

UNIwersYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W  
POZNANIU

WYDZIAŁ NAUK O ZDROWIU



Krzysztof Wierzbicki

Ocena właściwości dielektrycznych  
płytki paznokcia osób z cukrzycą typu 2

**ZAKŁAD BIONIKI I BIOIMPEDANCJI  
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W POZNANIU**

**PROMOTOR ROZPRAWY DOKTORSKIEJ: DR HAB. EWA MARZEC**

POZNAŃ 2012

*Serdecznie podziękowania składam  
Pani dr hab. Ewie MARZEC  
za życzliwość, pomoc, ogromne zaangażowanie i wkład  
w tworzeniu pracy.*

*Serdecznie dziękuje  
Panu prof. UMP dr hab. Jackowi Piątkowi  
za cenne wskazówki i pomoc merytoryczną.*

## Spis treści

1. Wprowadzenie.....	4
1.1. Cukrzyca typu 2 – definicja, epidemiologia, powikłania.....	4
1.2. Płytką paznokciowa – struktura, fizjologia, zmiany w stanach chorobowych..	14
2. Założenia i cel pracy.....	21
3. Materiał i metoda.....	22
3.1. Charakterystyka badanych grup.....	22
3.2. Przygotowanie płytek paznokciowych do badań dielektrycznych.....	23
3.3. Charakterystyka metody spektroskopii dielektrycznej.....	24
4. Wyniki.....	27
4.1. Współczynnik strat dielektrycznych uwodnionych i suchych płytek paznokciowych.....	27
4.2. Porównanie parametrów dielektrycznych płytek paznokciowych uwodnionych grupy kontrolnej z badaną.....	31
4.3. Porównanie parametrów dielektrycznych płytek paznokciowych suchych grupy kontrolnej z badaną.....	34
4.4. Częstotliwościowe zależności przewodności właściwej płytek paznokciowych dla obu grup.....	39
4.5. Porównanie energii aktywacji przewodności właściwej płytek paznokciowych grupy kontrolnej z badaną.....	42
5. Omówienie wyników.....	45
6. Wnioski.....	50
7. Piśmiennictwo.....	51
8. Streszczenie .....	61
9. Abstrakt.....	63
10. Spis rycin i tabel.....	65

# 1. Wprowadzenie

## 1.1. Cukrzyca typu 2 – definicja, epidemiologia, powikłania.

Cukrzyca (DM) zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jest to grupa chorób metabolicznych charakteryzująca się podwyższonym stężeniem glukozy w surowicy krwi, wynikającym z defektu wydzielania lub działania insuliny [1]. W 2006 r. Zgromadzenie Ogólne Narodów Zjednoczonych uznało cukrzycę za jedną z 10 najważniejszych chorób przewlekłych na świecie.

Aktualnie obowiązująca klasyfikacja wg WHO wyróżnia kilka głównych typów cukrzycy, tj. cukrzyca typu 1 i 2, cukrzyca o znanej etiologii, cukrzyca ciężarnych. Najczęstszą postacią cukrzycy stanowi typ 2, rozpoznawany u około 90% wszystkich pacjentów z cukrzycą, nazywa wcześniej cukrzycą insulono niezależną, lub cukrzycą dorosłych [2]. Ten typ ujawnia się najczęściej po 40. roku życia, a chorobowość rośnie z wiekiem osiągając swój szczyt pomiędzy 60. a 70. rokiem życia.

Przedmiotem badań omawianej rozprawy jest cukrzyca typu 2, w której etiopatogenezie zasadniczą rolę odgrywają czynniki genetyczne, środowiskowe (otyłość, mała aktywność fizyczna) oraz upośledzenie wydzielania insuliny i obwodowa insulinooporność. Choroba ta jest niewątpliwie istotnym problemem społecznym, gdyż częstość jej występowania szacuje się na 1.6-3.7% populacji ogólnej [3]. W ciągu ostatnich kilkunastu lat obserwuje się stały wzrost liczby chorych na cukrzycę, który tłumaczy się przede wszystkim zmianą stylu życia polegającą na nadmiernym spożyciu pokarmów oraz brakiem codziennej aktywności fizycznej. Według szacunków WHO obecnie na świecie żyje około 300 mln ludzi z cukrzycą i niewątpliwie w połączeniu z chorobami

układu krążenia stanowi istotne zagrożenie zdrowotne w społeczeństwie [4]. Szacuje się, że w Polsce obecnie na cukrzycę choruje ponad 2 mln osób, z czego około 25% stanowią chorzy nieświadomi swojej choroby [5].

Prognozy opracowane przez międzynarodowe organizacje medyczne zajmujące się problematyką diabetologiczną przewidują, iż w ciągu najbliższych 25 lat liczba chorych może ulec podwojeniu i przekroczyć 10% całej populacji [6].

Objawy kliniczne rozwijającej się cukrzycy to przede wszystkim: utrata masy ciała, wzmożone pragnienie, wielomocz, osłabienie i senność, nawracające skórne zmiany ropne i stany zapalne narządów moczowo-płciowych [7]. Czasami jednak bywa tak, że cukrzyca nie daje typowych objawów, wtedy bywa rozpoznawana przypadkowo na podstawie obecności odległych powikłań.

Największym zagrożeniem związanym z cukrzycą typu 2 z pewnością są właśnie odległe powikłania w tym przede wszystkim choroby układu sercowo-naczyniowego, które są główną przyczyną zgonów wśród tych chorych, a ponieważ, jak wcześniej wspomniano, cukrzyca w swojej początkowej fazie stosunkowo często przebiega bezobjawowo należy czynić intensywne starania by rozpoznanie stawiać możliwie jak najwcześniej zmierzając do ograniczenia powikłań i jednocześnie śmiertelności [8]. Dodatkowo odległe powikłania są również istotną przyczyną niepełnosprawności chorych powodując najczęściej niewydolność nerek, utratę wzroku, czy utratę samodzielności spowodowaną neuropatią. Wczesne rozpoznanie choroby pozostaje więc nadal poważnym wyzwaniem z punktu widzenia profilaktyki, dlatego, że częstość oraz nasilenie odległych powikłań ma istotny związek z czasem trwania i oraz metabolicznym wyrównaniem choroby [9, 10, 11]. Powyższa teza dowiedziona została bezsprzecznie w latach 80. na podstawie wielośrodkowych badań m.in. Diabetes Control and Complications Trial, gdzie w wyniku

zastosowanej intensywnej insulinoterapii uzyskano bardzo znaczną redukcję częstości występowania powikłań ocznych, nerkowych i neuropatycznych [12].

Mimo stałego postępu w leczeniu omawiane powikłania stanowią nadal istotny problem u pacjentów z wieloletnią cukrzycą. Obecnie uważa się, że cukrzyca jest przede wszystkim chorobą naczyń [13], a w szczególności śródbłonna poprzez wpływ na jego strukturę jak i funkcję [14, 15, 16]. W następstwie hiperglikemii zaburzona zostaje równowaga pomiędzy układem krzepnięcia a fibrynolizy, którą w prawidłowych warunkach utrzymuje właśnie śródbłonek [17]. Efektem tego są zaburzenia przepływu krwi zarówno w małych, jak i dużych naczyniach. Z tego powodu omawiane powikłania dzieli się na zaburzenia makro- i mikroangiopatyczne. Makroangiopatia dotyczy dużych i średnich tętnic, czego efektem jest choroba niedokrwienna serca [18], miażdżycy tętnic kończyn dolnych i mózgowych. Natomiast bardziej specyficzne dla cukrzycy zmiany o charakterze mikroangiopatii objawiają się w postaci retinopatii i nefropatii cukrzycowej [19].

W przebiegu retinopatii cukrzycowej dochodzi do zaburzenia mikrokrążenia w obrębie siatkówki, czego efektem jest przebudowa naczyń włosowatych, wzrost ich przepuszczalności, co prowadzi do powstawania mikrozatorów i obszarów niedokrwienia. W wyniku utrzymującego się niedotlenienia dochodzi do powstawania nowych, patologicznych naczyń, co z kolei powoduje wystąpienie licznych krwotoków w obrębie siatkówki. W miarę upływu czasu postępująca retinopatia staje się przyczyną utraty wzroku w tej grupie pacjentów [20, 21].

Nefropatia cukrzycowa rozwija się zwykle u pacjentów z pewnym genetycznym obciążeniem z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym. Dochodzi do uszkodzenia naczyń włosowatych kłębuszka nerkowego, prowadzi to początkowo do mikroalbuminurii i dalszego wzrostu wartości ciśnienia tętniczego. Z czasem następuje upośledzenie filtracji kłębuszkowej

nerek dając w efekcie schyłkową niewydolność nerek z koniecznością włączenia do leczenia przewlekłej hemodializoterapii [22,23,24].

W przypadku neuropatii cukrzycowej proces uszkodzenia wydaje się być bardziej złożony, ponieważ dotyczy zarówno śródbłonka naczyń nerwów jak i bezpośrednio komórek nerwowych. Objawy neuropatii zwykle bywają bardzo dokuczliwe, znacznie obniżając komfort życia pacjentów. Neuropatia jest jedną z najczęstszych powikłań cukrzycy ponieważ stwierdza się jej występowanie u prawie 70% pacjentów z cukrzycą trwającą dłużej niż 10 lat [25,26,27,28].

Patomechanizm późnych powikłań w przebiegu cukrzycy jak dotąd nie został wystarczająco poznany. Istnieje kilka hipotez tłumaczących patomechanizmy powikłań cukrzycowych, opartych zarówno na zmianach morfologicznych jak i czynnościowych w obrębie małych i dużych naczyń [29, 30]. Po pierwsze mogą być one skutkiem działania produktów końcowej glikacji białek, po drugie prowokowana hiperglikemią aktywacja szlaku sorbitolowego ma negatywny wpływ na metabolizm komórek między innymi nasilając stres oksydacyjny. Po trzecie aktywacja kinazy białkowej C w istotny sposób przyczynia się do powstania zaburzeń mikrokrążenia [31].

Do powikłań związanych ze zmianami w obrębie płytki paznokciowej należy mikroangiopatia oraz mechanizmy jej powstawania.

Mikroangiopatia jest patologią w zakresie małych naczyń krwionośnych, o średnicy nie przekraczającej 100µm, a więc dotyczy takich naczyń jak: tętniczki przedwłosowate, sieć naczyń włosowatych, żyłki pozawłosowate. W przebiegu tego procesu dochodzi do pogrubienia błony podstawnej co powoduje zwiększenie jej przepuszczalności, utraty perycytów czego efektem staje się zwiotczenie ściany naczynia i powstawanie uwypukleń w postaci mikrotętniaków, obserwuje się również rozplem komórek śródbłonkowych powodujący niedrożność włósniczek [32, 33].

Z mikroangiopatią związane są również pewne zaburzenia czynnościowe naczyń [34]. Niekorzystny wpływ na komórki śródbłonna wywiera hiperglikemia, powodując zaburzenia transportu (poprzez znajdujące się w tych komórkach układy białek transportujących GLUT 2) i brak ujemnego sprzężenia zwrotnego [35], co prowadzi do nasilonego wewnątrzkomórkowego metabolizmu oraz zaburzenia czynności mitochondriów [36].

Jak wyżej wspomniano efektem hiperglikemii jest aktywacja alternatywnych szlaków metabolicznych, których produktami są toksyczne dla komórki cząsteczki. Aktywacja szlaku sorbitolowego powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego ciśnienia osmotycznego i obrzęk komórki oraz zmniejszenie aktywności enzymów rozkładających i substancji zmiatających wolne rodniki [37,38]. Biologiczną konsekwencją tych zaburzeń jest pogorszenie sprawności antyoksydacyjnej organizmu i powstanie stresu oksydacyjnego, który jest niekorzystnym zjawiskiem z punktu widzenia mikrokrążenia. Stres oksydacyjny można określić jako zaburzenie równowagi między natężeniem procesów oksydacyjnych, które indukują powstawanie reaktywnych form tlenu i przeciwdziałającym systemem obronnym – antyoksydacyjnym [39]. U podłoża większości stanów patologicznych chorób leżą przewlekłe zmiany związane z kancerogennym działaniem wolnych rodników tlenowych [40]. Reaktywne formy tlenu mogą powodować utlenienie tłuszczów, białek, DNA i w następstwie przyczynić się do uszkodzenia tkanek, w tym również komórek śródbłonna [41]. Z badań Quagliaro i wsp. [42] wynika, że czynność komórek śródbłonna, pod wpływem dużych wahań glikemii we krwi ulega głębokim zaburzeniom, przyczyniając się między innymi do nasilonej ich apoptozy. Stres oksydacyjny, będący efektem zaburzeń gospodarki węglowodanowej, indukuje dysfunkcję śródbłonna między innymi poprzez ograniczenie biodostępności tlenu azotu w mechanizmie jego łączenia z anionami ponadtlenkowymi produkowanymi w nadmiarze, wpływając nie tylko na nasilenie samego



stresu oksydacyjnego, lecz również powodując zaburzenie równowagi między czynnikami naczyniorozkurczowymi a naczynioskurczowymi [43].

Inną patologią wywołaną podwyższonym poziomem glukozy jest zwiększona wewnątrzkomórkowa synteza diacyloglicerolu, który poprzez wzrost poziomu wapnia wewnątrzkomórkowego powoduje nasiloną aktywację kinazy białkowej C [44], a szczególnie jej izoenzymu, w ścianie naczyń, komórkach mezangium [45]. Kinazy białkowe to grupa enzymów, których substratami są białka. Enzymy te przeprowadzają reakcję fosforylacji cząsteczki specyficznego dla danej kinazy białka. Fosforylacja zwykle prowadzi do zmiany konformacji cząsteczki białka oraz zmiany jego aktywności i zdolności do wiązania się z innymi białkami [46]. Zwiększenie stężenia tego enzymu powoduje nasiloną ekspresję czynników wzrostu, białek błony podstawnej, inhibitora aktywatora plazminogenu 1, fibronektyny i endoteliny oraz aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego (ang. *nuclear factor kappa B* – NFκB). Wynikiem tych zmian jest pogrubienie błon podstawnych naczyń i zmiany w ich przepuszczalności. Dochodzi też do nasilenia procesów krzepnięcia, zaburzeń w funkcjonowaniu komórek śródbłonna, miocytów naczyniowych i mezangium [47]. Aktywacja niektórych izoform kinazy białkowej C prowadzi do zmniejszenia biodostępności tlenu azotu i zwiększenia uwalniania naczyniokurczącej endoteliny 1. Zachwianie równowagi między produkowanymi w obrębie ściany naczyń czynnikami wazokonstrykcyjnymi i wazorelaksacyjnymi powoduje ograniczenie przepływu krwi w obrębie mikrokrążenia [48], prowadząc do niedotlenienia, podobnie jak omawiany wcześniej stres oksydacyjny. Dodatkowo działanie kinazy białkowej C prowadzi do indukcji kinaz białkowych aktywowanych przez mitogeny (MAPKs, *mitogen-activated protein kinases*). W opublikowanych przez Tomlinson'a i innych [49] badaniach sugerują oni, że uszkodzające działanie podwyższonych wartości glikemii odbywa się między innymi przez aktywację tych kinaz białkowych.

Kolejnym niezwykle ważnym mechanizmem, który prowadzi do rozwoju powikłań w obrębie mikrokrążenia jest nieenzymatyczna glikacja białek, znana również jako reakcja Maillarda lub reakcja „brązowienia” opisana przez Brownlee [50]. Reakcja ta jest wieloetapowym zjawiskiem zachodzącym w organizmie również w warunkach prawidłowych. Nasila się natomiast w efekcie hiperglikemii oraz w przebiegu stanów zapalnych, a także w następstwie zwiększonego stresu oksydacyjnego. Jego istotą jest, niezależna od enzymów, reakcja przyłączania cukru redukującego do wolnej grupy aminowej białka, w wyniku której powstają końcowe produkty zaawansowanej glikacji (advanced glycation endproducts – AGEs) [51]. Jak wcześniej wspomniano w procesie glikacji nie biorą udziału enzymy, dlatego szybkość jej przebiegu zależy głównie od 2 czynników – stężenia substancji ze sobą reagujących i czasu trwania kontaktu cząsteczek reagujących [52].

