

Received: 2010.11.04
Accepted: 2011.01.03
Published: 2011.01.21

Komórki progenitorowe śródbłonna jako nowy marker funkcji endotelium w ocenie ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego*

Endothelial progenitor cells as a new marker of endothelial function with respect to risk of cardiovascular disorders

Barbara Głowińska-Olszewska, Włodzimierz Łuczyński, Artur Bossowski

Klinika Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Odkrycie endotelialnych komórek progenitorowych (endothelial progenitor cells – EPC), ponad dekadę temu, obaliło dotychczasową teorię, że waskulogeneza jest procesem zachodzącym tylko w czasie embriogenezy. Wyniki wielu badań wskazują, że liczba i funkcja komórek EPC jest zaburzona w hiperlipidemii, nadciśnieniu, cukrzycy, otyłości czy w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Populacja wieku rozwojowego cechuje się większą liczbą krążących komórek EPC w porównaniu do dorosłych. Jednak ich liczba u młodych osób, chorujących na schorzenia związane z zajęciem naczyń, znacznie spada. Zmniejszona liczba krążących komórek progenitorowych endotelium stała się markerem funkcji śródbłonna i okazuje się, że ma istotne znaczenie w patogenezie wielu chorób układu sercowo-naczyniowego. W artykule przedstawiono przegląd dotychczasowej wiedzy na temat biologii i patofizjologii progenitorowych komórek śródbłonna oraz ich zachowania się w stanach chorobowych związanych z patologią układu krążenia. Omówiono również potencjalne możliwości wpływu na wzrost liczby i funkcji EPC oraz użycia EPC w leczeniu patologii naczyniowej.

Słowa kluczowe:

progenitorowe komórki śródbłonna • ryzyko sercowo-naczyniowe

Summary

The discovery of endothelial progenitor cells (EPC), over a decade ago, has refuted the previous belief that vasculogenesis only occurs during embryogenesis. The results of several studies revealed altered number and impaired function of EPC in hyperlipidemia, hypertension, diabetes, obesity as well as in rheumatoid arthritis. The population of developmental age is characterized by higher counts of EPC compared to adults. However, among young patients with chronic disorders that affect the vascular system, the number of EPC decreases. The reduced circulating concentration of EPC has become a surrogate marker of endothelial function and has been implicated in the pathogenesis of many vascular diseases. This article aims to review the biology and pathophysiology of EPC in the conditions of cardiovascular risk factors. The potential possibilities of increasing EPC number and function as well as the use of EPC in the treatment of vascular pathology will also be discussed.

Key words:

endothelial progenitor cells • cardiovascular risk

* Praca zrealizowana w ramach projektu badawczego MNiSW nr N N407144639.

Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=931086
Word count:	3035
Tables:	–
Figures:	1
References:	66

Adres autorki: dr hab. n. med. Barbara Głowińska-Olszewska, Klinika Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii, Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny, ul. Waszyngtona 17, 15-274 Białystok; e-mail: bglowinska@poczta.onet.pl

Ważna rola śródbłonka w biologii układu sercowo-naczyniowego jest coraz bardziej doceniana. Uszkodzenie śródbłonka ma istotny udział w miażdżycy, zakrzepicy, nadciśnieniu, a utrzymanie równowagi między uszkodzeniem a odnową endotelium ma fundamentalne znaczenie w zmniejszaniu ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych. Jednak dojrzałe komórki śródbłonka mają ograniczoną zdolność do regeneracji. Stąd w ostatnich latach wzrosło zainteresowanie komórkami progenitorowymi śródbłonka (endothelial progenitor cells – EPC), zwłaszcza w zakresie ich udziału w podtrzymaniu integralności endotelium, ich funkcji i neowaskularyzacji postnatalnej. Pojawiły się intrygujące i zachęcające doniesienia dające wgląd w potencjalne znaczenie EPC w stanach klinicznych związanych z patologią układu sercowo-naczyniowego. Wzrasta liczba dowodów, że liczba i funkcja EPC są zmniejszone zarówno w chorobach układu krążenia, jak i w związanych z nimi czynnikami ryzyka [2,8,51].

FIZJOLOGIA EPC

W przeszłości uważano, że proces regeneracji śródbłonka i tworzenie nowych naczyń u osób dorosłych zachodzi tylko w procesie angiogenezy, gdzie naczynia są tworzone dzięki migracji i różnicowaniu *in situ* dojrzałych komórek endotelium. Sądzono, że waskulogeneza, proces, w którym nowe naczynia powstają z niezróżnicowanych angioblastów lub endotelialnych komórek progenitorowych zachodzi tylko w czasie embriogenezy. Odkrycie krążących komórek progenitorowych śródbłonka – EPC przez Asaharę i wsp. w 1997 roku, całkowicie zmieniło ten pogląd [1]. EPCs uczestniczą w postnatalnym procesie waskulogenezy przez osadzenie się w naczyniach, różnicowanie, migrację i tworzenie nowych naczyń. EPCs odgrywają rolę w tym procesie nie tylko jako podstawowe komórki do tworzenia nowych naczyń, ale również poprzez wpływ na sąsiednie komórki w sposób parakryny.

Definicja komórek EPC pozostaje enigmatyczna i dotychczas nie ma jednego swobodnego markera tych komórek. Według najczęściej używanej definicji EPC są to komórki izolowane z różnych źródeł, takich jak np. szpik kostny, komórki krwi obwodowej i pępowinowej, wykazujące cechy charakterystyczne komórek endotelium, tj. adhezję do matrix komórkowego, wiązanie lektynę, inkorporującą LDL. Jedną z definicji EPC mówi, że są to komórki pnia lub klonalne, które są zdolne do różnicowania się w komórki endotelialne. Dodatkowych możliwości zdefiniowania komórek EPC dostarczyła metoda cytometrii przepływowej, za pomocą której najczęściej obecnie oznacza się komórki EPC. I tak komórki EPC są to komórki wykazujące ekspresję markerów linii komórek hematopoetycznych oraz śródbłonkowych. Najczęściej do zdefiniowania komórek EPC służą markery CD34, CD133, oraz

KDR (VEGF-R2). Wyróżniono dwa główne rodzaje komórek EPC – wczesne i późne. Za komórki niedojrzałe uznaje się komórki wykazujące ekspresję CD133^{pos}/KDR^{pos}, a za komórki dojrzałe CD34^{pos}/KDR^{pos}. Komórki wczesne spełniają przede wszystkim funkcje angiogenne, wydzielając cytokiny wzrostowe, takie jak VEGF, czy SDF-1, a dopiero komórki dojrzałe mogą brać udział w tworzeniu śródbłonka. Komórek progenitorowych endotelium we krwi jest bardzo mało, dlatego też informacje na temat ich prawidłowej liczby, funkcji oraz typów są ograniczone [21,22,35,36,45,57,58].

