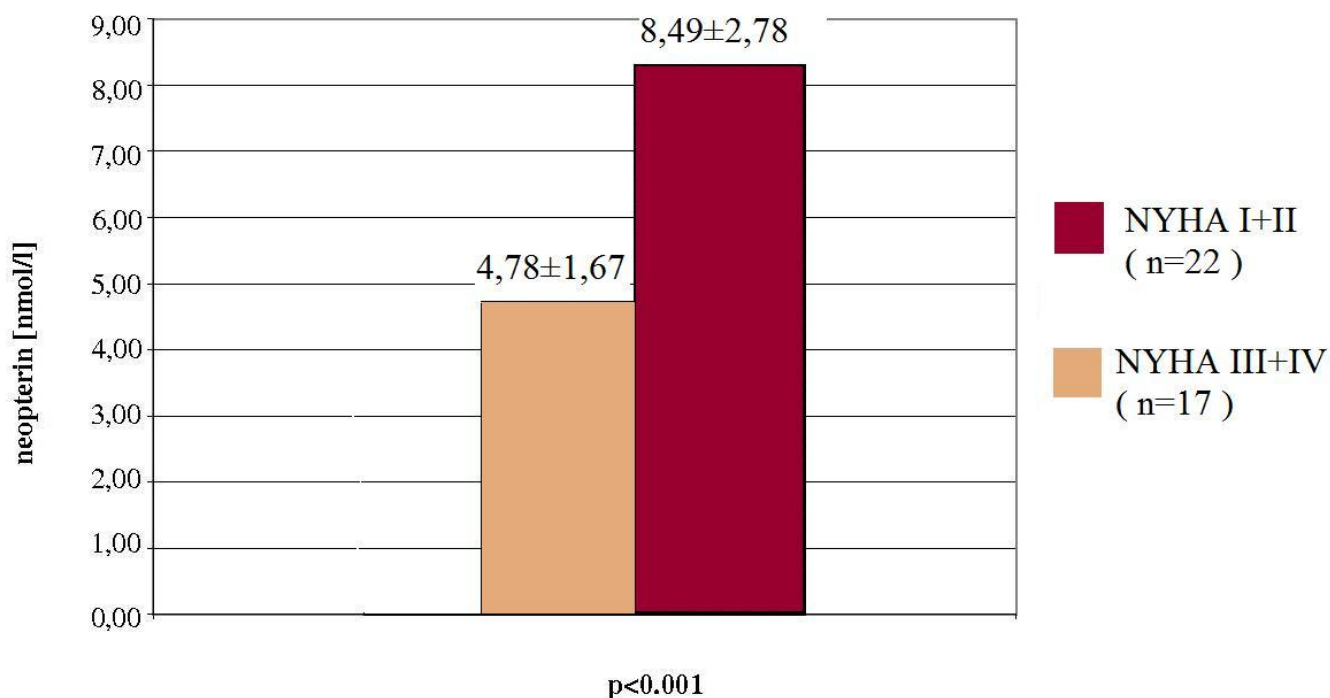
Wykres 1. Stężenie neopteryny w zależności od etiologii niewydolności serca.

Wystąpiły różnice istotnie statystyczne (  $p < 0,0001$  ) pomiędzy stężeniem neopteryny w poszczególnych grupach CHF: II klasa NYHA –  $4,72 \pm 1,63$  nmol/l vs. III klasa NYHA –  $8,30 \pm 3,52$  nmol/l [ wykres 2 ]



Wykres 2. Stężenie neopteryny w poszczególnych klasach niewydolności serca wg. NYHA

12 miesięcy po opuszczeniu szpitala 22 pacjentów zostało sklasyfikowanych ( wg. wytycznych ESC ) jako I i II klasa NYHA. Średnie stężenie neopteryny w tej grupie wynosiło  $4.78 \pm 1.67$  nmol/l. Pozostałych 17 chorych zaliczono do klasy III i IV NYHA ze średnim stężeniem neopteryny  $8.49 \pm 2.78$  nmol/l [ tabela 5 ]. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę tego markera pomiędzy wyodrębnionymi podgrupami (  $p < 0,001$  ) [ wykres 4 ]

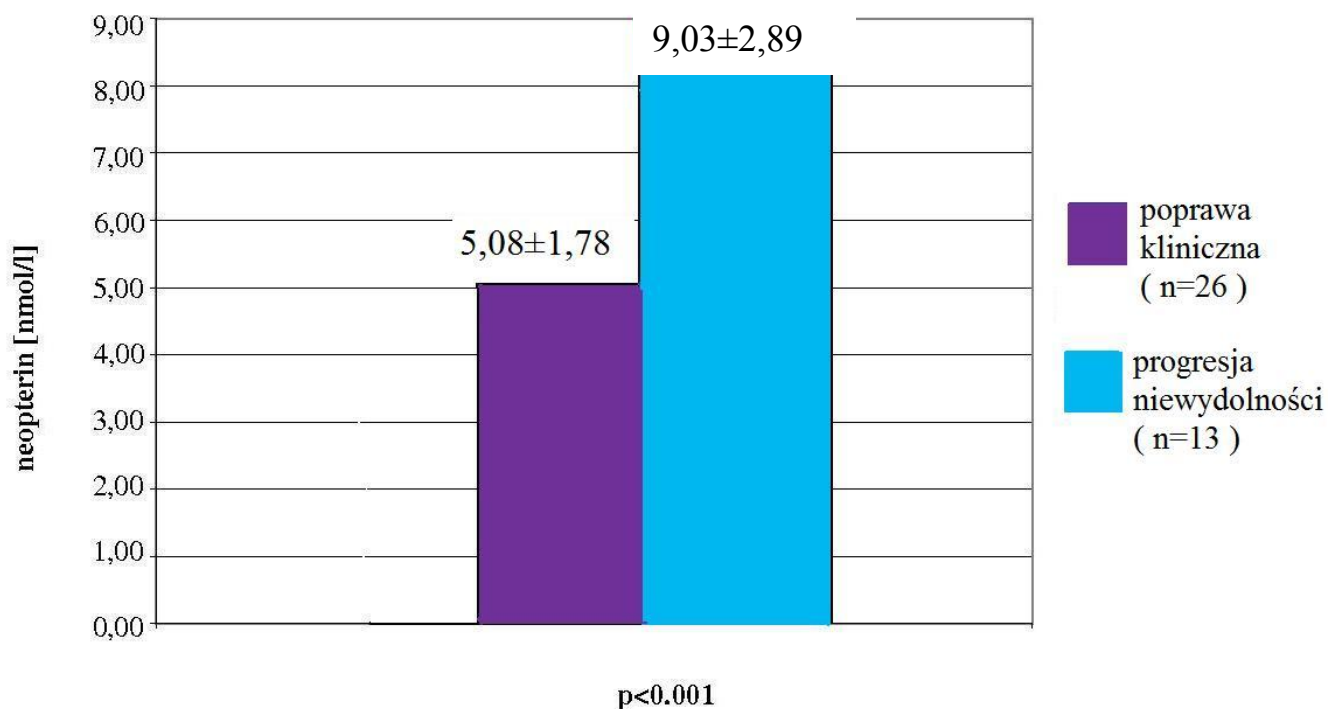


Wykres 3. Porównanie stężenia neopteryny pomiędzy grupą chorych z poprawą kliniczną a grupą pacjentów z pogorszeniem wydolności serca ( w 12-miesięcznej obserwacji )

Spośród 47-osobowej grupy badanych chorych, po 9-12 miesiącach farmakoterapii, zaobserwowano poprawę bądź nie wystąpiło pogorszenie wydolności serca u 26 pacjentów. U 13 osób wystąpiła progresja niewydolności serca [ tabela 5 ]. Stężenie neopteryny u ww. grup kształtowało się odpowiednio:  $5.08 \pm 1.78$  nmol/l vs  $9.03 \pm 2.89$  nmol/l z istotnością statystyczną  $p < 0.0001$

[ wykres 4 ].

W ciągu 12 miesięcznego okresu obserwacji 8 pacjentów zmarło ( 3 osoby zakwalifikowane podczas hospitalizacji do klasy II NYHA oraz 5 chorych w klasie III NYHA ). Przyczynę zgonu trudno było ustalić jednoznacznie.