W powstawaniu AGEs można wyróżnić trzy etapy: tworzenie odwracalnej, labilnej zasady Schiffa (aldoimina), powstawanie produktów Amadoriego oraz formowanie produktów zaawansowanej glikacji [53,54]. W pierwszym etapie dochodzi do wytworzenia wiązania między grupą aldehydową cząsteczki cukru (np. glukozy) a aminową grupą białka. W efekcie powstaje tzw. labilna zasada Schiffa (aldoimina). Reakcja ta bywa łatwo odwracalna poprzez obniżenie stężenia glukozy. Po kilku tygodniach związek ten podlega powolnemu przegrupowaniu z wytworzeniem produktu reakcji Amadoriego. Produktem tej reakcji jest wysoce niepożądany związek chemiczny z wolną, chemicznie reagującą grupą karbonylową. Reakcja ta jest również odwracalna, a stan równowagi osiąga po 28 dniach. Takim procesom poddane zostają białka o stosunkowo krótkim czasie półtrwania. Białka pozostające dłużej w organizmie, takie jak np. keratyna obecna w płytce paznokciowej, podlegają dalszym przekształceniom (oksydacji, dehydratyzacji, fragmentacji i kondensacji z innymi grupami aminowymi) o wspólnej nazwie reakcji Maillarda. Jej efektem jest powstanie końcowych produktów zaawansowanej glikacji. Są one produktami

trwałymi, nieodwracalnymi [55,56]. Krążące wolne niskocząsteczkowe AGEs, powstałe w organizmie w wyniku reakcji Maillarda są usuwane z krwiobiegu na drodze degradacji lizosomalnej za pośrednictwem receptorów zlokalizowanych na powierzchni komórek i tkanek. Jednak większość z nich nie ulega degradacji, lecz gromadzi się w różnych tkankach. Ich nadmierne gromadzenie się na białkach surowiczych, cytoplazmatycznych, lipidach i kwasach nukleinowych prowadzi do powstania stresu oksydacyjnego oraz tworzenia się przeciwciał przeciwko produktom AGEs, a także do innych procesów destrukcyjnych dla komórek. Ponadto AGEs powodują zmiany konformacji przestrzennej białek oraz powstawanie wiązań poprzecznych białek i peptydów, co prowadzi do sieciowania i odkładania nierozpuszczalnych złogów. Efektem tego jest utrata pierwotnych właściwości tych substancji oraz zaburzenie pełnionych przez nie funkcji [57].

Interakcje komórkowe AGE odbywają się za pośrednictwem specyficznych receptorów (RAGE, *advanced glycationend-products receptor*), zlokalizowanych na komórkach śródbłonna i na jednojądrzastych komórkach fagocytyujących. Zaawansowane produkty glikacji białek, po połączeniu z receptorem, prowadzą między innymi do zwiększonej produkcji wolnych rodników tlenowych (nasilając stres oksydacyjny), cytokin (IL-1), czynników wzrostu (TNF- $\alpha$ ) [58], molekuł adhezyjnych oraz do aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego (NF $\kappa$ B) [59, 60]. Efektem działania omawianych związków jest między innymi aktywacja komórek śródbłonna, mezangium, monocytów i makrofagów, nasilenie reakcji zapalnej [61]. TNF- $\alpha$  pobudza również fibroblasty do wzrostu i podziałów, wysunięto więc hipotezę o roli AGEs w procesie przebudowy macierzy pozakomórkowej [62]. Według powyższej teorii równowaga między procesem degradacji składników macierzy pozakomórkowej a syntezą nowych białek zapewnia prawidłowe procesy przebudowy macierzy. W momencie zachwiania tej równowagi przez zwiększone powstawanie AGEs, co ma miejsce w cukrzycy, istnieją warunki do rozwoju zmian

patologicznych na poziomie tkanek. Uszkodzenia tkanek, spowodowane nagromadzeniem szkodliwych produktów nieenzymatycznej glikacji białek, są jedną z przyczyn powstawania wielu, wspomnianych wyżej, odległych powikłań cukrzycy, a także mają wpływ na zmiany w strukturze takich białek jak: kolagen [63] czy keratyna.

Udowodniono, że nieenzymatyczna glikacja białek macierzy, a w szczególności kolagenu, może doprowadzać u chorych na cukrzycę do zmian podatności naczyń wieńcowych, wynikającej z zaburzeń budowy błon podstawnych [64, 65, 66].

Podobny problem dotyczy keratyny, podstawowego białka płytki paznokciowej. Wiadomo, że główną przyczyną zmian w płytce paznokciowej jest nieenzymatyczna glikacja keratyny, do której dochodzi w przebiegu cukrzycy. Brak równowagi pomiędzy degradacją i powstawaniem AGEs wpływa na kształt cząsteczki keratyny, powodując tym samym zaburzenie struktury paznokcia [67] jak również istotnie wpływa na właściwości fizykochemiczne płytki paznokciowej, co zostało dowiedzione na podstawie badań przedstawionych w niniejszej pracy.

Kolagen i keratyna są białkami długo pozostającymi w organizmie, które ulegając glikacji, zwiększają liczbę wiązań krzyżowych w swej strukturze [68]. Efektem tego jest zwiększona sztywność włókien omawianych cząsteczek, zmniejszona ich rozpuszczalność i obniżona podatność na trawienie enzymatyczne. Dodatkowo glikozyłowany kolagen, oprócz tworzenia wiązań krzyżowych między swymi podjednostkami, może również stanowić sieć wiążącą inne białka, w tym immunoglobuliny i lipoproteiny o małej gęstości (LDL). Kolagen wchodzi w skład skóry właściwej, ścięgien i, jak wyżej wspomniano, błon podstawnych m.in. naczyń krwionośnych. Stwierdzono, że glikacja utrudnia powstawanie trójwymiarowych sieci z kolagenu, zaburzając tym samym prawidłową budowę błon podstawnych i wydaje się, że jest to jedno z poważniejszych powikłań związanych z AGEs, ponieważ powoduje sztywność ścian naczyń

żylnych i tętniczych, w konsekwencji prowadząc do zaburzenia krążenia. Dlatego pomiar sztywności naczyń staje się ważnym punktem nieinwazyjnego wczesnego wykrywania zagrożenia chorobą niedokrwienną serca i miażdżycą u chorych na cukrzycę typu 2 [69].

Udokumentowano również rolę AGEs w etiopatogenezie wielu innych chorób, m.in. amyloidozy, choroby Alzheimera, beta-2-mikroglobulinemii, zaćmy, reumatoidalnego zapalenia stawów, marskości wątroby [70,71,72,73].

Proces nieenzymatycznej glikacji jest wykorzystywany w diagnostyce i monitorowaniu cukrzycy. Oznaczenie poziomu hemoglobiny glikowanej jest powszechnie stosowanym parametrem służącym do oceny wyrównania cukrzycy, jak również jest uznanym czynnikiem prognostycznym ryzyka rozwoju odległych powikłań.

Omówione powyżej liczne mechanizmy prowadzące do powstania powikłań cukrzycy pokazują jak wiele różnych czynników składa się na ostateczny obraz choroby. Poprzez liczne makro- i mikroangiopatyczne powikłania cukrzyca dotyka wiele istotnych narządów ludzkiego ciała, w tym również i paznokcie. Oceniając cukrzycę z perspektywy tych najpoważniejszych powikłań, celowe jest wczesne rozpoznanie i zapobieganie najpoważniejszym konsekwencjom tej podstępnej choroby.

## 1.2. Płytką paznokciowa – struktura, fizjologia, zmiany w stanach chorobowych

Podobnie jak włos, paznokcie stanowi przydatek naskórka. W skład jednostki paznokciowej wchodzi: macierz, blaszka i łożo paznokcia oraz zróżniona z nim tkanka okołopaznokciowa. Blaszka paznokcia jest twarda i odporna na czynniki mechaniczne, co warunkuje występowanie w niej twardej keratyny.

Paznokcie jest zrogowaciałą, giętą blaszką, która pokrywa powierzchnię grzbietową większej części dalszych palców ręki i stopy. Podobnie jak włosy, paznokcie są wytworem naskórka.

Paznokcie mają kształt wypukłych, mniej więcej czworobocznych płytek zrogowaciałych. Wypukłość ich jest silniejsza w kierunku poprzecznym niż podłużnym. Powierzchnia paznokcia wykazuje podłużnie biegnące delikatne prążki. Rowki poprzeczne są z reguły objawem chorobowym, świadczą one o zaburzeniach rozwojowych lub troficznych paznokcia. Wielkość paznokcia zależy od wielkości palca, który pokrywa. Grubość paznokcia u mężczyzn w miejscach największego rozwoju dochodzi do 384  $\mu\text{m}$ , u kobiet zaś do 364  $\mu\text{m}$ , jednak ku brzegom zmniejsza się. Z wiekiem grubość paznokcia zwiększa się.

Mimo pewnego zmętnienia blaszka paznokcia jest zasadniczo tworem przejrzystym. Na jej kolor wpływa zabarwienie podłoża. W niewielkiej, bliższej części paznokcia widoczny jest, zwłaszcza na kciuku, półksiężycowaty wypukły do przodu białawy odcinek, tzw. obłaczek. Dalsza, największa część paznokcia ma odcień różowawy. Białe plamki występujące nieraz na paznokciu spowodowane są drobnymi pęcherzykami powietrza.

Zrogowaciała blaszka, jaką tworzy paznokcie, swym brzegiem bliższym oraz obu brzegami bocznymi wnika w szczelinę skóry, brzeg przedni zaś swobodnie wystaje. Część tylna, mniejsza, czyli korzeń paznokcia jest cienka i w większości przykryta skórą,

a tylko niewielka półksiężycowata część przednia korzenia o zabarwieniu białawym, tzw. obłaczek, jest często widoczna, zwłaszcza na kciuku. Część największa, środkowa, czyli ciało albo trzon paznokcia, razem z korzeniem spoczywa na podłożu, z którym paznokciec jest połączony. Podłoże to nosi nazwę macierzy paznokcia. W części przedniej blaszki wystaje część wolna paznokcia różnej wielkości; jest to część, która nie spoczywa na podłożu i którą odcinamy w miarę wzrastania paznokcia [74]. Szybkość wzrostu paznokcia wynosi około 1 mm na tydzień, zależy od wielu czynników, między innymi stanu zdrowia, wieku (po 30 r.ż. rosną wolniej). Po uszkodzeniu lub usunięciu płytki paznokciowej odrasta ona w czasie około 100 dni [75].

Płytkę paznokciową tworzą dachówkowato ułożone zrogowaciałe komórki, których większość ma jądra. W porównaniu ze zrogowaciałymi komórkami naskórka charakteryzują się one większą spoistością i odpornością. Komórki paznokcia wytwarzane są warstwowo przez obłaczek. W miarę jak powstają nowe warstwy komórek, paznokciec wysuwa się do przodu. W stosunku do poprzedniej każda nowo powstająca warstwa komórek układa się głębiej i nieco ku tyłowi. W końcowym wyniku paznokciec składa się z dachówkowato położonych komórek czy warstwy komórek. Wytworzoną keratynę pokrywa na całej powierzchni paznokcia błonka zrogowaciała, natomiast paznokciec spoczywa na łącznotkankowym podłożu odpowiadającym skórze właściwej. Łącznotkankowe podłoże paznokcia pokryte jest swoistym naskórkiem, który wyściela powierzchnię dolną paznokcia [76].

Jak wspomniano wyżej podstawę budowy paznokcia stanowi keratyna - nierozpuszczalne w wodzie białko fibrylarne wytwarzane przez keratynocyty [77].

Keratyny stanowią wysoce heterogeniczną rodzinę białek włókienkowych o zwartej strukturze, którą utrzymują liczne mostki dwusiarczkowe cystyny oraz wiązania wodorowe. W komórkach nabłonkowych człowieka zidentyfikowano około dwudziestu izoform keratyn

o masie cząsteczkowej od 40 do 70 kDa. Charakteryzują się one znaczną odpornością na działanie czynników fizycznych i chemicznych, a także enzymów proteolitycznych, mają właściwości higroskopijne, lecz pozostają nierozpuszczalne w wodzie. W epithelium większości komórek zwierzęcych tworzą sieci filamentów pośrednich, stanowiąc podstawę cytoszkieletu.

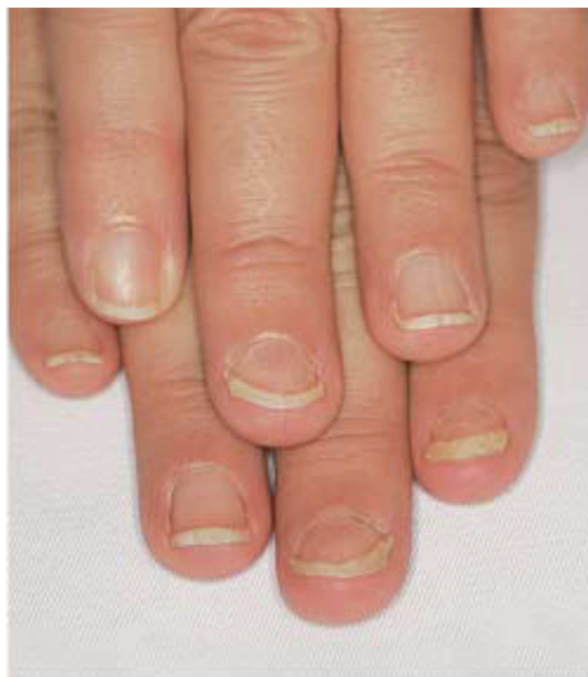
Keratynowe wytwory skóry charakteryzują się wielopoziomową strukturą nadającą im znaczną wytrzymałość mechaniczną. Podstawą tych struktur są „twarde” - keratyny, charakterystyczne dla poszczególnych martwych elementów skórnych. Cechują się one wspólnym planem budowy. Złożone z nich mikrofibryle zanurzone są w bezpostaciowej, wysoko-siarkowej macierzy białek niekeratynowych. Helisy  $\alpha$  - prawoskrętne uformowane są w lewoskrętne superhelisy, które z kolei składają się na mikro- i makrofibryle, umieszczone ostatecznie w wydłużonych, dachówkowato ułożonych komórkach. Jest to model budowy charakterystyczny dla włosów, wełny i innych wyrostków skórnych [78].

Płytką paznokciową ulega charakterystycznym zmianom w konkretnych stanach chorobowych dotyczących samego paznokcia, jak również w przebiegu chorób ogólnoustrojowych. Ze względu na łatwość oceny paznokcie powinny być istotnym elementem badania lekarskiego, gdyż w wielu wypadkach mogą stać się źródłem istotnych diagnostycznie informacji.

Zmiany w obrębie paznokci klasyfikuje się w zależności od tego, czy dotyczą one morfologii (kształtu) czy zabarwienia płytki paznokciowej. Onycholiza, paznokcie pałeczkowate i paznokcie wklęsłe (koilonychia) należą do najczęściej spotykanych zmian morfologii paznokcia. Czerwony obłaczek jest jedną z najczęstszych zmian zabarwienia płytki paznokciowej [79].



Onycholiza (Ryc.1) to stan, w którym dochodzi do odwarstwienia płytki paznokciowej od łożyska. Paznokcie dotknięte onycholizą są przeważnie gładkie, twarde, bez oznak stanu zapalnego łożyska. Nie jest to choroba macierzy paznokcia, chociaż pod płytką paznokciową może pojawić się przebarwienie z powodu wtórnego zakażenia [80]. Onycholiza towarzyszyć może wielu chorobom układowym, z których w pierwszej kolejności z pewnością należy wymienić nadczynność tarczycy [81], ale występuje również w cukrzycy, porfirii, kolagenozach, anemii z niedoboru żelaza, w ciąży [82] oraz jako następstwo stosowania niektórych leków.