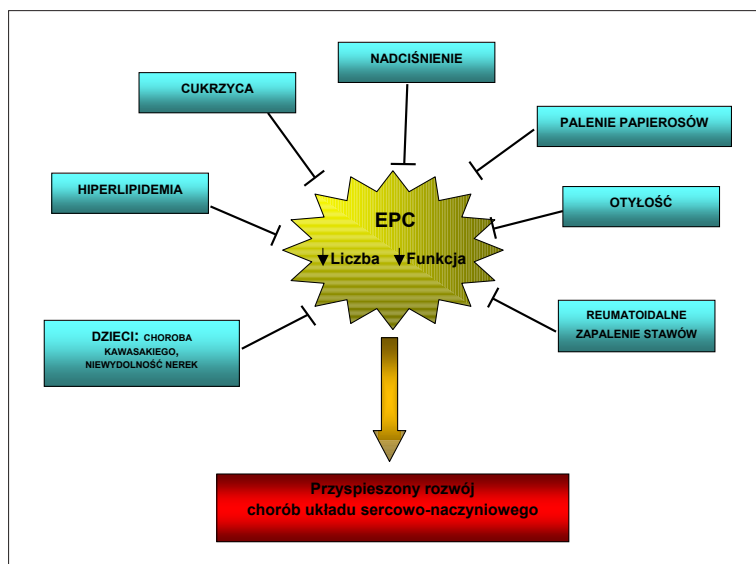
Pogorszenie elastyczności tętnic u osób starszych może mieć związek ze zmniejszaniem się liczby komórek EPC wraz z wiekiem. U zdrowych mężczyzn, prowadzących siedzący tryb życia wykazano ujemną korelację EPC z wiekiem. Również u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca stwierdzono zmniejszenie liczby EPC wraz z wiekiem [48,50]. Liczba komórek EPC mobilizowanych po zabiegach postmortalnych tętnic wieńcowych jest mniejsza u starszych pacjentów. Wiele czynników jest związanych ze zmniejszeniem wraz z wiekiem liczby i funkcji EPC. Przewlekła ekspozycja na czynniki ryzyka w sposób ciągły uszkadza komórki endotelium, które wymagają intensywnej wymiany. Ale czynniki ryzyka prawdopodobnie wpływają również na mobilizację, integrację w miejscach uszkodzenia naczyń i zdolności angiogenne komórek progenitorowych śródbłonka. Dysfunkcja komórek EPC może być również wynikiem ich przyspieszonej apoptozy oraz wyczerpania magazynów komórek progenitorowych w szpiku kostnym. Upośledzenie mobilizacji EPC może być związane ze zmniejszeniem wraz z wiekiem liczby i funkcji angiogennych cytokin (potwierdzone zmniejszanie się stężenia VEGF oraz NO wraz z wiekiem) [20,33,36,45].

AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA A EPC

Dobrze znany jest korzystny wpływ aktywności fizycznej na poprawę funkcji śródbłonka, tolerancję wysiłku fizycznego oraz tworzenie naczyń obocznych u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca. Regularne ćwiczenia wpływają na zwiększenie liczby krążących EPC u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, zwiększają ich liczbę w szpiku kostnym, krwi obwodowej i śledzionie [34,49]. Dane te wskazują, że korzystny wpływ regularnych ćwiczeń fizycznych na stan układu sercowo-naczyniowego może być, chociaż częściowo, przypisany lepszemu stanowi komórek EPC.

CZYNNIKI RYZYKA SERCOWO-NACZYNIOWEGO I EPC

Wzrasta liczba dowodów potwierdzających, że czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego wpływają na



Ryc. 1. Negatywny wpływ czynników ryzyka miażdżycy na liczbę i funkcję komórek EPC oraz rozwój choroby niedokrwiennej serca

liczbę i funkcję progenitorowych komórek endotelialnych. Wykazano ujemną korelację między czynnikami ryzyka miażdżycy a liczbą i funkcją EPC zarówno u ludzi zdrowych jak i u ludzi z rozpoznaną chorobą niedokrwinną serca (ryc. 1).

HIPERLIPIDEMIA

Badania jednoznacznie dowodzą związku między metabolizmem lipidów a biologią ludzkich EPC. Liczba i funkcja EPC są zmniejszone/upośledzone w przypadku dużych stężeń cholesterolu, co potwierdziły zarówno badania eksperymentalne jak i kliniczne. Szczególnie niekorzystnie działa prawdopodobnie oksydacyjna modyfikacja LDL. Ekspozycja hodowli EPC na oxLDL indukuje upośledzenie ich funkcji i wpływa na szybsze starzenie się, związane nawet z 70% spadkiem liczby EPC. Dodatkowo oxLDL upośledza różnicowanie EPC indukowane przez VEGF. Z kolei HDL cholesterol koreluje dodatnio z liczbą EPC [20,24,62].

