

lek. Magdalena Łukawska-Tatarczuk

**Ocena związku markerów aktywności immunologicznej
z wybranymi parametrami układu sercowo-naczyniowego
u kobiet z cukrzycą typu 1 i chorobą Hashimoto
- wnioski z cyklu publikacji.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

Klinika Diabetologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022 r.

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1; płeć żeńska; powikłania sercowo-naczyniowe; miażdżyca; niewydolność serca; kardiomiopatia cukrzycowa; autoimmunizacja tarczycy; podłoże autoimmunologiczne

Key words: type 1 diabetes; female; cardiovascular complication; atherosclerosis; heart failure; diabetic cardiomyopathy; thyroid autoimmunity; autoimmune pathogenesis

Badania wchodzące w skład niniejszej pracy doktorskiej zostały przeprowadzone w ramach projektu badawczego pt. *Związek podwyższonego miana przeciwciał przeciwtarczycowych z wybranymi parametrami układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z cukrzycą typu 1* sfinansowanego z Grantu Naukowego Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego przyznanego w dn. 27.05.2020 r.

Kierownik projektu:

lek. Magdalena Łukawska-Tatarczuk

Opiekunowie projektu:

prof. dr hab. n. med. Edward Franek

dr hab. n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

Najserdeczniejsze podziękowania składam:

Pani dr hab. n. med. Beacie Mrozikiewicz-Rakowskiej za wspaniałą opiekę promotorską, życzliwość, poświęcony mi czas oraz nieocenione wsparcie na każdym etapie realizacji projektu;

Panu Profesorowi Edwardowi Frankowi za wsparcie merytoryczne, cenne uwagi oraz pomoc okazaną przy pokonywaniu przeszkód związanych z realizacją badań;

Panu Profesorowi Leszkowi Czupryniakowi za zaufanie, umożliwienie realizacji badań w ramach studiów doktoranckich i cenne wskazówki merytoryczne;

Pozostałym Współautorom artykułów składających się na niniejszy cykl publikacji za poświęcony czas i zaangażowanie w pracy badawczej;

Rodzicom, Mężowi i Córeczce Oldze za dodawanie sił i nieustające wsparcie.

Wykaz wszystkich publikacji

Rodzaj publikacji	Liczba	Impact factor	Punktacja MEiN
Prace włączone do rozprawy doktorskiej	5	8,583	320
Prace, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej	3	5,686	60
Razem	8	14,269	380

Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską:

1. ***Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne.***

Łukawska-Tatańczuk M, Mrozikiewicz-Rakowska B, Franek E, Czupryniak L.

Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2020; 74:452-63.

Praca pogładowa (IF: 0.270, pkt. MEiN: 40)

2. ***Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań.***

Łukawska-Tatańczuk M, Mrozikiewicz-Rakowska B, Franek E, Czupryniak L.

Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2021;75:802-14

Praca pogładowa (IF: 0.270, pkt. MEiN: 40)

3. ***Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?***

Łukawska-Tatańczuk M, Zieliński J, Franek E, Czupryniak L, Mrozikiewicz-Rakowska B.: *Endokrynologia Polska* (opublikowano online jako ahead of print 05.04.2022)

Praca oryginalna (IF: 1.582, pkt. MEiN: 70)

4. ***Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography.***

Łukawska-Tatańczuk M, Pawlak A, Zieliński J, Franek E, Czupryniak L, Mrozikiewicz-Rakowska B.: *Endokrynologia Polska* (praca przyjęta do publikacji w dn. 30.03.2022)

Praca oryginalna (IF: 1.582, pkt. MEiN: 70)

5. ***Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease.***

Łukawska-Tatańczuk M, Franek E, Czupryniak L, Joniec-Maciejak I, Pawlak A, Wojnar E, Zieliński J, Mirowska-Guzel D, Mrozikiewicz-Rakowska B. *Biomolecules*. 2021;11:1110.

Praca oryginalna (IF: 4.879, pkt. MEiN: 100)

Łączny Impact Factor: **8,583**

Łączna punktacja MEiN: **320**

Spis treści

1.	Wykaz zastosowanych skrótów	8
2.	Streszczenie w języku polskim	9
3.	Streszczenie w języku angielskim	11
4.	Wstęp uzasadniający połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl oraz komentujący osiągnięcia naukowe na tle dotychczasowego stanu wiedzy	14
5.	Założenia i cel pracy	22
6.	Kopie opublikowanych prac	23
6.1.	Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne.	23
6.2.	Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań. ..	35
6.3.	Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?.....	48
6.4.	Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography.	56
6.5.	Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease.	77
7.	Zakończenie	98
7.1.	Podsumowanie	98
7.2.	Wnioski	100
8.	Bibliografia	103
9.	Opinia Komisji Bioetycznej	111
10.	Oświadczenia współautorów	112

1. Wykaz zastosowanych skrótów

2D STE	echokardiograficzna technika śledzenia markerów akustycznych obrazów dwuwymiarowych (ang. two-dimensional speckle tracking echocardiography)
aTG	przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (ang. anti-thyroglobulin antibody)
aTPO	przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (ang. anti-thyroid peroxidase antibody)
cIMT	grubość kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej wspólnej (ang. carotid intima-media thickness)
DT	czas deceleracji (ang. deceleration time)
ELISA	test immunoenzymatyczny (ang. enzyme-linked immunosorbent assay)
Emed'	prędkość wczesnorozkurczowa przyśrodkowej części pierścienia mitralnego (ang. early diastolic velocity of the septal mitral annulus)
ft3	wolna trijodotyronina (ang. free triiodothyronine)
ft4	wolna tyroksyna (ang. free thyroxine)
GLS	globalne odkształcenie podłużne (ang. global longitudinal strain)
HbA1c	hemoglobina glikowana (ang. glycated hemoglobin)
HT	zapalenie tarczycy Hashimoto (ang. Hashimoto's thyroiditis)
IL-27	interleukina 27 (ang. interleukin 27)
IQR	zakres międzykwartyłowy (ang. interquartile range)
IVRT	czas rozkurczu izowolumetrycznego (ang. izovolumetric relaxation time)
LS	odkształcenie podłużne (ang. longitudinal strain)
NAMPT	fosforybozylotransferaza nikotynamidu (ang. nicotinamide phosphoribosyltransferase)
PBEF-1	czynnik stymulujący kolonię pre-B-1 (ang. pre-B colony enhancing factor-1)
RWT	względna grubość ścian lewej komory (ang. the relative wall thickness)
SD	odchylenie standardowe (ang. standard deviation)
TAPSE	skurczowy ruch pierścienia trójdzielnego (ang. tricuspid annular plane systolic excursion)
TDI	tkankowa echokardiografia dopplerowska (ang. tissue doppler imaging)
TSH	hormon tyreotropowy (ang. thyroid-stimulating hormone)
T1DM	cukrzyca typu 1 (ang. type 1 diabetes mellitus)
T2DM	cukrzyca typu 2 (ang. type 2 diabetes mellitus)

2. Streszczenie w języku polskim

Cukrzyca typu 1 (T1DM) jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym związaną z wieloma powikłaniami, spośród których za największe wyzwanie w praktyce klinicznej uznawane są powikłania sercowo-naczyniowe. Uważa się, że współistnienie innych zaburzeń autoimmunizacyjnych towarzyszących T1DM, gdzie najczęstszym jest choroba Hashimoto (HT), zwiększa ryzyko sercowo-naczyniowe. Pomimo wielu badań potwierdzających negatywny wpływ już subklinicznej niedoczynności tarczycy na rozwój miażdżycy i dysfunkcji serca, dane dotyczące chorych w stanie eutyreozy są ograniczone. Uwzględniając, szczególnie wysokie ryzyko sercowo-naczyniowe, obserwowane u kobiet z T1DM oraz podejrzewany udział czynników immunologicznych w ich patogenezie, zaplanowano serię badań wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej. Jej celem była analiza zależności pomiędzy autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT oraz nowymi markerami aktywności immunologicznej, takimi jak sirtuina 1, interleukina 27 (IL-27) oraz wisfatyna a obecnością subklinicznej miażdżycy lub dysfunkcji serca u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM w stanie eutyreozy.

Prace nr 1 i 2 mają charakter poglądowy oraz stanowią wstęp i uzasadnienie badań zaprezentowanych w pracach oryginalnych. W pierwszej z nich omówiono dotychczas poznane mechanizmy molekularne, biorące udział w rozwoju niewydolności serca, różniące się z zależności od typu cukrzycy oraz wynikające z nich nowe implikacje terapeutyczne. W pracy drugiej uporządkowano doniesienia badawcze sugerujące ważny udział autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych. Z analizy literatury wynika, że podłoże patogenetyczne dysfunkcji serca w cukrzycy, zwłaszcza u chorych z T1DM, nadal nie jest wystarczająco dobrze poznane, a postulowany udział w nim czynników immunologicznych wymaga potwierdzenia.

W pracy nr 3 przedstawiono analizę zależności pomiędzy obecnością autoimmunizacji tarczycy w przebiegu HT, a grubością kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej wspólnej (cIMT) u młodych kobiet z T1DM. Populację badaną stanowiły 102 kobiety, w tym 72 z T1DM (średnia wieku \pm odchylenie standardowe, 26.26 ± 4.86) i 30 zdrowych kobiet, tworzące grupę kontrolną. Wykazano, że pomimo eutyreozy, grubość cIMT była istotnie większa u chorych z T1DM i dodatnim mianem przeciwciał aTPO (T1DM aTPO+) (0.66 ± 0.10 mm) niż w grupie chorych z T1DM bez HT (T1DM aTPO-) (0.59 ± 0.11 mm) lub w grupie kontrolnej (0.58 ± 0.10 mm) (odpowiednio $p=0.007$, $p=0.001$). Analiza statystyczna wykazała, że nie tylko obecność aTPO ($p=0.005$, $r=0.273$), ale także: czas ekspozycji na nie ($p=0.00015$,

$r=0.367$), nasilenie HT wyrażone dawką przyjmowanej lewotyroksyny ($p=0.006$, $r=0.269$), obraz ultrasonograficzny tarczycy sugerujący HT ($p=0.004$, $r=0.281$), stężenie fT3 ($p=0.014$, $r=-0.243$), stosunek fT3/fT4 ($p=0.042$, $r=-0.201$) oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku HT (OR: 3.909, 95%CI: 1.014 -15.071, $p=0.045$) mają istotny związek z rozwojem subklinicznej miażdżycy w badanej grupie.

Celem pracy nr 4 było sprawdzenie, czy autoimmunizacja tarczycy w przebiegu HT ma związek z obniżeniem regionalnego i/lub globalnego odkształcenia lewej komory (GLS, ang. global longitudinal strain) u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM. Do badania włączono łącznie 88 młodych kobiet (59 z T1DM i 29 z grupy kontrolnej) i u każdej wykonano echokardiografię standardową, tkankową echokardiografię dopplerowską (TDI, ang. tissue doppler imaging) oraz ocenę przy użyciu techniki śledzenia markerów akustycznych obrazów dwuwymiarowych (2D STE, ang. two-dimensional speckle tracking echocardiography). Wykazano, że GLS było nieznacznie mniejsze w grupie T1DM aTPO+ (mediana i zakres międzykwartyłowy (IQR) GLS wynosiły: -17.1 (-16.20 – -18.15)) w porównaniu z grupą T1DM aTPO- (mediana i IQR GLS wynosiły: -18.3 (-17.4 – -19.6)) oraz istotnie mniejsze w porównaniu z grupą kontrolną (mediana i IQR GLS wynosiły: -18.5 (-17.1 – -20.0)) (odpowiednio $p=0.051$, $p=0.015$). Mimo że niższe wartości odkształcenia podłużnego lewej komory stwierdzono w większości segmentów w grupie T1DM aTPO+ w porównaniu z T1DM aTPO- i grupą kontrolną, istotne statystycznie różnice stwierdzono jedynie w projekcji dwujamowej (szczególnie w segmentach przednich) pomiędzy grupami T1DM aTPO+ i T1DM aTPO- ($p=0.030$) oraz w projekcji czterojamowej (szczególnie w segmentach przednio-bocznych) pomiędzy grupami T1DM aTPO+, a kontrolną ($p=0.021$). Analizy regresji logistycznych wykazały, że dłuższy czas trwania HT (OR: 0.997, 95%CI: 0.995-0.999, $p=0.008$), wyższe dawki lewotyroksyny (OR: 0.814, 95%CI: 0.689-0.960, $p=0.013$) oraz obniżona echogeniczność w badaniu ultrasonograficznym tarczycy (OR: 0.309, 95%CI: 0.120-0.793, $p=0.013$) były istotnie związane z redukcją GLS.

Praca nr 5 przedstawia wyniki badania pilotażowego, które miało na celu ocenę stężenia sirtuiny 1, wisfatyny i interleukiny 27 (IL-27) w surowicy krwi młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM, w odniesieniu do wybranych parametrów układu sercowo-naczyniowego i współwystępowania HT. Badanie przeprowadzono w oparciu o hipotezę, że utrata kardioprotekcji, obserwowana u kobiet z cukrzycą w okresie przedmenopauzalnym, może wynikać z interakcji pomiędzy czynnikami epigenetycznymi, metabolicznymi i immunologicznymi. Do badania włączono 50 kobiet

w stanie eutyreozy z T1DM (28 z HT i 22 bez chorób współistniejących) oraz 30 kobiet z grupy kontrolnej. Stężenie sirtuiny 1, wisfatyny i IL-27 w surowicy oceniano za pomocą testu ELISA. Pomimo braku istotnych różnic w stężeniach sirtuiny 1, IL-27 i wisfatyny w surowicy krwi pomiędzy grupami, uzyskane wyniki wykazały, że u kobiet z T1DM i HT stężenia sirtuiny 1 i IL-27 są istotnie dodatnio skorelowane ze sobą ($r = 0.445$, $p = 0.018$), z objętością tarczycy (odpowiednio: $r = 0.511$, $p = 0.005$; $r = 0.482$, $p = 0.009$) oraz ze względną grubością ściany lewej komory (RWT) (odpowiednio: $r = -0.451$, $p = 0.016$; $r = -0.387$, $p = 0.041$), co może sugerować ich udział w przebudowie serca i tarczycy u kobiet z T1DM i HT. Zależności tych nie obserwowano w grupie kontrolnej, ani dla wisfatyny.

Wyniki przeprowadzonych badań, które zaprezentowano w pracach oryginalnych wykazały, że autoimmunizacja tarczycy w przebiegu HT u młodych kobiet z T1DM pomimo eutyreozy, może być związana z subkliniczną miażdżycą oraz regionalnym pogorszeniem funkcji skurczowej mięśnia sercowego, przy czym od samej obecności przeciwciał przeciw-tarczycowych większe znaczenie ma prawdopodobnie czas ekspozycji na nie oraz stopień zaawansowania HT. Obecność niższej kurczliwości mięśnia sercowego, szczególnie w segmentach przednich i przednio-bocznych obserwowana u kobiet z T1DM i HT w porównaniu do kobiet z T1DM bez HT lub grupy kontrolnej oznacza, że upośledzenie funkcji tych segmentów prawdopodobnie pojawia się we wczesnym okresie rozwoju cukrzycowej dysfunkcji serca. Wydaje się więc, że nieinwazyjna ocena zarówno cIMT, jak i odkształcenia podłużnego lewej komory mięśnia sercowego za pomocą techniki 2D STE może dostarczyć cennych informacji o obecności wczesnych zmian w układzie sercowo-naczyniowym u bezobjawowych kobiet z T1DM, co może mieć duże znaczenie w prewencji pierwotnej w tej grupie chorych. Ponadto wyniki badań sugerują, że sama obecność przeciwciał aTPO u kobiet z T1DM nie jest niezależnym czynnikiem ryzyka zwiększenia cIMT lub obniżenia GLS, ale prawdopodobnie jedynie markerem zaburzonej równowagi immunologicznej, która z kolei odgrywa ważną rolę w patogenezie miażdżycy lub dysfunkcji serca w tej grupie chorych. Wykazano, że przebudowa serca i tarczycy u kobiet z T1DM i HT ma istotny związek z sirtuiną 1 i IL-27. Takich zależności nie stwierdzono dla wisfatyny, jak również nie wykazano związku pomiędzy badanymi markerami, a grubością cIMT u kobiet z T1DM. Konieczne są dalsze badania, mające na celu lepsze zrozumienie interakcji pomiędzy czynnikiem epigenetycznym i immunologicznym, w podłożu patogenetycznym dysfunkcji serca u kobiet z T1DM.

3. Streszczenie w języku angielskim

Title: *Assessment of the association of markers of immune activity with selected cardiovascular parameters in women with type 1 diabetes mellitus and Hashimoto's disease: findings from the publication series.*

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is an autoimmune disease associated with multiple complications, of which cardiovascular complications are considered to be the most challenging in clinical practice. The coexistence of autoimmune disorders, of which Hashimoto's disease (HT) is the most common, is thought to increase cardiovascular risk. Despite many studies proving the negative effects of already subclinical hypothyroidism on the cardiovascular system, data on euthyroid patients are limited. Considering the particularly high cardiovascular risk observed in women with T1DM and the suspected involvement of immunological factors in its pathogenesis, a series of studies were conducted within this dissertation. The aim of the project was to analyze the relationship between thyroid autoimmunity in the course of HT and new markers of immune activity such as sirtuin 1, interleukin 27 (IL-27) and wisfatin and the presence of subclinical atherosclerosis or cardiac dysfunction in young, asymptomatic, euthyroid women with T1DM.