**Ryc. 1** Onycholiza (Gregoriou S., Schorzenia paznokci...)

W przypadku paznokci pałeczkowatych (Ryc.2) dystalne paliczki rąk cechują się rozszerzeniem i przerostem, a płytki paznokciowe mają kształt szkiełka zegarkowego. Można wyróżnić rzadką dziedziczną, idiopatyczną postać oraz częściej spotykaną formę nabytą, towarzyszącą wielu chorobom, do których należą: choroby układu oddechowego z towarzyszącą niewydolnością oddechową (gruźlica, sarkoidoza, astma dziecięca,

mukowiscydoza, rozstrzenie oskrzeli), choroby układu krążenia (siniczne wady serca, podostre zapalenie wsierdza), choroby układu pokarmowego (nowotwory, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, marskość wątroby), zatrucia metalami ciężkimi, narkomania [83].

Paznokcie pałeczkowate występują również w przypadkach infekcji wirusem HIV (stwierdzono ich obecność u ok. 5% dorosłych pacjentów), natomiast szczególną uwagę zwrócono na występowanie tego objawu u dzieci, jako wczesnego objawu diagnostycznego [84].



**Ryc. 2** Paznokcie pałeczkowate (Gregoriou S., Schorzenia paznokci...).

Koilonychia (Ryc. 3), czyli paznokcie wklęsłe, cechuje się łyżeczkowatym kształtem płytki paznokciowej, z brzegami wywiniętymi do góry. Opisane zmiany paznokci powstają na skutek urazu, stałego narażenia dłoni na kontakt z rozpuszczalnikami benzynowymi lub w przebiegu zespołu paznokciowo-rzepkowego. Koilonychia towarzyszy również niedokrwistości z niedoboru żelaza, a w sporadycznych przypadkach występuje u pacjentów z hemochromatozą [85]. Do innych często spotykanych przyczyn koilonychii należą choroba wieńcowa i niedoczynność tarczycy [86]. Ponadto koilonychia jest niekiedy prawidłową

odmianą budowy paznokcia u niemowląt, która zazwyczaj ustępuje w ciągu pierwszych kilku lat życia [87]. Również u chorych dializowanych i po przeszczepach nerek obserwuje się taki kształt płytek paznokciowych [88].

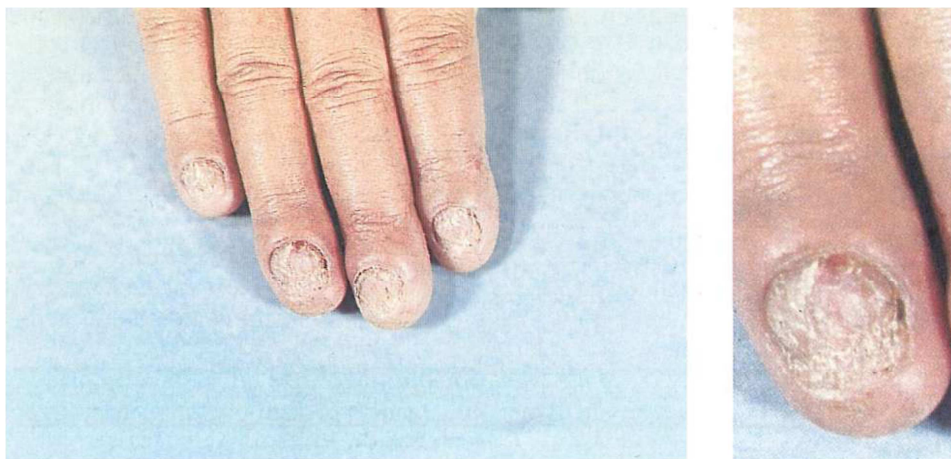


**Ryc. 3** Koilonychia (Gregoriou S., Schorzenia paznokci...).

Czerwony obłaczek jest jedną z najczęstszych zmian w zakresie zabarwienia płytki paznokciowej. Czerwony obłaczek może towarzyszyć łysieniu plackowatemu i chorobom tkanki łącznej [89]. Schorzenie obserwowano także w przebiegu niewydolności serca, przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, marskości wątroby, przewlekłej pokrzywki, łuszczycy i zatrucia tlenkiem węgla [90, 91, 92, 93].

Wspomniane wyżej najczęstsze choroby płytki paznokciowej stanowią jedynie około połowę wszystkich patologii paznokcia. Pozostała grupa to choroby infekcyjne – przede wszystkim infekcje grzybicze (Ryc. 4). Szacuje się, że problem dotyczy około 20-30% dorosłych po 40 r.ż., głównie jako grzybica paznokci stóp [94]. W cukrzycy natomiast grzybica występuje znacznie częściej i należy do klasycznych dermatologicznych powikłań tej choroby.

Zakażenie paznokcia grzybami bywa początkowo bezobjawowe, z czasem jednak wygląd paznokci ulega charakterystycznym zmianom: płytki przybierają kolor żółtobrunatny lub zielonkawy, stają się łamliwe, stopniowo ulegają zgrubieniu, rozwarstwieniu, częściowemu wykruszeniu [95]. Ostatecznie często dochodzi do nadkażenia bakteryjnego, co w efekcie może prowadzić do odpadnięcia płytki [96, 97]. Okres trwania jest bardzo długi (często wieloletni), a nawet po całkowitym ustąpieniu objawów istnieje skłonność do nawrotów.



**Ryc. 4** Grzybica paznokci (Jabłońska S., Choroby skóry)

Objawowa lub utajona cukrzyca wraz z nadmierną potliwością dłoni, zimnymi kończynami i wysokim wzrostem występuje również w rzadko opisywanym zespole wrośniętego paznokcia w jednym z palców stóp [98].

Przedstawione w tej części rozprawy przykłady zmian chorobowych płytki paznokciowej sugerują celowość rozszerzenia dotychczasowych metod diagnostycznych tej tkanki o badania właściwości dielektrycznych, które będą odzwierciedlały zmiany patologiczne jej struktury. Do tego celu może być zastosowana spektroskopia dielektryczna, a więc metoda fizyczna, którą zastosowano w omawianej rozprawie do porównania płytek paznokciowych zdrowych z tymi zmienionymi z powodu cukrzycy typu 2.

## 2. Założenia i cel pracy.

Cel pracy:

- Porównanie in vitro wpływu temperatury i wilgotności na przewodnictwo elektryczne płytki paznokcia osób zdrowych i z cukrzycą typu 2,
- Ocena in vitro zmian właściwości dielektrycznych płytki paznokcia u chorych z cukrzycą typu 2 w oparciu o zmiany w strukturze molekularnej dotyczącej układu keratyna-woda,
- Ocena przydatności spektroskopii dielektrycznej w badaniach in vitro płytki paznokciowej do wczesnego rozpoznania i zapobiegania cukrzycy typu 2.

Realizacja powyższego celu pracy wymaga następujących założeń:

- Zakres wieku grupy kontrolnej i badanej oraz szerokość obciętych paznokci w tych grupach są podobne,
- Stan uwodnienia obciętych paznokci jest porównywalny z ich stanem fizjologicznym,
- Ze względu na możliwość zastosowania spektroskopii dielektrycznej w praktyce klinicznej przedział temperatur zastosowany w pomiarach obejmuje zakres dopuszczalny dla organizmu żywego i znacznie go przekraczający.

### **3. Materiał i metoda**

#### **3.1. Charakterystyka badanych grup**

Badania przeprowadzono na dwóch grupach ochotników w tym samym wieku od 50 do 60 lat. Grupa kontrolna liczyła 15 zdrowych osób, którzy nie wykazywali zaburzeń z zakresu układu krążenia, funkcji nerek i wątroby. Grupa badana liczyła 20 osób chorych na przewlekłą cukrzycę typu 2 z wyrównanym nadciśnieniem tętniczym i wyrównaną gospodarką lipidową.

Ocena parametrów biochemicznych (stężenie glukozy we krwi i poziom hemoglobiny glikowanej) nastąpiła na podstawie wyników badań okresowych osób zdrowych z grupy kontrolnej i wyników uzyskanych z kart informacyjnych szpitalnych dotyczących osób chorych na cukrzycę typu 2. Pomiar stężenia glukozy we krwi był wykonywany codziennie przez 30 dni, natomiast w grupie kontrolnej dwa razy w tygodniu przy pomocy glukometru testem paskowym.

Do oceny właściwości dielektrycznych płytki paznokciowej obu grup wykorzystano obcięte paznokcie palców środkowych kończyn górnych o szerokości ( $2.7 \pm 0.3$ ) mm. Każdy obcięty paznokieć został umieszczony w probówce typu Eppendorf z zamknięciem o pojemności 1.5ml, która została opisana i dostarczona do Zakładu Bioniki i Bioimpedancji Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w celu wykonania badań dielektrycznych.

### **3.2. Przygotowanie płytek paznokciowych do badań dielektrycznych.**

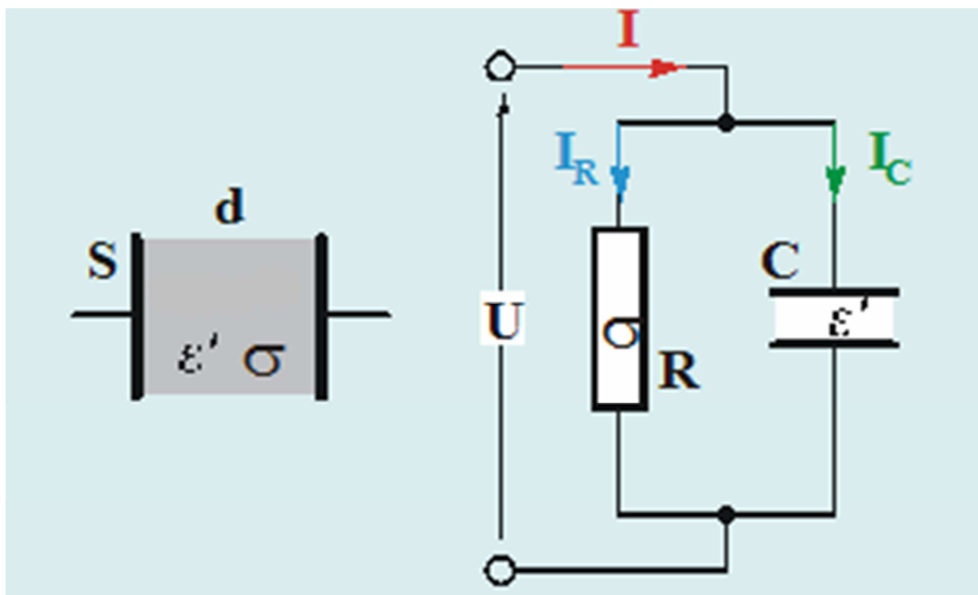
Przed pomiarami dielektrycznymi płytki paznokciowe obu grup były płukane w roztworze 0.1M NaCl i w wodzie destylowanej, następnie powietrznie suszone w temperaturze otoczenia i wilgotności RH70%. Po tym wstępnym etapie z paznokci przygotowano dwie próbki w kształcie prostokąta o typowych wymiarach 4.0 x 2.0 x 0.3 mm i na obie powierzchnie każdej z nich nakładano elektrody z pasty srebrnej.

Badania wykonano w atmosferze powietrza dla dwóch stanów płytki paznokciowej otrzymanej od osób z każdej grupy. Pierwszy stan określony jako „uwodniony” dotyczy próbek, których wilgotność jest w równowadze z wilgotnością otaczającego powietrza o wartości ~70% RH. Drugi stan określony jako „suchy” dotyczy tych samych próbek pozbawionych wody zaabsorbowanej z otoczenia w wyniku wygrzewania ich w temperaturze 150°C około 1 godziny i natychmiastowym schłodzeniu do temperatury pokojowej [99]. Zgodnie z modelem hydratacji keratyny [100] w stanie „uwodnionym” w badanych płytkach paznokciowych obecna jest woda luźno związana, natomiast w stanie „suchym” tylko woda zawiązana.

### 3.3. Charakterystyka metody spektroskopii dielektrycznej

Pomiary wykonano przy pomocy analizatora impedancji HIOKI 3522-50 LCR w zakresie częstotliwości  $f$  pola elektrycznego 500Hz – 100kHz oraz temperatur od 22 do 200°C. Zmierzonymi parametrami elektrycznymi była rezystancja i pojemność płytki paznokciowej.

Model elektryczny paznokcia (Ryc.5) to równoległe połączenie rezystora  $R$  i kondensatora  $C$ . W wyniku doprowadzonego do paznokcia prądu elektrycznego o napięciu  $U$  i natężeniu  $I$  dochodzi do przepływu prądu elektrycznego  $I_R$  i  $I_C$  odpowiednio przez element oporowy  $R$  oraz gromadzenia się ładunku na elemencie kondensatorowym  $C$ .



Ryc. 5 Model elektryczny płytki paznokciowej



Rezystancja i pojemność płytki paznokciowej zależą od rozmiarów geometrycznych mierzonej próbki (4x2x0.3 mm), a więc powierzchni  $S$  na których umieszcza się elektrody pomiarowe i grubości  $d$ , oraz parametrów mikroskopowych, między innymi takich jak przewodność właściwa i przenikalność dielektryczna.

Te dwa parametry mikroskopowe charakteryzują następujące właściwości dielektryczne tkanek:

- *przewodność właściwa*  $\sigma$ , to zdolność paznokcia do przewodzenia prądu elektrycznego, którą oblicza się na podstawie zależności:

$$\sigma = \frac{d}{R \cdot S} \quad (1)$$

- *przenikalność dielektryczna*  $\epsilon'$ , to zdolność paznokcia do gromadzenia ładunku elektrycznego na granicy warstw o różnej budowie strukturalnej, którą oblicza się na podstawie zależności:

$$\epsilon' = \frac{C \cdot d}{\epsilon_0 \cdot S} \quad (2)$$

gdzie,  $\epsilon_0$  - przenikalność elektryczna próżni.

Te dwa parametry w omawianej rozprawie zostały obliczone na podstawie powyższych zależności (1) i (2).

Wyniki badań (średnia arytmetyczna  $\pm$  odchylenie standardowe) przedstawiono w postaci częstotliwościowych  $f$  i temperaturowych  $T$  zależności:

- przenikalności dielektrycznej  $\epsilon'$ ,
- strat dielektrycznych  $\epsilon''$  ( $\sigma=2\pi f\epsilon_0\epsilon''$ ),
- współczynnika strat dielektrycznych  $\tan \delta$  ( $\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon'$ ),
- przewodności właściwej  $\sigma$ .

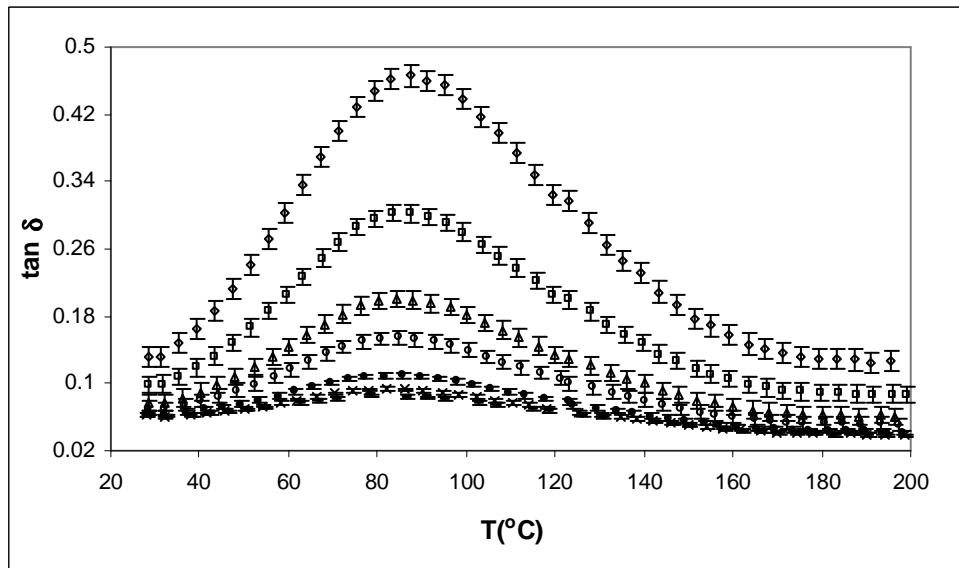
Analizę statystyczną zmierzonych parametrów przeprowadzono z wykorzystaniem programu STATISTICA.