NADCIŚNIENIE TĘTNICZE KRWI

Spośród różnych czynników ryzyka, nadciśnienie tętnicze krwi jest najsilniejszym predyktorem upośledzenia zdolności migracyjnych komórek progenitorowych śródbłonna [59]. Angiotensyna II zmniejsza aktywność telomerazy EPC i przyspiesza starzenie komórek przez zwiększenie stresu oksydacyjnego [23,51]. W badaniach dotyczących udziału komórek EPC w nadciśnieniu wykazano głównie upośledzenie ich funkcji. Leczenie hipotensyjne normalizuje nie tylko wartości ciśnienia tętniczego, ale również korzystnie wpływa na dysfunkcję EPC. Upośledzona czynność komórek progenitorowych śródbłonna może wpływać zarówno na patogenezę nadciśnienia, jak i na jego powikłania narządowe [15]. Obniżoną liczbę komórek EPC oraz istotną zależność między ciśnieniem skurczowym a EPC stwierdzono w nadciśnieniu opornym na leczenie [40]. Jednak nawet już w pierwszej fazie rozwoju choroby nadciśnieniowej, tzw. fazie przednadciśnieniowej, w której wartości ciśnienia mieszczą się w granicach wysokiej normy, w badaniach na modelu zwierzęcym, wykazano upośledzoną funkcję oraz przyspieszone obumieranie komórek EPC [13].

CUKRZYCA

Cukrzyca, jeden z głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego jest chorobą, w której dochodzi do upośledzenia neowaskularyzacji. Liczba i funkcja komórek progenitorowych śródbłonna jest zmniejszona zarówno w cukrzycy typu 1 jak i 2. Co więcej, dysfunkcja komórek EPC może leżeć u podstaw mechanizmów zaangażowanych w rozwój powikłań naczyniowych u pacjentów z cukrzycą. Liczba komórek EPC u tych pacjentów ujemnie koreluje ze stopniem ciężkości tych powikłań. W rzeczywistości liczba, proliferacja, adhezja i właściwości angiogenne EPC są u tych pacjentów upośledzone [35,39].

Badania pacjentów z cukrzycą wykazały upośledzoną zdolność dojrzałych komórek endotelium do tworzenia połączeń. Wszystkie badania pacjentów z cukrzycą potwierdziły zależność poziomu HbA1c i dysfunkcji EPC, wskazując, że stopień wyrównania metabolicznego jest bezpośrednio związany z patofizjologią EPC. Poprawa kontroli metabolicznej zarówno za pomocą insuliny, jak i doustnych leków hipoglikemizujących wpływa na wzrost liczby komórek EPC [35,51]. Analiza „historii naturalnej” cukrzycy typu 2 wykazała bardzo charakterystyczne wahania liczby komórek EPC. W porównaniu do osób z prawidłową tolerancją glukozy ich liczba zmniejsza się u pacjentów z upośledzoną tolerancją glukozy, osiągając najmniejszą wartość w nowo rozpoznanej cukrzycy. Leczenie choroby i poprawa wyrównania metabolicznego zwiększają liczbę komórek progenitorowych śródbłonna na okres do 20 lat trwania choroby. Następnie, prawdopodobnie na skutek wyczerpania rezerw szpiku kostnego, obserwuje się ich stały spadek [9].

Cukrzyca typu 1 związana jest z 2–10-krotnym wzrostem ryzyka śmierci i choroby niedokrwiennej serca w porównaniu ze zdrową populacją. Dysfunkcja śródbłonna uważana jest za pierwszy etap rozwoju procesu miażdżycowego i wiadomo, że pojawia się na wiele lat przed objawami choroby niedokrwiennej. Występuje zarówno u pacjentów z cukrzycą typu 1 jak i 2. Do oceny funkcji śródbłonna służy wskaźnik FMD (flow mediated dilation), wskaźnik

rozszerzalności naczyń (przeważnie tętnicy ramiennej) w odpowiedzi na bodziec, jakim jest przekrwienie [3,25]. U młodych pacjentów z cukrzycą typu 1, bez współistniejących powikłań makronaczyniowych oraz bez mikroalbuminurii wykazano mniejszą liczbę komórek EPC w porównaniu do grupy zdrowych. Stwierdzono również istotną dodatnią zależność między liczbą komórek EPC a funkcją śródbłonna, wyrażoną poprzez FMD. Stąd nieprawidłowości w liczbie EPC u pacjentów z cukrzycą typu 1 mogą być wczesnym determinantem uszkodzenia endotelium. Wykazano również istotne korelacje ze znanymi markerami stanu zapalnego (TNF-alfa, IL-6) a liczbą komórek EPC [54].

Pacjenci z cukrzycą typu 1 i zmienną mikroalbuminurią, która jest uznawana za niezależny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego, mają zmniejszoną liczbę i funkcję komórek EPC w porównaniu do chorych bez tego powikłania [6]. U pacjentów z cukrzycą typu 2, którzy mają mniej komórek EPC stopień zaawansowania mikroalbuminurii następuje zdecydowanie szybciej niż u pacjentów z większą liczbą komórek progenitorowych [41]. Zmniejszona liczba komórek EPC może być bardzo ważnym czynnikiem ryzyka rozwoju nefropatii cukrzycowej. Z kolei w przypadku współistnienia retinopatii proliferacyjnej występuje wyższa liczba komórek EPC, a ujemna korelacja EPC z poziomem hemoglobiny glikowanej zanika. Komórki EPC, biorące udział w neowaskularyzacji w tym przypadku działają niekorzystnie. Tworzenie nowych naczyń w niedokrwionej siatkówce odbywa się przy zwiększonej aktywności działających lokalnie czynników neurotroficznych, a zwiększenie liczby komórek EPC nie działa protekcyjnie, lecz wręcz przeciwnie nasila rozwój retinopatii. Tłumaczy się to znanym udziałem VEGF w rozwoju retinopatii i prawdopodobnie powodującym wzrost EPC [35,37].

Komórki EPC u ludzi z cukrzycą wytwarzają więcej wolnych rodników tlenowych, więcej NAD(P)H oksydazy oraz wykazują większą aktywność enzymu antyoksydacyjnego Zn/Cu SOD-azy, natomiast wytwarzają mniej NO w porównaniu z komórkami EPC ludzi bez cukrzycy. Stąd terapia antyoksydacyjna może mieć szczególne znaczenie w cukrzycy typu 2 w świetle możliwości wpływu na komórki EPC [17].