Articles 1 and 2 are reviews and they provide an introduction and rationale for the research presented in the original papers. The first discussed the molecular mechanisms involved in the development of heart failure differing according to the type of diabetes and the new therapeutic implications arising from them. The second review organized research reports suggesting a significant role of autoimmunity in the development of diabetic complications. Based on the literature review, it can be concluded that the pathogenesis of diabetic cardiac dysfunction, especially in patients with T1DM, is still not sufficiently understood and the postulated involvement of immune factors needs to be confirmed.

In study 3, we present a detailed analysis between thyroid autoimmunity in the course of HT and the intima-media thickness (cIMT) in young, asymptomatic T1DM women. The study population consisted of 102 women, including 72 with T1DM (mean age \pm standard deviation, 26.26 ± 4.86) and 30 age-matched healthy controls. We found that despite euthyroidism, cIMT thickness was significantly greater in patients with T1DM and positive aTPO antibody titers (T1DM aTPO+) (0.66 ± 0.10 mm) than in patients with T1DM without HT (T1DM aTPO-) (0.59 ± 0.11 mm) or healthy controls

(0.58 ± 0.10 mm) ($p=0.007$, $p=0.001$, respectively). Statistical analysis showed that not only the presence of aTPO ($p=0.005$, $r=0.273$), but also: HT duration ($p=0.00015$, $r=0.367$), severity of HT expressed by levothyroxine dose ($p=0.006$, $r=0.269$), ultrasound features of HT ($p=0.004$, $r=0.281$), fT3 concentration ($p=0.014$, $r=-0.243$), fT3/fT4 ratio ($p=0.042$, $r=-0.201$) and a positive family history for HT (OR: 3.909, 95%CI: 1.014 - 15.071, $p=0.045$) are associated with subclinical atherosclerosis.

The aim of study 4 was to investigate whether thyroid autoimmunity in course of HT is associated with decreased regional and/or global longitudinal strain (GLS) of the left ventricle in young, asymptomatic women with T1DM. A total of 88 young women (59 with T1DM and 29 controls) were included in the study and each underwent standard echocardiography and assessment using two-dimensional speckle tracking echocardiography (2D STE). GLS was shown to be slightly lower in the T1DM aTPO+ group (median and interquartile range (IQR) of GLS were: -17.1 (-16.20 - -18.15)) compared to the T1DM aTPO- group (median and IQR of GLS were: -18.3 (-17.4 - -19.6)) and significantly lower compared to the control group (median and IQR GLS were: -18.5 (-17.1 - -20.0)) ($p=0.051$, $p=0.015$, respectively). Although lower values of left ventricular longitudinal strain were found in most segments in the T1DM aTPO+ group compared with the T1DM aTPO- and control groups, statistically significant differences were found only in the two-chamber view (especially in the anterior segments) between the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups ($p=0.030$) and in the four-chamber view (especially in the anterolateral segments) between the T1DM aTPO+ and control groups ($p=0.021$). Logistic regression analyses showed that HT duration (OR: 0.997, 95%CI: 0.995-0.999, $p=0.008$), levothyroxine substitution (OR: 0.814, 95%CI: 0.689-0.960, $p=0.013$), and decreased echogenicity on thyroid ultrasound (OR: 0.309, 95%CI: 0.120-0.793, $p=0.013$) were significantly associated with GLS reduction.

Article 5 presents the results of a pilot study that aimed to evaluate serum levels of sirtuin 1, visfatin, and interleukin 27 (IL-27) in young, asymptomatic women with T1DM in relation to selected cardiovascular parameters and HT comorbidity. The study was based on the hypothesis that the loss of cardioprotection observed in premenopausal women with diabetes may be due to interactions between epigenetic, metabolic, and immunological factors. Fifty euthyroid women with T1DM (28 with HT and 22 without comorbidities) and 30 control women were included in the study. Serum levels of sirtuin 1, visfatin and IL-27 were assessed by ELISA. Although there were no significant differences in serum sirtuin 1, IL-27 and visfatin levels between groups, the results

showed that in women with T1DM and HT, sirtuin 1 and IL-27 levels were significantly positively correlated with each other ($r = 0.445$, $p = 0.018$), with thyroid volume ($r = 0.511$, $p = 0.005$; $r = 0.482$, $p = 0.009$, respectively) and with relative wall thickness (RWT) ($r = -0.451$, $p = 0.016$; $r = -0.387$, $p = 0.041$, respectively), which may suggest their involvement in cardiac and thyroid remodeling in women with T1DM and HT. These relationships were not observed in the control group or for visfatin.

The results of our studies, which were presented in original papers, showed that thyroid autoimmunity in the course of HT in young, asymptomatic women with T1DM, despite euthyroidism, may be associated with subclinical atherosclerosis and regional myocardial contractile dysfunction, whereby the duration of HT and the stage of HT seem to be more important than the mere occurrence of antithyroid antibodies. The presence of lower myocardial contractility, particularly in the anterior and anterolateral segments demonstrated in women with T1DM and HT compared with women with T1DM without HT, or a control group indicate that functional impairments of these segments occur early in the development of diabetic cardiac dysfunction. Thus, it appears that noninvasive assessment of both cIMT and left ventricular longitudinal strain using the 2D-STE technique may provide valuable information about the presence of early cardiovascular changes in asymptomatic women with T1DM, which may be important for primary prevention in this group of patients. In addition, our results suggest that the mere presence of aTPO antibodies in women with T1DM is not an independent risk factor for increased cIMT or decreased GLS, but probably is only a marker of immune imbalance, which in turn plays a significant role in the pathogenesis of atherosclerosis or cardiac dysfunction in this group of patients. Cardiac and thyroid remodeling in women with T1DM and HT has been shown to be significantly associated with sirtuin 1 and IL-27 serum levels. Such relationships were not found for visfatin, nor was there a relationship between the markers studied and cIMT thickness in women with T1DM. Further studies are needed to better understand the interaction between epigenetic and immunological factors in the pathogenetic background of cardiac dysfunction in women with T1DM.

4. Wstęp uzasadniający połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl oraz komentujący osiągnięcia naukowe na tle dotychczasowego stanu wiedzy

Według definicji, cukrzyca to grupa chorób metabolicznych charakteryzująca się hiperglikemią, wynikającą z defektu wydzielania i/lub działania insuliny oraz związaną z uszkodzeniem, zaburzeniem czynności i niewydolnością różnych narządów (1). Szacuje się, że choruje na nią ponad 500 mln osób na świecie i ponad 3 mln osób w Polsce, przy czym obserwowany wzrost zachorowań sprawia, że pozostaje jednym z najpoważniejszych problemów zdrowotnych i wyzwań w praktyce klinicznej (2). W zależności od etiologii i przebiegu klinicznego wyodrębnia się różne typy cukrzycy, z których najpowszechniej występującą jest cukrzyca typu 2 (T2DM) stanowiąca ok. 90-95% wszystkich zachorowań, a w patogenezie której dominuje insulinooporność oraz cukrzyca typu 1 (T1DM) o podłożu autoimmunologicznym, stanowiąca ok. 5-10 % wszystkich zachorowań (1). Powikłania sercowo-naczyniowe są wiodącą przyczyną zgonów, nie tylko u chorych z wieloletnim wywiadem choroby, ale także u młodych dorosłych z T1DM, już po 30 roku życia (3, 4). Mimo że ich prewencja i leczenie opierają się na podobnych zasadach, niezależnie od etiologii choroby, to coraz więcej danych wskazuje na różnice w ich patogenezie i obrazie klinicznym pomiędzy typem 1 i 2 cukrzycy (5-11). Co istotne, dane epidemiologiczne dostarczyły dowodów, że ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca i niewydolności serca, jak również ogólna śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych, jest większa u kobiet niż u mężczyzn z cukrzycą, przy czym znamienne bardziej wzrasta ona w T1DM (12-15). Przykładowo: udowodniono, że ryzyko rozwoju niewydolności serca u kobiet wzrasta w T2DM o około 17 %, zaś w T1DM nawet o 88 % w porównaniu do płci męskiej (14). Przyczyny utraty kardioprotekcji u kobiet z cukrzycą oraz obserwowanych różnic w występowaniu powikłań sercowo-naczyniowych w zależności od typu cukrzycy i płci są niejasne. Prezentowany cykl publikacji zawiera pięć prac o spójnej tematyce, których celem było lepsze poznanie patogenezy dysfunkcji serca i miażdżycy u kobiet z T1DM.

Z uwagi na częste współwystępowanie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, takich jak hiperlipidemia, nadciśnienie tętnicze lub otyłość u chorych z cukrzycą, wyodrębnienie kardiomiopatii cukrzycowej jako jej niezależnego powikłania jest trudne w pracy klinicznej. Niemniej jednak, obecność zaburzeń metabolicznych wynikających z hiperglikemii znacznie pogarsza przebieg i rokowanie chorób układu

krążenia w tej grupie chorych. Szacuje się, że występują one 4-10 razy częściej, w zależności od wyrównania metabolicznego oraz rozwijają się przeciętnie 15 lat wcześniej u chorych z cukrzycą niż w populacji ogólnej (16-19). Do czynników patogenetycznych składających się na komponentę cukrzycową, które prowadzą do rozwoju niewydolności serca należą: glukotoksyczność, stres oksydacyjny, lipotoksyczność, hiperinsulinizm, insulinooporność, zaburzenia autoimmunologiczne, czynniki epigenetyczne i predyspozycje genetyczne (20). Co istotne, manifestują się one w różnym stopniu w zależności od typu cukrzycy, determinując różnice w obrazie klinicznym powikłań sercowo-naczyniowych. Dotychczas poznane dokładne mechanizmy molekularne niewydolności serca w cukrzycy z uwzględnieniem różnic wynikających z typu cukrzycy oraz związane z nimi nowe implikacje terapeutyczne zaprezentowano w pierwszej z prac wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej pt. *Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne*. Łącznie z drugą pracą poglądową pt. *Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań* stanowią one wstęp oraz uzasadnienie badań zaprezentowanych w pracach oryginalnych. Z analizy literatury wynika, że udział czynników autoimmunologicznych, obejmujący aktywność autoreaktywnych limfocytów oraz cytotoksyczne działanie autoprzeciwciał w rozwoju powikłań cukrzycowych, obecny jest w obu typach cukrzycy. Najwięcej dowodów wskazuje jednak na ich kluczową rolę w rozwoju niewydolności serca w T1DM, co jednak wymaga potwierdzenia.

Najczęstszą chorobą autoimmunizacyjną, która współwystępuje z T1DM jest niedoczynność tarczycy w przebiegu przewlekłego limfocytarnego zapalenia tarczycy typu Hashimoto (HT). Rozpoznanie HT ustala się na podstawie obecności krążących autoprzeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej (aTPO) i/lub tyreoglobulinie (aTG) oraz charakterystycznego obrazu ultrasonograficznego tarczycy (obniżoną i niejednorodną echogeniczność miąższu) (21). Szacuje się, że nawet u 25-50 % osób z T1DM obecne są dodatnie miana przeciwciał aTPO, a u około połowy z nich w ciągu 3-5 lat rozwinię się niedoczynność tarczycy (22, 23). Aktualne zalecenia Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego i Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego dotyczące badań przesiewowych w kierunku zaburzeń funkcji tarczycy w T1DM wskazują na konieczność oznaczenia hormonu tyreotropowego (TSH) i miana przeciwciał aTPO w momencie zachorowania i następnie co 1-5 lat w zależności od sytuacji klinicznej (1). Mimo udowodnionego wpływu już subklinicznej niedoczynności

tarczycy na wzrost ryzyka sercowo-naczyniowego (24), dane dotyczące wpływu autoimmunizacji tarczycy na układ sercowo-naczyniowy u chorych w stanie eutyreozy są skąpe. Biorąc pod uwagę częstość rutynowego oznaczania przeciwciał aTPO, lepsze zrozumienie ich znaczenia pozatarczycowego, mogłoby być przydatne w codziennej praktyce klinicznej. Dlatego w przeprowadzonych badaniach, których wyniki zaprezentowano w pracach oryginalnych niniejszej dysertacji, podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy obecność autoimmunizacji tarczycy w przebiegu HT, pomimo eutyreozy, ma związek z obecnością subklinicznej miażdżycy lub dysfunkcji serca u chorych z T1DM. O oryginalności pracy własnej świadczy wykonanie analizy porównawczej w jednorodnej populacji kobiet z T1DM, w stosunkowo wąskim przedziale wiekowym (18-40 lat), w eutyreozy, bez otyłości, nadciśnienia tętniczego lub hiperlipidemii, co pozwoliło na określenie różnic w parametrach sercowo-naczyniowych niezależnie od wymienionych wyżej czynników ryzyka. Wybór grupy badanej uzasadniły najnowsze wytyczne Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego we współpracy z Europejskim Stowarzyszeniem Badań nad Cukrzycą, które wskazały na potrzebę dalszych badań wyjaśniających nadmierne ryzyko sercowo-naczyniowe u kobiet z T1DM (25). Ze względu na często nietypowy lub niemy klinicznie przebieg chorób układu krążenia w tej grupie chorych, identyfikacja specyficznych czynników ryzyka jest kluczowa do ich wczesnego rozpoznania i skutecznej prewencji.

Subkliniczne zmiany miażdżycowe obserwowane już we wczesnym stadium cukrzycy, które przejawiają się zwiększeniem grubości intima-media tętnicy szyjnej wspólnej (cIMT) są potwierdzonym predyktorem powikłań naczyniowych, takich jak choroba niedokrwienna serca lub udar mózgu (26-28). Pomimo dowiedzionego związku pomiędzy toczącym się procesem autoimmunizacyjnym a dysfunkcją śródbłona i rozwojem miażdżycy, dotychczasowe badania dotyczące chorych z HT w stanie eutyreozy są sprzeczne (29-31). Część z nich wykazała bowiem, że substytucja adekwatną dawką lewotyroksyny prowadzi do cofnięcia się rozwoju subklinicznej miażdżycy (32, 33), natomiast inne wskazują na utrzymywanie się zaistniałych zmian pomimo powrotu do stanu eutyreozy (34-37). W pracy pt. *Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?* zaprezentowano kompleksowe analizy zależności nie tylko pomiędzy grubością cIMT a obecnością HT u młodych kobiet z T1DM, ale również między innymi parametrami związanymi z autoimmunizacją tarczycy w jej przebiegu. Dzięki temu po raz pierwszy wykazano, że od samej obecności przeciwciał przeciwtarczycowych

większe znaczenie ma prawdopodobnie czas ekspozycji na nie oraz stopień zaawansowania HT wyrażony obrazem ultrasonograficznym tarczycy lub dawką przyjmowanej lewotyroksyny. Ocena cIMT jako zastępczego punktu końcowego dla chorób sercowo-naczyniowych sugeruje ponadto, że kobiety z T1DM i HT, pomimo eutyreozy, są bardziej narażone na rozwój choroby niedokrwiennej serca lub wystąpienie udaru mózgu niż kobiety z T1DM bez HT, co może być cenną informacją w codziennej pracy klinicznej. Biorąc pod uwagę powszechność oznaczeń przeciwciał przeciwtarczycowych u chorych z T1DM, taka wiedza może przyczynić się do wczesnej identyfikacji kobiet o wyższym ryzyku sercowo-naczyniowym. Mimo że dane te wymagają potwierdzenia w badaniu na większej grupie chorych, to sugerują jednocześnie konieczność indywidualnego podejścia prewencyjno - terapeutycznego u kobiet z dwiema chorobami autoimmunologicznymi. Uzasadniają to wyniki opublikowanej w ostatnim czasie dużej metaanalizy, która dowiodła skuteczność interwencji terapeutycznych mających na celu zmniejszenie cIMT w redukcji ryzyka wystąpienia złożonego punktu końcowego, zdefiniowanego jako zawał serca, udar mózgu, zabiegi rewaskularyzacji lub zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych (38). Dlatego, być może warto rozważyć rutynową ocenę cIMT u kobiet z T1DM i HT jako łatwą i bezinwazyjną metodę, pomocną przy stratyfikacji ryzyka sercowo-naczyniowego, co mogłoby przełożyć się na ich wczesną prewencję i modyfikację przebiegu choroby w tej grupie chorych.