## 4. Wyniki

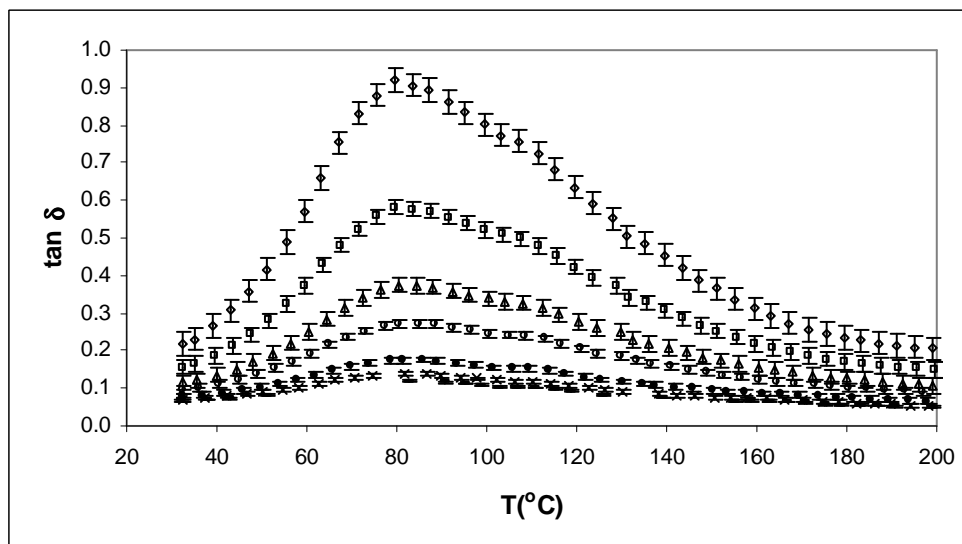
### 4.1. Współczynnik strat dielektrycznych uwodnionych i suchych płytek paznokciowych.

Ryc.6 i 7 przedstawiają temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych  $\tan \delta$  płytki paznokciowej uwodnionej odpowiednio dla grupy kontrolnej i badanej wykonane dla wybranych częstotliwości pola elektrycznego w zakresie od 500 Hz do 100 kHz.

Krzywe dla obu badanych grup posiadają temperaturowe maksimum  $\tan \delta$  w okolicy 80°C dla każdej częstotliwości, które wskazuje na obecność wody luźno związanej zaabsorbowanej in vitro przez badaną tkankę. Ponadto dla rosnących częstotliwości pola elektrycznego amplituda tego piku dla obu badanych grup wyraźnie maleje. Podobny charakter zmian parametrów dielektrycznych zaobserwowano również dla innych tkanek [53]. Natomiast woda zawarta w tych paznokciach powoduje prawie dwukrotny wzrost wartości  $\tan \delta$  w grupie badanej w porównaniu z kontrolną dla tej samej temperatury i częstotliwości.



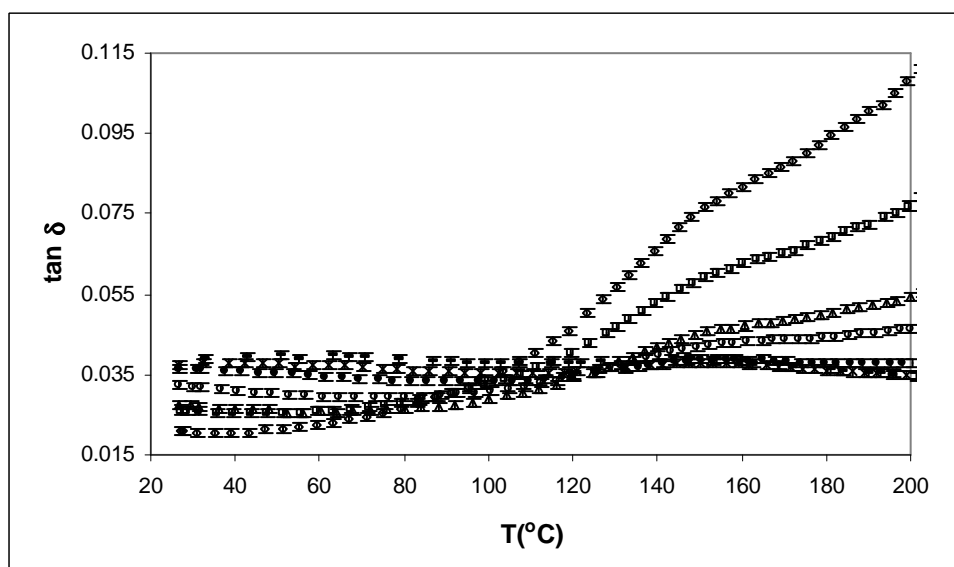
**Ryc. 6** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej dla kilku wybranych częstotliwości:  
 ◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, −100kHz.



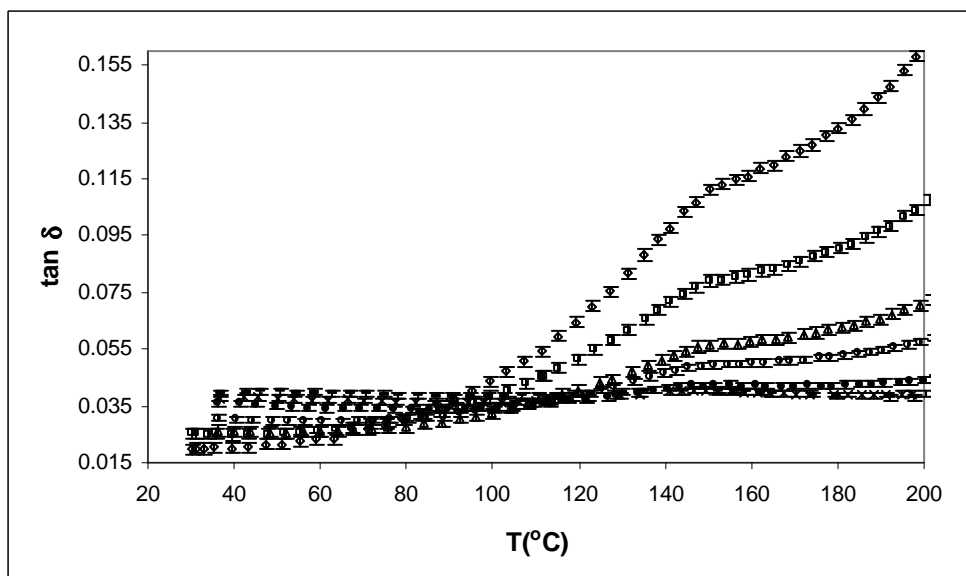
**Ryc. 7** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy badanej dla kilku wybranych częstotliwości: ◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, −100kHz

Ryc. 8 i 9 przedstawiają temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych  $\tan \delta$  płytki paznokciowej suchej odpowiednio dla grupy kontrolnej i badanej wykonane dla wybranych częstotliwości pola elektrycznego w zakresie od 500Hz do 100kHz.

Dla krzywych płytki paznokciowej obu grup widoczne jest temperaturowe maksimum  $\tan \delta$  w okolicy 150°C, a więc w wyższej temperaturze w porównaniu z uwodnionymi paznokciami. W suchych paznokciach w tej temperaturze zachodzi uwalnianie wody związanej z tkanki. W zakresie częstotliwości 800Hz – 10kHz i dla każdej temperatury wartości  $\tan \delta$  płytki paznokciowej dla grupy badanej są o 21-46% większe od tych dla grupy kontrolnej. Natomiast dla częstotliwości powyżej 10kHz wartości  $\tan \delta$  w każdej temperaturze są podobne dla obu badanych grup.



**Ryc. 8** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej dla kilku wybranych częstotliwości:  $\diamond$ 800Hz,  $\square$  2kHz,  $\triangle$ 5kHz,  $\circ$ 10kHz,  $\bullet$ 30kHz,  $\times$ 60kHz,  $-$ 100kHz.



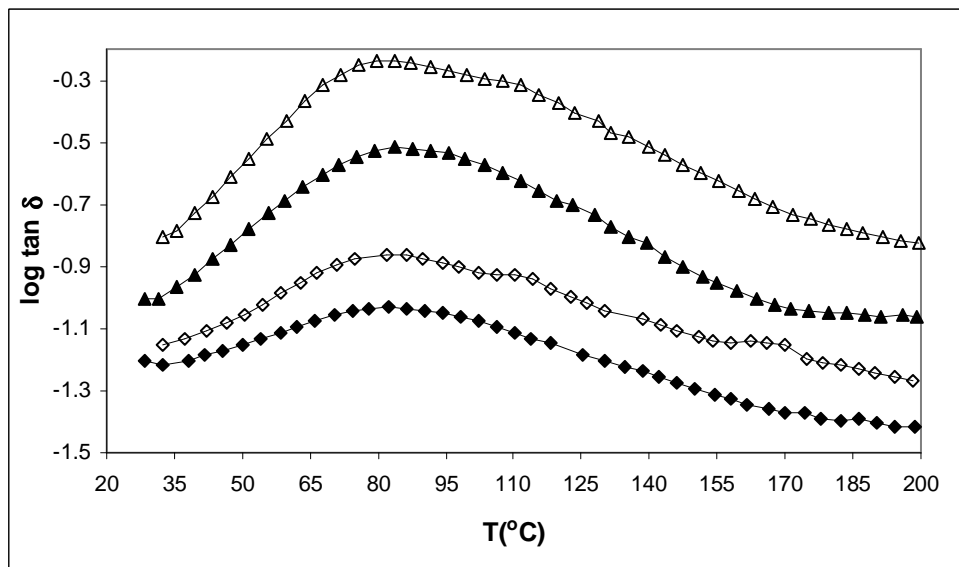
**Ryc. 9** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy badanej dla kilku wybranych częstotliwości: ◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, \*100kHz.

#### **4.2. Porównanie parametrów dielektrycznych płytek paznokciowych uwodnionych grupy kontrolnej z badaną.**

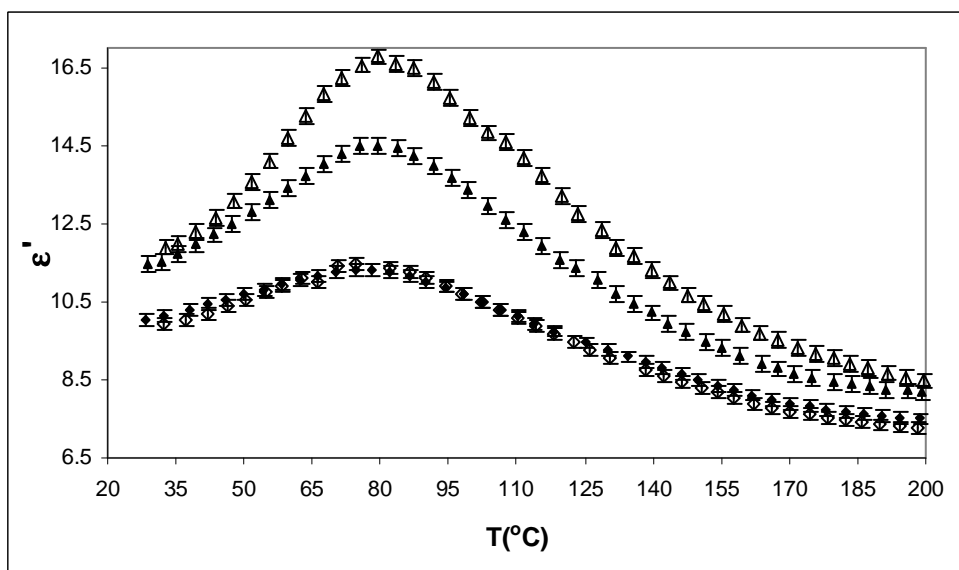
Na Ryc. 10 (a, b i c) przedstawiono temperaturowe zależności  $\tan \delta$  przenikalności dielektrycznej  $\epsilon'$  i strat dielektrycznych  $\epsilon''$  płytki paznokciowej uwodnionej w celu porównania właściwości dielektrycznych tej tkanki w grupie kontrolnej i badanej.

Krzywe wykonano dla dwóch wybranych częstotliwości 2kHz i 60kHz odpowiadających niższemu i wyższemu zakresowi obszaru  $\alpha$ -dyspersyjnego. Wpływ cukrzycy na właściwości dielektryczne paznokcia uwidacznia się wyraźnie w stanie uwodnionym dla 2 kHz i 60 kHz w postaci większych wartości  $\tan \delta$  (Ryc.10a) i  $\epsilon''$  (Ryc.10c) w każdej temperaturze w porównaniu do paznokcia z grupy kontrolnej.

Natomiast ten wpływ na  $\epsilon'$  (Ryc. 10b) występuje wyraźnie tylko dla częstotliwości 2kHz, dla której wartości liczbowe tego parametru są większe dla grupy badanej w porównaniu do tych dla grupy kontrolnej.

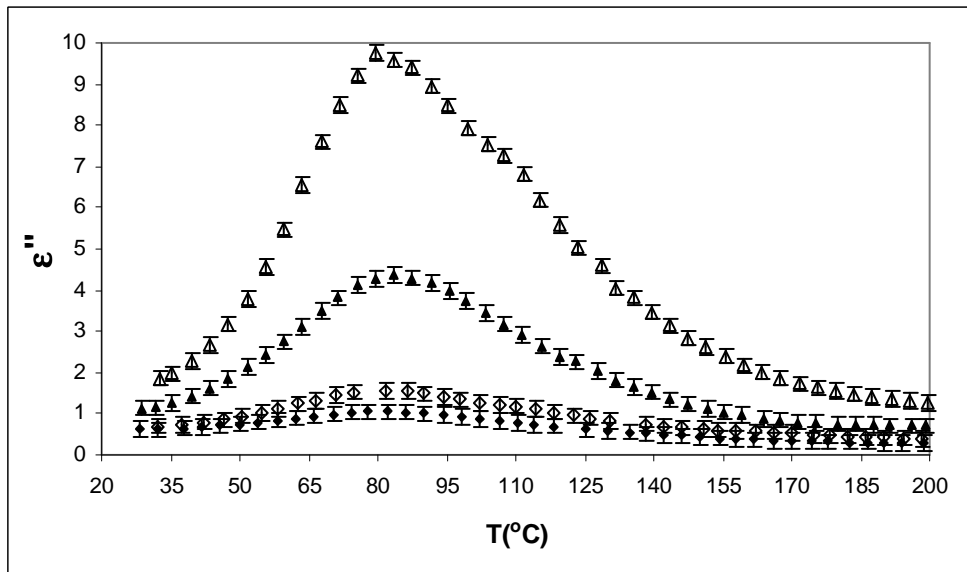


**Ryc. 10a** Temperaturowe zależności logarytmu współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\diamond$  60kHz)



**Ryc. 10b** Temperaturowe zależności przenikalności dielektrycznej płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\diamond$  60kHz)



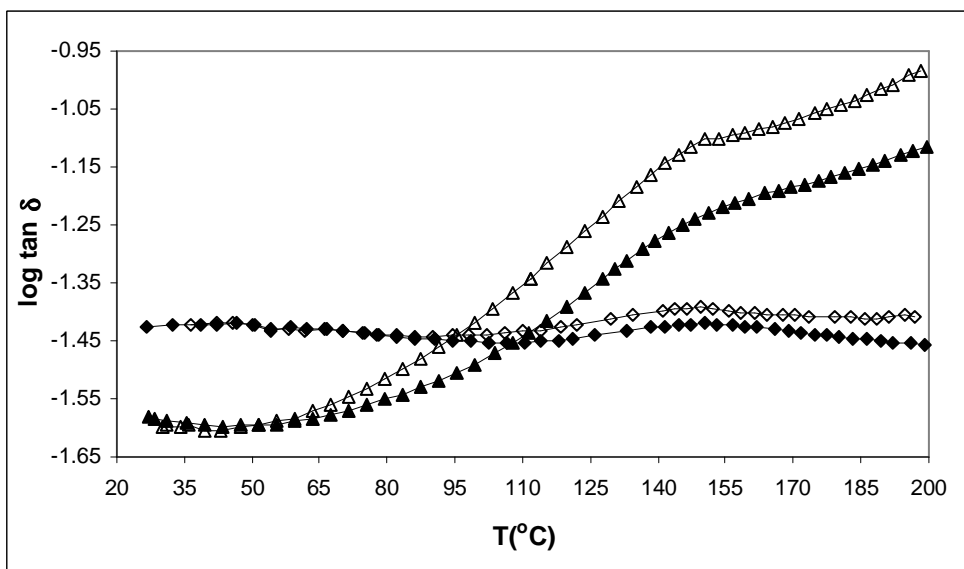


**Ryc. 10c** Temperaturowe zależności strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej (▲ 2kHz, ◆ 60kHz) i grupy badanej (△ 2kHz, ◇ 60kHz)