Wiele tradycyjnych sposobów leczenia, którym poddawani są pacjenci z cukrzycą poprawia ich rokowanie związane z chorobami układu sercowo-naczyniowego, ale również wykazano, że wpływa na wzrost liczby i funkcji komórek EPC. Być może odwrócenie dysfunkcji komórek EPC jest kluczem do poprawy stanu układu sercowo-naczyniowego pacjentów z cukrzycą.

OTYŁOŚĆ I ZESPÓŁ METABOLICZNY

Otyłość pozostaje bardzo ważnym czynnikiem ryzyka choroby miażdżycowej, m.in. ze względu na narastającą epidemię tej choroby. Jest niezależnym czynnikiem ryzyka, ale również często współwystępuje dodatkowo z nadciśnieniem, hiperlipidemią czy cukrzycą. U pacjentów z otyłością wykazano ujemną korelację między wskaźnikiem masy ciała BMI, obwodem talii a liczbą komórek EPC. Wykazano również u nich dodatni związek między liczbą komórek EPC a grubością kompleksu IMT (intima-media thickness) tętnic szyjnych wspólnych, markerem wczesnych

zmian miażdżycowych, co może dowodzić o bezpośrednim związku między otyłością a miażdżycą. Zmniejszenie zaś BMI powodowało istotny wzrost liczby komórek progenitorowych śródbłonna (zwiększenie liczby komórek EPC przy zmniejszeniu BMI było niezależne od tego czy zmniejszenie masy ciała było spowodowane wzrostem wysiłku fizycznego czy zmniejszeniem kaloryczności diety) [47]. W badaniach eksperymentalnych dowiedziano również, że upośledzona u osób otyłych funkcja komórek EPC ulega istotnej poprawie przy znamiennej redukcji masy ciała [19]. Z otyłością brzuszna związane jest współwystępowanie dodatkowych czynników ryzyka, które doprowadziło do zdefiniowania jednostki chorobowej nazwanej zespołem metabolicznym. Wszystkie elementy składowe zespołu metabolicznego są związane ze zmniejszeniem liczby komórek EPC i jest ona w prosty sposób zależna od liczby współwystępujących razem czynników ryzyka [11]. Z kolei niska wartość komórek CD34+ jest istotnym predyktorem niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych u osób z zespołem metabolicznym, niezależnym od pozostałych czynników ryzyka [10].

PALENIE PAPIEROSÓW

Palenie papierosów jest istotnym czynnikiem ryzyka zmniejszenia liczby krążących i hodowlanych EPC. Liczba krążących komórek progenitorowych śródbłonna koreluje z liczbą wypalanych dziennie papierosów, a zaprzestanie palenia sprzyja wzrostowi liczby komórek EPC [32,35,51,59].

REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW (RZS)

Chorzy z reumatoidalnym zapaleniem stawów wykazują zmniejszoną oczekiwaną długość życia o 5–10 lat, głównie z powodu zwiększonego ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Przyczyny tej dysproporcji w porównaniu z osobami bez RZS nie są w pełni zrozumiane i nie mogą też być w pełni wyjaśnione obecnością typowych czynników ryzyka [56,64].

W ostatnich latach opublikowano doniesienia dające nowy wgląd w waskulopatię towarzyszącą chorobom tkanki łącznej, w tym w RZS. Wykazano upośledzoną funkcję oraz zaburzoną liczbę komórek EPC, łącząc te zjawiska z patogenezą procesu reumatycznego. Powszechnie występująca w chorobach reumatycznych waskulopatia może zależeć właśnie od zmniejszonej liczby i upośledzonej funkcji EPC. Komórki EPC mogą być czułym markerem zajęcia układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z chorobami reumatycznymi. Ich liczba koreluje ze stopniem aktywności choroby reumatycznej, zwłaszcza z liczbą zajętych stawów. Konwencjonalne leki modyfikujące przebieg choroby reumatycznej nie wpływają na liczbę i funkcję komórek EPC, natomiast glikokortykoidy stosowane w dużych dawkach prowadzą do zwiększenia ich liczby i funkcji. TNF-alfa może odgrywać ważną rolę w nieprawidłowej waskulogenezie u pacjentów z RZS, sprzyjając napływowi komórek EPC do zmienionej zapalnej tkanki synowium stawów. W tym miejscu komórki EPC biorą udział w tworzeniu nowych naczyń w chorym stawie, natomiast ich liczba we krwi obwodowej spada, ponieważ szpik kostny nie może skompensować migracji EPC do stawów. Liczba komórek EPC jest zdecydowanie mniejsza u pacjentów z dużym stężeniem TNF-alfa. Z kolei leczenie biologiczne

z zastosowaniem preparatów anti-TNFalfa w korzystny sposób wpływa nie tylko na przebieg choroby zasadniczej, ale również na komórki EPC [7,14,31]. Ostatnie badania potwierdzają wcześniejsze hipotezy. Wykazano istotnie mniejszą liczbę EPC u dorosłych chorych z RZS i miażdżycą tętnic wieńcowych, potwierdzoną za pomocą tomografii komputerowej w porównaniu z pacjentami z RZS, ale bez zajęcia naczyń wieńcowych [66].