Drugim obok zmian miażdżycowych powikłaniem ze strony układu sercowo-naczyniowego, które przyczynia się do zwiększonej śmiertelności chorych na cukrzycę jest niewydolność serca. Zmiany w obrębie mięśnia sercowego rozwijają się prawdopodobnie już we wczesnych stadiach cukrzycy i przez długi okres pozostają bezobjawowe. Pojedyncze dane kliniczne wskazują na obecność zaburzeń funkcji mięśnia sercowego nawet u dzieci z T1DM (39-47), przy czym wykazano zarówno związek (40-43), jak i jego brak (44-47) z kontrolą metaboliczną i czasem trwania cukrzycy. Jedną z przyczyn sprzecznych wyników badań może być postulowany udział autoimmunizacji w rozwoju dysfunkcji serca u chorych z T1DM, czego nie stwierdzono u chorych z T2DM (7, 9, 10). Zważywszy, że obecność przeciwciał przeciwtarczycowych jest markerem zwiększonej aktywności układu immunologicznego podjęto się sprawdzenia, czy kobiety z T1DM i HT w eutyreozie mają gorsze parametry echokardiograficzne funkcji serca niż te z T1DM bez HT. W istocie, pomimo licznych dowodów na wpływ hormonów tarczycy na funkcję mięśnia sercowego (48-51) dane

dotyczące związku z komponentą autoimmunizacyjną w przebiegu HT u chorych w stanie eutyreozy są skąpe (52-54). W pracy oryginalnej pt. *Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography*, po raz pierwszy przedstawiono analizę korelacji pomiędzy parametrami związanymi z autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT a wybranymi parametrami echokardiograficznymi u młodych kobiet z T1DM w stanie eutyreozy. Walorem pracy jest ocena z wykorzystaniem techniki śledzenia markerów akustycznych obrazów dwuwymiarowych (2D STE, ang. 2- dimensional speckle tracking echocardiography), która pozwoliła na obiektywną, dokładną i niezależną od kąta nachylenia analizę funkcji mięśnia sercowego. W badaniu skupiono się na ocenie globalnego odkształcenia podłużnego (GLS, ang. global longitudinal strain), dla którego wykazano wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu kardiomiopatii cukrzycowej (55). Co istotne, analiza odkształcenia podłużnego pozwoliła na ocenę podwierszowych włókien podłużnych, które są wrażliwe na uszkodzenie już nawet w subklinicznych stadiach choroby (56). Warto również zauważyć, że wzorzec odkształcenia podłużnego mięśnia sercowego lewej komory, zaprezentowany na jednym wykresie tzw. „bull’s eye” („oko byka”) coraz częściej wykorzystywany jest we wczesnej diagnostyce różnych kardiomiopatii (57, 58) i nadal nie został określony u chorych z cukrzycą. Uzyskane wyniki po raz pierwszy dokumentują wzorzec „bull’s eye” wskazujący na gorszą kurczliwość segmentów przednich i przednio-bocznych w grupie młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM i HT w porównaniu do kobiet z wyłącznie T1DM lub grupy kontrolnej. Z uwagi na to, że wykazane różnice są jednak blisko progu istotności statystycznej, konieczna jest ich weryfikacja na większej grupie chorych. Co istotne, wszystkie kobiety w grupie badanej i kontrolnej miały prawidłową funkcję skurczową i rozkurczową mięśnia sercowego ocenioną za pomocą standardowej echokardiografii. Dzięki temu dodatkowo wykazano możliwą przydatność diagnostyczną 2D STE w ocenie regionalnych, subklinicznych zaburzeń funkcji skurczowej mięśnia sercowego u młodych kobiet z T1DM, co mogłoby mieć praktyczne zastosowanie w prognozowaniu ryzyka rozwoju niewydolności serca w tej grupie chorych.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że sama obecność przeciwciał aTPO nie jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju subklinicznej miażdżycy lub obniżenia globalnej funkcji skurczowej mięśnia sercowego w badanej grupie. Wydaje się więc, że autoimmunizacja tarczycy w przebiegu HT, jedynie pośrednio poprzez aktywację

ogólnoustrojowych procesów zapalnych wynikających z zaburzonej równowagi immunologicznej, ma związek z rozwojem powikłań sercowo-naczyniowych. Dotychczasowa literatura podaje że, mogą odpowiadać za to: dysfunkcja śródbłonna (59), stres oksydacyjny i zaburzenie wazodylatacji (60), przebudowa komórek mięśni gładkich i nasilenie stanu prozakrzepowego (61, 62) oraz zaburzenie funkcji endokrynej tkanki tłuszczowej (63). Wziąwszy pod uwagę, że dokładne mechanizmy immunologiczne łączące autoimmunizację tarczycy z rozwojem miażdżycy lub dysfunkcją serca nie zostały jednoznacznie określone, przeprowadzono analizę, której wyniki przedstawiono w kolejnej pracy oryginalnej pt. *Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease*. W oparciu o wyniki badań doświadczalnych przedstawiono w niej hipotezę, wedle której za rozwój powikłań sercowo-naczyniowych u kobiet z T1DM i HT odpowiada interakcja pomiędzy czynnikami epigenetycznymi, metabolicznymi i immunologicznymi. Wyodrębniono trzy potencjalne markery powiązane ze sobą na poziomie komórkowym oraz sprawdzono przydatność ich oznaczenia w surowicy krwi kobiet z T1DM i HT, w porównaniu do kobiet wyłącznie z T1DM oraz grupy kontrolnej. Jak wskazują dotychczasowe doniesienia, prawdopodobnym łącznikiem pomiędzy szlakami metabolicznymi i immunologicznymi leżącymi u podłoża zarówno powikłań sercowo-naczyniowych (64), jak i schorzeń o podłożu autoimmunologicznym (65, 66) wydaje się być sirtuina 1. Należy ona do grupy związków znanych jako „enzymy długowieczności”, uczestniczy w mechanizmach posttranslacyjnych modyfikacji białek oraz reguluje różne szlaki komórkowe. Prawdopodobnie wpływa na funkcję endokrynną tkanki tłuszczowej poprzez zahamowanie ekspresji genów związanych ze stanem zapalnym w adipocytach (67, 68). Jedną z adipokin, która pośredniczy w regulacyjnym wpływie sirtuiny 1 na tkankę tłuszczową jest wisfatyna. Adipokina ta znana jest jako czynnik stymulujący różnicowanie limfocytów pre-B (PBEF, ang. pre-B-colony enhancing- factor 1), posiada aktywność fosforybozylotransferazy nikotynamidu (Nampt, ang. nicotinamide phosphoribosyltransferase), która wewnątrzkomórkowo katalizuje reakcję szlaku syntezy NAD⁺ (dinukleotydu nikotynamidoadeninowego) determinując aktywność sirtuiny 1 (69). Zważywszy na pojedyncze doniesienia sugerujące związek wisfatyny zarówno z rozwojem chorób zapalnych o podłożu immunologicznym (70-72), jak i rozwojem miażdżycy lub niewydolności serca (73), jej ocena wspólnie z sirtuiną 1 wydaje się w pełni zasadna. Sirtuina 1 prawdopodobnie wykazuje również zdolność do regulacji ekspresji interleukiny 27 (IL-27) (74), która - jak wskazują badania

przeprowadzone na modelach zwierzęcych - jest istotna w rozwoju T1DM (75). Zdolność IL-27 do wywierania efektów zarówno prozapalnych jak i przeciwzapalnych jest obecnie obiektem badań w kontekście nowych możliwości terapeutycznych w chorobach układu krążenia (76) i schorzeniach autoimmunizacyjnych (77). Biorąc pod uwagę poznane już interakcje pomiędzy sirtuiną 1, a wisfatyną i IL-27 na poziomie komórkowym oraz ich związek podejrzewany tak z rozwojem chorób autoimmunizacyjnych, jak i powikłań sercowo-naczyniowych, po raz pierwszy oceniono ich stężenia u młodych kobiet z T1DM w odniesieniu do wybranych parametrów układu sercowo-naczyniowego oraz obecności HT. Mimo że badania miały charakter pilotażowy i nie wykazały istotnych różnic pomiędzy grupami, to jednak sugerują istotną zależność pomiędzy parametrami przebudowy serca i tarczycy a sirtuiną 1 i IL- 27 u młodych kobiet z T1DM i HT. Powyższe nie tylko poszerza dotychczasową wiedzę na temat związku pomiędzy autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT a rozwojem dysfunkcji serca u młodych kobiet z T1DM, ale też wyznacza nowy kierunek dalszych badań mających na celu lepsze zrozumienie podłoża immunologicznego powikłań cukrzycowych.

5. Założenia i cel pracy

Doniesienia, że autoimmunizacja odgrywa ważną rolę w rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych w T1DM spowodowały podjęcie próby weryfikacji w badaniu dwóch głównych **hipotez badawczych**:

- 1) Choroba Hashimoto (HT) nawet w stadium eutyreozy ma związek z subklinicznymi zmianami w układzie sercowo-naczyniowym, zdefiniowanymi jako grubość kompleksu intima-media (cIMT) tętnic szyjnych wspólnych i/lub redukcja odkształcenia podłużnego (LS, ang. longitudinal strain) lewej komory mięśnia sercowego u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM.
- 2) Interakcja pomiędzy nowymi markerami układu immunologicznego takimi jak sirtuina 1, interleukina-27 (IL-27) oraz wisfatyna, oznaczonymi w surowicy krwi ma związek z rozwojem subklinicznej miażdżycy lub dysfunkcji serca u młodych kobiet z T1DM i HT.

Celem pracy badawczej była odpowiedź na następujące pytania:

- 1) Czy u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM w stanie eutyreozy obecność autoimmunizacji tarczycy w przebiegu HT, w porównaniu do młodych kobiet z T1DM bez HT i/lub zdrowej grupy kontrolnej, ma związek z grubszą cIMT?
- 2) Czy u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM w stanie eutyreozy obecność autoimmunizacji tarczycy w przebiegu HT, w porównaniu do młodych kobiet z T1DM bez HT i/lub zdrowej grupy kontrolnej, ma związek z redukcją globalnego i/lub regionalnego odkształcenia podłużnego (LS, ang. longitudinal strain) lewej komory ocenionego za pomocą techniki śledzenia markerów akustycznych obrazów dwuwymiarowych (2D STE, ang. two-dimensional speckle tracking echocardiography)?
- 3) Czy u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM i HT stężenia sirtuiny 1, IL-27 oraz wisfatyny w surowicy krwi w porównaniu do młodych kobiet z T1DM bez HT i/lub zdrowej grupy kontrolnej mają związek z obecnością subklinicznej miażdżycy lub dysfunkcji serca?

6. Kopie opublikowanych prac

6.1. Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne.

© Postepy Hig Med Dosw (online), 2020; 74: 452-463
e-ISSN 1732-2693

www.phmd.pl
Review

Received: 14.11.2019
Accepted: 12.05.2020
Published: 03.11.2020

Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne

Molecular pathogenesis of heart failure in diabetes mellitus – new direction for the therapeutic approach

Magdalena Łukawska-Tatarczuk^{1,2}, Beata Mrozikiewicz-Rakowska², Edward Franek^{1,3}, Leszek Czupryniak²

¹Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Diabetologii, CSK MSWiA, Warszawa

²Klinika Diabetologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk, Warszawa

Streszczenie:	<p>Jak dowiedziono, choroby układu sercowo-naczyniowego występują kilkakrotnie częściej u chorych z cukrzycą niż w populacji ogólnej. Dlaczego tak się dzieje, mimo wielu przeprowadzonych badań i postawionych hipotez, nadal nie wyjaśniono. Uwzględniając częste współwystępowanie czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z cukrzycą, wyodrębnianie kardiomiopatii cukrzycowej jako jej niezależnego powikłania budzi kontrowersje, a rozpoznanie w praktyce klinicznej pozostaje rzadkie. Niemniej jednak obecność cukrzycy znacznie pogarsza przebieg i rokowanie chorób układu krążenia, a lepsze poznanie komponenty cukrzycowej w rozwoju niewydolności serca wydaje się podstawowym w poszukiwaniu skutecznej terapii. Za czynniki patogenetyczne rozwoju niewydolności serca w cukrzycy uważa się: zaburzenia metaboliczne związane z hiperglikemią, lipotoksyczność, insulinooporność, stres oksydacyjny, dysfunkcję układu immunologicznego, predyspozycje genetyczne oraz zaburzenia epigenetyczne. Obraz kliniczny kardiomiopatii cukrzycowej różni się w zależności od typu cukrzycy, a dysfunkcja obejmuje nie tylko komórki miokardium, ale również komórki podścieliska, śródbłonna i układu nerwowego. Długotrwały i bezobjawowy przebieg tego powikłania oraz jego postępujący charakter skracający życie chorych na cukrzycę składają do poszukiwania nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych. W poszukiwaniach niezbędne wydaje się lepsze poznanie podłoża molekularnego dysfunkcji mięśnia sercowego w cukrzycy. Zatrzymanie „kaskady” szlaków odpowiadających za aktywację stanu zapalnego, włóknienie czy apoptozę w poszczególnych narządach mogłoby skutecznie zapobiec rozwojowi powikłań cukrzycowych. W artykule przedstawiono dotychczasowe koncepcje patogenetyczne oraz wynikające z nich implikacje terapeutyczne, które być może będą wykorzystane w prewencji powikłań sercowo-naczyniowych w cukrzycy oraz umożliwią indywidualizację terapii.</p>
Słowa kluczowe:	cukrzyca, niewydolność serca, kardiomiopatia cukrzycowa, podłoże molekularne, leczenie
Summary:	<p>As it has been proven, cardiovascular diseases are several times more common in diabetic patients than in the general population. Despite many studies and hypotheses, is still not explained why this happens. Considering the frequent coexistence of cardiovascular risk factors with diabetes, the identification of diabetic cardiomyopathy as an independent complication is controversial, and diagnosis in clinical practice is rare. Nevertheless, the presence of diabetes significantly worsens the course and prognosis of cardiovascular diseases, and a better understanding of the diabetic component in the development of heart failure seems essential in the search for an effective therapy. The pathogenetic factors of the development of heart failure in diabetes include: metabolic disorders related to hyperglycaemia, lipotoxicity, insulin resistance, oxidative stress, immune system dysfunction, genetic predisposition and epigenetic disorders. The clinical pictures of diabetic cardiomyopathy vary depending on the type of diabetes, and dysfunction includes not only</p>

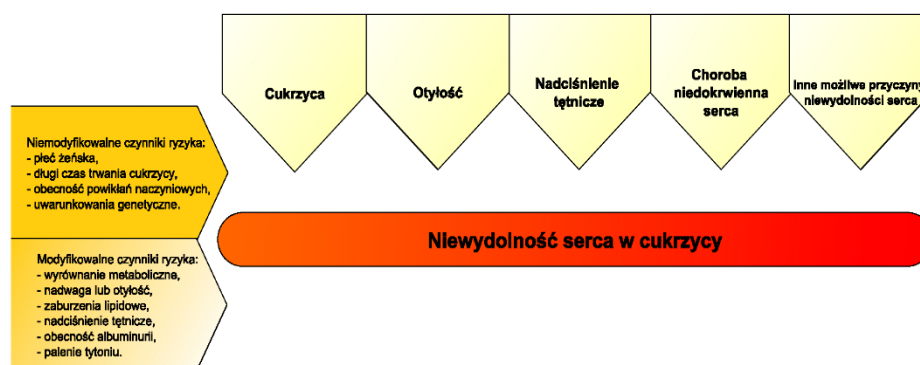
the cells of the myocardium, as well as stromal cells, endothelial and nervous system cells. The long-term and asymptomatic course of this complication and its progressive nature shortening the lives of diabetic patients prompt the search for new diagnostic and therapeutic methods. A better understanding of the molecular basis of myocardial dysfunction in diabetes appears essential in the search. Stopping the “cascade” of pathways responsible for activation of inflammation, fibrosis or apoptosis in individual organs could effectively prevent the development of diabetic complications. The paper presents existing pathogenetic concepts and their therapeutic implications, which may be used in the prevention of cardiovascular complications in diabetes and allow individualization of therapy.

Keywords: diabetes mellitus, heart failure, diabetic cardiomyopathy, molecular pathogenesis, treatment

GICID 01.3001.0014.4856
DOI: 10.5604/01.3001.0014.4856
Word count: 6 507
Tables: 1
Figures: 4
References: 78

Adres autorki: lek. Magdalena Łukawska-Tataczuk, Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Diabetologii, CSK MSWiA, ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa; e-mail: magdalukawska89@gmail.com

Wykaz skrótów: **AGEs** – końcowe produkty zaawansowanej glikacji (advanced glycation end-products), **AMPK** – kinaza aktywowana 5'AMP (AMP-activated protein kinase), **ARNi** – bloker receptora angiotensyny i inhibitor neprylizyny (angiotensin receptor-nephrylysin inhibitor), **CD36** – receptor 36 (cluster of differentiation 36), **CREM** – modulator transkrypcji zależnej od cAMP (cAMP-responsive element modulator), **DAG** – diacyloglicerol, **DPP-4** – dipeptydylopeptydaza-4 (dipeptidyl peptidase-4), **ET-1** – endotelina-1, **Glut3** – transporter glukozy 3 (glucose transporter 3), **GLP-1** – glukagonopodobny peptyd 1 (glucagon-like peptide-1), **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), **G-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (granulocyte colony-stimulating factor), **HbA1c** – glikowana hemoglobina (glycated hemoglobin), **HO-1** – oksygenaza hemowa (heme oxygenase-1), **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insuline-like growth factor-1), **IL-1, -6, -12p40, -17, -18** – interleukiny-1, -6, -12p40, -17, -18, **IRS-1** – substrat receptora insuliny 1 (insulin receptor substrate 1), **JAK** – kinaza janusowa (Janus-activated kinases), **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana mitogenami (mitogen activated protein kinase), **mTOR** – kinaza serynowo-treoninowa mTOR (mammalian target of rapamycin), **NF-κB** – jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B (nuclear factor kappa-B), **NO** – tlenek azotu (nitric oxide), **Nrf2** – czynnik jądrowy Nrf2 (nuclear erythroid 2-related factor), **MCP-1** – czynnik chemotaktyczny makrofagów typu 1 (monocyte chemoattractant protein-1), **MMPs** – metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinases), **PAI-1** – inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (plasminogen activator inhibitor-1), **PARP-1** – polimeraza poli (ADP-rybozy) (poly(ADP-ribose) polymerase-1), **PGC-1α** – koaktywator receptora PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator), **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C), **PPARs** – receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów (peroxisome proliferator-activated receptors), **PPARγ** – receptor aktywowany proliferatorami peroksyosomów typu gamma (peroxisome proliferator-activated receptor gamma), **RAA** – renina, angiotensyna, aldosteron, **RAGE** – receptor AGE (advanced glycation end products receptor), **SERCA2A** – wapniowa ATP-aza siateczki sarkoplazmatycznej (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium-ATPase 2a), **SGLT2** – inhibitory kotransportera glukozy-sodowego 2 (inhibitors of sodium glucose cotransporter 2), **SIRT1** – sirtuina 1, **STAT** – czynniki transkrypcyjne, białka biorące udział w przekazywaniu sygnałów oraz aktywacji transkrypcji genów (signal transducer and activator of transcription), **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu beta (transforming growth factor β), **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów alfa (tumor necrosis factor α), **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor).