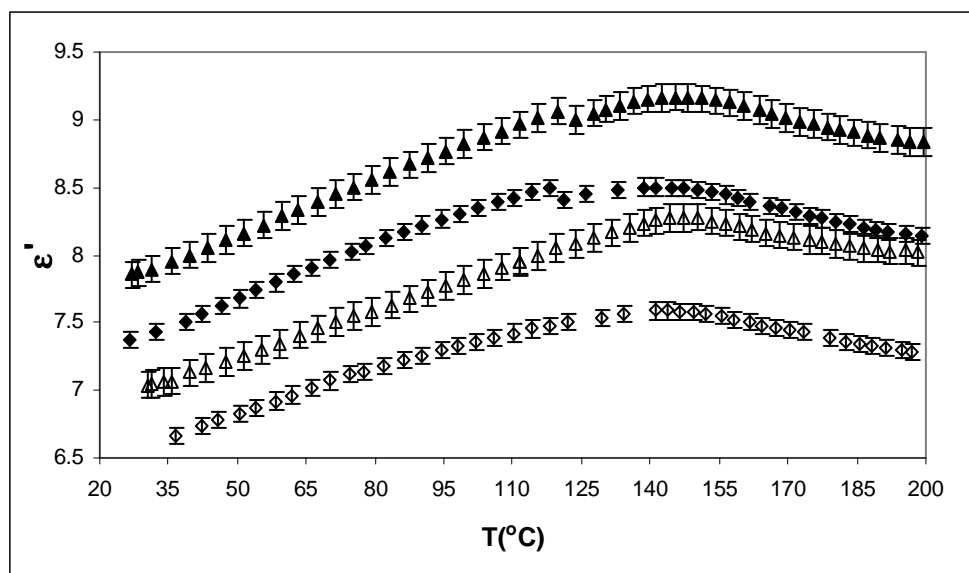
### **4.3 Porównanie parametrów dielektrycznych płytek paznokciowych suchych grupy kontrolnej z badaną.**

Na Ryc. 11 (a, b i c) przedstawiono temperaturowe zależności  $\tan \delta$  przenikalności dielektrycznej  $\epsilon'$  i strat dielektrycznych  $\epsilon''$  płytki paznokciowej suchej w celu porównania właściwości dielektrycznych tej tkanki w grupie kontrolnej i badanej.

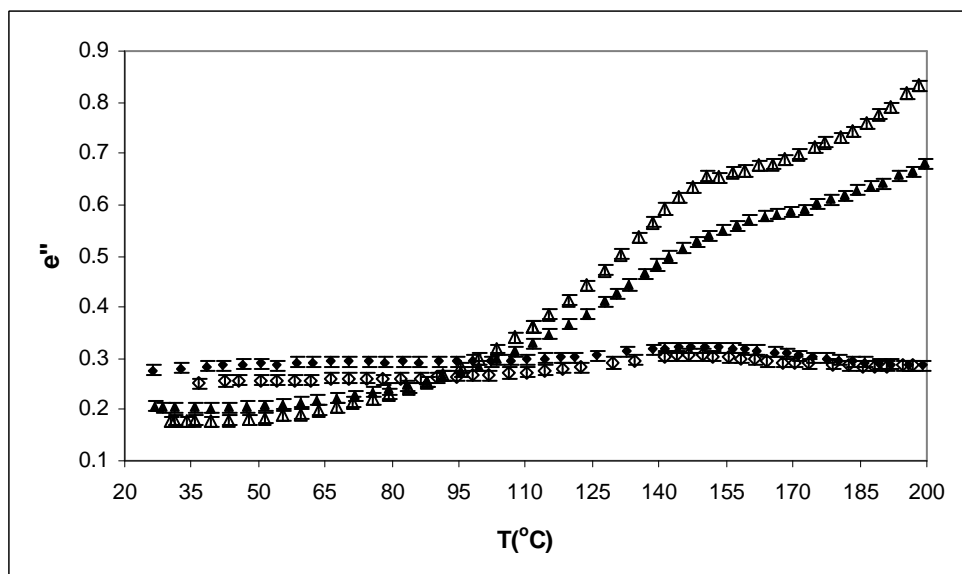
Wpływ cukrzycy na  $\tan \delta$  i  $\epsilon''$  paznokcia w stanie suchym (Ryc. 11a i c) jest zauważalny tylko dla 2kHz. Nachylenie krzywych w grupie badanej dla  $\tan \delta$  i  $\epsilon''$  powyżej 100°C jest większe od odpowiedniego nachylenia krzywych w grupie kontrolnej. Z kolei krzywe  $\epsilon'$  w grupie badanej (Ryc. 11b) dla obu częstotliwości leżą poniżej krzywych  $\epsilon'$  w grupie kontrolnej w przeciwieństwie do stanu uwodnionego tych tkanek. Z porównania tych zależności w każdej temperaturze i dla obu częstotliwości wynika, że wartości  $\epsilon'$  dla grupy badanej i kontrolnej różnią się około 12%.



**Ryc. 11a** Temperaturowe zależności logarytmu współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).



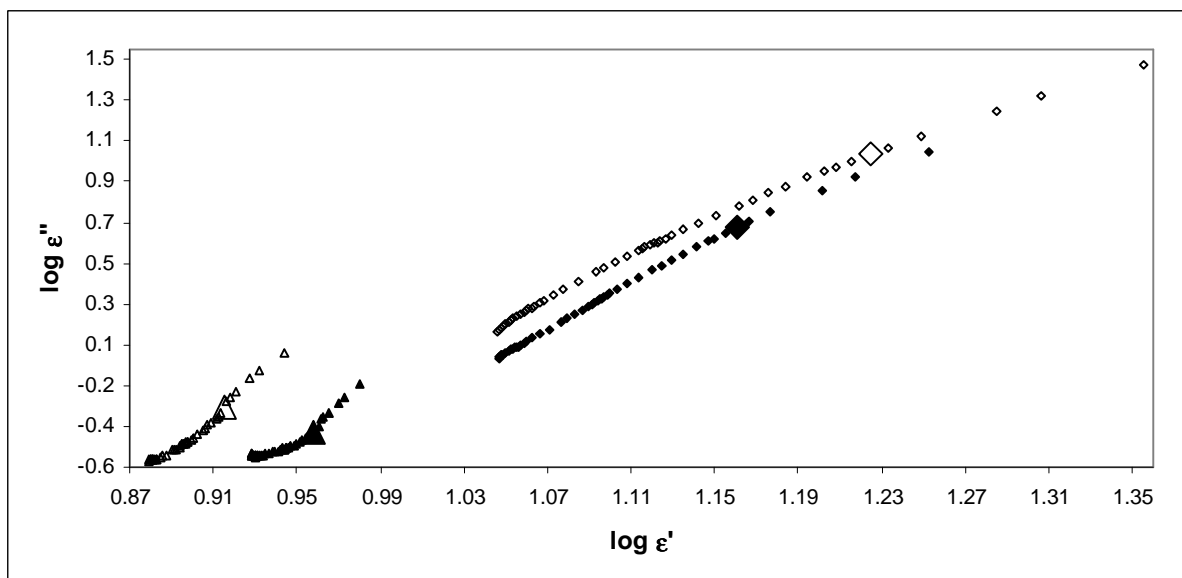
**Ryc. 11b** Temperaturowe zależności przenikalności dielektrycznej płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).



**Ryc. 11c** Temperaturowe zależności strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).

Ryc.12 przedstawia zależność strat dielektrycznych  $\epsilon''$  od przenikalności dielektrycznej  $\epsilon'$  płytki paznokciowej dla obu grup. Krzywe wykonano w zakresie częstotliwości 500Hz-100kHz dla temperatur  $80^{\circ}\text{C}$  i  $140^{\circ}\text{C}$ , w których występują piki temperaturowe  $\tan \delta$  dla tych tkanek odpowiednio w stanie uwodnionym (Ryc. 6-7) i suchym (Ryc. 8-9).

Krzywa dla uwodnionej płytki paznokciowej w grupie badanej ( $80^{\circ}\text{C}$ ) przesunięta jest w kierunku większych wartości  $\epsilon'$  i  $\epsilon''$  w porównaniu do odpowiedniej krzywej w grupie kontrolnej ( $80^{\circ}\text{C}$ ). Natomiast krzywa dla suchej płytki paznokciowej w grupie badanej ( $140^{\circ}\text{C}$ ) przesunięta jest odpowiednio w kierunku malejących  $\epsilon'$  i rosnących  $\epsilon''$  w porównaniu do tej dla grupy kontrolnej ( $140^{\circ}\text{C}$ ). Na rycinie uwidoczniono to przesunięcie między krzywymi obu grup w zaznaczonych przykładowo punktach (większa czcionka), które odpowiadają częstotliwości 2kHz.



**Ryc. 12** Zależność logarytmu strat dielektrycznych od logarytmu przenikalności dielektrycznej płytki paznokciowej uwodnionej dla 80°C (◆ grupa kontrolna; ◇ grupa badana) i suchej w 140°C (▲ grupa kontrolna; △ grupa badana).

Dla uwidocznionych zależności na Ryc. 12 wyznaczono różnicę w wartościach  $\epsilon'$  ( $\Delta\epsilon'$ ) i  $\epsilon''$  ( $\Delta\epsilon''$ ) między dolną (500Hz) i górną (100kHz) częstotliwością zakresu pomiarowego i przedstawiono w Tabeli I. Z analizy danych w tej Tabeli wynika, że wpływ cukrzycy na  $\Delta\epsilon'$  i  $\Delta\epsilon''$  płytki paznokciowej w temperaturze 80°C uwidacznia się odpowiednio wzrostem tych parametrów o 64% i 180% w porównaniu do grupy kontrolnej.

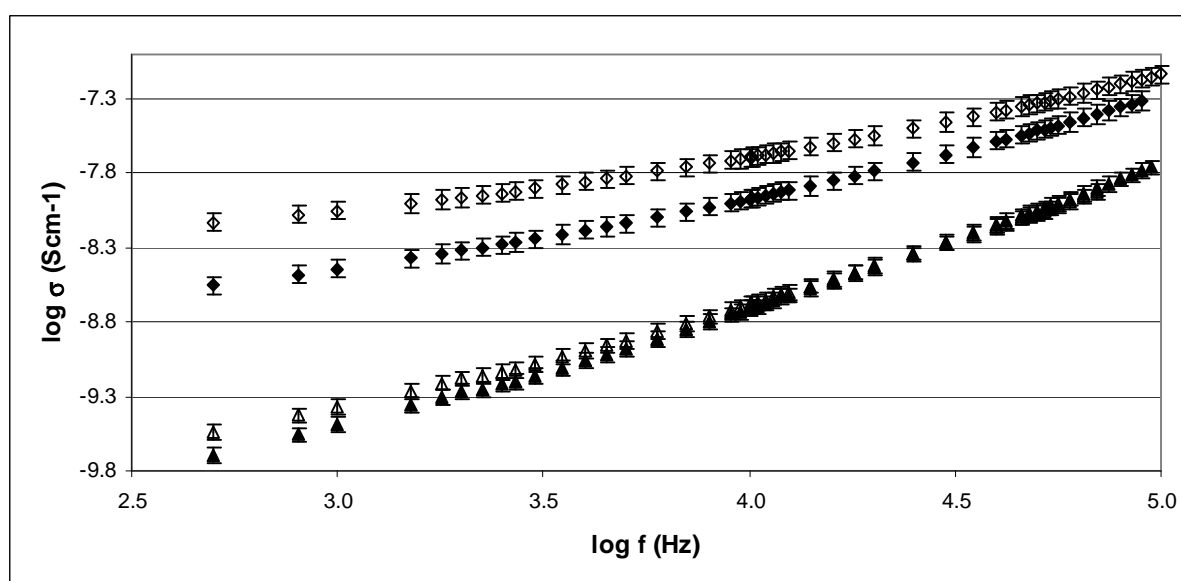
W temperaturze 140°C zaobserwowano także wzrost  $\Delta\epsilon'$  i  $\Delta\epsilon''$  płytki paznokciowej w grupie badanej odpowiednio o 15% i 80% w stosunku do grupy kontrolnej.

**Tabela I** Porównanie wartości liczbowych  $\Delta\varepsilon'$  i  $\Delta\varepsilon''$  płytki paznokciowej dla obu grup w stanie uwodnienia dla 80°C i suchym dla 140°C.

Temperatura $T$	Grupy paznokci	$\Delta\varepsilon'$	$\Delta\varepsilon''$
80°C	kontrolna	6.7±0.4	9±1
	badana	11.0±0.8	25±2
140°C	kontrolna	1.06±0.03	0.40±0.04
	badana	1.22±0.05	0.72±0.06

#### 4.4. Częstotliwościowe zależności przewodności właściwej płytki paznokciowej dla obu grup.

Na Ryc.13 przedstawiono częstotliwościowe zależności przewodności właściwej  $\sigma$  płytki paznokciowej obu grup dla temperatur 80°C i 140°C, odpowiednio w stanie uwodnionym i suchym podobnie, jak na Ryc.12.



**Ryc. 13** Zależność logarytmu przewodności właściwej od logarytmu częstotliwości płytki paznokciowej uwodnionej w 80°C (♦ grupa kontrolna; ◇ grupa badana ) i suchej w 140°C (▲ grupa kontrolna; △ grupa badana).

Krzywa dla uwodnionego paznokcia grupy badanej (80°C) położona jest powyżej odpowiedniej krzywej dla grupy kontrolnej. Natomiast krzywa dla suchego paznokcia grupy badanej (140°C) charakteryzuje się większymi wartościami  $\sigma$  tylko dla niskich częstotliwości (poniżej 10kHz) w porównaniu do tej dla grupy kontrolnej (140°C). Ponadto, dla wszystkich krzywych obu badanych grup w stanie uwodnionym i suchym, obserwowany jest wzrost  $\sigma$

ze wzrostem częstotliwości pola elektrycznego i temperatury. Wzrost ten ma charakter funkcji liniowej o współczynniku kierunkowym wynoszącym 0.5-08 i współczynniku korelacji w pobliżu 0.98.

Na podstawie zależności uwidoczniionych na Ryc. 13 wyznaczono dla 2kHz i 60kHz wartości liczbowe przewodności właściwej płytki paznokciowej obu grup w stanie uwodnionym i suchym, które zamieszczono w Tabeli II.

Z danych w tej tabeli wynika, że dla uwodnionych paznokci w 80°C wartości  $\sigma$  w grupie badanej dla 2kHz i 60kHz są odpowiednio o 12% i 48% większe w porównaniu z tymi w grupie kontrolnej.

Dla suchych paznokci w 140°C wzrost wartości  $\sigma$  w grupie badanej o 22% w stosunku do grupy kontrolnej jest widoczny tylko dla 2kHz. Dla 60kHz wartości  $\sigma$  suchych paznokci dla obu grup są do siebie zbliżone.