Wykres 4. Porównanie stężenia neopteryny u chorych z poprawą kliniczną w stosunku do pacjentów z progresją niewydolności serca

Nie dowiedziono korelacji pomiędzy stężeniem którejkolwiek frakcji lipidów a stężeniem neopteryny analizując oddzielnie pulę pacjentów z niewydolnością serca, grupę kontrolną a także obie populacje łącznie ( chorzy z CHF i grupa kontrolna ) [ tabela 7 ]

	Chorzy z CHF	Grupa kontrolna	Populacja łączna
Tchol	r=0.025; p=0.884	r=0.316; p=0.175	r=-0.059; p=0.668
LDL	r=0.021; p=0.919	r=0.284; p=0.225	r=0.190; p=0.201
HDL	r=0.272; p=0.188	r=0.276; p=0.239	r=-0.269; p=0.740
TG	r=0.005; p=0.982	r=0.296; p=0.205	r=0.085; p=0.576

Tabela 7. Korelacja pomiędzy stężeniem lipidów a stężeniem neopteryny u chorych z niewydolnością serca, w grupie kontrolnej oraz w obu populacjach łącznie.

Nie stwierdzono także korelacji pomiędzy stężeniem neopteryny a wiekiem w grupie kontrolnej (r=-0.262; p=0.316), w grupie z niewydolnością serca w II stopniu wg. NYHA (r=-0.110; p=0.650), w III stopniu wg. NYHA (r=-0.335; p=0.081), oraz w całej grupie chorych (NYHA II i NYHA III) (r=-0.020; p=0.893) . Zaobserwowano jedynie słabą zależność pomiędzy wspomnianymi stałymi podczas łącznej korelacji chorych z grupą kontrolną. (r=0.36; p=0.002).

## 6. DYSKUSJA

Niewydolność serca jest zespołem objawów klinicznych, który stanowi końcowy etap wielu chorób układu sercowo-naczyniowego. Colucci i Braunwald określają ten patologiczny stan jako niemożność serca do pompowania krwi w takiej ilości, która odpowiadałaby zapotrzebowaniu metabolicznemu tkanek lub, która jest możliwa do uzyskania tylko przy zwiększonym ciśnieniu napełniania. [ 135 ]

Mimo znacznych postępów w zrozumieniu patofizjologii, wdrożenia szeroko zakrojonej profilaktyki i wprowadzenia do leczenia nowoczesnych metod terapeutycznych niewydolność serca ciągle stanowi duży problem zdrowotny i społeczny w rozwiniętych krajach Ameryki i Europy, w tym i Polski. Powagę sytuacji dostrzeżono już w latach 80. ubiegłego wieku. W roku 1988 epidemię niewydolności nazwano mianem „medycznej hydry” [ 136 ]. Hydra lernejska była potworem w mitologii greckiej - wielogłowym nieśmiertelnym wężem, któremu po odcięciu jednej głowy odrastało w tym samym miejscu kilka głów jednocześnie. To odległe nam współczesnym porównanie podkreśla złożony charakter niewydolności serca, a także trudności występujące przy rozwiązywaniu tego problemu. Póki, co nie narodził się kolejny Herakles, który unicestwiłby wspomnianego potwora naszych czasów.

W ostatnich latach znaczący postęp cywilizacyjny spowodował istotne wydłużenie życia, a w konsekwencji proporcjonalny wzrost liczby chorych z przewlekłą niewydolnością serca, która dotyczy głównie populacji osób starszych.

Średnia długość życia w Unii Europejskiej zwiększyła się o 8 lat w porównaniu z 1960 rokiem. W 2000 roku wynosiła 75 lat dla mężczyzn i 81 lat dla kobiet. Szacuje się, że w połowie XXI wieku w niektórych krajach Europy — Hiszpanii, Włoszech, Francji — ponad 40% populacji będzie stanowić grupa osób w wieku powyżej 60 lat. W tym samym czasie w naszym kraju w wieku powyżej 60 lat będzie około 35% populacji [ 137 ].

Niezwykle trafny termin „epidemia niewydolności serca” Massiego i Shaha [ 138 ] przewidział skalę problemu, jakim stał się ten zespół chorobowy. Obecnie niewydolność serca jest jedyną jednostką chorobową układu sercowo-naczyniowego o wciąż wzrastającej częstości oraz najczęstszą i najbardziej kosztowną przyczyną hospitalizacji pacjentów powyżej 65. roku życia i obciążoną największą śmiertelnością.

Częstość niewydolności serca w populacji europejskiej ocenia się na 0,4–2%, a w grupie chorych powyżej 65 roku życia nawet do 10%. Oznacza to, że problem dotyczy około 6,5–10 milionów Europejczyków. W Polsce ocenia się, że choruje 0,8–1 miliona osób. [ 139 ]

Jak zaznaczono już w części wstępnej badania ostatnich 30 lat (zarówno te z ostatnich dwóch dekad XX wieku, jak i ostatnie) wskazują, że przewlekłą niewydolność serca traktować trzeba także jako przewlekły proces zapalny, w którym istotną rolę odgrywają cytokiny prozapalne [140-143]. Ocena ich stężenia może odzwierciedlać zaawansowanie niewydolności serca oraz prognozować dalszy przebieg tego zespołu chorobowego [144-147]. Jest to ważne szczególnie w kontekście wspomnianej już „epidemii”. Spośród wielu cytokin kluczową rolę w rozwoju zespołu niewydolności przypisuje się TNF- $\alpha$  oraz IL-1, IL-6 [148,149]. TNF $\alpha$  wywiera biologiczne działania, które mogą odpowiadać za powstawanie objawów niewydolności serca. Do potencjalnych mechanizmów uszkodzenia mięśnia serca indukowanego TNF $\alpha$  należą m.in.: upośledzenie funkcji skurczowej lewej komory, obrzęk płuc, remodeling lewej komory, rozprężenie beta-receptora z cyklozą adenylową, zaburzenie procesów energetycznych w mitochondriach, apoptoza kardiomiocytów oraz apoptoza komórek endotelium [150].

Hipoteza cytokinowa niewydolności serca zakłada, że nadmierna ekspresja cytokin zarówno w obrębie tkanek mięśnia sercowego, jak również w krążeniu ogólnym i tkankach obwodowych powoduje powstawanie lub nasilenie już istniejących zaburzeń i objawów niewydolności serca.

Dlatego też głównym celem pracy była próba określenia stężenia jednej z mniej znanych cytokin prozapalnych – neopteryny - u pacjentów z łagodną i umiarkowaną niewydolnością serca. Celem pracy była również próba odpowiedzi na pytanie, czy stężenie neopteryny zależy od stopnia i etiologii niewydolności serca. Ponadto podjęto się zbadania potencjalnej roli prognostycznej tego markera, czyli jego wpływu na dalszy przebieg i rokowanie niewydolności serca. Powyższe cele zostały określone na podstawie uznania kluczowej roli zapalenia w patogenezie niewydolności serca.

Do osiągnięcia założonych celów posłużono się badaniem klinicznym przeprowadzonym wśród 47 pacjentów hospitalizowanych na Oddziale Wewnętrznym Szpitala im. J. Dietla w Środzie Wlkp. z objawami zaostrzenia niewydolności serca w klasie II i III wg. NYHA. Jako grupę kontrolną oceniano grupę 20 zdrowych osób.

Należy podkreślić, że badanie to (na podstawie przeglądu piśmiennictwa) jest pierwszym badaniem oceniającym wartość prognostyczną stężenia neopteryny u chorych z niewydolnością serca.

W grupie chorych z niewydolnością serca obserwowano wyższe stężenia neopteryny w stosunku do grupy kontrolnej:  $6,58 \pm 4,3 \text{ nmol/l}$  vs.  $2,97 \pm 0,9 \text{ nmol/l}$  ( $p < 0,001$ )

Podobne wyniki uzyskał jako pierwszy w 1993 roku Fuchs i wsp. [99] w grupie 25 chorych z niewydolnością serca. W badanej populacji pacjentów badacze wykazali istotny wzrost stężenia

neopteryny i wykazali również dodatnią korelację pomiędzy stężeniem neopteryny a stężeniem interferonu  $\gamma$ . Badanie to jest szczególnie ważne, gdyż po raz pierwszy zwraca uwagę na rolę, jaką odgrywa neopteryna w patogenezie niewydolności serca. Potwierdzono w nim także to, że w rozwoju niewydolności serca wzrasta nie tylko stężenie TNF $\alpha$ , ale także wzrasta stężenie innych cytokin.

W tym samym roku opublikowano badanie Wiedermana i wsp. dotyczące roli mediatorów zapalenia w niewydolnym sercu. [ 151 ] Badaniem objęto najważniejsze cytokiny prozapalne – w tym neopterynę oraz wolne rodniki ponadtlenkowe. I w tej pracy wykazano statystycznie istotny wzrost stężenia neopteryny w grupie chorych z niewydolnością serca w stosunku do grupy kontrolnej (  $23\pm 4$  vs.  $9\pm 0,5$  nmol/l ). Dodatkowo w analizie korelacyjnej wykazano dodatnią zależność pomiędzy stężeniem neopteryny a TNF $\alpha$ . Należy podkreślić, że Wiederman i wsp. uzyskali wyższe stężenie neopteryny w porównaniu z prezentowanym badaniem. Różnica ta wynika z faktu, że Wiederman swój eksperyment badawczy przeprowadził w niejednorodnej grupie chorych z niewydolnością serca ( bez podziału na klasy wydolności wg. NYHA ).