EPC I CHOROBA NIEDOKRWIENNA SERCA

W wielu badaniach dotyczących chorób układu sercowo-naczyniowego wykazano nieprawidłowości w liczbie i funkcji EPC [18]. W zawałe serca liczba krążących EPC istotnie wzrasta, osiągając szczyt w 7 dobie zdarzenia. Następnie liczba EPC zmniejsza się, osiągając wartości sprzed zdarzenia w ciągu 60 dni [43]. Układowe zapalenie może odgrywać rolę w mobilizacji komórek EPC w niestabilnej chorobie wieńcowej, co ma swoje odzwierciedlenie w podwyższonym stężeniu białka CRP, oraz relacji między EPC a CRP. Badania wykazują istotne znaczenie VEGF w mobilizacji komórek EPC w przebiegu ostrych incydentów wieńcowych. W przebiegu niestabilnej choroby wieńcowej liczba komórek progenitorowych śródbłonna wzrasta, jednak po osiągnięciu klinicznej stabilizacji obserwuje się nawet 50% spadek liczby EPC. Biorąc pod uwagę, że pacjenci z zawałem serca leczeni są lekami mobilizującymi EPC (statyny, inhibitory ACE) pierwotne czynniki sprzyjające mobilizacji komórek EPC w przebiegu tych zdarzeń pozostają niepewne. Z kolei w stabilnej chorobie niedokrwiennej serca zaobserwowano podobną jak u ludzi zdrowych liczbę komórek EPC, jednak o upośledzonej funkcji [12,51,52]. Powszechnie znanym problemem klinicznym jest ciężki przebieg choroby niedokrwiennej i zawału serca oraz powolny powrót do normy u chorych z cukrzycą. Powodem takiego stanu może być mniejsza odporność na stres oksydacyjny komórek progenitorowych śródbłonna chorych na cukrzycę, u których wystąpił zawał serca [60]. Funkcjonalna rola szpiku kostnego w zawałe serca może być przypisana nie tylko właściwościom angiogennym i uwalnianiu cytokin, ale również ich zdolności do odtwarzania populacji komórek progenitorowych serca, które kierują się do miejsc uszkodzenia mięśnia sercowego i ulegają konwersji do fenotypu komórek serca [46].

ECP W POPULACJI WIEKU ROZWOJOWEGO

Uszkodzenie naczyń zaczyna się już we wczesnym dzieciństwie i rozwija bezobjawowo nawet przez dziesiątki lat, zanim pojawiają się klinicznie istotne zdarzenia typu zawał serca czy udar. Długofalowe badania prospektywne wykazały, że poziom czynników ryzyka w dzieciństwie ma ogromne znaczenie predykcyjne dla przyszłego ryzyka sercowo-naczyniowego w dorosłym życiu. Coraz większe zainteresowanie naukowców wzbudza koncepcja wczesnej prewencji, ponieważ stało się oczywiste, że wpływ chorób naczyń na przewidywaną długość życia populacji nie może być już poprawiony poprzez lepsze leczenie istniejącej choroby i jej powikłań [42,53].

Badania eksperymentalne na zwierzętach wykazały, że młody wiek wiąże się z lepszą funkcjonalnością szpiku kostnego w wytwarzaniu EPC. Pierwsze badania przeprowadzone wśród dzieci potwierdzają te wyniki. U dzieci

zaobserwowano istotnie większą liczbę komórek EPC w porównaniu z dorosłymi i istotną korelację ich liczby z wiekiem [27]. Interesujące na tle tych informacji są wyniki badania Junga i wsp., którzy u otyłych nastolatków wykazali podwyższoną liczbę komórek EPC, z markerem komórek uznawanych za niedojrzałe. Może to świadczyć o zwiększonej mobilizacji szpiku kostnego do wytwarzania komórek progenitorowych śródbłonna wobec zaczynającej się insulinooporności, podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi, stężenia białka hsCRP i niższego stężenia cholesterolu frakcji HDL u tych dzieci [28]. Aktywność fizyczna pozostaje niezmiennie podstawą zarówno prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego. W tym świetle niezmiernie ważne wydają się wyniki badania dotyczące wpływu zwiększonej aktywności fizycznej u nastolatków, które wykazały wzrost liczby komórek EPC u młodzieży podejmującej dodatkowe zajęcia sportowe [61].

Szczególne zainteresowanie pediatrów zajmujących się problemami wczesnego ryzyka sercowo-naczyniowego i prewencji chorób serca u dzieci dotyczy dzieci z tzw. grup wysokiego ryzyka, do których zaliczono: cukrzycę, hiperlipidemię rodzinną, dzieci z przewlekłą niewydolnością nerek, chorobą Kawasaki, dzieci z niektórymi wrodzonymi wadami serca, chorobami układowymi tkanki łącznej i po przebytej chorobie nowotworowej [30]. Ryzyko wczesnego rozwoju chorób serca w tych grupach może mieć związek z obniżeniem liczby komórek progenitorowych śródbłonna, co wykazano w grupie dzieci z niewydolnością nerek, chorobą, w której znacznie zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe nie jest w pełni uzasadnione przewlekłą chorobą zasadniczą i obecnością dodatkowych tradycyjnych czynników ryzyka [44]. Niezmiernie ciekawych obserwacji dotyczących możliwości mobilizacji komórek EPC dostarczyły ostatnie badania dzieci z chorobą Kawasaki, w przebiegu której może dochodzić do bardzo wczesnego rozwoju choroby niedokrwiennej serca i zawałów, z powodu zajęcia procesem zapalnym tętnic wieńcowych i rozwoju tętniaków tych tętnic. W ostrej fazie choroby zaobserwowano zwiększoną liczbę i lepszą funkcjonalność komórek progenitorowych śródbłonna [65], podczas gdy w fazie przewlekłej liczba komórek EPC u dzieci z tętniakami tętnic wieńcowych jest istotnie mniejsza w porównaniu z grupą kontrolną dzieci zdrowych [38]. Również w aktywnej fazie układowego zapalenia naczyń w populacji dziecięcej wykazano większą liczbę komórek EPC, w porównaniu do dorosłych z tą samą chorobą [4].

WPLYW LEKÓW NA EPC

Różne leki stosowane u pacjentów z czynnikami ryzyka i chorobą niedokrwinną serca wpływają na fizjologię komórek progenitorowych śródbłonna. Statyny w wielu badaniach dotyczących prewencji pierwszej, ale i drugiej, okazały się mieć tzw. działania plejotropowe, nie tylko obniżające poziom cholesterolu. Ich stosowanie u pacjentów wpływa na poprawę funkcji śródbłonna, ma działanie antyzakrzepowe. Wykazano również, że jednym z mechanizmów, w jaki statyny poprawiają funkcję śródbłonna jest stymulacja aktywności i proliferacji EPC. Wpływ statyn w tym zakresie porównywany jest do siły działania VEGF [5,26,63]. Układ renina-angiotensyna-aldosteron jest niezwykle ważnym mechanizmem

związanym z wieloma chorobami układu sercowo-naczyniowego. Może być również związany z dysfunkcją EPC. Leczenie za pomocą antagonistów receptora angiotensyny II istotnie zwiększa liczbę komórek EPC [23]. Również stosowanie erytropoetyny u pacjentów z niedokrwistością pochodzenia nerkowego wpływa na zwiększenie liczby i funkcji EPC [33,35].