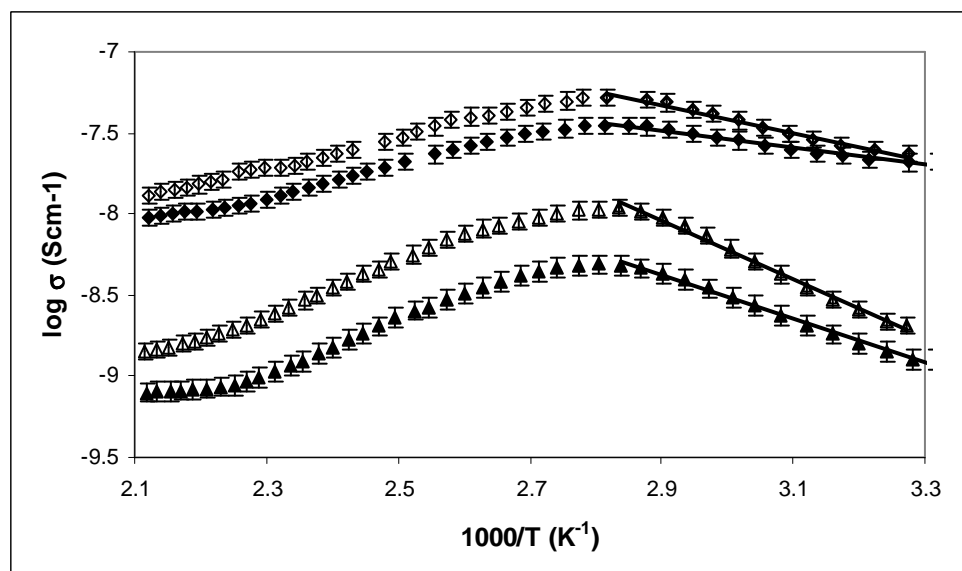


**Tabela II** Porównanie wartości liczbowych  $\sigma$  płytki paznokciowej z grupy kontrolnej i badanej w stanach uwodnionym w 80°C i suchym w 140°C, dla 2 kHz i 60 kHz.

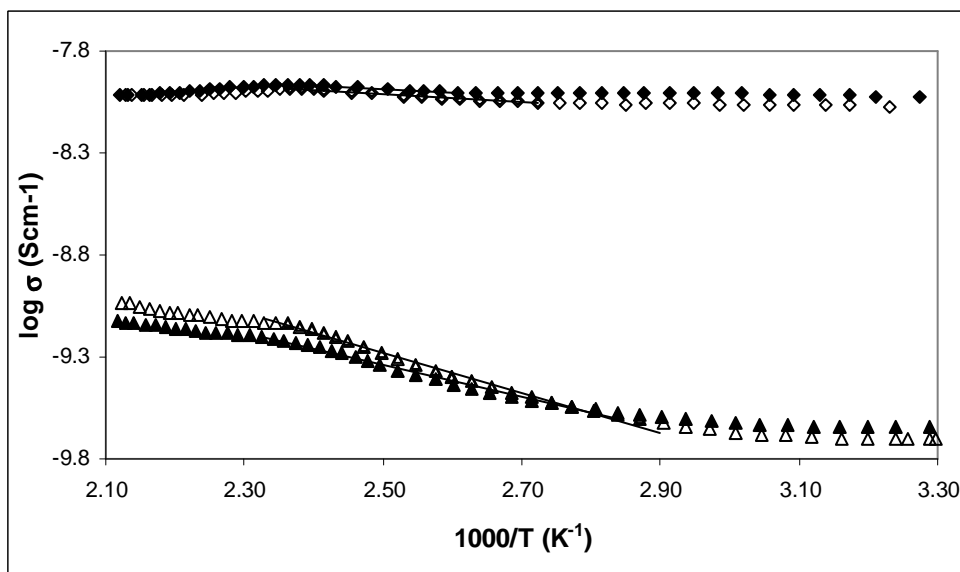
temperatura $T$	grupa paznokci	$\sigma \times 10^{-9}$ (S/cm)	
		częstotliwość $f$ 2kHz	częstotliwość $f$ 60kHz
80°C	kontrolna	5±1	35±4
	badana	11±1	52±5
140°C	kontrolna	0.54±0.03	11±1
	badana	0.66±0.05	10±1

#### 4.5. Porównanie energii aktywacji przewodności właściwej płytek paznokciowych grupy kontrolnej z badaną.

Na Ryc.14 (a i b) przedstawiono zależność logarytmiczną  $\sigma$  od odwrotności temperatury T dla uwodnionej i suchej płytki paznokciowej obu badanych grup, w celu zaobserwowania różnic między tkanką badaną i kontrolną dla 2kHz i 60kHz w całym badanym zakresie temperatur 20-200°C.



**Ryc. 14a** Zależność logarytmu przewodności właściwej od odwrotności temperatury dla płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).



**Ryc. 14b** Zależność logarytmu przewodności właściwej od odwrotności temperatury dla płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej (▲2kHz, ◆60kHz) i grupy badanej (△2kHz, ◇60kHz).

Liniowy przebieg tych krzywych w zakresie temperatur od  $3.41 \text{ K}^{-1}$  ( $20^\circ\text{C}$ ) do  $2.83 \text{ K}^{-1}$  ( $80^\circ\text{C}$ ) oraz od  $2.68 \text{ K}^{-1}$  ( $100^\circ\text{C}$ ) do  $2.31 \text{ K}^{-1}$  ( $160^\circ\text{C}$ ) jest opisany zależnością Arrheniusa:

$$\log \sigma = \log \sigma_0 - \Delta H/kT \quad (3)$$

gdzie:  $k$  – stała Boltzmana,  $T$  – temperatura i  $\Delta H$  – energia aktywacji.

Na podstawie powyższej zależności obliczono energię aktywacji  $\Delta H$  przewodności właściwej płytki paznokciowej dla obu grup w obszarze temperaturowym związanym

z uwalnianiem wody luźno związanej i związanej z tych tkanek. Wartości liczbowe dla 2kHz i 60kHz zamieszczono w Tabeli III.

Dane w tabeli pokazują, iż dla uwodnionych paznokci wzrost  $\Delta H$  przewodności właściwej w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej wynosi 36% i 70% odpowiednio dla 2 kHz i 60 kHz. Natomiast dla suchych paznokci w grupie badanej tylko dla 2 kHz widoczny jest wzrost  $\Delta H$  o 27% w porównaniu do  $\Delta H$  dla grupy kontrolnej. Dla 60 kHz nie obserwuje się różnicy w wartości  $\Delta H$  dla obu grup w stanie suchym.

**Tabela III** Porównanie wartości liczbowych  $\Delta H$  płytki paznokciowej z grupy kontrolnej i badanej w stanach uwodnionym w zakresie 20- 80°C i suchym w zakresie 100-160°C

grupy paznokci		$\Delta H$ (kJ/mol)	
		częstotliwość $f$	częstotliwość $f$
		2kHz	60kHz
uwodnione	kontrolna	25±3	10±2
	badana	34±3	17±2
suche	kontrolna	15±1	3±1
	badana	19±1	4±1

## 5. Omówienie wyników

Bogate piśmiennictwo z ostatnich lat dotyczące badań właściwości cieplnych, optycznych, mechanicznych i elektrycznych płytki paznokciowej sugeruje, iż te właściwości nie są jeszcze jednoznacznie określone dla zdrowego paznokcia, tymczasem istnieje również konieczność zbadania właściwości fizycznych tej tkanki w stanach chorobowych. W celu poznania tych właściwości korzysta się z takich fizycznych metod pomiarowych jak spektroskopia ramanowska [108], analiza termogravimetryczna [100,109], różnicowa kalorymetria skaningowa [110], spektroskopia dielektryczna [63,67,101, 111-114] i jontoforeza [115,116]. Metody te dostarczają informacji o mechanizmach fizycznych zachodzących w płytce paznokciowej na poziomie molekularnym, który odzwierciedla funkcjonowanie tej tkanki w stanie zdrowia i zmienionym chorobowo. Z badań tych wynika bardzo ważna rola wody w utrzymaniu prawidłowej struktury  $\alpha$ -keratyny paznokcia. Woda, która charakteryzuje się dużą przenikalnością dielektryczną oraz zdolnością do tworzenia wiązań specyficznych ma decydujący wpływ na własności elektryczne płytki paznokciowej. Z analizy widm ramanowskich [108] wynika, że aż 95% wody zawartej w paznokciu zdrowym i zmienionym chorobowo tworzy w tej tkance wiązania wodorowe. Ponadto, na podstawie uzyskanych wyników przewodnictwa cieplnego i elektrycznego paznokcia wykazano, iż ten materiał może spełniać funkcje biomarkera [117] w ocenie oddziaływania toksycznych składników chemicznych na organizm człowieka. Rezultaty metody optycznej pozwoliły ocenić wpływ sezonowych zmian pogodowych na profil paznokcia u chorych na cukrzycę [118]. Jednakże przeważająca ilość publikacji dotyczy właściwości fizycznych płytki paznokciowej zdrowej, natomiast brak jest doniesień w szczególności uwzględniających wpływ cukrzycy na przewodnictwo elektryczne tej tkanki. Próbę taką podjęto wcześniej jednakże w odniesieniu do skóry ludzkiej badając jej impedancję elektryczną u pacjentów z cukrzycą typu 1 [119].

Zastosowanie w rozprawie spektroskopii dielektrycznej do oceny wpływu cukrzycy na mechanizm przewodzenia prądu elektrycznego w płytce paznokciowej jest w pełni uzasadnione, gdyż ludzkie tkanki posiadają endogenne właściwości elektryczne oraz są odbiornikami energii elektrycznej z zewnętrznych źródeł pola elektromagnetycznego. Czyli, organizm człowieka jest zdolny do przewodzenia prądu elektrycznego i gromadzenia ładunku elektrycznego na błonach komórkowych i innych powierzchniach granicznych wewnątrz- i zewnątrz tkankowych. Wynika to z faktu, że tkanki ludzkie charakteryzują się intensywnymi właściwościami elektrycznymi takimi, jak *przewodność właściwa* i *przenikalność dielektryczna*. Bardzo zróżnicowane wartości liczbowe tych parametrów tkankowych w obrębie całego organizmu odzwierciedlają jego niejednorodność strukturalną. W ostatnich latach za pomocą spektroskopii dielektrycznej [120] wykonano badania właściwości elektrycznych wszystkich ludzkich tkanek w celu uzyskania wzorcowych wartości liczbowych zmierzonych parametrów. Efektem tych badań przeprowadzonych w szerokim zakresie częstotliwości pola elektromagnetycznego (mHz do GHz) jest jednoznaczne określenie kilku obszarów dyspersyjnych odzwierciedlających różne rodzaje mechanizmów polaryzacyjnych i przewodnictwa występujących w elementach strukturalnych tkanek. Wiedza dotycząca właściwości elektrycznych tych tkanek znajduje zastosowanie przy projektowaniu i konstrukcji bardzo precyzyjnej aparatury elektromedycznej diagnostycznej i terapeutycznej. Jednakże literatura naukowa dostarcza mało informacji dotyczących właściwości elektrycznych różnych dermatologicznych zmian chorobowych w tkankach [113], jak również brakuje doniesień dotyczących zastosowania spektroskopii dielektrycznej w tej dziedzinie medycyny.

W rozprawie zostały wykonane badania odpowiedzi elektrycznej płytki paznokciowej zdrowej i zmienionej pod wpływem cukrzycy w zakresie częstotliwości pola mierzącego od 500 Hz do 100 kHz w szerokim przedziale temperatury (22 - 220°C).

Uwzględnienie w tych badaniach wpływu na właściwości elektryczne oprócz częstotliwości, również temperatury jest ważne, gdyż ten parametr decyduje o prawidłowym przebiegu terapii i diagnozowaniu tej tkanki w żywym organizmie. Kolejnym czynnikiem fizycznym, który odpowiada za racjonalne i skuteczne zastosowanie aparatury medycznej jest stopień uwodnienia paznokcia, również uwzględniono w tej rozprawie. Dlatego też, badania wpływu uwodnienia na właściwości dielektryczne paznokcia dotyczyły tkanek powietrznie suchych, znajdujących się w temperaturze otoczenia o wilgotności względnej  $\sim 70\%$ , a więc w warunkach typowych dla organizmów żywych oraz tych pozbawionych wody luźno związanej.

Przedstawione w pracy temperaturowe i częstotliwościowe zależności parametrów dielektrycznych płytki paznokciowej dla grupy kontrolnej i badanej są analizowane w oparciu o typowe dla obszaru  $\alpha$ -dyspersyjnego mechanizmy polaryzacji Maxwell-Wagner-Sillars (MWS) oraz przewodnictwa protonowego [102,103]. Polaryzacja MWS powstaje w wyniku gromadzenia się protonów na granicy faz o niejednorodnej budowie strukturalnej (kompozyt), a więc charakteryzujących się różnymi właściwościami dielektrycznymi. Z tego powodu, w omawianej pracy płytkę paznokciową rozpatruje się jako biofizyczny układ *keratyna-woda*. Z kolei dla keratyny zaproponowano dwufazowy model [104] składający się z fazy amorficznej (białka niekeratynowe) bogatej w mostki dwusiarczkowe i fazy krystalicznej, którą stanowi  $\alpha$ -keratyna, tworząca następnie strukturę czwartorzędową w postaci mikrofibril. Woda występuje w obu fazach keratyny i charakteryzuje się dużą przewodnością właściwą  $\sigma$ . Jednakże o przewodnictwie elektrycznym w tej tkance decydują protony a nie cząsteczki wody, które są unieruchomione przez wiązania wodorowe utworzone z grupami polarnymi łańcuchów bocznych keratyny ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ,  $\text{OH}^-$  i  $\text{SO}_3^{2-}$ ).

Krzywe uwidocznione na Ryc. 6÷9 odzwierciedlają proces uwalniania wody luźno związanej (Ryc. 6 i 7) i związanej (Ryc. 8 i 9) z płytki paznokciowej dla obu badanych grup

w wyniku wzrostu temperatury otoczenia. Zmierzony parametr dielektryczny  $\tan \delta$  wyraża stosunek energii elektrycznej rozproszonej w postaci ciepła do energii elektrycznej zachowanej w badanym układzie keratyna-woda w wyniku doprowadzonego pola elektrycznego. Za energię rozproszoną i zachowaną odpowiedzialne są odpowiednio przewodnictwo protonowe wewnątrz- i między mikrofibrylami i polaryzacja MWS. Na podstawie charakteru temperaturowych zależności  $\tan \delta$  płytki paznokciowej (Ryc.6÷9) można wnioskować, że wzrost temperatury wpływa na zmianę ilości i ruchliwości protonów w wyniku dekompozycji wody.

Jak wynika z wcześniejszych badań keratyny i innych białek metodami termicznymi [105-107], proces uwalniania wody polega na zrywaniu wiązań wodorowych oraz dyfuzji cząsteczek wody z badanych układów biologicznych. Z badań tych wynika również, że uwalnianie wody jest procesem ciągłym i obejmuje szeroki zakres temperatur od temperatury otoczenia aż do 200°C jako rezultat występowania w tkankach wody o niejednakowej energii wiązań. Podobne zachowanie układu keratyna-woda zaobserwowano w prezentowanej pracy dla płytki paznokciowej grupy kontrolnej i badanej. Jednakże, cukrzyca powoduje wzmocnienie mechanizmów przewodnictwa protonowego paznokcia w stanie uwodnionym i suchym w porównaniu do grupy kontrolnej, co jest wyraźnie widoczne w większych wartościach  $\tan \delta$  (Ryc. 10a i 11a),  $\epsilon''$  (Ryc.10c i 11c) oraz  $\Delta\epsilon'$  i  $\Delta\epsilon''$  (Tabela I). Jest to konsekwencja hiperglikemii [32,41,45,51], której końcowe produkty glikacji (AGE) i wolne rodniki powodują wzrost gęstości transportowanego ładunku elektrycznego oraz sieciowanie keratyny i innych białek płytki paznokciowej, przyczyniając się do osłabienia polaryzacji dielektrycznej w stanie suchym tej tkanki (Ryc.11b). Piki temperaturowe  $\tan \delta$  w okolicy 80°C (Ryc.6 i 7) i 140°C (Ryc.8 i 9) wskazują na początek procesu dyfuzji wody z paznokcia dla obu badanych grup. Poniżej tych temperatur zachodzi zrywanie wiązań wodorowych, które tworzy woda



z keratyną, co potwierdzają uzyskane wartości energii aktywacji  $\Delta H$  przewodnictwa protonowego (Tabela III). Przedstawione w tabeli wartości  $\Delta H$  zależą od stopnia uwodnienia płytki paznokciowej i częstotliwości pola elektromagnetycznego. Uwodniony paznokieć w obu badanych grupach wymaga większej  $\Delta H$  w porównaniu z suchym. Ta większa energia aktywacji jest potrzebna do zerwania wiązań wodorowych utworzonych przez wodę nie tylko z makrocząsteczką keratyny - podobnie jak w stanie suchym paznokcia - ale również do zerwania tych wiązań między swoimi cząsteczkami. Ponadto, wartości  $\Delta H$  dla 60kHz są około dwu- i pięciokrotnie mniejsze niż te dla 2kHz, odpowiednio w stanie uwodnionym i suchym płytki paznokciowej. Wynika to z faktu, że fala elektromagnetyczna o większej częstotliwości a zatem o mniejszej długości oddziałuje na większą ilość protonów, co widoczne jest w większych wartościach przewodności właściwej dla 60kHz w porównaniu z tymi dla 2kHz (Tabela II). Ponadto, w paznokciach grupy badanej indukowane są dodatkowe wiązania między produktami AGE i wodą, których rozerwanie w celu jej dekompozycji wymaga większej energii, co widać z porównania wartości energii aktywacji między grupą badaną i kontrolną dla odpowiednich częstotliwości i uwodnień (Tabela III).