W prezentowanym badaniu analizowano również stężenie neopteryny w zależności od etiologii niewydolności serca. W tym celu wyróżniono 2 grupy chorych: grupę pacjentów z niewydolnością na podłożu nadciśnienia tętniczego oraz grupę pacjentów, której przyczyną niewydolności serca stała się choroba niedokrwienna serca. Nie zaobserwowano różnic statystycznie istotnych w zależności stężenia neopteryny w obu grupach:  $6,29\pm 3,30$  nmol/l vs.  $7,31\pm 3,45$  nmol/l, ( $p=0,37$ ). Podobny eksperyment przeprowadził Vonhof i wsp. [ 152 ]. Badacz ten uzyskał podwyższone stężenie neopteryny u chorych z niewydolnością serca w porównaniu do grupy osób zdrowych oraz pozytywną korelację pomiędzy stężeniem neopteryny a TNF $\alpha$ . Dodatkowo nie stwierdził różnic w stężeniu neopteryny pomiędzy grupami chorych z różnym podłożem niewydolności serca. W cytowanej pracy rozpatrywano zespół niewydolności serca na podłożu kardiomiopatii rozstrzeniowej i choroby niedokrwiennej serca. W obu grupach stężenie neopteryny kształtowało się w granicach 12-13 nmol/l ( autorzy publikacji nie podali dokładnych wyników ). Mimo tej różnicy oba badania pozwalają wysunąć tezę, że różne jednostki chorobowe leżące u podłoża niewydolności serca w podobny sposób pobudzają odpowiedź immunologiczną typu komórkowego do produkcji cytokin. Reakcja prozapalna w odpowiedzi na postępujące uszkodzenie mięśnia serca jest podobnie nasilona i wydaje się być niezależna od czynnika inicjującego niewydolność serca.

W pracy własnej potwierdzono zależność pomiędzy natężeniem odpowiedzi zapalnej a stopniem zaawansowania niewydolności serca. Uzyskano różnice istotne statystycznie pomiędzy

stężeniem neopteryny w II i III klasie niewydolności serca wg. NYHA: II klasa NYHA –  $4,72 \pm 1,63$  nmol/l vs. III klasa NYHA –  $8,30 \pm 3,52$  nmol/l. ( $p < 0,001$ ). Również P. Ankrust i wsp. [ 153 ] wykazali, że im wyższa klasa niewydolności wg. NYHA, tym wyższe stężenie neopteryny. Praca ta jednak tylko częściowo potwierdza wyniki prezentowanego badania. Mimo uzyskania różnic w stężeniu neopteryny pomiędzy klasą II, IV a grupą kontrolą, nie obserwowano zróżnicowania stężenia tej cytokiny pomiędzy klasą II i III wg. NYHA ( $11,2 \pm 3,24$  vs.  $10,9 \pm 4,76$  nmol/l ). Należy podkreślić, że badaniu tym nie brano pod uwagę potencjalnego wpływu neopteryny na dalszy przebieg choroby i jej rokowanie.

Inne badanie, które opisuje podobną zależność przeprowadził A. Shevchenko i wsp. [ 154 ]. Dowiódł w nim, że stężenie neopteryny koreluje ze stopniem zawansowania niewydolności serca. Uzyskane wyniki w poszczególnych grupach chorych posiadają istotność statystyczną i kształtują się w granicach:  $15,4 \pm 7,3$  nmol/l dla grupy pacjentów NYHA II vs.  $26,2 \pm 14,6$  nmol/l dla grupy chorych NYHA III. W badaniu tym poddany ocenie został również wpływ innych markerów zapalenia ( ceruloplazminy, sVCAM-1 oraz przeciwciał klasy IgG przeciw kardiolipinie ) jako czynników korelujących ze stopniem zaawansowania niewydolności serca. Nie dowiedziono jednak ich wpływu i wartości prognostycznej w ocenie powyższego zespołu chorobowego. Spośród nich tylko neopteryna okazała się cytokiną, której stężenie jest wykładnikiem aktywacji monocytów/makrofagów zależnej od limfocytów T.

Najistotniejszą, bo innowacyjną częścią prezentowanego badania był próba odpowiedzi czy stężenie neopteryny może stać się czynnikiem prognostycznym zaostrzenia niewydolności serca i/lub zgonu sercowego. W tym celu wśród pacjentów hospitalizowanych na Oddziale Wewnętrznym w Środzie Wlkp. przeprowadzono badania ankietowe oceniające wydolność serca wg. klas czynnościowych NYHA w okresie 9-12 miesięcy od opuszczenia szpitala.

Średnie stężenie neopteryny w podgrupie z poprawą wynosiło  $4,85$  nmol/l, zaś w podgrupie, w której obserwowano zaostrzenie niewydolności serca –  $8,69$  nmol/l. Wykazując istotną statystycznie różnicę tego markera w obu podgrupach ( $p < 0,001$ ) można postawić tezę, że neopteryna może stanowić czynnik prognostyczny rozwoju niewydolności serca. Prezentacja otrzymanych wyników została pozytywnie przyjęta, zrecenzowana i opublikowana w marcu 2010 roku w czasopiśmie Medical Science Monitor [ 98 ].

Pomimo niekwestionowanego wpływu cytokin tj. TNF $\alpha$  oraz IL-6 w rozwoju niewydolności serca [ 155-159 ] do niedawna w piśmiennictwie nie było badań dotyczących znaczenia neopteryny w progresji tego zespołu. W 2010 roku, w International Journal of Cardiology, po raz pierwszy ukazał się zwiastun w postaci pracy, która potwierdziła otrzymane wyniki własne tj. wskazuje na zależność pomiędzy stężeniem neopteryny a aktywacją układu



immunologicznego związaną ze stopniem zaawansowania niewydolności serca. [ 160 ] Japoński zespół Sasaki i wsp. „przebadali” populację 198 chorych z niewydolnością serca. W heterogenicznej grupie pacjentów znaleźli się chorzy, u których za przyczynę niewydolności serca uznano: kardiomiopatię rozstrzeniową, chorobę niedokrwienną serca, wady zastawkowe oraz nadciśnienie tętnicze. Cytowane badanie jest zbieżne z wynikami otrzymanymi w niniejszej pracy. Sasaki i wsp. podzielił chorych na grupy zgodnie z klasyfikacją NYHA. Uzyskał istotne różnice stężeń neopteryny w poszczególnych klasach NYHA na poziomie  $p < 0,0001$  ( klasa I – 5,42 nmol/l, klasa II NYHA – 7,40nmol/l, klasa III i IV NYHA – 11,76nmol/l ). Dodatkowo prospektywne badanie ze średnim 719-dniowym okresem obserwacji było zbieżne z wynikami uzyskanymi w prezentowanej pracy. Stwierdzono, że stężenie neopteryny jest niezależnym czynnikiem prognostycznym zaostrzenia niewydolności serca i/lub zgonu sercowego. Twardymi punktami końcowymi była: śmierć sercowa ( zdefiniowana jako śmierć z powodu zaostrzenia niewydolności serca lub NZK ) oraz powtórne hospitalizacje z powodu zaostrzenia choroby podstawowej. W pracy wykazano, że w grupie chorych ze średnim stężeniem neopteryny od 8,1 do 12,8nmol/l istnieje prawie 3-krotnie wyższe ryzyko wystąpienia incydentów sercowych, a u pacjentów u których to stężenie przekracza wartość 12,8nmol/l prawdopodobieństwo zgonu sercowego lub zaostrzenia niewydolności serca wzrasta aż 11-krotnie (  $p < 0,001$  )!

Należy podkreślić że, aktualne piśmiennictwo potwierdza także znaczenie wzrostu stężenia neopteryny w rozwoju ostrych incydentów sercowo-naczyniowych u pacjentów ze stabilną i niestabilną postacią choroby niedokrwiennej serca.

Neopteryna jako marker niestabilności płytki miażdżycowej predysponuje do wystąpienia OZW. Potwierdzają to badania Avanzas i wsp [ 126 ]. Stężenie neopteryny analizowane było w badaniu prospektywnym w grupie 297 chorych ze stabilną chorobą wieńcową. Uzyskane wyniki wskazują jednoznacznie, że u pacjentów, u których poziom neopteryny przekraczał 7nmol/l, 3-krotnie częściej występował zawał serca (  $p = 0,015$  ) w stosunku do chorych, u których odnotowano stężenie niższe niż 4,5nmol/l.