Ryc. 1. Czynniki ryzyka związane z rozwojem niewydolności serca u chorych z cukrzycą. Opracowanie własne na podstawie: [19, 39, 40, 50, 64, 66]

WSTĘP

Kardiomiopatia cukrzycowa jest wciąż niewystarczająco dobrze poznanym oraz różnorodnie definiowanym powikłaniem cukrzycy. Związek między obecnością cukrzycy, a rozwojem niewydolności serca po raz pierwszy zaobserwowano w 1881 r. [37], jednak dopiero po prawie 80 latach zaczęto postrzegać kardiomiopatię cukrzycową jako powikłanie cukrzycy [41]. Po raz pierwszy jej obecność potwierdzili Rubler i wsp. w 1972 r., którzy na podstawie badań histopatologicznych mięśnia sercowego, przeprowadzonego *post mortem* u czterech pacjentów z wieloletnią cukrzycą, wykazali obecność przerostu oraz włóknienia lewej komory mięśnia sercowego, mimo braku znanych czynników ryzyka rozwoju kardiomiopatii, takich jak: choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze, wady zastawkowe lub alkoholizm [56]. Kolejne badania eksperymentalne oraz obserwacje kliniczne potwierdziły ścisły związek niewydolności serca z hiperglikemią. Początkowo w obrazie klinicznym obserwuje się zaburzenie funkcji rozkurczowej ze stopniowym włóknieniem i przerostem kardiomiocytów, następnie dysfunkcję skurczową i rozwój zastoinowej niewydolności serca. W 2013 r. zarówno amerykańskie [72], jak i europejskie towarzystwa naukowe [57] zaproponowały definicję kardiomiopatii cukrzycowej jako dysfunkcji mięśnia sercowego, która rozwija się u pacjentów z cukrzycą, mimo braku choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia tętniczego lub innych schorzeń wywołujących kardiomiopatię. Ponieważ u chorych na cukrzycę powikłania sercowo-naczyniowe są najczęściej wypadkową różnych, współwystępujących czynników ryzyka, takich jak: zaburzenia lipidowe, nadciśnienie tętnicze lub otyłość, to rozpoznanie samej kardiomiopatii cukrzycowej jest niezwykle rzadkie w praktyce klinicznej oraz wciąż stwarza trudności diagnostyczne.

W następnych latach zaproponowano wyodrębnienie dwóch fenotypów kardiomiopatii cukrzycowej: restrykcyjnego, dla którego charakterystyczna jest koncentryczna przebudowa lewej komory serca i zaburzenie funkcji rozkurczowej z zachowaną frakcją wyrzutową lewej komory (HFpEF – heart failure with preserved ejection fraction),

występującego częściej u otyłych pacjentów z cukrzycą typu 2 oraz typu rozstrzeniowego, który cechuje się przerostem ekscentrycznym oraz skurczową niewydolnością serca (HFrEF – reduced left ventricular ejection fraction), częściej pojawiającego się u chorych z cukrzycą typu 1 [59]. Obserwowane różnice wynikają najprawdopodobniej z odmiennych czynników patogenetycznych, które w zależności od typu cukrzycy, w różnym stopniu wpływają na zaburzenie struktury i funkcji mięśnia sercowego, które omówiono w dalszej części artykułu.

EPIDEMIOLOGIA I CZYNNIKI RYZYKA

Aby zrozumieć podłoże patogenetyczne dysfunkcji mięśnia sercowego w cukrzycy, trzeba przypomnieć dane epidemiologiczne oraz znane czynniki ryzyka rozwoju tego powikłania. Pierwszym badaniem, które potwierdziło, że cukrzyca jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju zastoinowej niewydolności serca było Framingham Study opublikowane w 1974 r. [32]. Większe zagrożenie powikłań sercowo-naczyniowych zaobserwowano wówczas u kobiet niż u mężczyzn. Metaanaliza Ohkuma i wsp. z 2019 r. wykazała, że zależność ta dotyczy bardziej chorych na cukrzycę typu 1, gdyż po uwzględnieniu łącznie 47 badań kohortowych, w których uczestniczyło około 12 milionów osób, udowodniono, że w obu typach cukrzycy ryzyko rozwoju niewydolności serca jest wyższe u kobiet, niż u mężczyzn, przy czym w typie 1 cukrzycy ryzyko to wzrasta prawie o 47%, natomiast w typie 2 o około 9% w porównaniu do płci męskiej [52]. Odpowiedź na pytanie, dlaczego tak się dzieje, podobnie jak rzetelna ocena częstotliwości występowania kardiomiopatii cukrzycowej nadal pozostają niewyjaśnione. Szacuje się, że zaburzenie funkcji rozkurczowej mięśnia sercowego występuje u około 60% chorych z cukrzycą typu 2 [51, 54], a nawet prawie u 70% chorych z cukrzycą typu 1 [68]. Bez wątpienia ważną rolę w zapobieganiu powikłaniom sercowo-naczyniowym odgrywa dobre wyrównanie metaboliczne. Wyniki dużych badań klinicznych potwierdzają, że wzrost odsetka HbA1c wiąże się ze wzrostem ryzyka rozwoju niewydolności serca niezależnie od otyłości, nadciśnienia tętniczego, choroby niedokrwiennej serca, o około 8% u chorych z cukrzycą typu 2 [63]

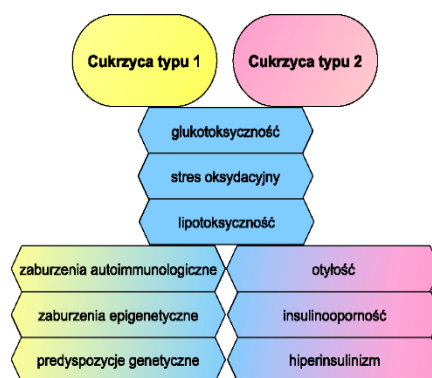
i prawie 30% u chorych z cukrzycą typu 1 [40]. Udowodniono ponadto ochronny wpływ terapii hipoglikemizującej na rozwój niewydolności serca w cukrzycy typu 2 dla leków doustnych, takich jak: metformina [4], leki z grupy inhibitorów kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2) [48, 78] oraz leki inkretynowe [43, 44]. W badaniu The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych obserwowano u chorych z cukrzycą typu 1 stosujących intensywną insulinoterapię w porównaniu do tych, którzy stosowali konwencjonalną insulinoterapię [64]. Ważna wydaje się więc normalizacja wartości glikemii, przy czym bez zwiększenia częstotliwości hipoglikemii, które mogą wpłynąć na wzrost śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych, szczególnie u osób starszych, co wykazano, obserwując chorych na cukrzycę typu 2 w badaniu ACCORD [55].

Bez wątpienia, niewydolność serca u chorych z wieloletnim wywiadem cukrzycy jest wypadkową wielu schorzeń. Za czynniki ryzyka rozwoju niewydolności serca u diabeetyków poza złym wyrównaniem metabolicznym, uważa się: otyłość, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia lipidowe, obecność retinopatii lub nefropatii cukrzycowej oraz inne [39, 50, 66] (ryc. 1).

Wykazano, że zarówno w cukrzycy typu 2 (w badaniu STENO-2) [19], jak i typu 1 (w badaniu DDTC/EDIC) [64] najbardziej skuteczna w obniżaniu ryzyka sercowo-naczyniowego jest wieloczynnikowa terapia obejmująca normalizację glikemii, wartości ciśnienia tętniczego, zaburzeń lipidowych, masy ciała oraz funkcji nerek.

Choroby układu sercowo-naczyniowego są główną przyczyną zgonów, nie tylko u chorych z wieloletnim wywiadem choroby, ale również u młodych dorosłych z cukrzycą typu 1 [20], można więc domniemywać o znaczącym wpływie zaburzeń immunologicznych w ich patogenezie. Istotne wyniki badań przedstawiono w nielicznych pracach, w których wykazano obecność zaburzeń funkcji rozkurczowej mięśnia sercowego nawet u dzieci oraz u młodych dorosłych z cukrzycą typu 1, mimo krótkiego czasu trwania choroby [26], dobrego wyrównania metabolicznego [1, 11, 73] oraz braku innych powikłań [13]. Obserwacje te sugerują związek z czynnikami genetycznymi, czego dowodem są badania potwierdzające np. korelację występowania powikłań cukrzycowych z polimorfizmami wybranych genów (m.in: reduktazy aldozowej (rs759853) lub osteoprotegeryny (rs3134069, rs2073618)) [45, 46, 47]. W kardiomiopatii cukrzycowej wykazano udział genów związanych m.in. z aktywacją stanu zapalnego, stresem oksydacyjnym, włóknieniem, naprawą DNA, szlakiem sygnalizacyjnym Wnt oraz odpowiadających za równowagę biochemiczną [39]. Niezwykle istotnymi wydają się ponadto interakcje między czynnikami środowiskowymi a zmianami w ekspresji genów. W komórkach śródłonka aorty *in vitro*, jak i u myszy bez cukrzycy wykazano, że przejściowa hiperglikemia indukuje długotrwałe zmiany epigenetyczne, prowadzące do rozwoju odległych powikłań

naczyniowych [18, 60] i być może determinuje rozwój niewydolności serca. Badania sugerują ponadto odmienne tło patogenetyczne rozwoju niewydolności serca, w zależności od typu cukrzycy. W badaniach na modelach zwierzęcych obu typów cukrzycy wykazano zaburzenia procesów autofagii kardiomiocytów, które były nasilone w modelu cukrzycy typu 1 (u myszy z cukrzycą streptozotocynową), a zmniejszone w cukrzycy typu 2 (u otyłych myszy db/db), wskazując na różne mechanizmy patogenetyczne rozwoju kardiomiopatii [30]. Wiąże się z tym dwa różne fenotypy tego powikłania: rozstrzeniowy, który cechuje zanik komórek oraz związek z czynnikami immunologicznymi oraz typ restrykcyjny charakterystyczny dla osób z otyłością, u których większą rolę odgrywa najprawdopodobniej insulinooporność i hiperinsulinizm [59]. Wspólne pozostają zaburzenia metaboliczne związane z hiperglikemią: lipotoksyczność i hipoteza stresu oksydacyjnego. Uwzględniając różnice w podłożu patogenetycznym cukrzycy typu 1 i 2 wydaje się, że podobnych różnic można się dopatrywać w podłożu kardiomiopatii cukrzycowej (ryc. 2).

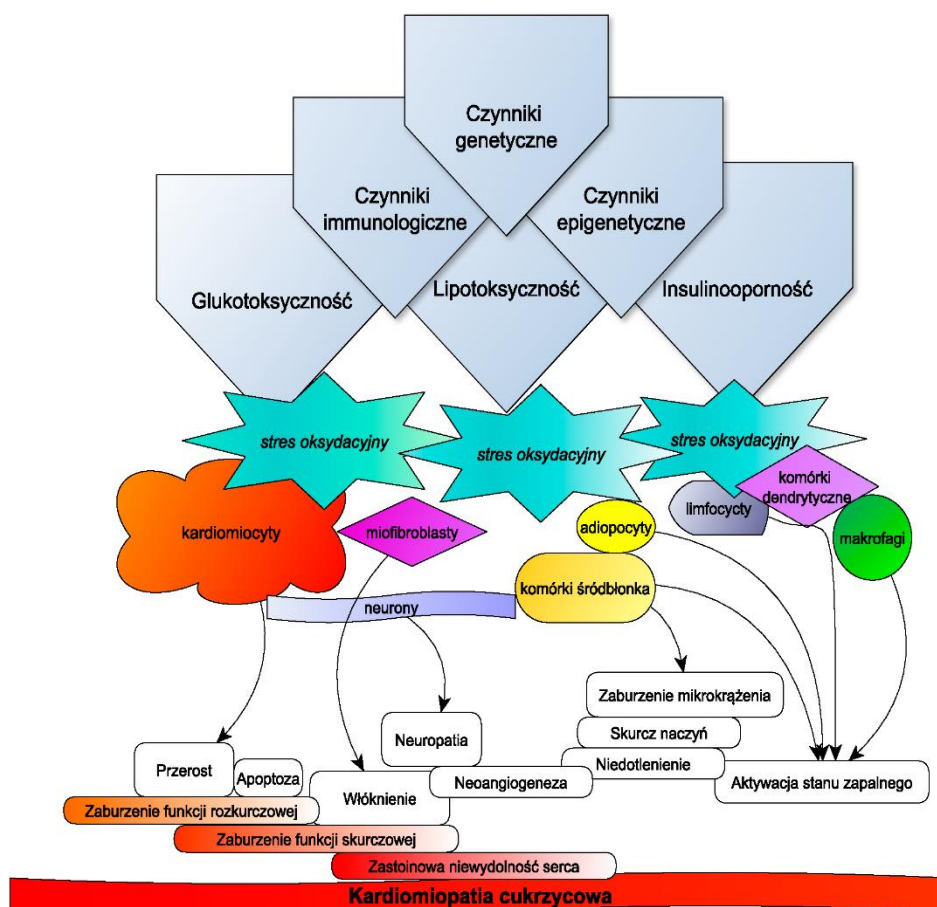


Ryc. 2. Czynniki patogenetyczne prowadzące do rozwoju niewydolności serca w zależności od typu cukrzycy. Opracowanie własne na podstawie [59]

KONCEPCJE PODŁOŻA PATOGENETYCZNEGO I IMPLIKACJE TERAPEUTYCZNE

Jak wspomniano, patogeneza kardiomiopatii cukrzycowej jest złożona i wciąż niewystarczająco poznana. Podejrzewa się, że u podłoża kardiomiopatii cukrzycowej leżą: zaburzenia metaboliczne związane z hiperglikemią, lipotoksyczność, insulinooporność, stres oksydacyjny, dysfunkcja układu immunologicznego, predyspozycje genetyczne, jak również zaburzenia epigenetyczne. Wykazano, że zmiany wywołujące to powikłanie obejmują nie tylko komórki miokardium, ale również komórki podścieliska, mikrokrążenia, włókna układu autonomicznego serca oraz komórki układu immunologicznego [49]. Najważniejsze składowe czynniki patogenetyczne kardiomiopatii cukrzycowej oraz ich kliniczne konsekwencje przedstawiono na ryc. 3.

Według Brownlee wszystkie zaburzenia metaboliczne związane z hiperglikemią powodują nadmierne wytwarzanie



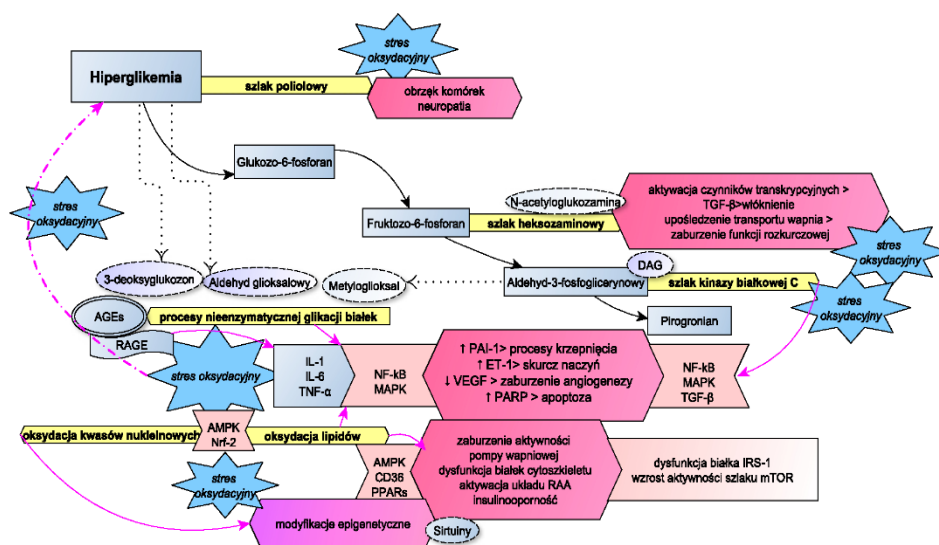
Ryc. 3. Najważniejsze składowe czynniki patogenetyczne kardiomiopatii cukrzycowej i ich kliniczne konsekwencje. Opracowanie własne na podstawie: [9, 10, 39, 49]

wolnych rodników tlenowych przez mitochondria, co wydaje się najważniejsze w indukcji szlaków patofizjologicznych związanych z rozwojem powikłań cukrzycowych [10]. Hipoteza tzw. pamięci metabolicznej wskazuje na rolę nieenzymatycznej glikacji białek i lipidów w aktywacji stresu oksydacyjnego, który utrzymuje się niezależnie od stężenia glukozy oraz może wyjaśniać rozwój powikłań sercowo-naczyniowych mimo dobrego wyrównania metabolicznego [14, 15]. Podejrzewa się, że hiperglikemia – właśnie przez stres oksydacyjny, wywołuje trwałe modyfikacje epigenetyczne warunkujące „kaskadę” zjawisk odpowiedzialnych za przewlekły stan zapalny [8, 9]. Stan hiperglikemii, czy to w chwili rozpoznania cukrzycy, czy podczas epizodu kwasicy ketonowej lub nawet wzrost stężenia glukozy po posiłku, wydaje się inicjatorem dalszych, długotrwałych uszkodzeń komórek [25]. Badania ostatnich lat dowiodły, że główną rolę w ochronie komórek przed stresem oksydacyjnym pełni czynnik transkrypcyjny Nrf2. W badaniu przeprowadzonym na modelu mysim cukrzycy typu 2 zaobserwowano kardioprotekcyjny wpływ kumkwatu, czyli tzw. „złotej pomarańczy” – owocu bogatego

w antyoksydanty, właśnie przez modulację szlaku AMPK/Nrf2 [77]. Podobny skutek wykazano po podaniu metforminy (w modelu szczurzym cukrzycy typu 1), gdzie przez zwiększenie aktywności szlaku Nrf2/HO-1 oraz zahamowaniu szlaku JAK/STAT zapobiegano remodelingowi w obrębie mięśnia sercowego [2].