## 6. Wnioski

- Zmierzone in vitro temperaturowe i częstotliwościowe zależności parametrów dielektrycznych płytki paznokciowej odzwierciedlają mechanizmy przewodnictwa elektrycznego w strukturze keratyna-woda w stanie normalnym i zaburzonym cukrzycą typu 2,
- Cukrzyca powoduje wzmocnienie mechanizmów przewodnictwa protonowego paznokcia w stanie uwodnionym i suchym w porównaniu do grupy kontrolnej, co jest wyraźnie widoczne w większych wartościach zmierzonych parametrów dielektrycznych,
- Wpływ nieenzymatycznej glikacji keratyny płytki paznokciowej na jej właściwości dielektryczne uwidacznia się w postaci większych wartości liczbowych przewodności właściwej i energii aktywacji związanej z dekompozycją wody dla osób z cukrzycą. Prawdopodobnie jest to rezultat akumulacji końcowych produktów glikacji (AGE) i wolnych rodników w układzie keratyna-woda,
- Otrzymane wyniki badań właściwości dielektrycznych płytki paznokciowej, sugerują możliwość zastosowania spektroskopii dielektrycznej do wczesnego rozpoznania i zapobiegania cukrzycy typu 2 z następujących względów:
  - ◆ łatwego przygotowania materiału do pomiarów,
  - ◆ możliwości zmiany warunków pomiaru np. w szerokim zakresie temperatur i częstotliwości,
  - ◆ możliwości ilościowej oceny stanu patologicznego występującego w badanej tkance.

## 7. Piśmiennictwo

1. World Health Organisation, Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of WHO consultation. Part 1. WHO, Geneva, 1999. Definicja, rozpoznawanie i klasyfikacja cukrzycy. Raport Grupy Konsultacyjnej WHO. *Med. Prakt.* 2000; 1-2: 107-108.
2. Cypryk K. Cukrzyca i zespół metaboliczny, problem interdyscyplinarny. *Przegląd Menopauzalny* 2006; 1:36-42l.
3. Knowler W., Barrett-Connor E., Fowler S., Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *NEJM* 2002; 393-403.
4. King H, Aubert R, Herman W. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21(9): 1414-31.
5. Nowakowski A. Epidemiologia cukrzycy. *Diabetologia praktyczna* 2011; 4: 181-184.
6. Program leczenia i prewencji cukrzycy w Polsce na lata 2010-2011, Ministerstwo Zdrowia. 2011
7. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u osób chorych na cukrzycę 2012. *Diabetologia kliniczna* 2012, tom 1, supl. A.
8. Araszkiwicz A. Zozulińska-Ziółkiewicz D. Trepńska M. Wierusz-Wysocka B. Knowledge after five-day teaching program in intensive insulin therapy performed at the onset of types 1 diabetes influences the development of late diabetes complications. *Diab. Res. Clin. Pract.* 2008; 81:61-5.
9. Jin SM., Noh Ch I, Yang S W, Bae EJ, Shin Ch H, Chung H R, Kim YY, Yun YS. Endothelial dysfunction and microvascular complications in type 1 diabetes mellitus. *J. Korean. Med. Sci.* 2008; 23: 77-82.

10. Klein R., Klein B., Moss S., Cruickshanks K. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy, 17: the 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology* 1998; 105:1801–1815.
11. Rosenstock J., Raskin P. Diabetes and its complications: blood glucose control vs. genetic susceptibility. *Diabet. Metab. Rev.* 1988; 4: 417–435.
12. DCCT Trial Research Group: The effect of Intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 977–986.
13. Morrish NJ, Stevens LK, Fuller JH, et al. Incidence of macrovascular disease in diabetes mellitus: the London cohort of the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetics. *Diabetologia* 1991; 34: 584-589.
14. Lorenzi M. Glucose toxicity in the vascular complications of diabetes: the cellular perspective. *Diabetes. Metab. Rev.* 1992; 8: 85-103
15. Schmid-Schonbein G. The damaging potential of leukocyte activation in the microcirculation. *Angiology* 1993; 44: 45-56
16. Hermans M. Diabetes and the endothelium. *Acta Clin Belg* 2007; 62: 97-101.
17. Gupta A, Ravussin E, Johannsen D, Stull A. Endothelial Dysfunction: An Early Cardiovascular Risk Marker in Asymptomatic Obese Individuals with Prediabetes. *Br. Med Res.* 2012 May 30; 2:413-423.
18. Luźniak P, Czech A. Epidemiologia choroby niedokrwiennej serca w populacji osób z cukrzycą. *Medycyna po Dyplomie* 2006; supl. 12/06: 43-45.
19. Janeczko D, Kopczyński J, Lewandowski Z. Umieralność z powodu chorób układu krążenia u chorych na cukrzycę typu 2. *Przegląd Lek.* 2000; 57, supl. 4: 3.

20. American Diabetes Association: Retinopathy in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care*. 2004; 27 (Suppl. 1): 84-87.
21. Brown J, Pedula K, Summers K. Diabetic retinopathy. Contemporary prevalence in a well-controlled population. *Diabetes Care*. 2003; 26: 2637-42
22. Nosarzewski J. Nefropatia cukrzycowa. *Nefrologia i Urologia* 2006; 2: 209- 216.
23. Alwakeel JS, Al-Suwaida A, Isnami C, Al-Harbi A, Alam A. Concomitant macro and microvascular complications in diabetic nephropathy. *Saudi. J Kidney. Dis. Transpl.* 2009; 20:402-9
24. Luis-Rodríguez D, Martínez-Castelao A, Górriz J. Pathophysiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy. *World. J. Diabetes*. 2012; 3: 7 -18.
25. Ramsey S, Newton K, Blough D. Incidence, outcomes, and cost of foot ulcers in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22: 382-387.
26. Możdzan M, Ruxer J. Obwodowa polineuropatia cukrzycowa. *Lekarz Rodzinny* 2004; 6: 674-683.
27. Levitt N, Stansberry K, Wychanck S, Vinik A. Natural progression of autonomic neuropathy and autonomic function tests in a cohort of IDDM. *Diabetes Care*. 1996; 19: 751-4
28. Morales-Vidal S, Morgan C, McCoyd M, Hornik A. Diabetic peripheral neuropathy and the management of diabetic peripheral neuropathic pain. *Postgrad. Med*. 2012: 124:145-53.
29. Szelachowska M., Zonenberg A., Kinalska I., Cukrzyca – choroba naczyń. *Medycyna po Dyplomie* 2006: supl. 12/06: 49-51.
30. Kannel W, McGee D. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 1979; 241:2035-2038.

31. Wierusz-Wysocka B. Powikłania naczyniowe a stres oksydacyjny w cukrzycy. *Diabetol. Prakt.* 2001; 2, supl C: 11-15.
32. Jabłońska-Trypuć A., Molekularny mechanizm nieenzymatycznej glikacji białek i jej rola w cukrzycy, *Przegląd Kardiologiczny* 2007; 2: 254-255.
33. Sinclair A.J.: Free radical mechanisms and vascular complications of diabetes mellitus. *Diabetic Rev.* 1993; 2: 7–10.
34. Schalkwijk C, Stehouwer D. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science* 2005; 109: 143-59
35. Gaudreault N. i wsp., Characterization of glucose transporters in the intact coronary artery endothelium in rats: GLUT-2 up-regulated by the long-term hyperglycaemia. *Diabetologia* 2004; 47: 2082-2083.
36. Wierusz-Wysocka B., Związki patogenetyczne między mikro- i makroangiopatią cukrzycową. Część I. Mikroangiopatia cukrzycowa - co nowego?, *Diabetologia Praktyczna* 2009; tom 10, nr 4.
37. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D., Wybrane mechanizmy patogenetyczne przewlekłych powikłań cukrzycy. I. Rola dysfunkcji śródbłonnków. *Diabetol. Pol.* 2002: 193–198.
38. Greene D.A., Lattimer S.A., Sima A.A.: Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.* 1987, 316: 599–606.
39. Gałęcka E, Jacewicz R, Mrowicka M. Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje. *Pol. Merk. Lek.* 2008; 147: 266-268
40. Gałęcka E., Mrowicka M., Malinowska K. i wsp.: Wolne rodniki tlenu i azotu w fizjologii. *Pol. Merk. Lek.*, 2008, 24, 143: 446-448.

41. Kulbacka J., Saczko J., Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek, *Pol. Merk. Lek.*, 2009; XXVII, 157: 44.
42. Quagliaro L., Piconi L., i wsp. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. The role protein kinase C and NAD(P)H oxidase activation. *Diabetes*. 2003; 52:2795–2804.
43. Lundbak K., Diabetic angiopathy: a specific vascular disease. *Lancet* 1954; 377–379.
44. Derubertis F, Craven P. Activation of protein kinase C In glomerular cells in diabetes: mechanism and potential links to the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Diabetes* 1994; 43: 1–8.
45. Brownlee M., Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-820.
46. Araszkiwicz A., Zozulińska D., Trepieńska M., Wierusz-Wysocka B., Inflammatory markers as risk factor for microangiopathy In type 1 diabetic patients on functional intensive insulin therapy from the onset of the disease. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2006: 74S:34–40.
47. Cohen RA., Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 87:67–76.
48. Araszkiwicz A., Zozulińska D. , Wierusz-Wysocka B., Rozwój badań nad patogenezą mikroangiopatii w cukrzycy typu 1., *Diabetologia Praktyczna* 2005; tom 6, nr 4, s. 184.
49. Tomlinson D., Mitogen-activated protein kinases as glucose, transducers for diabetic complications. *Diabetologia* 1999; 42: 1271–1281.
50. Brownlee M., Glycation products and the pathogenesis of diabetes complications. *Diabetes. Care*. 1992; 15: 1835–1843.

51. Brownlee M., Vlassara H., Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318:1315–1321.
52. Cho S, Roman G, Yeboah F, Konishi Y. The road to advanced glycation end products: a mechanistic perspective. *Curr Med. Chem* 2007; 14:1653-71.
53. Zuwała-Jagiełło J., Terapia chorób z udziałem końcowych produktów zaawansowanej glikacji w ich patogenezie, *Pol. Merk. Lek.*, 2009; XXVII 158:152
54. Nagai R., Fujiwara Y., Mera K., Otagiri M., Investigation of pathways of advanced glycation end-products accumulation in macrophages. *Mol. Nutr. Food. Res.* 2007; 51: 462-7.
55. Styszyński A, Korybalska K, Wieczorowska-Tobis K. Nieenzymatyczna glikozylacja białek – potencjalna rola w patogenezie chorób i starzeniu. *Gerontol. Pol.* 2001; 9:55.
56. Monnier V. Intervention against the Maillard reaction in vivo. *Arch. Biochem. Biophys.* 2003; 419:1-15.
57. Soldatos G, Cooper M. Advanced glycation end products and vascular structure and function. *Curr. Hypertens. Rep.* 2006; 8:472-478
58. Wang A, Yu A, He Q. AGEs mediated expression and secretion of TNF alpha in rat retinal microglia. *Exp. Eye. Res.* 2007; 84:905-13
59. Basta G.: Receptor for advanced glycation endproducts and atherosclerosis: From basic mechanisms to clinical implications. *Atheroscler.*, 2008; 196:9-21.
60. Mohamed A, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H. The role of oxidative stress and NF-kappaB activation in late diabetic complications. *Biofactors* 1999; 10:157–167
61. Morbini P, Villa C, Campo I, et al. The receptor for advanced glycation end products and its ligands: a new inflammatory pathway in lung disease? *Mod. Pathol.* 2006; 19:1437-45.



62. Bailey A. Molecular mechanisms of ageing in connective tissues. *Mech. Ageing. Dev.* 2001; 122:735-55.
63. Marzec E., Olszewski J., Dielectric analysis of the thermal processes of human nail, *Thermochim. Acta* 2010; 506:73-76.
64. Yan S, Ramasamy R, Schmidt A. Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 2008; 4:285-293.
65. Ley K. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in the inflammatory process. *Cardiovasc. Res.* 1996; 32: 7–13.
66. Cho S, Roman G, Yeboah F, Konishi Y. The road to advanced glycation end products and mechanistic perspective. *Curr. Med. Chem.* 2007; 14:1653-71.
67. Marzec E. Olszewski J. Molecular interactions in human nail plate analysed by dielectric spectroscopy. *Colloids and Surfaces B; Biointerfaces* 69 (2009) 91-94.
68. Ceriello A. Hyperglycemia: the bridge between nonenzymatic glycation and oxidative stress in pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes. Nutr. Metab.* 1999; 44:924-8.
69. Kowalska I, Prokop J, Bachórzewska-Gajewska H. Disturbances of glucose metabolism in men referred for coronary arteriography. Postload glycemia as a predictor for coronary atherosclerosis. *Diabetes. Care.* 2001; 24:897-901.
70. Marzec E. Olszewski J. Dielectric properties of keratin-water systems in diabetic and healthy human fingernails. *Journal of Non-Crystalline Solids* 2009; 355:2456-2460.
71. Babu P., Gokulakrishnan A., et al., Protective effect of *Withania somnifera* (Solanaceae) on collagen glycation and cross-linking. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2007; 147:308-13.
72. Kyselova Z., Stefek M., Pharmacological prevention of diabetic cataract. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2004; 18:129–140.

73. Zuwała-Jagiełło J., Simon K., Advanced glycation end products in serum of patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006; 15:259-264.
74. Bochenek A., Reicher M., Anatomia człowieka, tom 5, Warszawa 1989; 356.
75. Sylwanowicz W., Anatomia i fizjologia człowieka, Warszawa 1980; 504.
76. Bochenek A., Reicher M., Anatomia człowieka, tom 5, Warszawa 1989; 357.
77. Seshadri D, De D. Nails in nutritional deficiencies. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2012; 78:237-41.
78. Rodziewicz A., Łaba W., Keratyny i ich biodegradacja. *Biotechnologia* 2006; 2 (73): 130-131.
79. Gregoriou S., Argyriou G., Schorzenia paznokci a choroby układowe – o czym mówi nam wygląd paznokci?, *Forum Medycyny Rodzinnej* 2009; tom 3, nr 2 : 130.
80. Wester J, van Eps R, Stouthamer A, Girbes A, Critical illness onychomadesis. *IntensiveCare Med.* 2000; 26:1698–700.
81. Nakatsui T., Lin A., Onycholysis and thyroid disease: report of three cases. *J. Cutan. Med. Surg.* 1998; 3:40.
82. Jadhav V., Mahajan P., Nail pitting and onycholysis, *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2009; 75:631.
83. Baran E., Wybrane choroby paznokci, Przewodnik Lekarza, Warszawa 2003; 67.
84. Cribier B., Mena M., Nail changes in patients infected with human immunodeficiency virus. A prospective controlled study, *Arch. Dermatol.* 1998; 134:1216.
85. Zaiac M., Daniel C., Nails in systemic disease, *Dermatol Ther* 2002; 5:99-106.
86. Scher R, Daniel C, Nails: Diagnosis, Therapy, Surgery. Philadelphia 2005; 147-9.
87. Gregoriou S., Argyriou G., Schorzenia paznokci a choroby układowe – o czym mówi nam wygląd paznokci?, *Forum Medycyny Rodzinnej* 2009; tom 3, nr 2 : 132.