Ocena neopteryny, jako czynnika prognostycznego, u chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi badana była również w prezentowanym w części wstępnej badaniu PROVE IT-TIMI 22 [ 94 ]. Badanie przeprowadzono u 3946 pacjentów, u których wystąpił OZW ( w równych częściach: zawał z uniesieniem odcinka ST , zawał bez uniesienia ST oraz niestabilna choroba wieńcowa ). Stężenie neopteryny zostało zmierzone 4-krotnie: w 7. dniu OZW, po 30 dniach, po 4 miesiącach i po 2 latach. Opublikowane wyniki jednoznacznie wskazują, że stężenie neopteryny – jako wykładnik aktywacji monocytów i makrofagów - jest podwyższone w OZW i ściśle koreluje z długoterminowym ryzykiem śmierci ( zarówno z przyczyn

sercowych, jak i pozasercowych) i/lub prawdopodobieństwem powtórnego OZW. Stężenie neopteryny 12,11nmol/l i więcej stanowiło wartość niekorzystną rokowniczo.

Również najnowsze doniesienia naukowe Ray'a i wsp. z 2007 roku potwierdzają, że neopteryna może być przydatna w przewidywaniu klinicznego przebiegu choroby niedokrwiennej serca – jej systematyczne oznaczanie w surowicy pozwala bowiem na identyfikację pacjentów z największym ryzykiem incydentów naczyniowo-sercowych [ 161 ]. Amerykańsko-brytyjski zespół naukowców wskazał także na istnienie silnego związku między utrzymywaniem się wysokiego stężenia tej cytokiny w surowicy krwi a ryzykiem śmierci z powodu ostrego zespołu wieńcowego (zawału serca lub niestabilnej dławicy piersiowej) Także Zouridakis i wsp. potwierdził, że narastające stężenia tego markera wskazuje na duże prawdopodobieństwo konwersji stabilnego przebiegu dusznicy bolesnej do okresu niestabilnego [ 162 ].

W niedawno opublikowanych badaniach porównana została także wartość prognostyczna ryzyka rozwoju incydentów sercowo-naczyniowych pomiędzy CRP i neopteryną [ 163 ]. Wnioski płynące z tych obserwacji potwierdzają, że neopteryna dostarcza pełniejszych i bardziej wiarygodnych informacji na temat ryzyka rozwoju OZW niż CRP. Mimo, że badaniem została objęta mała liczba chorych wnioski z niego płynące wydają się być spójne. Pęknięcie blaszki miażdżycowej oraz rozwój OZW jest procesem szybkim i dynamicznym, podobnie jak aktywacja makrofagów do produkcji cytokin prozapalnych. Aby uzyskać wzrost stężenia białka C-reaktywnego potrzeba więcej czasu ( droga syntezy wątrobowej ), który w tym przypadku jest nie do przecenienia.

Aktualny stan wiedzy wskazuje także, iż neopteryna może być dobrym czynnikiem prognostycznym rozwoju OZW u chorych z nadciśnieniem tętniczym, u których nie współistnieje choroba wieńcowa [ 164 ].

W podsumowaniu można stwierdzić, że neopteryna wydaje się być dobrym markerem prognostycznym zaostrzenia niewydolności serca i/lub zgonu sercowego. Należy jednak zaznaczyć, że badaniem objęta została niewielka grupa chorych, co stanowi pewne ograniczenie. Z drugiej strony argumentem, potwierdzającym znaczenie tej cytokiny w rozwoju i progresji niewydolności serca mogą być najnowsze doniesienia japońskie. Są one w pełni zbieżne z wynikami prezentowanej pracy.

Pewnym ograniczeniem pracy jest wiek ocenianej populacji pacjentów. Wiadomo bowiem, że stężenie neopteryny uzależnione jest właśnie od wieku. Dlatego też ze szczególną starannością przeanalizowana została korelacja pomiędzy stężeniem tej cytokiny a wiekiem pacjentów w poszczególnych grupach: kontrolnej oraz chorych ( NYHA II, NYHA III i łącznie

NYHA II+III ). Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy ww. parametrami. Jedynie w przypadku, gdy analizowana była całkowita grupa badawcza ( zdrowi + chorzy ) odnotowano słaby związek pomiędzy stężeniem neopteryny a wiekiem badanych. Nie tłumaczy to jednak różnic jakie osiągnięto w stężeniu tego markera w poszczególnych klasach niewydolności serca wg. NYHA.

Nie można wykluczyć, że na stężenie neopteryny mogły mieć wpływ stosowane leki ( ACE-I,  $\beta$ -blokery, statyny czy diuretyki ) W celu zminimalizowania tego problemu u wszystkich chorych zastosowano standardową i jednolitą terapię niewydolności serca. Nie do końca jest także wyjaśniona rola statyn w terapii p/zapalnej. Na podstawie piśmiennictwa nie można stwierdzić arbitralnie, że statyny obniżają stężenie cytokin. Takie wnioski przedstawił w ostatnim czasie zespół Grammera [ 165 ]. Wnioskowaniu temu przeczy jednak obserwacja np. naukowców holenderskich, którzy nie potwierdzili, by leczenie statynami miało zmniejszać stres oksydacyjny oraz hamować aktywację odpowiedzi zapalnej typu komórkowego [ 166 ].

## **8. WNIOSKI:**

1. U pacjentów z niewydolnością serca w klasie II i III NYHA stwierdza się podwyższone stężenie neopteryny w surowicy krwi.
2. Stężenie neopteryny wzrasta w miarę zaawansowania niewydolności serca i jest niezależne od przyczyny niewydolności serca.
3. 12-miesięczna obserwacja zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a progresją niewydolności serca wskazuje, że neopteryna może stać się markerem prognostycznym zaostrzenia niewydolności serca i/lub zgonu sercowego.

## 9. STRESZCZENIE:

### WSTĘP

Niewydolność serca dotyczy głównie ludzi starszych. Do jej najczęstszych przyczyn należą nadciśnienie tętnicze oraz choroba niedokrwienna serca. Aktualny stan wiedzy wskazuje, że jednym z istotnych elementów procesu miażdżycowego jest reakcja zapalna. Jej markerem jest m.in. neopteryna produkowana przez makrofagi pod wpływem INF  $\gamma$ . Wzrost jej stężenia obserwuje się w zakażeniach, chorobie nowotworowej, reakcjach odrzucania przeszczepu, niewydolności nerek, zawale serca oraz w niewydolności serca.

### CEL

Celem pracy było ustalenie czy stężenie neopteryny wzrasta w niewydolności serca klasy II i III wg NYHA i czy jest ono zależne od etiologii niewydolności serca. Badaniu poddana została także wartość prognostyczna tego markera – czy jego wzrost rzutuje na późniejszy przebieg choroby.

### METODA

Grupa badana: 47 pacjentów hospitalizowanych na Oddziale Wewnętrznym w Szpitalu w Środzie z objawami niewydolności serca NYHA II i III

Grupa kontrolna: 20 zdrowych ochotników

U 26 chorych jako przyczynę niewydolności serca uznano chorobę wieńcową, zaś u 21 – nadciśnienie tętnicze.

Kryteria wyłączenia: współistniejący stan zapalny, choroba nowotworowa, niewydolność nerek oraz niewydolność serca w klasie IV NYHA.

Stężenie neopteryny w surowicy krwi oznaczano ilościowo za pomocą testu radioimmunologicznego RIA.

### WYNIKI

W grupie chorych z CHF obserwowano istotnie statystycznie wyższe stężenia neopteryny w stosunku do grupy kontrolnej:  $6,58 \pm 4,3 \text{ nmol/l}$  vs.  $2,97 \pm 0,9 \text{ nmol/l}$  ( $p < 0,001$ ).

Obserwowano także istotne statystycznie różnice w stężeniu neopteryny w poszczególnych grupach chorych z przewlekłą niewydolnością serca: II klasa wg. NYHA  $4,72 \pm 1,63 \text{ nmol/l}$  vs. III klasa wg. NYHA  $8,30 \pm 3,52$  ( $p < 0,0001$ ).

Nie stwierdzano istotnych statystycznie różnic w stężeniu neopteryny pomiędzy grupą chorych z niewydolnością serca i nadciśnieniem tętniczym a grupą z niewydolnością serca i chorobą niedokrwienną serca -  $6,29 \pm 3,30 \text{ nmol/l}$  vs.  $7,31 \pm 3,45 \text{ nmol/l}$  ( $p=0,37$ )

W badaniu retrospektywnym, spośród 47-osobowej grupy badanych chorych, po 12 miesiącach obserwacji, zaobserwowano poprawę bądź nie wystąpiło pogorszenie wydolności serca u 26 pacjentów. 13 osób prezentowało natomiast progresję niewydolności. Stężenie neopteryny u ww. grup kształtowało się odpowiednio:  $5,08 \pm 1,78 \text{ nmol/l}$  vs  $9,03 \pm 2,89 \text{ nmol/l}$  z istotnością statystyczną  $p < 0,0001$

## WNIOSKI

U pacjentów z niewydolnością serca w klasie II i III NYHA stwierdza się podwyższone stężenie neopteryny w surowicy krwi.