W patogenezie kardiomiopatii cukrzycowej bez wątpienia istotną rolę odgrywa aktywacja alternatywnych szlaków związanych z przemianami glukozy (ryc. 4).

W wyniku nasilenia szlaku polioloowego komórki, dla których transport glukozy nie jest zależny od insuliny (np. neurony lub komórki śródbłonka) są podatne na gromadzenie sorbitolu i fruktozy, zaburzając równowagę między układami utleniaczy i przeciwutleniaczy. Stan tzw. pseudohipoksji hiperglikemicznej prowadzi do obrzęku i uszkodzenia komórek [62, 67]. Aktywacja procesów nieenzymatycznej glikacji białek wywołuje natomiast nie tylko dysfunkcję białek krążących we krwi oraz cząsteczek



Ryc. 4. W stanie hiperglikemii aktywacji ulegają alternatywne szlaki przemiany glukozy, takie jak: polioliowy, heksosaminowy, kinazy białkowej C oraz procesy nieenzymatycznej glikacji białek. Ważnym ogniwem tych przemian jest stres oksydacyjny (związany z dysfunkcją szlaku AMPK/Nrf-2), który pośredniczy również w wywołaniu lipotoksyczności (za którą odpowiada dysfunkcja transportera CD36 i receptorów PPARs) oraz oksydacji kwasów nukleinowych. Skutkiem jest aktywacja:

- stanu zapalnego (poprzez czynnik transkrypcyjny NF-κB),
- przerostu komórek (poprzez kaskadę MAPK),
- procesów włóknienia (związanych z aktywacją TGF-β),
- insulinooporności i dominacji układu RAA (wywołująca wzrost aktywności szlaku mTOR),
- mikroangiopatii (w której uczestniczą m.in. ET-1, PAI-1, VEGF, PARP).

Schemat na podstawie [8, 9, 10]

macierzy zewnątrzkomórkowej, ale również inicjuje stres oksydacyjny i stan zapalny przez połączenie z receptorami końcowych produktów zaawansowanej glikacji, znajdującymi się na komórkach układu immunologicznego i śródbłonna. Uwalniają one wówczas cytokiny prozapalne m.in. TNF-α, IL-1β, IL-6, które łącznie z wewnątrzkomórkową aktywacją jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF-κB odpowiadają za nasilenie stanu zapalnego, zaburzenie fibrylizacji, krzepnięcia i apoptozy [8]. W badaniach eksperymentalnych *in vitro* wykazano pozytywny wpływ modulacji szlaku NF-κB na żywotność kardiomiocytów, poddanych wysokim stężeniom glukozy, dzięki zmniejszeniu stanu zapalnego [71]. Jak wykazały badania Al-Malki i wsp. na rozwój nefropatii i kardiomiopatii cukrzycowej przeprowadzone na modelu zwierzęcym cukrzycy typu 2, wpływał związek zawarty w imbirze, znany jako 6-shogaol, który znacząco obniżył parametry stresu oksydacyjnego i apoptozy, właśnie przez zahamowanie szlaku NF-κB [3].

Hiperglikemia nasila również aktywność szlaku heksosaminowego, w wyniku którego wewnątrzkomórkowo powstaje N-acetyloglukozamina. Jej połączenie z resztami serynowymi i treoninowymi czynników transkrypcyjnych zwiększa ekspresję genu kodującego transformujący czynnik wzrostu TGF-β [35]. W jednym z niedawnych badań przeprowadzonych na modelu mysim wykazano, że inhibitory SGLT2 hamują szlak TGF-β-Smad w tkance serca, opóźniając

w ten sposób włóknienie oraz rozwój niewydolności serca [38]. Aktywacja szlaku heksosaminowego, najprawdopodobniej wiąże się również z zaburzeniem funkcji rozkurczowej kardiomiocytów, zmniejszając aktywność promotora wapniowej ATPazy SERCA2A, upośledzając transport wapnia z retikulum sarkoendoplazmatycznego [17]. Innym ogniwem patogenetycznym związanym z hiperglikemią jest aktywacja szlaku kinazy białkowej C wywołana zwiększeniem stężenia diacyloglicerolu (DAG) syntetyzowanego z pośrednich produktów glikolizy. Białka z rodziny kinazy białkowej C regulują transkrypcję genów, uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej oraz odgrywają ważną rolę w przekazywaniu sygnałów między komórkami. Aktywacji ulega:

- wspomniany już, a odpowiadający za stan zapalny czynnik jądrowy NF-κB;
- warunkująca procesy proliferacji kinaza białkowa aktywowana mitogenem (MAPK) oraz
- sprzyjająca włóknieniu ekspresja TGF-β.

Zmniejszenie syntezy czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) zwiększa natomiast przepuszczalność naczyń, zaburza angiogenezę i prowadzi do rozwoju mikroangiopatii [9, 58]. W badaniu przeprowadzonym na modelu cukrzycy streptozotocynowej u szczurów udowodniono, że doustne spożycie kurkuminy (naturalnego związku polifenolowego pochodzącego z kłącza ostryżu długiego – *lac. Curcuma longa*L.),

może zmniejszyć odkładanie kolagenu w mięśniu sercowym właśnie przez zahamowanie szlaku TGF- β oraz kinazy MAPK [23]. W innym badaniu doświadczalnym wykazano, że melatonina, przez fosforylację VEGF, wpływa ochronnie nie tylko na naczynia wieńcowe, ale również na kardiomiocyty, gdyż hamuje ich przerost [7]. Aktywacja szlaku kinazy białkowej C nasila procesy krzepnięcia przez zwiększenie syntezy inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1) oraz zmniejszenie syntezy tlenku azotu (NO), co wywołuje wazokonstrykcję, upośledza przepływ krwi i prowadzi do niedotlenienia. Powyższe procesy udało się ograniczyć u samców szczurów z cukrzycą indukowaną streptozotocyną, które były poddane ćwiczeniom na bieżni. Obserwowano u nich zmniejszenie ekspresji PAI-1 i większą aktywność eNOS, a to wiąże się z działaniem kardioprotekcyjnym [16].

Oprócz zaburzeń metabolicznych związanych z hiperглиkemią ważną rolę w patogenezie dysfunkcji mięśnia sercowego w cukrzycy odgrywa zaburzony metabolizm wolnych kwasów tłuszczowych, których nadmiar w komórkach wywołuje lipotoksyczność. Przejawia się to nadmierną generacją wolnych rodników tlenowych, zaburzeniem aktywności sarkoplazmatycznej pompy wapniowej oraz dysfunkcją białek cytoskieletu, aktyny i miozyny. Sugeruje się związek między rozwojem kardiomiopatii cukrzycowej, a dysfunkcją receptora CD36 oraz receptorów aktywowanych proliferatorami peroksydomów (PPARs) odpowiadających za prawidłowy metabolizm kwasów tłuszczowych [36]. Niezwykle istotne wyniki badań przedstawili Wu i wsp., którzy udowodnili kardioprotekcyjne działanie leków inkretynowych u myszy z cukrzycą streptozotocynową przez zahamowanie nieprawidłowej aktywacji szlaku PPAR- α -CD36 i tym samym zmniejszenie lipotoksyczności [70]. Przypuszcza się, że działa ochronnie na serce może również restrykcja kaloryczna, dla której obserwowano zwiększenie aktywności koaktywatora receptora PPARy oraz sirtuiny 1 (SIRT1) zwanej białkiem długowieczności [69]. Białka z grupy sirtuin uczestniczą bowiem w metabolizmie tłuszczu i cukrów, mogą zwiększać ilość antyoksydantów oraz regulować ekspresję genów odpowiedzialnych za rozwój powłok cukrzycowych [33]. Zarówno w typie 1, jak i 2 cukrzycy wykazano ochronny wpływ jednego z aktywatorów SIRT1 – resweratolu (3,5,4'-trihydroksy-trans-stilbeny, polifenol należący do flawonoidów) na wyindukowany hiperglikemią stres oksydacyjny w mięśniu sercowym [5].

Powszechnie znanym następstwem lipotoksyczności jest także nasilenie odpowiedzi immunologiczno-zapalnej śródbłonna oraz aktywacja układu RAA, co zaburza homeostazę między wydzielanymi czynnikami wazodylatacyjnymi i wazokonstrykcyjnymi, wydzielanie białek sprzyjających przerostowi kardiomiocytów oraz nasila włóknienie [9]. Jedno z ostatnich badań na modelu streptozotocynowej cukrzycy u szczurów dowiodło, że terapia inhibitorem angiotensyny II i neprylizyny (ARNi) hamuje rozwój kardiomiopatii cukrzycowej przez zmniejszenie aktywności szlaków związanych z aktywacją stanu zapalnego (NF- κ B/MCP-1), włóknienia (TGF- β /Smad7) i apoptozy (PARP/kaspaza-3) [42]. W innym badaniu Castoldi i wsp. wykazali

związek pobudzenia receptorów angiotensyny typu 2 (AT2) lub zablokowania receptorów angiotensyny typu 1 (AT1) z zahamowaniem przerostu kardiomiocytów w przebiegu cukrzycy. Za kardioprotekcyjne działanie losartanu odpowiada najprawdopodobniej ekspresja miR-30a-3p oraz gen PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome Ten) [12].

Wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w komórkach miokardium zaburza funkcjonowanie szlaków sygnałowych, w których uczestniczy insulina. Dezaktywacja białka IRS-1 zmniejsza wychwyt glukozy do komórki przez receptor GLUT4 i odpowiada za insulinoporność. Jej następstwem jest zmniejszenie syntezy tlenku azotu, zaburzenie transportu wapnia przez siateczkę endoplazmatyczną w kardiomiocytach oraz promowanie ekspresji białek odpowiadających za przerost kardiomiocytów (takich jak insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1)) [65]. Badanie przeprowadzone na modelu zwierzęcym cukrzycy typu 2 wykazało korzystny wpływ trokserutyny (półsyntetycznej pochodnej rutyny) na parametry układu sercowo-naczyniowego przez modulację szlaku NF- κ B/IRS1 [76]. W wyniku zaburzeń metabolicznych związanych z insulinopornością oraz nadmierną aktywacją układu RAA dochodzi do obniżenia aktywności kinazy aktywowanej przez AMP (AMPK), co jednocześnie wiąże się ze wzrostem aktywności szlaku kinazy serynowo-treoninowej mTOR oraz nadekspresją białek prozapalnych, odpowiadających za regulację wzrostu, wazokonstrykcję oraz zaburzenie funkcji rozkurczowej [34]. Wykazano kardioprotekcyjne działanie melatoniny przez zmniejszenie stresu oksydacyjnego oraz aktywności wspomnianego szlaku mTOR [31].

W patogenezie uszkodzenia mięśnia sercowego w cukrzycy, oprócz zaburzeń metabolicznych, ważną rolę odgrywa zaburzenie równowagi immunologicznej, które może mieć charakter miejscowy i/lub ogólnoustrojowy. Zarówno w cukrzycy typu 1, jak i w otyłości prowadzącej do cukrzycy typu 2, obserwuje się zaburzoną odpowiedź immunologiczną. W badaniu przeprowadzonym na modelu mysim otyłości wywołanej dietą wykazano, że pod wpływem „diety zachodniej” (indukującej insulinoporność) zwiększa się liczba komórek o profilu prozapalnym (makrofagów M1) kosztem komórek o działaniu przeciwzapalnym (makrofagów M2). Ponadto wzrasta aktywność metaloproteinazy-9 (MMP-9) i szlaków sygnałowych TGF- β zależnych od białek Smad, czego następstwem jest nasilenie procesów włóknienia, przerost kardiomiocytów oraz zaburzenie funkcji rozkurczowej [29]. W innych badaniach wykazano związek między przewagą limfocytów Th1 oraz wydzielanymi przez nie INF-gamma oraz IL-18 nad Th2 w macierzy zewnątrzkomórkowej serca oraz zwiększonym włóknieniem śródmiąższowym [61, 74, 75]. W coraz większej liczbie prac wskazuje się na zależność między kwasicą ketonową w przebiegu cukrzycy typu 1, a nasiloną odpowiedzią immunologiczno-zapalną powodującą dysfunkcję mięśnia sercowego. W jednej z prac opisano u dzieci z kwasicą ketonową związek odpowiedzi komórkowej zależnej od limfocytów pomocniczych Th17 oraz wydzielanymi cytokinami prozapalnymi (tj. GM-CSF, G-CSF, IL-12p40,

Tabela 1. Związek między interwencjami terapeutycznymi a podłożem molekularnym w zahamowaniu niewydolności serca dowiedzione w badaniach eksperymentalnych

Forma interwencji	Skutek	Punkt uchwytu w podłożu molekularnym
Restrykcja pokarmowa	Zmniejszenie stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego i włóknienia w miokardium [69]	PPAR ↑ SIRT1 ↑ TNF-α ↓ TGF-β ↓
Aktywność fizyczna	Ochrona komórek śródbłonna naczyniowego, zapobieganie nadkrzepliwości i wazokonstrykcji [16]	PKC ↓ PAI-1 ↓ eNOS ↑
Metformina	Zmniejszenie stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego [2]	JAK/STAT ↓ Nrf2/HO-1 ↑
Empagliflozyna	Zahamowanie włóknienia w miokardium [38]	TGF-β-Smad ↓
Agonista GLP-1 (extendin-4) Inhibitor DPP-4 (saksagliptyna)	Ograniczenie lipotoksyczności w mięśniu sercowym [70]	PPAR-alfa-CD36 ↓
ARNi (telmisartan/thiorphan)	Zahamowanie szlaków związanych ze stanem zapalnym, włóknieniem i apoptozą [42]	NF-κB / MCP-1 ↓ TGF-β/ Smad7 ↓ PARP / kaspaza-3 ↓
6-shogaol zawarty w imbirze	Ochrona przed glukotoksycznością [3]	NF-κB ↓
Kurkumina	Zmniejszenie stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego [2] oraz zahamowanie odkładania kolagenu w miokardium [23]	JAK/STAT ↓ Nrf2/HO-1 ↑ TGF-β ↓ MAPK ↓
Melatonina	Ograniczenie przerostu mięśnia sercowego [7] oraz zmniejszenie stresu oksydacyjnego [31]	VEGF-A ↑ PKC ↓ mTOR ↓
Troksuretyna	Zmniejszenie stresu oksydacyjnego i insulinooporności [76]	NF-κB ↓ AKT ↓ IRS1 ↑
Kumkwat „złota pomarańcza”	Zmniejszenie stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego indukowanego hiperglikemią [77]	AMPK/Nrf2 ↑
Resweratol	Zmniejszenie stresu oksydacyjnego w miokardium [5]	PPAR ↑ SIRT1 ↑
Triptolide	Działanie immunosupresyjne, przeciwzapalne i antyfibrotyczne w mięśniu sercowym [24]	TLR4/NF-κB/IL-1β ↓ NF-κB/TNF-α/VCAM-1 ↓ TGF-β1/α-SMA/Vimentin ↓

IL-17) z zaburzeniem funkcji rozkurczowej mięśnia sercowego [27]. W innym badaniu, przeprowadzonym również w grupie młodych pacjentów z cukrzycą typu 1 i kwasicą ketonową, opisano obecność przeciwciał skierowanych przeciwko białkom swoistym dla serca, co sugerowałoby udział komponenty autoimmunologicznej w patogenezie kardiomiopatii cukrzycowej [28]. W jednej z ostatnich prac Guo i wsp. wykazali skuteczność triptolide (tj. substancji pochodzącej z chińskiego zioła *Lei gong teng* (*Tripterygium wilfordii*), o silnych właści-

wościach immunosupresyjnych) w regresie kardiomiopatii cukrzycowej właśnie przez zahamowanie szlaków związanych z aktywnością immunologiczną (TLR4/NF-κB/IL-1β), stanem zapalnym (NF-κB/TNF-α/VCAM-1) oraz włóknieniem (TGF-β1/α-SMA/Vimentin) [24]. Wpływ interwencji terapeutycznych na omawiane czynniki (ich aktywność, a w konsekwencji, zahamowanie rozwoju niewydolności serca w cukrzycy) przedstawiono w tabeli 1.

Obecnie coraz więcej uwagi badacze poświęcają mechanizmom epigenetycznym, które najprawdopodobniej również leżą u podłoża kardiomiopatii cukrzycowej. Oprócz metylacji DNA oraz acetylacji histonów niezwykle obiecujące wydają się badania nad mikroRNA. Małe, jednocieniowe, niekodujące sekwencje RNA regulują ekspresję genów, odpowiedzialnych za odpowiedź immunologiczną, aktywację stanu zapalnego lub apoptozę [21]. Transportowane w egzozomach, umożliwiają komunikację międzykomórkową, są stabilne oraz łatwo wykrywalne, dzięki czemu mogłyby być wykorzystane jako markery diagnostyczne. Udowodniono liczne powiązania między obecnością różnych mikroRNA a podłożem patofizjologicznym kardiomiopatii cukrzycowej [22]. W badaniu przeprowadzonym na myszach z cukrzycą streptozotocynową wykazano związek między hiperглиkemią, zmianami w acetylacji histonów i ekspresją czynnika transkrypcyjnego CREM w kardiomiocytach, co prowadziło do włóknienia mięśnia sercowego [6]. Wydaje się więc, że nawet przejściowe zaburzenia metaboliczne przez wywołanie zmian epigenetycznych mogą w długotrwały sposób determinować rozwój powikłań cukrzycowych. Bez wątpienia lepsze poznanie tych mechanizmów zapewne umożliwi opracowanie nowej, skutecznej strategii terapeutycznej.