88. Dyachenko P, Monselise A, Shustak A. Nail disorders in patients with chronic renal failure and undergoing haemodialysis treatment: a case control study. *J. Eur. Acad. Dermatol.Venereol.* 2007; 21:340–344
89. Mayeaux E. Nail disorders. *Prim. Care* 2000; 27:333–351.
90. Cohen P., Red lunulae: case report and literature review, *J. Am. Acad. Dermatol.* 1992; 26:292.
91. Muehrcke R.C. The fingernails in chronic hypoalbuminemia. *BMJ* 1956; 1:1327.
92. Saray Y, Seckin D, Gulec A, Akgun S. Nail disorders in hemodialysis patients and renal transplant recipients: a case-control study. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004; 50:197–202.
93. Singh G, Nails in systemic disease. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2011; 77:646-51
94. Dupont A, Magy N, Humbert P, Dupond. Nail manifestations of systemic diseases. *Rev. Prat.* 2000; 50:2236–2240.
95. Shearn M. Nails and systemic disease. *West J Med.* 1978; 129(4):358-63
96. Kosinski M, Stewart D. Nail changes associated with systemic disease and vascular insufficiency. *Clin Podiatr Med Surg.* 1989; 6:295-318.
97. Kvedar J, Baden H. Nail changes in cutaneous disease. *Semin Dermatol.* 1991; 10:65-70.
98. Michałowski R. *Syndromatologia dermatologiczna*, Warszawa 1984; 219.
99. Tonin C, Aluigi A., Songia M.B., D'Arrigo C., Mormino M., Vineis C, Thermoanalytical characterization of modified keratin fibres. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2004; 77: 987-996.
100. Barba C., Méndez S., Martí M., Parra J.L., Coderch L., Water content of hair and nails. *Thermochim.Acta* 2009; 494:136-140.
101. Rizvi T.Z, Khan M..A. Temperature-dependent dielectric properties of slightly hydrated horn keratin. *Int. J Biol. Macromol.* 2008; 42:292-297.

102. Pethig R., Dielectric and electronic properties of biological materials, Wiley Chichester, 1979.
103. Grimnes S, Martinsen Ø.G., Bioimpedance and Bioelectricity Basics, *Academic Press*, 2000; Chapter 7.
104. Feughelman M., Basic wool physics. *Proc. Int. Wool Text Res. Conf.* 1980; 6: 35.
105. Millington K.R., Maurdev G., Jones M.J., Polym. Thermal chemiluminescence of fibrous proteins. *Degrad. Stab.* 2007; 92:1504-1512.
106. Éhen ZS., Novák CS., Sztatisz J., Bene O., Thermal characterization of hair using TG-MS combined thermoanalytical technique. *J. Therm. Anal. Calorim* 2004; 78: 427-440.
107. Budrugaec P., Miu L., Bocu V., Wortman F.J., Popescu C., Thermal degradation of collagen-based materials that are supports of cultural and historical objects. *J. Therm. Anal. Calorim* 2003; 72: 1057-1064.
108. Edwards Howell G.M., Gniadecka M., Petersen S., , et al., NIR-FT Raman spectroscopy as a diagnostic probe for mummified skin and nails. *Vib. Spectrosc.* 2002; 28:3-15.
109. Stern DK, Diamantis S, Smith E, et al., Water content and other aspects of brittle versus normal fingernails. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2007; 57 (1):31-36.
110. Belletti KMS, Feferman IH, Mendes TRO, et al., Evaluation of hair fiber hydration by differential scanning calorimetry, gas chromatography, and sensory analysis. *J. Cosmet. Sci.* 2003; 54 (6):527-535.
111. Hao J, Smith KA, Li SK., Time-dependent electrical properties of human nail upon hydration in vivo. *J. Pharm. Sci.* 2010; 99 (1):107-18.

112. Huclova S, Erni D, Frohlich J., Modelling and validation of dielectric properties of human skin in the MHz region focusing on skin layer morphology and material composition. *J. Phys. D Appl. Phys.* 2012; 45 (2):122-125.
113. Habibi M, Olasz EB, Klemer DP., Two-dimensional dielectric imaging for dermatologic screening: a feasibility study. *Skin. Res. Technol.* 2002; 18 (3):324-331.
114. Martinsen OG, Grimnes S, Nilsen SH., Water sorption and electrical properties of a human nail. *Skin. Res. Technol.* 2008; 14 (2):142-146.
115. Walters KA, Abdalghafor HM, Lane ME., The human nail - Barrier characterisation and permeation enhancement. *Int. J. Pharmaceut.* 2012; 435 (1):10-21.
116. Murthy SN, Waddell DC, Shivakumar HN, et al. Iontophoretic permselective property of human nail. *J. Dermatol. Sci.* 2007; 46 (2):150-152.
117. Slotnick MJ, Nriagu JO., Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. *Environ. Res.* 2006; 102:125-139.
118. Pierard-Franchimont C, Jebali A, Ezzine N, Letawe C, Pierard GE., Seasonal variations in polymorphic nail surface changes associated with diabetes mellitus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 1996; 7: 182-196.
119. Lindholm-Sethson B, Han S, Ollmar S, Nicander I, Jonsson G, Lithner F, Bertheim U, Geladi P., Multivariate analysis of skin impedance data in long-term type 1 diabetic patients. *Chemometer. Intell. Lab.* 1998; 44 (1-2):381-394.
120. Gabriel C, Peyman A, Grant EH., Electrical conductivity of tissue at frequencies below 1 MHz. *Phys. Med. Biol.* 2009; 54 (16): 4863-4878.

## 8. Streszczenie.

**Wstęp:** Główną przyczyną zmian w płytce paznokciowej jest nieenzymatyczna glikacja keratyny, do której dochodzi w przebiegu cukrzycy. Brak równowagi pomiędzy degradacją i powstawaniem AGEs wpływa na kształt cząsteczki keratyny, powodując tym samym zaburzenie struktury paznokcia.

**Założenia i cel pracy :** Celem pracy było porównanie *in vitro* wpływu temperatury i wilgotności na przewodnictwo elektryczne płytki paznokcia osób zdrowych i z cukrzycą typu 2, ocena *in vitro* zmian właściwości dielektrycznych płytki paznokcia u chorych z cukrzycą typu 2 w oparciu o zmiany w strukturze molekularnej dotyczącej układu keratyna-woda oraz ocena przydatności spektroskopii dielektrycznej w badaniach *in vitro* płytki paznokciowej do wczesnego rozpoznania i zapobiegania cukrzycy typu 2. Realizacja powyższego celu wymagała następujących założeń: zakres wieku grupy kontrolnej i badanej oraz szerokość obciętych paznokci w tych grupach były podobne, stan uwodnienia obciętych paznokci był porównywalny z ich stanem fizjologicznym, ze względu na możliwość zastosowania spektroskopii dielektrycznej w praktyce klinicznej przedział temperatur zastosowanych w pomiarach obejmował zakres dopuszczalny dla organizmu żywego i znacznie go przekraczający.

**Materiał i metodyka :** Badania przeprowadzono w dwóch grupach ochotników w wieku od 50 do 60 lat. Pacjenci grupy kontrolnej (15 osób) nie wykazywali żadnych objawów chorobowych. Grupa badana liczyła 20 osób chorych na przewlekłą cukrzycę typu 2 z wyrównanym nadciśnieniem tętniczym i wyrównaną gospodarką lipidową. Do oceny właściwości dielektrycznych płytki paznokciowej obu grup wykorzystano obcięte paznokcie palców środkowych kończyn górnych o szerokości ( $2.7 \pm 0.3$ ) mm. Pomiarów wykonano przy pomocy analizatora impedancji HIOKI 3522-50 LCR w zakresie częstotliwości  $f$  pola

elektrycznego 500Hz – 100kHz oraz temperatur od 22 do 200°C. Zmierzonymi parametrami elektrycznymi była rezystancja i pojemność płytki paznokciowej.

**Wyniki:** Woda zawarta w paznokciach powoduje prawie dwukrotny wzrost właściwości dielektrycznych w grupie badanej w porównaniu z kontrolną dla tej samej temperatury i częstotliwości. W suchych paznokciach właściwości dielektryczne płytki paznokciowej dla grupy badanej są o 21-46% większe od tych dla grupy kontrolnej. Dla uwodnionych paznokci wzrost energii aktywacji przewodności właściwej w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej wynosi 36% i 70% odpowiednio dla 2kHz i 60kHz. Natomiast dla suchych paznokci w grupie badanej tylko dla 2kHz widoczny jest wzrost energii aktywacji przewodności właściwej o 27% w porównaniu do grupy kontrolnej.

**Wnioski:** Zmierzone in vitro temperaturowe i częstotliwościowe zależności parametrów dielektrycznych płytki paznokciowej odzwierciedlają mechanizmy przewodnictwa elektrycznego w strukturze keratyna-woda w stanie normalnym i zaburzoną cukrzycą typu 2. Cukrzyca powoduje wzmocnienie mechanizmów przewodnictwa protonowego paznokcia w stanie uwodnionym i suchym w porównaniu do grupy kontrolnej, co jest wyraźnie widoczne w większych wartościach zmierzonych parametrów dielektrycznych, Wpływ nieenzymatycznej glikacji keratyny płytki paznokciowej na jej właściwości dielektryczne uwidacznia się w postaci większych wartości liczbowych przewodności właściwej i energii aktywacji związanej z dekompozycją wody dla osób z cukrzycą. Prawdopodobnie jest to rezultat akumulacji końcowych produktów glikacji (AGE) i wolnych rodników w układzie keratyna-woda. Otrzymane wyniki badań właściwości dielektrycznych płytki paznokciowej, sugerują możliwość zastosowania spektroskopii dielektrycznej do wczesnego rozpoznania i zapobiegania cukrzycy typu 2 z następujących względów: łatwego przygotowania materiału do pomiarów, możliwości zmiany warunków

pomiaru np. w szerokim zakresie temperatur i częstotliwości, możliwości ilościowej oceny stanu patologicznego występującego w badanej tkance.



## 9. Abstract.

**Background/aims:** In the case of diabetes, nail plate anomalies concern hypertrophy, increased brittleness, turning yellow and horizontal grooves and furrows occurrence. The main cause of the nail lesions is increased nonenzymatic glycosylation of keratin occurring in diabetes brought about by hyperglycemi. The aim of this work is to show the difference between dielectric properties of the nail in healthy individuals and in diabetic patients. Because nonenzymatic protein glycosylation depends on the concentration of reducing sugar and the protein affection time span, the nail tissue, considering its slow growth, is a particularly the valuable biological material for long-term studies of changes in its physicochemical properties caused by diabetes. Recognition of the effect of temperature and water on the dielectric behaviour of the diabetic nail can be of interest for prevention, detection, evaluation and treatment of diabetes.

**Methods:** The study was conducted in 20 type 2 diabetic patients (50-60 years old) and 15 normal individuals (50-60 years old) comprising the controls. The nails of the middle fingers of the upper limbs, 3mm in width, were obtained from the both groups twice in four-week intervals. The measurements of the dielectric properties for the healthy and the diabetic nail were performed by an LCR bridge made by HIOKI over the frequency range of 500Hz–100kHz and temperatures, T, from 22 to 200°C under normal pressure in air.

**Results:** The release of water from the air-dried at room temperature and previously kept at 120°C all nails is manifested by  $\epsilon'$  and  $\epsilon''$  maxima near 80 and 140°C, respectively. The plots of the relative permittivity versus temperature at the same frequency are higher in the healthy than in the diabetic nail. The effect of diabetes on the dielectric properties of the nail is visible also in the higher values of the activation energy of conductivity than those for

the control tissue at the same frequency. This implies that electric conduction mechanisms occurring in the control nail become much intensive in the diabetic one. These results suggests that advanced glycation and products (AGes) and free radicals may form cross-links by interaction with keratin-water system.

**Conclusions:** The changes in the dielectric properties of the diabetic nail as caused by the damage of the polar sites in the keratin-matrix-water system. The results of this study performed by the dielectric spectroscopy provide new information on molecular mechanism of the electrical conduction and polarization in the healthy and the diabetic nail. The present study exhibits that the dielectric spectroscopy is useful in detection of the effect of diabetes mellitus on the nail plate molecular behavior.

## 10. Spis rycin i tabel

- Ryc. 1** Onycholiza (Gregoriou S., Schorzenia paznokci...)
- Ryc. 2** Paznokcie pałeczkowate (Gregoriou S., Schorzenia paznokci...).
- Ryc. 3** Koilonychia (Gregoriou S., Schorzenia paznokci...).
- Ryc. 4** Grzybica paznokci (Jabłońska S., Choroby skóry)
- Ryc. 5** Model elektryczny płytki paznokciowej
- Ryc. 6** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej dla kilku wybranych częstotliwości:  
◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, −100kHz.
- Ryc. 7** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy badanej dla kilku wybranych częstotliwości:  
◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, −100kHz.
- Ryc. 8** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej dla kilku wybranych częstotliwości:  
◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, −100kHz.
- Ryc. 9** Temperaturowe zależności współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy badanej dla kilku wybranych częstotliwości:  
◇800Hz, □ 2kHz, △5kHz, ○10kHz, ●30kHz, ×60kHz, −100kHz.
- Ryc. 10a** Temperaturowe zależności logarytmu współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej (▲2kHz, ◆60kHz) i grupy badanej (△2kHz, ◇60kHz).

- Ryc. 10b** Temperaturowe zależności przenikalności dielektrycznej płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).
- Ryc. 10c** Temperaturowe zależności strat dielektrycznych płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).
- Ryc. 11a** Temperaturowe zależności logarytmu współczynnika strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).
- Ryc. 11b** Temperaturowe zależności przenikalności dielektrycznej płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).
- Ryc. 11c** Temperaturowe zależności strat dielektrycznych płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).
- Ryc. 12** Zależność logarytmu strat dielektrycznych od logarytmu przenikalności dielektrycznej płytki paznokciowej uwodnionej dla 80°C ( $\blacklozenge$  grupa kontrolna;  $\lozenge$  grupa badana) i suchej w 140°C ( $\blacktriangle$  grupa kontrolna;  $\triangle$  grupa badana).
- Ryc. 13** Zależność logarytmu przewodności właściwej od logarytmu częstotliwości płytki paznokciowej uwodnionej w 80°C ( $\blacklozenge$  grupa kontrolna;  $\lozenge$  grupa badana) i suchej w 140°C ( $\blacktriangle$  grupa kontrolna;  $\triangle$  grupa badana).
- Ryc. 14a** Zależność logarytmu przewodności właściwej od odwrotności temperatury dla płytki paznokciowej uwodnionej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\lozenge$  60kHz).

**Ryc. 14b** Zależność logarytmu przewodności właściwej od odwrotności temperatury dla płytki paznokciowej suchej z grupy kontrolnej ( $\blacktriangle$  2kHz,  $\blacklozenge$  60kHz) i grupy badanej ( $\triangle$  2kHz,  $\diamond$  60kHz).

**Tabela I** Porównanie wartości liczbowych  $\Delta\epsilon'$  i  $\Delta\epsilon''$  płytki paznokciowej dla obu grup w stanie uwodnienia dla 80°C i suchym dla 140°C.

**Tabela II** Porównanie wartości liczbowych  $\sigma$  płytki paznokciowej z grupy kontrolnej i badanej w stanach uwodnionym w 80°C i suchym w 140°C, dla 2kHz i 60kHz

**Tabela III** Porównanie wartości liczbowych  $\Delta H$  płytki paznokciowej z grupy kontrolnej i badanej w stanach uwodnionym w zakresie 20- 80°C i suchym w zakresie 100-160°C