Stężenie neopteryny wzrasta w miarę zaawansowania niewydolności serca i jest niezależne od przyczyny niewydolności serca.

12-miesięczna obserwacja zależności pomiędzy stężeniem neopteryny a progresją niewydolności serca wskazuje, że neopteryna może stać się markerem prognostycznym zaostrzenia niewydolności serca i/lub zgonu sercowego.

## **ABSTRACT:**

**Background.** The study aimed at evaluation of neopterin concentration in relation to heart failure aetiology and estimation of basal neopterin concentration in correlation to clinical state of patients after 12 months of standard treatment.

**Material and methods.** Examined group was composed of 47 patients with heart failure II and III NYHA class and 20 healthy volunteers.

Concentration of neopterin in blood serum was determined with radioimmunological RIA test. 12 months after the patients had left the hospital the quality of life and the clinical symptoms of heart failure were evaluated.

**Results.** Statistically significant higher basal concentration of neopterin in the group of patients with CHF than in the control group ( $p < 0.001$ ) was noticed. Higher concentration of neopterin was found in patients with NYHA III class as compared to patient with NYHA II class of CHF  $p < 0.001$ . No difference in relation to heart failure aetiology was detected.

Basal neopterin concentration determined patient clinical state after the 12-month chronic heart failure standard treatment.

**Conclusion.** In the 12-month observation we detected relation between neopterin concentration and heart failure progression what may point to neopterin as a marker of heart failure progression.

## **KEY WORDS:**

neopterin, heart failure, prognostic marker

## 10. PIŚMIENNICTWO:

1. Katz AM, Katz PB: Diseases of the in the works of Hippocrates. *Br Heart J* 1962; 24:257-264.
2. Tadeusz Brzeziński. *Historia medycyny*. PZWL 2004
3. Harvey W: *Movement of the Heart and Blood in animals* ( Translated by Franklin KJ ). Blackwell, Oxford 1957
4. Władysław Szumowski. *Historia medycyny filozoficznie ujęta*. Wydawnictwo ANTYK 2008.
5. Acierno LJ: *The History of Cardiology*. London, Parthenon, 1994
6. Patterson SW, Starling EH: On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol ( Lond )* 1914; 48: 357-379
7. Sarnoff SJ: Myocardial contractility as described by ventricle function curves; observations on Starling's law of the heart. *Physiol Rev* 1955; 35:107-122
8. Spann JF Jr, Buccino RA, Sonnenblick EH, Braunwald E: Contractile state of cardiac muscle obtained from cats with experimentally produced ventricular hypertrophy and heart failure *Circ Res* 1967; 21: 341-354
9. Mann D.L. Mechanisms and models in heart failure: A combinatorial approach. *Circulation* 1999;100:999-1008.
10. Packer M. The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:248-254
11. Flather M.D., Yusuf S., Kober L. i wsp.: Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. *Lancet* 2000;355:1575-81.
12. Ponikowski P., Korewicki J., Banasiak W. i wsp.: Miejsce blokerów receptorów beta adrenergicznych w leczeniu niewydolności serca. *Stanowisko Sekcji Niewydolności Serca Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego*. *Kardiologia Polska* 2001;54:313-319
13. Lower R: *Tractatus de corde: de motu & colore sanguinis et chyli in eum tranfitu*. London, Jacobi Alleftry, 1669
14. Levine B, Kalman J, Mayer L et al: Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990; 223: 236-241.
15. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med*. 1991;325:293-302.
16. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C et al. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction ( SOLVD ). *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 1201-6
17. Mohler ER, Sorensen LC, Ghali JK et al. Role of cytokines in the mechanism of action of amlodipine: the PRAISE Heart Failure Trial. Prospective randomized Amlodipine Survival Evaluation. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 35-41.
18. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, et al. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial ( VEST ) *Circulation* 2001; 103: 2055-9
19. De Candia A.M, Villacorta H, Mesquita E.H. Immune-inflammatory activation in heart failure *Arq. Bras. Cardiol* 2007; 89: 3 250-265
20. Piotr Podolec, Ewa A. Jankowska, Piotr Ponikowski i wsp. Przewlekła niewydolność serca. *Medycyna Praktyczna*, 2009 - 10 str. 40-49

21. Pousset F., Mason F., Chavirovskaia O. et al.: Plasma adrenomedullin, a new independent predictor of prognosis in patient with chronic heart failure. *Eur. Heart Fail.* 2000; 21:1009-1014
22. Fuchs M, Drexler H. Mechanisms of inflammation in heart failure. *Herz.* 2004;29(8):782-7
23. Yndestad A, Damås JK, Øie E et al. Role of inflammation in the progression of heart failure. *Curr Cardiol Rep.* 2007 May;9(3):236-41.
24. Torre-Amione G. Immune activation in chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 2005 Jun 6;95(11A):3C-8C; discussion 38C-40C
25. Kapadia S, Lee JR, Torre-Amione G, et al: Tumor necrosis factor gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest* 1995; 96: 1042-1052.
26. Kapadia S, Oral H, Lee J, et al: Hemodynamic regulation of TNF-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res* 1997; 81:187-195
27. Tsutamoto T, Wada A, Matsumoto T, et al: relationship between TNF-alpha production and oxidative stress in the failing hearts of patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:2086-2092
28. Yourker K, Smith CW, Anderson DC, et al: Neutrophil adherence to isolated adult cardiac myocytes: introduction by cardiac lymph collected during ischaemia and reperfusion. *J Clin Invest* 1992; 89:602-609
29. Anker SD, Egerer KR, Volk HD et al: Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 1997; 79:1426-1429
30. Gurleck A, Kikicap M, Dincer I, et al: Effect of losartan on circulating TNF $\alpha$  levels and left ventricular systolic performance in patients with heart failure. *J Cardiovasc Risk* 2001; 8:279-282.
31. Prabhu SD, Chndrasekar B, Murray DR, et al:  $\beta$ -adrenergic blockade in developing heart failure: Effects on myocardial inflammatory cytokines, nitric oxide and remodeling. *Circulation* 2000; 101:2103-2109
32. Adamopoulos S, Parissis J.T, Kremastinos DT. A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2001; 3: 517-26.
33. Agnoletti L, Curello S, Bachetti T et al: Serum from patients with severe heart failure downregulates eNOS and is proapoptotic: role of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation* 1999; 100: 1983-1991.
34. Balligand JL, Ungureanu D, Kelly RA, et al.: Abnormal contractile function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac monocytes follows exposure to activated macrophage-conditioned medium. *J Clin Invest* 1993; 91:2314-2319.
35. Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Mann DL.: Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *J Card Fail* 1996; 2:234-239.
36. Hopkins F G. Note on a yellow pigment in butterflies. *Nature* 1889: 40: 335.
37. Wieland H, Schopf C. Über den gelben Flugelfarbstoff des Zitronenfalters (*Gonepteryx rhamni*). *Ber Dtsch Chem Ges* 1925: 58: 2178-2183.
38. Purmann R. Über die Flugelpigmente der Schmetterlinge.VII. Synthese des Leukopterins und Natur des Guanopterins. *Justus Liebigs Ann Chem* 1940: 544: 182-190.
39. Purmann R. Konstitution und Synthese des sogenannten Anhydroleukopterins. *Justus Liebigs Ann Chem* 1941: 548: 284-292
40. Rembold H., Buschmann L. Struktur und Synthese des Neopterins. *Chem Ber* 1963: 96: 1406-1410
41. Sakurai A, Goto M. Neopterin: isolation from human urine. *J Biochem.* 1967 Jan;61(1):142-5.