PIŚMIENNICTWO

[1] Abd-El Aziz F.M., Abdelghaffar S., Hussien E.M., Fattouh A.M.: Evaluation of cardiac functions in children and adolescents with type 1 diabetes. *J. Cardiovasc. Ultrasound.*, 2017; 25: 12-19

[2] Abdelsamia E.M., Khaleel S.A., Balah A., Abdel Baky N.A.: Curcumin augments the cardioprotective effect of metformin in an experimental model of type 1 diabetes mellitus; Impact of Nrf2/HO-1 and JAK/STAT pathways. *Biomed. Pharmacother.*, 2019; 109: 2136-2144

[3] Al-Malki W.H., Abdel-Raheem I.T., Dawoud M.Z., Abdou R.F.: 6-shogaol protects against diabetic nephropathy and cardiomyopathy via modulation of oxidative stress/NF- κ B pathway. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2018; 31: 2109-2117

[4] Andersson C., Olesen J.B., Hansen P.R., Weeke P., Norgaard M.L., Jørgensen C.H., Lange T., Abildstrøm S.Z., Schramm T.K., Vaag A., Køber L., Torp-Pedersen C., Gislason G.H.: Metformin treatment is associated with a low risk of mortality in diabetic patients with heart failure: A retrospective nationwide cohort study. *Diabetologia*, 2010; 53: 2546-2553

[5] Bagul P.K., Dinda A.K., Banerjee S.K.: Effect of resveratrol on sirtuins expression and cardiac complications in diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015; 468: 221-227

[6] Barbati S.A., Colussi C., Bacci L., Aiello A., Re A., Stigliano E., Isidori A.M., Grassi C., Pontecorvi A., Farsetti A., Gaetano C., Nanni S.: Transcription factor CREM mediates high glucose response in cardiomyocytes and in a male mouse model of prolonged hyperglycemia. *Endocrinology*, 2017; 158: 2391-2405

[7] Behram Kandemir Y., Guntekin U., Tosun V., Korucuk N., Bozdemir M.N.: Melatonin protects against streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy by the phosphorylation of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A). *Cell. Mol. Biol.*, 2018; 64: 47-52

[8] Brownlee M.: Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care*, 1992; 15:1835-1843

PODSUMOWANIE

Podłoże patogenetyczne kardiomiopatii cukrzycowej jest złożone i różni się w zależności od typu cukrzycy. Mimo wielu badań eksperymentalnych oraz obserwacji klinicznych, nadal nie jest wystarczająco dobrze poznane – szczególnie w cukrzycy typu 1. Liczne hipotezy m.in.: stresu oksydacyjnego, pamięci metabolicznej, modyfikacji epigenetycznych, zaburzeń układu immunologicznego, opisują podłoże patogenetyczne oraz wskazują na konieczność stosowania wielokierunkowej terapii. W schorzeniu tym, wśród mechanizmów molekularnych wymienia się zaburzenie szlaków związanych z: hiperglykemią (poliolowego, heksozaminowego, kinazy białkowej C, AGEs), aktywacją stanu zapalnego (NF- κ B), stresem oksydacyjnym (Nrf-2), przerostem (MAPK), włóknieniem (TGF- β), apoptozą (PARP), lipotoksycznością (PPARs), układem RAA i insulinoopornością (mTOR), modyfikacjami epigenetycznymi (CREM). Bez wątpienia wyniki badań eksperymentalnych wymagają potwierdzenia w badaniach klinicznych, niemniej jednak dają nadzieję na stworzenie wielokierunkowej terapii, która nie tylko skutecznie zapobiegnie rozwojowi powikłań sercowo-naczyniowych, ale przede wszystkim wydłuży życie chorych na cukrzycę.

[9] Brownlee M.: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001; 414: 813-820

[10] Brownlee M.: The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*, 2006; 54: 615-625

[11] Brunvand L., Heier M., Brunborg C., Hanssen K.F., Fugelseth D., Stensaeth K.H., Dahl-Jørgensen K., Margeirsdottir H.D.: Advanced glycation end products in children with type 1 diabetes and early reduced diastolic heart function. *BMC Cardiovasc. Disord.*, 2017; 17: 133

[12] Castoldi G., di Gioia C.R.T., Roma F., Carletti R., Manzoni G., Stella A., Zerbini G., Perseghin G.: Activation of angiotensin type 2 (AT2) receptors prevents myocardial hypertrophy in Zucker diabetic fatty rats. *Acta Diabetol.*, 2019; 56: 97-104

[13] Cecchi E., Pomari F., Brusasco G., Angelino P., Blatto A., Gamba S., Demarie D., Moratti M., Ghisio A., Gaschino G. i wsp.: Preclinical left ventricular diastolic dysfunction in insulin-dependent diabetes. *G. Ital. Cardiol.*, 1994; 24: 839-844

[14] Ceriello A.: Hypothesis: The "metabolic memory", the new challenge of diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2009; 86: S2-S6

[15] Ceriello A., Ihnat M.A., Thorpe J.E.: The "metabolic memory": Is more than just tight glucose control necessary to prevent diabetic complications? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009; 94: 410-415

[16] Chengji W., Xianjin F.: Treadmill exercise alleviates diabetic cardiomyopathy by suppressing plasminogen activator inhibitor expression and enhancing eNOS in streptozotocin-induced male diabetic rats. *Endocr. Connect.*, 2018; 7: 553-559

[17] Clark R.J., McDonough P.M., Swanson E., Trost S.U., Suzuki M., Fukuda M., Dillmann W.H.: Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 44230-44237

- [18] El-Osta A., Brasacchio D., Yao D., Poci A., Jones P.L., Roeder R.G., Cooper M.E., Brownlee M.: Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J. Exp. Med.*, 2008; 205: 2409–2417
- [19] Gaede P., Vedel P., Larsen N., Jensen G.V., Parving H.H., Pedersen O.: Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 383–393
- [20] Gagnum V., Stene L.C., Jenssen T.G., Berteussen L.M., Sandvik L., Joner G., Njølstad P.R., Skrivarhaug T.: Causes of death in childhood-onset Type 1 diabetes: Long-term follow-up. *Diabet. Med.*, 2017; 34: 56–63
- [21] Ghosh N., Katare R.: Molecular mechanism of diabetic cardiomyopathy and modulation of microRNA function by synthetic oligonucleotides. *Cardiovasc. Diabetol.*, 2018; 17: 43
- [22] Guo R., Nair S.: Role of microRNA in diabetic cardiomyopathy: From mechanism to intervention. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis. Dis.*, 2017; 1863: 2070–2077
- [23] Guo S., Meng X.W., Yang X.S., Liu X.F., Ou-Yang C.H., Liu C.: Curcumin administration suppresses collagen synthesis in the hearts of rats with experimental diabetes. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2018; 39: 195–204
- [24] Guo X., Xue M., Li C.J., Yang W., Wang S.S., Ma Z.J., Zhang X.N., Wang X.Y., Zhao R., Chang B.C., Chen L.M.: Protective effects of tripotolide on TLR4 mediated autoimmune and inflammatory response induced myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy. *J. Ethnopharmacol.*, 2016; 193: 333–344
- [25] Hanefeld M., Fischer S., Julius U., Schulze J., Schwanebeck U., Schmechel H., Ziegler H.J., Lindner J., The DIS Group: Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: The Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia*, 1996; 39: 1577–1583
- [26] Hodzic A., Ribault V., Maragnes P., Milliez P., Saloux E., Labombarda F.: Decreased regional left ventricular myocardial strain in type 1 diabetic children: A first sign of diabetic cardiomyopathy? *J. Transl. Int. Med.*, 2016; 4: 81–87
- [27] Hoffman W.H., Passmore G.G., Hannon D.W., Talor M.V., Fox P., Brailer C., Haislip D., Keel C., Harris G., Rose N.R., Fioridalis I., Čiháková D.: Increased systemic Th17 cytokines are associated with diastolic dysfunction in children and adolescents with diabetic ketoacidosis. *PLoS One*, 2013; 8: e71905
- [28] Hoffman W., Sharma M., Čihakova D., Talor M.V., Rose N.R., Mohanakumar T., Passmore G.G.: Cardiac antibody production to self-antigens in children and adolescents during and following the correction of severe diabetic ketoacidosis. *Autoimmunity*, 2016; 49: 188–196
- [29] Jia G., Habibi J., Bostick B.P., Ma L., DeMarco V.G., Aroor A.R., Hayden M.R., Whaley-Connell A.T., Sowers J.R.: Uric acid promotes left ventricular diastolic dysfunction in mice fed a Western diet. *Hypertension*, 2015; 65: 531–539
- [30] Kanamori H., Takemura G., Goto K., Tsujimoto A., Mikami A., Ogino A., Watanabe T., Morishita K., Okada H., Kawasaki M., Seishima M., Minatoguchi S.: Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy*, 2015; 11: 1146–1160
- [31] Kandemir Y.B., Tosun V., Güntekin U.: Melatonin protects against streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy through the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2019; 28: 1171–1177
- [32] Kannel W.B., Hjortland M., Castelli W.P.: Role of diabetes in congestive heart failure: The Framingham study. *Am. J. Cardiol.*, 1974; 34: 29–34
- [33] Karbasforooshan H., Karimi G.: The role of SIRT1 in diabetic cardiomyopathy. *Biomed. Pharmacother.*, 2017; 90: 386–392
- [34] Kim J.A., Jang H.J., Martinez-Lemus L.A., Sowers J.R.: Activation of mTOR/p70S6 kinase by ANG II inhibits insulin-stimulated endothelial nitric oxide synthase and vasodilation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2012; 302: E201–E208
- [35] Kolm-Litty V., Sauer U., Nerlich A., Lehmann R., Schleicher E.D.: High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 160–169
- [36] Lee T.W., Bai K.J., Lee T.I., Chao T.F., Kao Y.H., Chen Y.J.: PPARs modulate cardiac metabolism and mitochondrial function in diabetes. *J. Biomed. Sci.*, 2017; 24: 5
- [37] Leyden D. Asthma und diabetes mellitus. *Zeitschr. Klin. Med.*, 1881; 3: 358–364
- [38] Li C., Zhang J., Xue M., Li X., Han F., Liu X., Xu L., Lu Y., Cheng Y., Li T., Yu X., Sun B., Chen L.: SGLT2 inhibition with empagliflozin attenuates myocardial oxidative stress and fibrosis in diabetic mice heart. *Cardiovasc. Diabetol.*, 2019; 18: 15
- [39] Li N., Wu H., Geng R., Tang Q.: Identification of core gene biomarkers in patients with diabetic cardiomyopathy. *Dis. Markers*, 2018; 2018: 6025061
- [40] Lind M., Bounias I., Olsson M., Gudbjörnsdóttir S., Svensson A.M., Rosengren A.: Glycaemic control and incidence of heart failure in 20,985 patients with type 1 diabetes: An observational study. *Lancet*, 2011; 378: 140–146
- [41] Lundbaek K.: Is there a diabetic cardiopathy? W: Pathogenetische faktoren des myokardinfarkts. red.: G. Schettler, Stuttgart 1969: 63–71
- [42] Malek V., Gaikwad A.B.: Telmisartan and thiorphan combination treatment attenuates fibrosis and apoptosis in preventing diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc. Res.*, 2019; 115: 373–384
- [43] Marso S.P., Bain S.C., Consoli A., Eliaschewitz F.G., Jódar E., Leiter L.A., Lingvay I., Rosenstock J., Seufert J., Warren M.L., Woo V., Hansen O., Holst A.G., Pettersson J., Vilsbøll T. i wsp.: Semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2016; 375: 1834–1844
- [44] Marso S.P., Daniels G.H., Brown-Frandsen K., Kristensen P., Mann J.E., Nauck M.A., Nissen S.E., Pocock S., Poulter N.R., Ravn L.S., Steinberg W.M., Stocker M., Zinman B., Bergenstal R.M., Buse J.B. i wsp.: Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2016; 375: 311–322
- [45] Mrozikiewicz-Rakowska B., Łukawska M., Nehring P., Szymański K., Sobczyk-Kopciol A., Krzyżewska M., Maroszek P., Płoski R., Czupryniak L.: Genetic predictors associated with diabetic retinopathy in patients with diabetic foot. *Pol. Arch. Intern. Med.*, 2018; 128: 35–42
- [46] Mrozikiewicz-Rakowska B., Maroszek P., Nehring P., Sobczyk-Kopciol A., Krzyżewska M., Kaszuba A.M., Łukawska M., Chojnowska N., Kozka M., Bujalska-Zadrozny M., Płoski R., Krzymien J., Czupryniak L.: Genetic and environmental predictors of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes and diabetic foot ulcer: A pilot study. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2015; 66: 751–761
- [47] Mrozikiewicz-Rakowska B., Nehring P., Szymański K., Sobczyk-Kopciol A., Płoski R., Drygas W., Krzymień J., Acharya N.A.,

- Czupryniak L., Przybyłkowski A.: Selected RANKL/RANK/OPG system genetic variants in diabetic foot patients. *J. Diabetes. Metab. Disord.*, 2018; 17: 287-296
- [48] Neal B., Perkovic V., Mahaffey K.W., de Zeeuw D., Fulcher G., Erondou N., Shaw W., Law G., Desai M., Matthews D.R., CANVAS Program Collaborative Group: Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2017; 377: 644-657
- [49] Nemoto O., Kawaguchi M., Yaoita H., Miyake K., Maehara K., Maruyama Y.: Left ventricular dysfunction and remodeling in streptozotocin-induced diabetic rats. *Circ. J.*, 2006; 70: 327-334
- [50] Nichols G.A., Gullion C.M., Koro C.E., Ephross S.A., Brown J.B.: The incidence of congestive heart failure in type 2 diabetes: An update. *Diabetes Care*, 2004; 27: 1879-1884
- [51] Nicolino A., Longobardi G., Furgi G., Rossi M., Zoccolillo N., Ferrara N., Rengo F.: Left ventricular diastolic filling in diabetes mellitus with and without hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 1995; 8: 382-389
- [52] Ohkuma T., Komorita Y., Peters S.A.E., Woodward M.: Diabetes as a risk factor for heart failure in women and men: A systematic review and meta-analysis of 47 cohorts including 12 million individuals. *Diabetologia*, 2019; 62: 1550-1560
- [53] Patel A., MacMahon S., Chalmers J., Neal B., Billot L., Woodward M., Marre M., Cooper M., Glasziou P., Grobbee D., Hamet P., Harrop S., Heller S., Liu L., Mancia G. i wsp.: Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 358: 2560-2572
- [54] Poirier P., Bogaty P., Garneau C., Marois L., Dumesnil J.G.: Diastolic dysfunction in normotensive men with well-controlled type 2 diabetes: Importance of maneuvers in echocardiographic screening for preclinical diabetic cardiomyopathy. *Diabetes Care*, 2001; 24: 5-10
- [55] Riddle M.C.: Effects of intensive glucose lowering in the management of patients with type 2 diabetes mellitus in the action to control cardiovascular risk in diabetes (ACCORD) trial. *Circulation*, 2010; 122: 844-846
- [56] Rubler S., Dlugash J., Yuceoglu Y.Z., Kumral T., Branwood A.W., Grishman A.: New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. *Am. J. Cardiol.*, 1972; 30: 595-602
- [57] Rydén L., Grant P.J., Anker S.D., Berne C., Cosentino F., Danchin N., Deaton C., Escaned J., Hammes H.P., Huikuri H., Marre M., Marx N., Mellbin L., Ostergren J., Patrono C. i wsp.: ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur. Heart J.*, 2013; 34: 3035-3087
- [58] Schalkwijk C.G., Stehouwer C.D.: Vascular complications in diabetes mellitus: The role of endothelial dysfunction. *Clin. Sci.*, 2005; 109: 143-159
- [59] Seferović P.M., Paulus W.J.: Clinical diabetic cardiomyopathy: A two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *Eur. Heart J.*, 2015; 36: 1718-1727
- [60] Siebel A.L., Fernandez A.Z., El-Osta A.: Glycemic memory associated epigenetic changes. *Biochem. Pharmacol.*, 2010; 80: 1853-1859
- [61] Song Y.L., Ford J.W., Gordon D., Shanley C.J.: Regulation of lysyl oxidase by interferon- γ in rat aortic smooth muscle cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 982-988
- [62] Stehouwer C.D., Lambert J., Donker A.J., van Hinsbergh V.W.: Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovasc. Res.*, 1997; 34: 55-68
- [63] Stratton I.M., Adler A.I., Neil H.A., Matthews D.R., Manley S.E., Cull C.A., Hadden D., Turner R.C., Holman R.R.: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): Prospective observational study. *BMJ*, 2000; 321: 405-412
- [64] Subramanian S., Hirsch I.B.: Intensive diabetes treatment and cardiovascular outcomes in type 1 diabetes mellitus: Implications of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study 30-year follow-up. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 2018; 47: 65-79
- [65] Sundgren N.C., Giraud G.D., Schultz J.M., Lasarev M.R., Stork P.J., Thornburg K.L.: Extracellular signal-regulated kinase and phosphoinositol-3 kinase mediate IGF-1 induced proliferation of fetal sheep cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2003; 285: R1481-R1489
- [66] Vaur L., Gueret P., Lievre M., Chabaud S., Passa P., DIABHYCAR Study Group (type 2 DIABetes, Hypertension, Cardiovascular Events and Ramipril) study: Development of congestive heart failure in type 2 diabetic patients with microalbuminuria or proteinuria: Observations from the DIABHYCAR (type 2 DIABetes, Hypertension, Cardiovascular Events and Ramipril) study. *Diabetes Care*, 2003; 26: 855-860
- [67] Vinik A.I.: Diabetic neuropathy: Pathogenesis and therapy. *Am. J. Med.*, 1999; 107: 175-265
- [68] Wai B., Patel S.K., Ord M., MacIsaac R.J., Jerums G., Srivastava P.M., Burrell L.M.: Prevalence, predictors and evolution of echocardiographically defined cardiac abnormalities in adults with type 1 diabetes: An observational cohort study. *J. Diabetes Complications*, 2014; 28: 22-28
- [69] Waldman M., Cohen K., Yadin D., Nudelman V., Gorfil D., Laniado-Schwartzman M., Kornwoski R., Aravot D., Abraham N.G., Arad M., Hochhauser E.: Regulation of diabetic cardiomyopathy by caloric restriction is mediated by intracellular signaling pathways involving 'SIRT1 and PGC-1 α '. *Cardiovasc. Diabetol.*, 2018; 17: 111
- [70] Wu L., Wang K., Wang W., Wen Z., Wang P., Liu L., Wang D.W.: Glucagon-like peptide-1 ameliorates cardiac lipotoxicity in diabetic cardiomyopathy via the PPAR α pathway. *Aging Cell.*, 2018; 17: e12763
- [71] Xu W., Chen J., Lin J., Liu D., Mo L., Pan W., Feng J., Wu W., Zheng D.: Exogenous H2S protects H9c2 cardiac cells against high glucose-induced injury and inflammation by inhibiting the activation of the NF- κ B and IL-1 β pathways. *Int. J. Mol. Med.*, 2015; 35: 177-186
- [72] Yancy C.W., Jessup M., Bozkurt B., Butler J., Casey D.E. Jr., Drazner M.H., Fonarow G.C., Geraci S.A., Horwich T., Januzzi J.L., Johnson M.R., Kasper E.K., Levy W.C., Masoudi F.A., McBride P.E. i wsp.: 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: A report of the American College of Cardiology Foundation /American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2013; 62: e147-e239
- [73] Yoldas T., Örün U.A., Sagsak E., Aycan Z., Kaya Ö., Özgür S., Karademir S.: Subclinical left ventricular systolic and diastolic dysfunction in type 1 diabetic children and adolescents with good metabolic control. *Echocardiography*, 2018; 35: 227-233
- [74] Yu Q., Vazquez R., Khojini E.V., Patel C., Venkataramani R., Larson D.F.: IL-18 induction of osteopontin mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction in mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2009; 297: H176-H185