TRANSPLANTACJE KOMÓREK EPC – EKSPERYMENT KLINICZNY

Terapia komórkowa w leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego przeszła duże przeobrażenie w czasie ostatniej dekady. Znacznie poprawiło się rozumienie zjawisk dotyczących komórek EPC [33]. Dotychczas przeprowadzono na małą skalę kilka badań pierwszej fazy transplantacji komórek szpiku kostnego w leczeniu zawału serca, ciężkiej postaci choroby niedokrwiennej serca czy w niewydolności krążenia, wykazując bezpieczeństwo i możliwość wykonania transplantacji komórek EPC [16,29,55].

PIŚMIENICTWO

- [1] Asahara T., Murohara T., Sullivan A., Silver M., van der Zee R., Li T., Witzenbichler B., Schatteman G., Isner J.M.: Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997; 275: 964–967
- [2] Boos C.J., Lip G.Y., Blann A.D.: Circulating endothelial cells in cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2006; 48: 1538–1547
- [3] Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E.: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 1992; 340: 1111–1115
- [4] Clarke L.A., Hong Y., Eleftheriou D., Shah V., Arrigoni F., Klein N.J., Brogan P.A.: Endothelial injury and repair in systemic vasculitis of the young. *Arthritis Rheum.*, 2010; 62: 1770–1780
- [5] Deschaseaux F., Selmani Z., Falcoz P.E., Mersin N., Meneveau N., Penfornis A., Kleinclauss C., Chocron S., Etievent J.P., Tiberghien P., Kantelip J.P., Davani S.: Two types of circulating endothelial progenitor cells in patients receiving long term therapy by HMG-CoA reductase inhibitors. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007; 562: 111–118
- [6] Dessapt C., Karalliedde J., Hernandez-Fuentes M., Martin P.P., Maltese G., Dattani N., Atkar R., Viberti G., Gnudi L.: Circulating vascular progenitor cells in patients with type 1 diabetes and microalbuminuria. *Diabetes Care*, 2010; 33: 875–877
- [7] Distler J.H., Beyer C., Schett G., Lüscher T.F., Gay S., Distler O.: Endothelial progenitor cells: novel players in the pathogenesis of rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 3168–3179
- [8] Drexler H., Hornig B.: Endothelial dysfunction in human disease. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1999; 31: 51–60
- [9] Fadini G.P., Boscaro E., de Kreutzenberg S., Agostini C., Seeger F., Dimmeler S., Zeiher A., Tiengo A., Avogaro A.: Time course and mechanisms of circulating progenitor cell reduction in the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2010; 33: 1097–1102
- [10] Fadini G.P., de Kreutzenberg S., Agostini C., Boscaro E., Tiengo A., Dimmeler S., Avogaro A.: Low CD34+ cell count and metabolic syndrome synergistically increase the risk of adverse outcomes. *Atherosclerosis*, 2009; 207: 213–219
- [11] Fadini G.P., de Kreutzenberg S.V., Coracina A., Baesso I., Agostini C., Tiengo A., Avogaro A.: Circulating CD34+ cells, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *Eur. Heart J.*, 2006; 27: 2247–2255
- [12] George J., Goldstein E., Abashidze S., Deutsch V., Shmilovich H., Finkelstein A., Herz I., Miller H., Keren G.: Circulating endothelial progenitor cells in patients with unstable angina: association with systemic inflammation. *Eur. Heart J.*, 2004; 25: 1003–1008
- [13] Giannotti G., Doerries C., Mocharla P.S., Mueller M.F., Bahlmann F.H., Horvath T., Jiang H., Sorrentino S.A., Steenken N., Manes C., Marzilli M., Rudolph K.L., Lüscher T.F., Drexler H., Landmesser U.: Impaired endothelial repair capacity of early endothelial progenitor cells in prehypertension: relation to endothelial dysfunction. *Hypertension*, 2010; 55: 1389–1397
- [14] Grisar J., Aletaha D., Steiner C.W., Kapral T., Steiner S., Säemann M., Schwarzingler I., Buranyi B., Steiner G., Smolen J.S.: Endothelial progenitor cells in active rheumatoid arthritis: effects of tumour necrosis factor and glucocorticoid therapy. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007; 66: 1284–1288
- [15] Hadoke P.W.: Is endothelial progenitor cell senescence a therapeutic target in hypertension? *J. Hypertens.*, 2010; 28: 887–888
- [16] Hamano K., Nishida M., Hirata K., Mikamo A., Li T.S., Harada M., Miura T., Matsuzaki M., Esato K.: Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn. Circ. J.*, 2001; 65: 845–847
- [17] Hamed S., Brenner B., Aharon A., Daoud D., Roguin A.: Nitric oxide and superoxide dismutase modulate endothelial progenitor cell function in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc. Diabetol.*, 2009; 8: 56
- [18] Heeschen C., Lehmann R., Honold J., Assmus B., Aicher A., Walter D.H., Martin H., Zeiher A.M., Dimmeler S.: Profoundly reduced neovascularization capacity of bone marrow mononuclear cells derived from patients with chronic ischemic heart disease. *Circulation*, 2004; 109: 1615–1622
- [19] Heida N.M., Müller J.P., Cheng I.F., Leifheit-Nestler M., Faustini V., Riggert J., Hasenfuss G., Konstantinides S., Schäfer K.: Effects of obesity and weight loss on the functional properties of early outgrowth endothelial progenitor cells. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2010; 55: 357–367
- [20] Hill J.M., Zalos G., Halcox J.P., Schenke W.H., Waclawiw M.A., Quyyumi A.A., Finkel T.: Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 593–600
- [21] Hristov M., Erl W., Weber P.C.: Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 1185–1189
- [22] Hur J., Yoon C.H., Kim H.S., Choi J.H., Kang H.J., Hwang K.K., Oh B.H., Lee M.M., Park Y.B.: Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovascularization. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 288–293
- [23] Imanishi T., Hano T., Nishio I.: Angiotensin II accelerates endothelial progenitor cell senescence through induction of oxidative stress. *J. Hypertens.*, 2005; 23: 97–104
- [24] Imanishi T., Hano T., Sawamura T., Nishio I.: Oxidized low-density lipoprotein induces endothelial progenitor cell senescence, leading to cellular dysfunction. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2004; 31: 407–413
- [25] Jarvisalo M.J., Raitakari M., Toikka J.O., Putto-Laurila A., Rontu R., Laine S., Lehtimäki T., Ronnemaa T., Viikari J., Raitakari O.T.: Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation*, 2004; 109: 1750–1755