42. Wachter H, Hausen A, Grassmayr K. Erhohte Ausscheidung von Neopterin im Harn von Patienten mit malignen Tumoren und mit Viruserkrankungen. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 1979; 360: 1957–1960.
43. Hausen A, Fuchs D, Grunewald K et al.: Urinary neopterin as marker for hematological neoplasias. *Clin Chim Acta* 1981; 117: 297–305.
44. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, et al. Immune response-associated production of neopterin - Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984;160:310-6.
45. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, et al. Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1 and T 24 cells. GTP-cyclohydrolase I is stimulated by interferon-gamma, 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase and sepiapterin reductase are constitutively present. *J Biol Chem* 1990;265:3189-92.
46. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D et al.: Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1). *Cancer Res* 1990;50:2863-7.
47. Nachbaur K, Troppmair J, Bieling P et al.: Cytokines in the control of beta-2 microglobulin release. 1. In vitro studies on various haemopoietic cells. *Immunobiology* 1988;177:55-6.
48. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D et al.: Tumour necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide enhance interferon-induced tryptophan degradation and pteridine synthesis in human cells. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1989;370:1063-9.
49. Nathan CF. Peroxide and pteridine: a hypothesis of the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon-gamma. In: *Interferon*, vol.7, Gresser J, ed., Academic Press, London, 1986;125-43.
50. Weiss G, Fuchs D, Hausen A, et al. Neopterin modulates toxicity mediated by reactive oxygen and chloride species. *FEBS Lett* 1993;321:89-92.
51. Wede I, Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D. Effects of neopterin and 7,8-dihydroneopterin on luminol-dependent chemiluminescence induced by reactive intermediates formed from hydrogen peroxide, chloramine-T, hypochloride and nitrite. *Pteridines* 1995;6:35.
52. Schneemann M, Schoedon G, Hofer S et al.: Nitric oxide is not a constituent of the antimicrobial armature of human mononuclear phagocytes. *J Infect Dis* 1993;167:1358-63.
53. Fuchs D, Murr C, Reibnegger G, et al. Nitric oxide synthase and antimicrobial armature of human macrophages. *J Infect Dis* 1994;169:224.
54. Wede I, Barker JE, Fuchs D et al.: Influence of neopterin and 7,8-dihydroneopterin on peroxynitrite-induced mitochondrial damage. *Pteridines*.
55. Schobersberger W, Hoffmann G, Grote J et al.: Induction of inducible nitric oxide synthase expression by neopterin in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1995;377:461-4.
56. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Murr C, et al. Effect of 7,8-neopterin on tumor necrosis factor-alfa induced programmed cell death. *FEBS Lett* 1995;95:227-32.
57. Schobersberger W, Hoffmann G, Hobisch-Hagen, et al. Neopterin and 7,8-dihydroneopterin induce apoptosis in the rat alveolar epithelial cell line L2. *FEBS Lett* 1996;397:263-8.
58. Schobersberger W, Jelkmann W, Fandrey J et al.: Neopterin-induced suppression of erythropoietin production in vitro. *Pteridines* 1995;6:12-6.
59. Überall F, Werner-Felmayer G, Schubert C et al.: Neopterin derivatives together with cyclic guanosine monophosphate induce c-fos gene expression. *FEBS Lett* 1994;352:11-4.

60. Mayersbach P, Augustin R, Schennach H, et al. Commercial enzyme-linked immunosorbent assay for neopterin detection in blood donations compared with RIA and HPC. *Clin Chem* 1994;40:265-6.
61. Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A et al.: Neopterin - its clinical use in urinalysis. *Kidney Int* 1994;46:8-11.
62. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G et al.: Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: Application in HIV infection. *Immunol Today* 1988;9:150-5.
63. Wachter H, Fuchs D, Hausen A et al.: Neopterin as marker for activation of cellular immunity: Immunologic basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989;27:81-141.
64. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious and malignant diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992;29:304-41.
65. Fuchs D, Weiss G, Wachter H. Neopterin, biochemistry and clinical use as a marker for cellular immune reactions. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 101:1-6.
66. Probasco JC, Deeks SG, Lee E et al.: Cerebrospinal fluid in HIV-1 systemic viral controllers: absence of HIV-1 RNA and intrathecal inflammation. *AIDS*. 2010 Apr 24;24(7):1001-5.
67. French MA, King MS, Tschampa JM et al.: Serum immune activation markers are persistently increased in patients with HIV infection after 6 years of antiretroviral therapy despite suppression of viral replication and reconstitution of CD4+ T cells. *J Infect Dis*. 2009 Oct 15;200(8):1212-5.
68. Byrnes AA, Harris DM, Atabani SF et al.: Immune activation and IL-12 production during acute/early HIV infection in the absence and presence of highly active, antiretroviral therapy. *J Leukoc Biol*. 2008 Dec;84(6):1447-53. Epub 2008 Sep 19.
69. Schloss L, Falk KI, Skoog E et al.: Monitoring of herpes simplex virus DNA types 1 and 2 viral load in cerebrospinal fluid by real-time PCR in patients with herpes simplex encephalitis. *J Med Virol*. 2009 Aug;81(8):1432-7.
70. Goka BQ, Kwarko H, Kurtzhals JA et al.: Complement binding to erythrocytes is associated with macrophage activation and reduced haemoglobin in *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001 Sep-Oct;95(5):545-9.
71. Schroecksadel K, Winkler C, Duftner C et al.: Tryptophan degradation increases with stage in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2006 May;25(3):334-7. Epub 2005 Nov 1.
72. Forrest CM, Mackay GM, Stoy N et al.: Inflammatory status and kynurenine metabolism in rheumatoid arthritis treated with melatonin. *Br J Clin Pharmacol*. 2007 Oct;64(4):517-26. Epub 2007 May 15.
73. Salem SA, Farouk HM, Mostafa AA et al.: Keratinocyte and lymphocyte apoptosis: relation to disease outcome in systemic lupus erythematosus patients with and without cutaneous manifestations. *Eur J Dermatol*. 2010 Jan-Feb;20(1):35-41. Epub 2009 Nov 17.
74. Muller Kobold AC, Kallenberg CG, Tervaert JW. Monocyte activation in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann Rheum Dis*. 1999 Apr;58(4):237-45.
75. Nancey S, Perret-Liaudet A, Moussata D et al.: Urinary neopterin is a valuable tool in monitoring Crohn's disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2008 Nov;14(11):1548-54.
76. Reimund JM, Arondel Y, Escalin G et al.: Immune activation and nutritional status in adult Crohn's disease patients. *Dig Liver Dis*. 2005 Jun;37(6):424-31. Epub 2005 Mar 17.

77. Forrest CM, Gould SR, Darlington LG et al.: Levels of purine, kynurenine and lipid peroxidation products in patients with inflammatory bowel disease. *Adv Exp Med Biol.* 2003;527:395-400.
78. Sahin TT, Yuksel O, Girgin G et al.: Is neopterin level a predictive and differential biomarker in patients with thyroid disorders? *Endocrinol Invest.* 2009 Feb;32(2):147-9.
79. Engin AB, Ozkan Y, Fuchs D et al.: Increased tryptophan degradation in patients with bronchus carcinoma. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2009 Aug 20
80. El-Akawi ZJ, Abu-Awad AM, Sharara AM, Khader Y. The importance of alpha-1 antitrypsin (alpha1-AT) and neopterin serum levels in the evaluation of non-small cell lung and prostate cancer patients. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010;31(1):113-6.
81. Girgin G, Tolga Sahin T et al.: Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *Int J Biol Markers.* 2009 Oct-Dec;24(4):265-70.
82. Unal B, Kocer B, Altun B et al.: Serum neopterin as a prognostic indicator in patients with gastric carcinoma. *J Invest Surg.* 2009 Nov-Dec;22(6):419-25.
83. Sucher R, Schroecksadel K, Weiss G et al.: Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. *Cancer Lett.* 2010 Jan 1;287(1):13-22. Epub 2009 Jun 4
84. Havel MP, Laczkovics AM, Kurz RW et al.: Neopterin as a parameter for the early detection of acute graft rejection following heart transplantation. *Z Med Lab Diagn.* 1987;28(8):429-35
85. Havel M, Laczkovics A, Teufelsbauer H et al.: Neopterin as a new marker to detect acute rejection after heart transplantation. *J Heart Transplant.* 1989 Mar-Apr;8(2):167-70.
86. Woloszczuk W, Schwarz M, Havel M et al.: Neopterin and interferon gamma serum levels in patients with heart and kidney transplants. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1986 Oct;24(10):729-34
87. Dale RC, Brilot F, Fagan E, Earl J. Cerebrospinal fluid neopterin in paediatric neurology: a marker of active central nervous system inflammation. *Dev Med Child Neurol.* 2009 Apr;51(4):317-23. Epub 2009 Jan 26.
88. Azumagawa K, Suzuki S, Tanabe T et al.: Neopterin, biopterin, and nitric oxide concentrations in the cerebrospinal fluid of children with central nervous system infections. *Brain Dev.* 2003 Apr;25(3):200-2.
89. Gasse T, Murr C, Meyersbach P et al.: Neopterin production and tryptophan degradation in acute Lyme neuroborreliosis versus late Lyme encephalopathy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1994 Sep;32(9):685-9.
90. Korzeniowska K, Wietlicka-Kokoszaneck I, Kaźmierczak M i wsp. Ocena stężenia neopteryny u pacjentów ze świeżym udarem niedokrwinnym. *Probl. Ter. Monit.* 2008 T. 19 nr 3 s. 203-208
91. Tasdelen Fisgin N, Aliyazicioglu Y, Tanyel E et al.: The value of neopterin and procalcitonin in patients with sepsis. *South Med J.* 2010 Mar;103(3):216-9.
92. Behnes M, Brueckmann M, Wiessner M et al.: Time-course of neopterin levels in patients suffering from severe sepsis treated with and without Drotrecogin-alpha (activated). *Scand J Infect Dis.* 2008;40(6-7):503-8.
93. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Kaski JC. Inflammatory systemic biomarkers in setting acute coronary syndromes-effects of the diurnal variation. *Curr Drug Targets.* 2009 Oct;10(10):1001-8.
94. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D et al.: The Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med.* 2005;352:20-28.