- [75] Yu Q., Vazquez R., Zabadi S., Watson R.R., Larson D.F.: T-lymphocytes mediate left ventricular fibrillar collagen cross-linking and diastolic dysfunction in mice. *Matrix Biol.*, 2010; 29: 511–518
- [76] Yu Y., Zheng G.: Troxerutin protects against diabetic cardiomyopathy through NfκB/AKT/IRS1 in a rat model of type 2 diabetes. *Mol. Med. Rep.*, 2017; 15: 3473–3478
- [77] Zhao C., Zhang Y., Liu H., Li P., Zhang H., Cheng G.: Fortunellin protects against high fructose-induced diabetic heart injury in mice by suppressing inflammation and oxidative stress via AMPK/Nrf-2 pathway regulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2017; 490: 552–559
- [78] Zinman B., Wanner C., Lachin J.M., Fitchett D., Bluhmki E., Handzel S., Matthews M., DeZeeuw T., Johansen O.E., Woerle H.J., Broedl U.C., Inzucchi S.E.: Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 373: 2117–2128

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

6.2. Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań.

Review • DOI: 10.2478/ahem-2021-0043 • AHM • 27 • 2021 • 802-814



Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej / Advances in Hygiene and Experimental Medicine

Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań

Magdalena Łukawska-Tatarczuk^{1,2}, Beata Mrozikiewicz-Rakowska², Edward Franek^{1,3}, Leszek Czupryniak²

¹Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Diabetologii, CSK MSWiA, Warszawa

²Klinika Diabetologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk

Abstrakt

Przewlekłe powikłania cukrzycy są główną przyczyną obniżenia jakości życia, niepełnosprawności, a nawet przedwczesnej śmierci pacjentów cierpiących na tę chorobę. Mimo istotnego postępu w dziedzinie farmakoterapii, ich leczenie pozostaje nadal wyzwaniem w codziennej praktyce klinicznej. Brak terapii przyczynowej wynika z niewystarczającego zrozumienia molekularnych mechanizmów uszkodzających poszczególne narządy w cukrzycy. Uważa się, że etiopatogeneza tych powikłań jest złożona i zależy od czynników genetycznych i środowiskowych. W ich rozwoju, oprócz zaburzeń metabolicznych związanych z hiperglikemią, nasilenia stresu oksydacyjnego, dysfunkcji śródbłonna, indukcji stanu zapalnego, coraz częściej wskazuje się też na znaczącą rolę zaburzeń immunologicznych. Wyniki badań doświadczalnych przeprowadzonych na zwierzętach, jak również na hodowlach tkankowych, oraz obserwacje kliniczne potwierdzają udział układu odpornościowego obejmujący aktywność autoreaktywnych limfocytów oraz cytotoksyczne działanie autoprzeciwciał w rozwoju poszczególnych powikłań w obu typach cukrzycy. Wydaje się zatem, że zachwianie równowagi immunologicznej wywołujące autoagresję jest ważnym czynnikiem przyczyniającym się do dysfunkcji poszczególnych organów w typach cukrzycy 1 i 2.

Dokładne zrozumienie immunopatogenezy tych zaburzeń może zmienić dotychczasowe podejście w leczeniu powikłań cukrzycy oraz umożliwić opracowanie skutecznej terapii przyczynowej ukierunkowanej na układ odpornościowy. Identyfikacja swoistych autoprzeciwciał mogłaby usprawnić ich wczesną diagnostykę i prewencję. W artykule podjęto próbę analizy czynników ryzyka najczęstszych schorzeń o podłożu autoimmunizacyjnym, ich związku z typem 1 i 2 cukrzycy oraz podsumowano potencjalne znaczenie autoagresji w rozwoju jej powikłań w oparciu o wyniki dotychczasowych badań doświadczalnych i klinicznych.

Słowa kluczowe

powikłania cukrzycowe • podłoże autoimmunizacyjne • autoprzeciwciała • schorzenia autoimmunizacyjne

Received: 12.09.2020, Accepted: 17.06.2021

Abstract

Chronic, diabetic complications are the major causes of disability, reduced quality of life and premature deaths of diabetic patients. Despite significant progress in the field of pharmacotherapy, their treatment remains a considerable challenge for health care providers. The lack of causal therapy results from an insufficient understanding of the mechanisms that lead to organ damage in diabetes. It is believed that etiopathogenesis of diabetic complication is multifactorial and complex and depends on the interplay between genetic and environmental factors. In addition to the hyperglycemia-associated alterations, enhanced oxidative stress, endothelial dysfunction, induction of inflammation, recent evidence has pointed out that immunopathogenic mechanisms also play an important role in the development of these complications.

The results from experimental investigations on animals as well as on tissue cultures and clinical observations have demonstrated the involvement of the immune system in the pathogenesis of diabetic complications, which consists in the activity of autoreactive lymphocytes and the cytotoxic effect of autoantibodies. Interestingly, this has been observed not only for type 1 but also for type 2 models of diabetes. Therefore, it seems that the imbalance in the immune system resulting in self-aggression may be an important factor contributing to the dysfunction of individual organs for both types of diabetes.

A more thorough understanding of the immunopathogenesis of these disorders may change the current approach for the treatment of diabetic complications and allow the use of effective, causal therapy targeting the immune mechanisms. Identification of specific autoantibodies could improve the early diagnosis and prevention of diabetic complications. The article presents an analysis of risk factors for the most common autoimmune diseases, their relationship with type 1 and 2 diabetes, and summarizes the potential role of autoimmunity in the development of its complications based on the results of previous experimental and clinical studies.

Keywords

diabetic complications • autoimmune pathogenesis • autoantibodies • autoimmune disorders



* Corresponding author e-mail: magdalukawska89@gmail.com

© 2021 Magdalena Łukawska-Tatarczuk This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0 License.

802

Wstęp

Początek XX wieku to dynamiczny okres badań nad układem immunologicznym, a wypracowana wtedy koncepcja „horror autotoxicus” zakładała istnienie mechanizmów chroniących organizm przed autoagresją, których niezawodność miała być krytyczna do przeżycia organizmu [1]. Kolejne lata badań wykazały jednak, że ich dysfunkcja może zaistnieć i doprowadzić do schorzeń autoimmunizacyjnych [2], a samo wytwarzanie autoprzeciwciał pełni ważną rolę w utrzymaniu homeostazy, również w stanie fizjologii [3]. Udowodniono, że obiektem ataku przeciwciał mogą być enzymy, hormony, składniki jądra komórkowego, cytoplazmy lub błon komórkowych. Przełomem w zrozumieniu patogenetycy cukrzycy insulinozależnej było odkrycie w 1974 r. specyficznych przeciwciał przeciwko komórkom wysp trzustkowych [4]. Z biegiem lat wyodrębniono różne typy cukrzycy, w zależności od etiologii i przebiegu klinicznego. Zaburzenia autoimmunizacyjne uznano za podstawowe

czynniki w podłożu patogenetycznym cukrzycy typu 1 i typu LADA, hiperinsulinizm i insulinooporność, w rozwoju cukrzycy typu 2. W 2001 r. Wilkin zaproponował „hipotezę akceleratora”, wedle której u podłoża niewydolności wewnątrzwydzielniczej trzustki są trzy procesy: wrodzone szybkie tempo apoptozy komórek beta, insulinooporność oraz autoimmunizacja [5]. Według tej koncepcji wymienione procesy występują w każdym typie cukrzycy, ujawniając się w stopniu zależnym od czynników genetycznych [6]. Badania następnych lat potwierdziły udział komórek układu odpornościowego w patogenecie otyłości i cukrzycy typu 2, sugerując ważną rolę autoimmunizacji w jej rozwoju [7]. Podejrzewa się, że zaburzenia metaboliczne związane z hiperglikemią z czasem ograniczają prawidłową funkcję układu immunologicznego, przyczyniając się do zwiększenia liczby autoreaktywnych limfocytów oraz uwalniania cytokin prozapalnych, powodując rozwój przewlekłego stanu zapalnego [8]. Badania przeprowadzone na zwierzętach sugerują natomiast, że to zaburzenia autoimmunizacyjne leżą u podłoża insulinooporności, w wyniku wytwarzania

Tabela 1. Charakterystyka najczęstszych schorzeń autoimmunizacyjnych

Choroby autoimmunologiczne	Autoantygen	Przeciwciała wykrywane w surowicy	Czynniki genetyczne	Czynniki środowiskowe
Autoimmunologiczne zapalenie tarczycy	- tyreoperoksydaza (TPO) - tyreoglobulina (ATG) - receptory dla TSH	- anty-TPO obecne w 90% choroby Hashimoto i 75% Gravesa-Base-dowa (ChGB) - anty-TG w 60% choroby Hashimoto i 30% ChGB [14]. - anty-TSHr obecny w ok. 98% ChGB [15]	polimorfizmy w układzie HLA klasy I, II, DR3, B8 [16], w genie CTLA-4, PTPN 22 i wiele innych oraz zaburzenia epigenetyczne [2]	nadmiar jodu, niedobór seleniu, leki np. sole litu, IFN-gamma, infekcje, toksyny [17]
Cukrzyca typu 1	- dekarboksylaza kwasu glutaminowego - insulina endogenna - fosfataza tyrozyny - antygeny komórek β wysp trzustki - transporter cynku 8	- GADA, - IAA, - IA-2, IA2beta, - ICA, - ZnT8A, obecne co najmniej 4 z nich u 99% chorych z cukrzycą typu 1 [18]	polimorfizmy w układzie HLA klasy I, II, DQ2, DQ8, PTPN-22, region genu insuliny [19] oraz zaburzenia epigenetyczne [20]	zakażenia wirusowe, dieta, toksyny (pochodne N-nitrozowe), stres, warunki klimatyczne [21]
Choroba Addisona	- 21-hydroksylaza - 17α-hydroksylaza, - P450scc (enzym oddzielający łańcuch cholesterolu)	- przeciwko 21-hydroksylazie obecne u ok. 86% chorych [22]	HLA DR3-DQ2/ DR4-DQ8 [22], geny UGT2B28 i ADAM3A [23], metylacja DNA [24].	zakażenia wirusowe [25], stres, leki np. IFN I i III [26]
Niedokrwistość złośliwa	- komórki okładzinowe żołądka - czynnik wewnętrzny	- przeciwko komórkom okładzinowym żołądka (APCA) u ok. 90% chorych - przeciwko czynnikowi wewnętrznemu (IF) u ok. 60% chorych [27]	polimorfizm pojedynczego nukleotydu rs9606756 genu transkobalaminy 2 TCN2 [28]	zakażenie <i>H. pylori</i> [29]
Cellakia	- transglutaminaza tkankowa (tTG)	- przeciwko tkankowej transglutaminazie (tTGAb [30], endomysium EmA i gliadynie AGA obserwowane u >90% chorych [11]	warianty genów HLA-DQ2, HLA-DQ8 [31] oraz polimorfizmy ponad 40 genów związanych z układem immunologicznym [32]	dieta, zaburzenie flory jelitowej [33]

Na podstawie [2, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36].

patogennych auto przeciwciał IgG przez limfocyty B [9] oraz dysfunkcję limfocytów T CD4+ w trzewnej tkance tłuszczowej [10]. Wydaje się więc, że tak jak złożona jest patogenezą obu typów cukrzycy, tak i wieloczynnikowa jest etiologia jej powikłań. Dane z piśmiennictwa sugerują, że u ich podstaw leżą złożone, wzajemnie powiązane mechanizmy patofizjologiczne wywołane przez zaburzenia metaboliczne związane z hiperglikemią, indukcją stanu zapalnego oraz autoimmunizacją. Wynikają najprawdopodobniej z interakcji między predysponującymi genami a czynnikami środowiskowymi. Identyfikacja komponenty immunologicznej może nie tylko uzupełnić brakującą wiedzę, ale również stworzyć nowe możliwości terapeutyczne. W artykule przedstawiono analizę czynników ryzyka najczęstszych schorzeń autoimmunizacyjnych, ich związków z typem 1 i 2 cukrzycy oraz potencjalną rolę autoagresji w rozwoju powikłań cukrzycowych.

Epidemiologia i czynniki ryzyka rozwoju chorób autoimmunizacyjnych

Według danych epidemiologicznych schorzenia autoimmunizacyjne dotyczą prawie 9% populacji, częściej występują u kobiet niż u mężczyzn [11]. Wzrost zachorowalności z ich powodu obserwowany szczególnie w krajach uprzemysłowionych wskazuje na ważny udział czynników środowiskowych, do których zalicza się: warunki klimatyczne, zanieczyszczenie powietrza, status społeczno-ekonomiczny, czynniki zakaźne, palenie tytoniu, stres, dietę oraz skład mikroflory jelitowej [12]. Ponadto podejrzewa się, że czynniki środowiskowe wpływają na ekspresję genów przez mechanizmy epigenetyczne, które mogą się przyczyniać do rozwoju wielu chorób autoimmunizacyjnych [13]. Przykłady najczęstszych schorzeń autoimmunizacyjnych, znane autoantygeny, przeciwciała oraz najlepiej poznane czynniki genetyczne i środowiskowe uczestniczące w ich patogenezie przedstawiono w tabeli 1.

Podobieństwo czynników genetycznych i środowiskowych w rozwoju poszczególnych schorzeń zdaje się więc częściowo wyjaśniać, dlaczego obecność jednej choroby autoimmunizacyjnej zwiększa ryzyko rozwoju innej. Niemniej jednak pełne zrozumienie immunopatogenezy uszkodzenia narządów w danych zespołach chorobowych wciąż pozostaje obiektem badań.

Związek cukrzycy typu 1 z rozwojem innych chorób autoimmunizacyjnych

Jedną z najczęstszych chorób autoimmunizacyjnych, związaną z występowaniem wielu powikłań, jest cukrzyca typu

1. Według metaanalizy opublikowanej w 2019 r. i obejmującej około 294 tys. pacjentów z cukrzycą typu 1, najczęstszymi chorobami autoimmunizacyjnymi współwystępującymi z nią są: autoimmunizacyjne choroby tarczycy (9,8%), celiakia (4,5%), autoimmunologiczne zapalenie błony śluzowej żołądka (4,3%), bielactwo (2,4%), choroba Addisona (0,2%) [37]. Wykazano, że za predyspozycję genetyczną do rozwoju kolejnej choroby autoimmunizacyjnej, oprócz cukrzycy typu 1, może odpowiadać polimorfizm genu *PTPN22* oraz genotyp HLA DRB1*0405-DQB1*0401 [38]. Podejrzewa się, że spośród czynników środowiskowych patogenną rolę odgrywają: zakażenia wirusowe (zwłaszcza wywołane enterowirusami) [39], zaburzenie mikroflory jelitowej [40], silny stres [41], wzrost poziomu higieny społeczeństwa powodujący obniżenie liczby infekcji hipotetycznie mogących korzystnie stymulować odporność [42]. Ochronną rolę może pełnić karmienie piersią [43], suplementacja witaminy D [44] oraz spożywanie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 [45].