- [26] Jaumdally R.J., Goon P.K., Varma C., Blann A.D., Lip G.Y.: Effects of atorvastatin on circulating CD34+/CD133+/CD45- progenitor cells and indices of angiogenesis (vascular endothelial growth factor and the angiopoietins 1 and 2) in atherosclerotic vascular disease and diabetes mellitus. *J. Intern. Med.*, 2010; 267: 385–393
- [27] Jie K.E., Goossens M.H., van Oostrom O., Lilien M.R., Verhaar M.C.: Circulating endothelial progenitor cell levels are higher during childhood than in adult life. *Atherosclerosis*, 2009; 202: 345–347
- [28] Jung C., Fischer N., Fritzenwanger M., Thude H., Ferrari M., Fabris M., Brehm B.R., Barz D., Figulla H.R.: Endothelial progenitor cells in adolescents: impact of overweight, age, smoking, sport and cytokines in younger age. *Clin. Res. Cardiol.*, 2009; 98: 179–188
- [29] Kalka C., Masuda H., Takahashi T., Kalka-Moll W.M., Silver M., Kearney M., Li T., Isner J.M., Asahara T.: Transplantation of *ex vivo* expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 3422–3427
- [30] Kavey R.E., Allada V., Daniels S.R., Hayman L.L., McCrindle B.W., Newburger J.W., Parekh R.S., Steinberger J.: Cardiovascular risk reduction in high-risk pediatric patients: a scientific statement from the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science; the Councils on Cardiovascular Disease in the Young, Epidemiology and Prevention, Nutrition, Physical Activity and Metabolism, High Blood Pressure Research, Cardiovascular Nursing, and the Kidney in Heart Disease; and the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation*, 2006; 114: 2710–2738
- [31] Kerekes G., Soltész P., Dér H., Veres K., Szabó Z., Végvári A., Shoenfeld Y., Szekanez Z.: Effects of biologics on vascular function and atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2009; 1173: 814–821
- [32] Kondo T., Hayashi M., Takeshita K., Numaguchi Y., Kobayashi K., Iino S., Inden Y., Murohara T.: Smoking cessation rapidly increases circulating progenitor cells in peripheral blood in chronic smokers. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 1442–1447
- [33] Kumar A.H., Caplice N.M.: Clinical potential of adult vascular progenitor cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2010; 30: 1080–1087
- [34] Laufs U., Werner N., Link A., Endres M., Wassmann S., Jürgens K., Miche E., Böhm M., Nickenig G.: Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*, 2004; 109: 220–226
- [35] Liew A., McDermott J.H., Barry F., O'Brien T.: Endothelial progenitor cells for the treatment of diabetic vasculopathy: panacea or Pandora's box? *Diabetes Obes. Metab.*, 2008; 10: 353–366
- [36] Liu P., Zhou B., Gu D., Zhang L., Han Z.: Endothelial progenitor cell therapy in atherosclerosis: a double-edged sword? *Ageing Res. Rev.*, 2009; 8: 83–93
- [37] Liu X., Li Y., Liu Y., Luo Y., Wang D., Annex B.H., Goldschmidt-Clermont P.J.: Endothelial progenitor cells (EPCs) mobilized and activated by neurotrophic factors may contribute to pathologic neovascularization in diabetic retinopathy. *Am. J. Pathol.*, 2010; 176: 504–515
- [38] Liu X.Q., Huang G.Y., Liang X.V., Ma X.J.: Endothelial progenitor cells and arterial functions in the late convalescence period of Kawasaki disease. *Acta Paediatr.*, 2009; 98: 1355–1359
- [39] Loomans C.J., de Koning E.J., Staal F.J., Rookmaaker M.B., Verseyden C., de Boer H.C., Verhaar M.C., Braam B., Rabelink T.J., van Zonneveld A.J.: Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes. *Diabetes*, 2004; 53: 195–199
- [40] Magen E., Feldman A., Cohen Z., Alon D.B., Minz E., Chernyavsky A., Linov L., Mishal J., Schlezinger M., Sthoeger Z.: Circulating endothelial progenitor cells, Th1/Th2/Th17-related cytokines, and endothelial dysfunction in resistant hypertension. *Am. J. Med. Sci.*, 2010; 339: 117–122
- [41] Makino H., Okada S., Nagumo A., Sugisawa T., Miyamoto Y., Kishimoto I., Kikuchi-Taura A., Soma T., Taguchi A., Yoshimasa Y.: Decreased circulating CD34+ cells are associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabet. Med.*, 2009; 26: 171–173
- [42] Masi S., Charakida M., Wang G., O'Neill F., Taddei S., Deanfield J.: Hope for the future: early recognition of increased cardiovascular risk in children and how to deal with it. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.*, 2009; 16(Suppl.2): S61–S64
- [43] Massa M., Rosti V., Ferrario M., Campanelli R., Ramajoli I., Rosso R., De Ferrari G.M., Ferlini M., Goffredo L., Bertoletti A., Klersy C., Pecci A., Moratti R., Tavazzi L.: Increased circulating hematopoietic and endothelial progenitor cells in the early phase of acute myocardial infarction. *Blood*, 2005; 105: 199–206
- [44] Metsuyanım S., Levy R., Davidovits M., Dekel B.: Molecular evaluation of circulating endothelial progenitor cells in children undergoing hemodialysis and after kidney transplantation. *Pediatr. Res.*, 2009; 65: 221–225