95. Garcia-Moll X, Coccolo F, Cole D, Kaski JC. Serum neopterin and complex stenosis morphology in patients with unstable angina. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35: 956–962.
96. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J, et al.: Markers of inflammation and multiple complex stenoses (pancoronary plaque vulnerability) in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Heart.* 2004; 90: 847–852.
97. Wietlicka I, Korzeniowska K, Bogdański Pi wsp. The assessment of neopterin concentration in patients with heart failure. *Pol Merkur Lekarski.* 2010 Apr;28(166):256-9.
98. Wietlicka-Kokoszane I, Jablecka A, Smolarek I i wsp. Neopterin as a prognostic marker in patients with chronic heart failure. *Med Sci Monit.* 2010 Apr 28;16(5):CR232-7.
99. Fuchs D, Samsonov M, Tilz GP et al.: Stimulated cellular immune system in patients with congestive heart failure. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1993 Mar;31(3):111-4
100. Aukrust P, Ueland T, Müller F et al.: Elevated circulating levels of C-C chemokines in patients with congestive heart failure. *Circulation.* 1998 Mar 31;97(12):1136-43
101. Lizuka T, Minatogawa Y, Suzuki H, et al. Urinary neopterin as a predictive marker of coronary artery abnormalities in Kawasaki syndrome. *Clin Chem* 1993;39/4:600-4.
102. Samsonov MI, Dzhuzenova BS, Nasonov EL et al.: The serum neopterin level in acute rheumatic fever. *Ter Arkh.* 1992;64(5):69-72.
103. Mayersbach P, Fuchs D, Schennach H. Performance of a fully automated quantitative neopterin measurement assay in a routine voluntary blood donation setting. *Clin Chem Lab Med.* 2010 Mar;48(3):373-7.
104. von Versen-Hoeynck FM, Hubel CA et al.: Plasma levels of inflammatory markers neopterin, sialic Acid, and C-reactive protein in pregnancy and preeclampsia. *Am J Hypertens.* 2009 Jun;22(6):687-92. Epub 2009 Mar 12
105. Sahin TT, Yuksel O, Girgin G, Sipahi H, Dikmen K, Azili C, Taneri F, Baydar T. Is neopterin level a predictive and differential biomarker in patients with thyroid disorders? *J Endocrinol Invest.* 2009 Feb;32(2):147-9.
106. Piecuch J, Rudzki M, Orkisz W i wsp. Neopterin - a potential factor for differentiation between pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Hepatogastroenterology.* 2008 Jan-Feb;55(81):258-61.
107. Nancey S, Perret-Liaudet A, Moussata D et al.: Urinary neopterin is a valuable tool in monitoring Crohn's disease activity. *Inflamm Bowel Dis.* 2008 Nov;14(11):1548-54.
108. Avci E, Coskun S, Cakir E et al.: Relations between concentrations of asymmetric dimethylarginine and neopterin as potential risk factors for cardiovascular diseases in haemodialysis-treated patients. *Ren Fail.* 2008;30(8):784-90.
109. Schennach H, Murr Ch., Gachler E et al.: Factors influencing serum neopterin concentrations in a population of blood donors. *Clin. Chem.* 2002, 48, 643
110. Vengen IT, Dale AC, Wiseth R et al.: Neopterin predicts the risk for fatal ischemic heart disease in type 2 diabetes mellitus Long-term follow-up of the HUNT 1 study. *Atherosclerosis.* 2009 Apr 11.
111. Chin GK, Adams CL, Carey BS et al.: The value of serum neopterin, interferon-gamma levels and interleukin-12B polymorphisms in predicting acute renal allograft rejection. *Clin Exp Immunol.* 2008 May;152(2):239-44. Epub 2008 Mar 12.
112. Yildirim Y, Gunel N, Coskun U et al.: Serum neopterin levels in patients with breast cancer. *Med Oncol.* 2008;25(4):403-7.
113. Pacileo M, Cirillo P, De Rosa S et al.: The role of neopterin in cardiovascular disease. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2007 Jun;68(2):68-73.

114. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Quiles J et al.: Elevated serum neopterin predicts future adverse cardiac events in patients with chronic stable angina pectoris. *Eur Heart J*. 2005 Mar;26(5):457-63.
115. Kuśnierz-Cabala B, Naskalski JW, Galicka-Latała D. Rola neopteryny w diagnostyce klinicznej. *Przegl. Lek.* 2005;62(7):716-9
116. Grażyna Mierzwa, Monika Parzęcka, Anna Szaflarska-Popławska, i wsp. Ocena przydatności klinicznej oznaczania neopteryny u dzieci i młodzieży z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej żołądka i/lub dwunastnicy z zakażeniem i bez zakażenia *Helicobacter pylori* *Przegląd Gastroenterologiczny* 2009; 4 (2): 83–87
117. Hull M., Passinetti G., Aisen P. Elevated serum neopterin levels in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 2000, 14, 228
118. Samsonov MIu, Nasonov EL, Masenko VP et al.: The clinical importance of the dynamic determination of the serum neopterin level in patients with dilated cardiomyopathy. *Ter Arkh.* 1991;63(9):133-6
119. Nasonov EL, Samsonov MIu, Masenko VP et al.: Serum neopterin in dilated cardiomyopathy *Ter Arkh.* 1990;62(4):72-5.
120. Samsonov M, Nasonov E, Kostin S et al.: Serum neopterin--possible immunological marker of myocardial inflammation in patients with dilated heart muscle disease. *Eur Heart J*. 1991 Aug;12 Suppl D:151-3
121. Tatzber F, Rabl H, Koriska K, Erhart U, Puhl H, Waeg G, Krebs A, Esterbauer H. Elevated serum neopterin levels in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1991 Aug;89(2-3):203-8
122. Adachi T, Naruko T, Itoh A, et al.: Neopterin is associated with plaque inflammation and destabilisation in human coronary atherosclerotic lesions. *Heart*. 2007 Dec;93(12):1537-41.
123. Gurfinkel EP, Scirica BM, Bozovich G et al.: Serum neopterin levels and the angiographic extent of coronary arterial narrowing in unstable angina pectoris and in non-Q-wave acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1999; 83: 515–518.
124. van Haelst PL, Liem A, van Boven AJ et al.: Usefulness of elevated neopterin and C-reactive protein levels in predicting cardiovascular events in patients with non-Q-wave myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003;92:1201–1203.
125. Pablo Avanzas, Ramon Arroyo-Espliguero, Juan Quiles et al.: Elevated serum neopterin predicts future adverse cardiac events in patients with chronic stable angina pectoris. *European Heart Journal* 2005; 26: 457–463
126. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J et al. Markers of inflammation and multiple complex stenoses (pancoronary plaque vulnerability) in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Heart* 2004;90:847-852.
127. Wiedermann CJ, Beimbold H, Herold M et al.: Increased levels of serum neopterin and decreased production of neutrophil superoxide anions in chronic heart failure with elevated levels of tumor necrosis factor-alpha. *J Am Coll Cardiol*. 1993 Dec;22(7):1897-901.
128. Koller-Strametz J, Pacher R, Frey B, et al.: Circulating tumor necrosis factor-alpha levels in chronic heart failure: relation to its soluble receptor II, interleukin-6, and neurohumoral variables. *J Heart Lung Transplant*. 1998 Apr;17(4):356-62.
129. Samsonov M, Lopatin J, Tilz GP et al.: The activated immune system and the renin-angiotensin-aldosterone system in congestive heart failure. *J Intern Med*. 1998 Feb;243(2):93-8.
130. Yndestad A, Damås JK, Øie E et al.: *Curr Cardiol Rep*. 2007 May;9(3):236-41. Role of inflammation in the progression of heart failure.

131. Torre-Amione G. Immune activation in chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 2005 Jun 6;95(11A):3C-8C; discussion 38C-40C.
132. Chen D, Assad-Kottner C, Orrego C et al.: Cytokines and acute heart failure. *Crit Care Med.* 2008 Jan;36(1 Suppl):S9-16.
133. Nessler J, Nessler B, Kitliński M, et al. Concentration of BNP, endothelin 1, pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-6) and exercise capacity in patients with heart failure treated with carvedilol. *Kardiol Pol* 2008; 66: 144-51.
134. Rivera M, Taléns-Visconti R, Jordán A, et al. Remodelado miocárdico y activación inmunitaria en pacientes con insuficiencia cardíaca. *Rev Esp Cardiol* 2006; 59: 911-8.
135. Colucci W.S., Braunwald E. Patofizjologia niewydolności serca. W: Braunwald E. Banasiak W., Opolski G., Poloński L. red. Choroby serca. Tom 1. Urban & Partner, Wrocław 2007: 493–522.
136. Cleland J.G. F Heart failure: A medical Hydra. *Lancet* 1988; 352:S11–S12.
137. Jakubowska-Najnigier M., Piątkowski R. Epidemiologia niewydolności serca. *Terapia* 2003; 9: 4–5.
138. Massie B.M., Shah N.B. The heart failure epidemic: Magnitude of the problem and potential mitigating approaches. *Curr. Opin.Cardiol.* 1996; 11: 221–226.
139. Rodeheffer JR. Nowa epidemiologia niewydolności serca. *Current Cardiol Reports*, 2003, 5, 181-186.
140. Orrego CM M D. Inflammation a potential target for therapeutic intervention in heart failure. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2009 Sep;5(3):8-11.
141. Vistnes M, Christensen G, Omland T. Multiple cytokine biomarkers in heart failure. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010 Mar;10(2):147-57.
142. Deardorff R, Spinale FG. Cytokines and matrix metalloproteinases as potential biomarkers in chronic heart failure. *Biomark Med.* 2009 Oct 1;3(5):513-523.
143. Matsumoto M, Tsujino T, Lee-Kawabata M et al.: Serum interleukin-6 and C-reactive protein are markedly elevated in acute decompensated heart failure patients with left ventricular systolic dysfunction. *Cytokine.* 2010 Mar;49(3):264-8. Epub 2009 Dec 14.
144. Hohensinner PJ, Rychli K, Zorn G et al.: Macrophage-modulating cytokines predict adverse outcome in heart failure. *Thromb Haemost.* 2010 Feb 1;103(2):435-41. Epub 2010 Jan 13.
145. Mommersteeg PM, Kupper N, Schoormans D et al.: Health-related quality of life is related to cytokine levels at 12 months in patients with chronic heart failure. *Brain Behav Immun.* 2010 Jan 13
146. Rameshwar P, Qiu H, Vatner SF. Stem cells in cardiac repair in an inflammatory microenvironment. *Minerva Cardioangiol.* 2009 Nov 30.
147. Kavsak PA, Newman AM, Ko DT et al.: The use of a cytokine panel to define the long-term risk stratification of heart failure/death in patients presenting with chest pain to the emergency department. *Clin Biochem.* 2010 Mar;43(4-5):505-7
148. Chen Y, Pat B, Zheng J et al.: Tumor necrosis factor-alpha produced in Iin early volume overload. *J Mol Cell Cardiol.* 2010 Jan 4.
149. von Haehling S, Schefold JC, Lainscak M et al.: Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: much more than innocent bystanders. *Heart Fail Clin.* 2009 Oct;5(4):549-60.
150. Zhang Z, Zhao P, Li A et al.: Effects of methotrexate on plasma cytokines and cardiac remodeling and function in postmyocarditis rats. *Mediators Inflamm.* 2009;2009:389720. Epub 2009 Oct 26.

151. Wiedermann CJ, Beimbold H, Herold M et al.: Increased levels of serum neopterin and decreased production of neutrophil superoxide anions in chronic heart failure with elevated levels of tumor necrosis factor-alpha. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22(7): 1897-18901.
152. Vonhof S, Brost B, Stille-Siegener M et al.: Monocyte activation in congestive heart failure due to coronary artery disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 1998; 63: 237-244.
153. Aukrust P, Ueland T, Müller F et al. Elevated circulating levels of C-C chemokines in patients with congestive heart failure. *Circulation*. 1998; 97(12): 1136-1143.
154. Shevchenko A.O, Ponomareva S.V, Semenva S et al.: Neopterin levels correlate with heart failure severity and reduced by half with simvastatin.
155. Parrinello G, Di Pasquale P, Licata G et al.: Long-term effects of dietary sodium intake on cytokines and neurohormonal activation in patients with recently compensated congestive heart failure. *J Card Fail*. 2009 Dec;15(10):864-73.
156. Volkova SI, Shalaev SV. Prognostic value of plasma levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and proinflammatory cytokines in patients with heart failure of ischemic etiology. *Kardiologiia*. 2009;49(10):22-6.
157. Blyszczuk P, Kania G, Dieterle T, et al.: Myeloid differentiation factor-88/interleukin-1 signaling controls cardiac fibrosis and heart failure progression in inflammatory dilated cardiomyopathy. *Circ Res*. 2009 Oct 23;105(9):912-20.
158. Isidoro Tavares N, Philip-Couderc P, Baertschi AJ et al.: Angiotensin II and tumour necrosis factor alpha as mediators of ATP-dependent potassium channel remodelling in post-infarction heart failure. *Cardiovasc Res*. 2009 Sep 1;83(4):726-36. Epub 2009 May 21.
159. Shin MJ, Lee KH, Chung JH et al.: Circulating IL-8 levels in heart failure patients with and without metabolic syndrome. *Clin Chim Acta*. 2009 Jul;405(1-2):139-42.
160. Sasaki T, Takeishi Y, Suzuki S et al.: High serum level of neopterin is a risk factor of patients with heart failure. *Int J Cardiol*. 2010 Jan 4.
161. Ray KK, Morrow DA, Sabatine MS et al.: Long-term prognostic value of neopterin: a novel marker of monocyte activation in patients with acute coronary syndrome. *Circulation* 2007; 115: 3071–3078.
162. Zouridakis E, Avanzas P, Arroyo-Espliguero R et al.: Markers of inflammation and rapid coronary artery disease progression in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004;110:1747-1753.
163. van Haelst PL, Liem A, van Boven AJ et al. Usefulness of elevated neopterin and C-reactive protein levels in predicting cardiovascular events in patients with non-Q-wave myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003;92:1201-1203.
164. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J et al.: Prognostic value of neopterin levels in treated patients with hypertension and chest pain but without obstructive coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2004;93:627-629.
165. Grammer TB, Fuchs D, Boehm BO et al.: Neopterin as a predictor of total and cardiovascular mortality in individuals undergoing angiography in the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *Clin Chem*. 2009; 55(6): 1135-46
166. Mulder DJ, van Haelst PL, Wobbles MH et al. The effect of aggressive versus conventional lipid-lowering therapy on markers of inflammatory and oxidative stress. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2007; 21(2): 91-97.

## 11. ZAŁĄCZNIKI:

### 11.1 Ankieta

ANKIETA – badanie retrospektywne

Ocena objawów niewydolności serca u chorych hospitalizowanych w Szpitalu Powiatowym w Środzie Wlkp.

Imię i nazwisko:

Wiek:

Data hospitalizacji w Oddz. Wewnętrznym Szpitala w Środzie:

Data przeprowadzenia ankiety:

Kolejne hospitalizacje po opuszczeniu szpitala: TAK / NIE

Powód.....

\* Świeże zachorowania na ( od czasu opuszczenia szpitala ):

Cukrzyca

Gruźlica

Zawał serca

Choroba nowotworowa

Jaka.....

Niewydolność nerek

Inne.....

\* Zgon

Z jakiego powodu.....

Data zgonu.....

\* Obecnie występujące objawy niewydolności serca ( subiektywna ocena chorego ) w stosunku do samopoczucia przed hospitalizacją:

Poprawa

Bez zmian

Pogorszenie

\* Ocena objawów niewydolności serca wg. klasyfikacji NYHA:

Pacjent sprawny, choroba nie ogranicza aktywności fizycznej. ( Podstawowa aktywność nie powoduje zmęczenia, duszności, uczucia kołatania serca, bólów wieńcowych ) – NYHA I

Pacjent z niewielkim ograniczeniem aktywności fizycznej. Podstawowa aktywność powoduje zmęczenie, duszność. Dobre samopoczucie w spoczynku. – NYHA II

Istotne ograniczenie aktywności fizycznej. Dobre samopoczucie w spoczynku. – NYHA III.

Jakakolwiek aktywność powoduje dyskomfort w klatce piersiowej. Objawy niewydolności serca mogą występować nawet w spoczynku – NYHA IV