- [45] Möbius-Winkler S., Höllriegel R., Schuler G., Adams V.: Endothelial progenitor cells: implications for cardiovascular disease. *Cytometry A*, 2009; 75: 25–37
- [46] Mouquet F., Pfister O., Jain M., Oikonomopoulos A., Ngoy S., Summer R., Fine A., Liao R.: Restoration of cardiac progenitor cells after myocardial infarction by self-proliferation and selective homing of bone marrow-derived stem cells. *Circ. Res.*, 2005; 97: 1090–1092
- [47] Müller-Ehmsen J., Braun D., Schneider T., Pfister R., Worm N., Wielckens K., Scheid C., Frommolt P., Flesch M.: Decreased number of circulating progenitor cells in obesity: beneficial effects of weight reduction. *Eur. Heart J.*, 2008; 29: 1560–1568
- [48] Rauscher F.M., Goldschmidt-Clermont P.J., Davis B.H., Wang T., Gregg D., Ramaswami P., Phippen A.M., Annex B.H., Dong C., Taylor D.A.: Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis. *Circulation*, 2003; 108: 457–463
- [49] Rehman J., Li J., Parvathaneni L., Karlsson G., Panchal V.R., Temm C.J., Mahenthiran J., March K.L.: Exercise acutely increases circulating endothelial progenitor cells and monocyte-/macrophage-derived angiogenic cells. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43: 2314–2318
- [50] Scheubel R.J., Zorn H., Silber R.E., Kuss O., Morawietz H., Holtz J., Simm A.: Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2003; 42: 2073–2080
- [51] Shantsila E., Watson T., Lip G.Y.: Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2007; 49: 741–752
- [52] Shintani S., Murohara T., Ikeda H., Ueno T., Honma T., Katoh A., Sasaki K., Shimada T., Oike Y., Imaizumi T.: Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 2001; 103: 2776–2779
- [53] Short K.R., Blackett P.R., Gardner A.W., Copeland K.C.: Vascular health in children and adolescents: effects of obesity and diabetes. *Vasc. Health Risk Manag.*, 2009; 5: 973–990
- [54] Sibal L., Aldibbiat A., Agarwal S.C., Mitchell G., Oates C., Razvi S., Weaver J.U., Shaw J.A., Home P.D.: Circulating endothelial progenitor cells, endothelial function, carotid intima-media thickness and circulating markers of endothelial dysfunction in people with type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Diabetologia*, 2009; 52: 1464–1473
- [55] Stamm C., Westphal B., Kleine H.D., Petzsch M., Kittner C., Klinge H., Schümichen C., Nienaber C.A., Freund M., Steinhoff G.: Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*, 2003; 361: 45–46
- [56] Turiel M., Sitia S., Atzeni F., Tomasoni L., Gianturco L., Giuffrida M., De Gennaro Colonna V., Sarzi-Puttini P.: The heart in rheumatoid arthritis. *Autoimmun. Rev.*, 2010; 9: 414–418
- [57] Urbich C., Dimmeler S.: Endothelial progenitor cells functional characterization. *Trends Cardiovasc. Med.*, 2004; 14: 318–322
- [58] Urbich C., Dimmeler S.: Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ. Res.*, 2004; 95: 343–353
- [59] Vasa M., Fichtlscherer S., Aicher A., Adler K., Urbich C., Martin H., Zeiher A.M., Dimmeler S.: Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ. Res.*, 2001; 89: e1–e7
- [60] Vöö S., Dunaeva M., Eggermann J., Stadler N., Waltenberger J.: Diabetes mellitus impairs CD133+ progenitor cell function after myocardial infarction. *J. Intern. Med.*, 2009; 265: 238–249
- [61] Walther C., Gaede L., Adams V., Gelbrich G., Leichtle A., Erbs S., Sonnabend M., Fiksenker K., Körner A., Kiess W., Bruegel M., Thiery J., Schuler G.: Effect of increased exercise in school children on physical fitness and endothelial progenitor cells: a prospective randomized trial. *Circulation*, 2009; 120: 2251–2259
- [62] Wang X., Chen J., Tao Q., Zhu J., Shang Y.: Effects of ox-LDL on number and activity of circulating endothelial progenitor cells. *Drug Chem. Toxicol.*, 2004; 27: 243–255
- [63] Westerweel P.E., Visseren F.L., Hajer G.R., Olijhoek J.K., Hoefler I.E., de Bree P., Rafii S., Doevendans P.A., Verhaar M.C.: Endothelial progenitor cell levels in obese men with the metabolic syndrome and the effect of simvastatin monotherapy vs. simvastatin/ezetimibe combination therapy. *Eur. Heart J.*, 2008; 29: 2808–2817
- [64] Wrigley B.J., Lip G.Y., Shantsila E.: Coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis: could endothelial progenitor cells be the missing link? *J. Rheumatol.*, 2010; 37: 479–481

[65] Xu M.G., Men L.N., Zhao C.Y., Zhao X., Wang Y.X., Meng X.C., Shen D.R., Meng B.Y., Zhang Q., Wang T.: The number and function of circulating endothelial progenitor cells in patients with Kawasaki disease. *Eur. J. Pediatr.*, 2010; 169: 289–296

[66] Yiu K.H., Wang S., Mok M.Y., Ooi G.C., Khong P.L., Lau C.P., Lai W.H., Wong L.Y., Lam K.F., Lau C.S., Tse H.F.: Role of circulating endothelial progenitor cells in patients with rheumatoid arthritis with coronary calcification. *J. Rheumatol.*, 2010; 37: 529–535

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.