Związek cukrzycy typu 2 z chorobami autoimmunizacyjnymi

Najnowsze hipotezy badawcze zakładają, że cukrzyca typu 2, podobnie jak cukrzyca typu 1, może należeć do schorzeń autoimmunizacyjnych. Wiedza na temat współwystępowania cukrzycy typu 2 z innymi chorobami autoimmunizacyjnymi jest jednak ograniczona. Analizując dane 757 368 pacjentów z populacji szwedzkiej wykazano zarówno wyraźnie zwiększone ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 u pacjentów z chorobami autoimmunizacyjnymi, jak i większe ryzyko chorób autoimmunizacyjnych u chorych z cukrzycą typu 2 [46]. Przewlekłe limfocytarne zapalenie tarczycy jest najprawdopodobniej chorobą autoimmunizacyjną najczęściej współwystępującą z cukrzycą typu 2, zwłaszcza u chorych z dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku chorób tarczycy [19]. Udowodniono, że w populacji osób w podeszłym wieku z cukrzycą typu 2 występuje 2,5-krotnie większe prawdopodobieństwo wystąpienia autoimmunizacji tarczycy w porównaniu do osób bez cukrzycy. Można wprawdzie podejrzewać, iż może to zależeć od niedoboru witaminy D, ale nie wykazano związku przyczynowego [47]. Natomiast wyniki innych badań sugerują, że wśród pacjentów z cukrzycą typu 2 źle wyrównaną, mimo leczenia insulinią, ryzyko rozwoju celiakii jest nieco wyższe niż w populacji ogólnej [48]. Wydaje się zatem, że komponent autoimmunizacyjny prowadzący do niewydolności wewnętrzwydzielniczej trzustki w cukrzycy typu 2 może mieć związek ze zwiększeniem ryzyka rozwoju innych chorób autoimmunizacyjnych. Udowodniono, że już w insulinooporności i otyłości obserwuje się zaburzoną – wrodzoną i nabytą – odpowiedź immunologiczną

stimulującą rozwój przewlekłego stanu zapalnego o niskim stopniu nasilenia [7]. W jednym z badań wykazano, że chorzy z cukrzycą typu 2 powikłaną retinopatią cukrzycową w porównaniu do chorych bez powikłań mają w surowicy wyższe stężenia cytokin prozapalnych, tj. TNF-alfa i IL-2 – wydzielanych przez limfocyty Th1, a niższe stężenia cytokin działających przeciwzapalnie, tj. IL-4 i -10 – wydzielanych przez limfocyty Th2 [49]. Coraz więcej wyników badań sugeruje udział układu odpornościowego w patogenezie cukrzycy typu 2 oraz jej powikłań, wskazując na możliwość zastosowania nowych immunoterapii ukierunkowanych na redukcję stanu zapalnego [50]. W jednym z badań podano, iż metformina – lek powszechnie stosowany w cukrzycy typu 2 – nie tylko obniża glikemię, ale również zmniejsza nasilenie stanu zapalnego przez zmniejszenie liczby makrofagów typu 1, na korzyść makrofagów typu 2 wydzielających IL-4 i -10 [51] oraz ogranicza aktywność szlaku NF-κB i wytwarzanie IL-1β [52]. Od czasu publikacji wyników badania CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study) nową perspektywą terapeutyczną stało się farmakologiczne zablokowanie IL-1β w powikłaniach sercowo-naczyniowych [53]. W dużym randomizowanym prospektywnym badaniu CANTOS wykazano, że terapia kanakinumabem, czyli przeciwciałem monoklonalnym neutralizującym działanie IL-1β, zmniejszyła ryzyko częstości nawracających zdarzeń sercowo-naczyniowych w porównaniu z placebo, niezależnie od obniżenia stężenia lipidów [54]. Brak danych o długoterminowym bezpieczeństwie stosowania leków biologicznych nadal ogranicza możliwości wykorzystania nowych immunoterapii. Uwzględniając wzrost ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2 po zastosowaniu leków immunosupresyjnych, wynikający z nasilenia zaburzeń metabolicznych, wydaje się, że sama autoimmunizacja choć obecna w jej patogenezie, odgrywa zasadniczo mniejszą rolę niż w cukrzycy typu 1.

Mechanizmy utrzymujące tolerancję na własne autoantygeny a powikłania cukrzycowe

Jednym z głównych zadań układu odpornościowego jest utrzymanie tolerancji na własne antygeny, a mechanizmy, które za to odpowiadają, można podzielić na centralne i obwodowe. Zaburzenie tych procesów mogą spowodować zarówno czynniki endogenne, jak i egzogenne (ryc. 1). W procesie dojrzewania limfocytów podstawowe znaczenie mają znajdujące się na nich receptory błonowe oraz ich zdolność do rozpoznawania cząsteczek głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC). Jeżeli limfocyty słabo wiążą MHC, ulegają selekcji pozytywnej, czyli tej umożliwiającej przeżycie. Natomiast w przypadku silnego wiązania przez limfocyty MHC – podlegają selekcji negatywnej, czyli apoptozie [55]. Nawet jeżeli w grasyicy lub szpiku kostnym zawiodą centralne

mechanizmy eliminacji autoreaktywnych limfocytów, to ich eliminacja powinna nastąpić w narządach obwodowych. Do mechanizmów obwodowych zabezpieczających przed aktywnością autoreaktywnych limfocytów zalicza się:

- sekwestrację antygeny, czyli oddzielenie go od limfocytów barierą anatomiczną;
- delecję klonalną, czyli apoptozę autoreaktywnych limfocytów;
- anergię klonalną, tj. wprowadzenie ich w stan „uśpienia” oraz
- aktywną supresję z udziałem limfocytów pomocniczych [48].

Najlepiej poznanymi komórkami układu odpornościowego uczestniczącymi w destrukcji komórek beta wysp trzustki są autoreaktywne limfocyty T cytotoksyczne oraz swoiste przeciwciała wydzielane przez autoreaktywne limfocyty B. W zaburzeniach autoimmunizacyjnych u chorych z cukrzycą prawdopodobnie równie ważną rolę odgrywają inne grupy komórek, które uczestniczą w utrzymaniu mechanizmów tolerancji na własne antygeny.

Jedną z subpopulacji limfocytów pomocniczych są limfocyty regulatorowe (Treg) CD4+CD25+ uważane za główne w utrzymywaniu równowagi immunologicznej. Mutacja w swoim dla nich czynnikiem transkrypcyjnym Foxp3 jest związana z rozwojem wielu chorób autoimmunizacyjnych [58]. Mniejszą liczbę limfocytów Treg obserwowano zarówno w cukrzycy typu 1 [59], jak i 2 [60]. Istotne, że zachwianie proporcji w subpopulacjach poszczególnych limfocytów korelowało z rozwojem powikłań cukrzycowych. Wykazano zmniejszenie liczby limfocytów Treg u chorych z cukrzycą typu 1 oraz powikłaniami sercowo-naczyniowymi, w porównaniu do chorych bez powikłań [61]. W cukrzycy typu 2 zaobserwowano natomiast zależność między mniejszą liczbą limfocytów Treg a obecnością nefropatii cukrzycowej [62]. Obecność tego powikłania wiązała się również z większą liczbą limfocytów T pomocniczych typu 17 (Th17) [62], które wydzielają IL-17, sprzyjającą indukcji autoimmunizacyjnego zapalenia tkanek [63]. Uważa się, że Th17 odpowiadają za rozwój przewlekłego stanu zapalnego w obu typach cukrzycy [64]. W niedawnych doniesieniach wskazuje się możliwość wykorzystania przeciwciała monoklonalnego przeciwko Th17, jako potencjalną opcję terapeutyczną w retinopatii [65] i nefropatii cukrzycowej [66] oraz w zahamowaniu schyłkowej niewydolności nerek u chorych z cukrzycą [67].

Inną grupą komórek kontrolujących funkcje układu odpornościowego przez uczestnictwo w centralnych i obwodowych mechanizmach tolerancji są komórki dendrytyczne [66]. Jako komórki prezentujące antygen odgrywają ważną rolę w ograniczeniu nadmiernej aktywności limfocytów T, B lub makrofagów. Jak wykazano odpowiadają za to łącznie z receptorami, takimi jak CTLA-4 oraz PD-1 ulegającymi wzmożonej ekspresji na aktywowanych

komórkach układu odpornościowego. Udowodniono, że zahamowanie tych receptorów przez przeciwciała monoklonalne zwiększa ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 [68]. Na podstawie badań doświadczalnych – wymagających jednak potwierdzenia w badaniach klinicznych – niedojrzałe komórki dendrytyczne łącznie z limfocytami Treg mogłyby na wczesnym etapie zatrzymać proces autoimmunizacyjny i rozwój cukrzycy insulinozależnej [21]. Dysfunkcję komórek dendrytycznych wiąże się również z uszkodzeniem śródbłonna [69] oraz stanem zapalnym niskiego stopnia tkanki tłuszczowej u chorych z cukrzycą typu 2 [70].

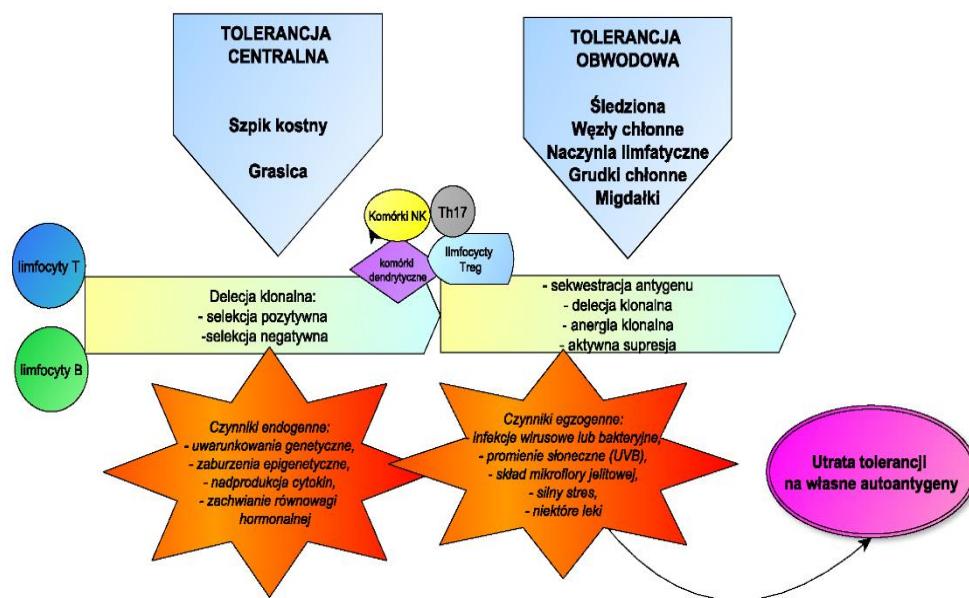
Komórkami uznawanymi za „pomost” między odpowiedzią wrodzoną i nabytą w zachowaniu tolerancji na autoantygeny są komórki NK [56]. Uczestniczą w powstawaniu „komórek pamięci”, przez wydzielanie IFN- γ mogą się przyczyniać do nadmiernej niekontrolowanej odpowiedzi autoimmunizacyjnej, w której pośredniczą autoreaktywne komórki T. Zachwianie równowagi między różnymi podgrupami komórek NK obserwowano w zaostrzeniu cukrzycy insulinozależnej [71]. Dysfunkcja komórek NK opisywana była również u kobiet w ciąży i jest powiązana z rozwojem insulinooporności i otyłości [72, 73].

Stwierdzany wzrost ryzyka rozwoju powikłań cukrzycowych wraz z wiekiem oraz czasem trwania cukrzycy może również tłumaczyć zjawisko immunosenescencji, czyli starzenia się

układu odpornościowego, którego następstwem jest stały, przewlekły stan zapalny [8, 74].

Autoprzeciwciała jako markery powikłań cukrzycowych

Identyfikacja autoprzeciwciał i wykazanie ich związku z poszczególnymi chorobami stało się pomocne w diagnostyce, inicjując podział schorzeń autoimmunizacyjnych w zależności od umiejscowienia na narządowo swoiste, np. cukrzyca typu 1 oraz nieswoiste, takie jak np. toczeń rumieniowaty układowy [75]. Ten podział wydaje się jednak niedoskonały, jeżeli uwzględnimy zakres obserwowanych objawów, które wykraczają poza jeden narząd – nawet w chorobach, w których wykrywa się przeciwciała swoiste narządowo, np. w cukrzycy typu 1. Wiedza na temat obecności autoprzeciwciał i ich znaczenia w progresji powikłań cukrzycowych nadal jest ograniczona (tabela 2). Wykorzystanie ich jako markerów diagnostycznych umożliwiłoby identyfikację chorych najbardziej zagrożonych rozwojem poszczególnych powikłań cukrzycowych oraz wczesną prewencję, dlatego są przedmiotem wielu badań, które przedstawiono niżej.



Rycina 1. Mechanizmy tolerancji centralnej i obwodowej, podzbiory komórek układu odpornościowego zaangażowane w ich regulację (szczegóły w tekście) oraz główne czynniki zaburzające ich funkcjonowanie, wg [54, 56, 57]

Autoprzeciwiactwa w retinopatii cukrzycowej

W retinopatii cukrzycowej jednym z pierwszych autoantygenów podejrzewanych o wywołanie reakcji autoimmunizacyjnej były perycyty, czyli multipotencjane komórki pełniące ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu naczyń krwionośnych siatkówki. Obecność przeciwciał przeciwko nim wykazano, co istotne, również u chorych w stanie przedcukrzycowym z tendencją obniżania się ich miana w miarę wzrostu stopnia zaawansowania retinopatii [77]. Potwierdzono również bardzo częste występowanie autoprzeciwciał przeciwko perycytom u chorych z nieproliferacyjną postacią retinopatii cukrzycowej (~55%), a zmniejszenie ich miana w miarę rozwoju choroby powiązано z utratą perycytów [78]. W innym badaniu dowiedziano natomiast nie tylko wyższe stężenie przeciwciał przeciwko perycytom u chorych z cukrzycą typu 2 i retinopatią, w porównaniu do grupy kontrolnej, ale również wykazano związek z większą aktywnością komórek dopełniacza (C3a i C5a) [79]. W badaniach przeprowadzonych w niewielkich grupach chorych wykazano obecność innych autoprzeciwciał, które prawdopodobnie uczestniczą w destrukcji narządu wzroku u chorych z cukrzycą. Były to:

- przeciwiactwa przeciwko utlenionej postaci lipoprotein o małej gęstości, obserwowane częściej u chorych z cukrzycą typu 2, powikłaną retinopatią proliferacyjną i najprawdopodobniej powiązane ze stanem zapalnym [80, 81];
- przeciwiactwa przeciwko anhydrazie węglanowej II, korelujące z występowaniem retinopatii u chorych z cukrzycą typu 1 [84];
- przeciwiactwa przeciwko mieloperoksydazie i kolagenowi II, korelujące z zaostreniem retinopatii [82, 85];
- przeciwiactwa przeciwko heksokinazie 1 i fumarazie obserwowane częściej u chorych z cukrzycowym obrzękiem plamki żółtej [18, 83].

Autoprzeciwiactwa w nefropatii cukrzycowej

Powikłaniem cukrzycowym, w którego rozwoju najprawdopodobniej biorą udział czynniki immunologiczne, jest nefropatia cukrzycowa. W badaniu przeprowadzonym na modelu zwierzęcym cukrzycy typu 1 (u nieotyłych myszy z cukrzycą, NOD – non-obese diabetic mice), wykazano udział zarówno komórkowej, jak i humoralnej odpowiedzi

Tabela 2. Podejrzewane autoantygeny będące obiektem autoagresji w patogenezie wymienionych powikłań cukrzycy

Nazwa powikłania	Autoantygeny	Piśmiennictwo
Mikroangiopatie	kolagen typu IV	[76]
Retinopatia	perycyty	[77, 78, 79]
	oxLDL	[80, 81]
	MPO	[82]
	heksokinaza 1	[18]
	fumaraza	[83]
	anhydraza węglanowa II	[84]
	kolagen typu II	[85]
Nefropatia	oxLDL	[86, 87]
	komórki śródbłonna	[88]
Neuropatia obwodowa	gangliozydy	[89, 90]
Neuropatia autonomiczna	komórki zwoju współczulnego rdzenia nadnerczy	[91]
Niewydolność serca w cukrzycy	α -MyHC, vimentyna, K alpha 1-tubulina, troponina, aktylina 2	[92, 93]
Gastropareza	GnRH1, progesteron, gonadoliberyna-2, LH	[33, 94]
Neuroartropatia	oksydacyjnie zmodyfikowany kolagen typu II	[95]

immunologicznej, już we wczesnych stadiach rozwoju tego powikłania. Wykryto m.in. obecność autoprzeciwciał skierowanych przeciwko składnikom kłębuszków nerkowych, których nie było u myszy bez cukrzycy. Obserwowane zmiany immunologiczne występujące pod postacią złożeń IgG i komórek dopełniacza C3 korelowały ze wzrostem albuminurii i rozwojem niewydolności nerek [96]. Podobne wyniki uzyskano w badaniu pilotażowym przeprowadzonym u dzieci z cukrzycą typu 1, w którym wykazano obecność krążących kompleksów immunologicznych, złożonych z autoprzeciwciał IgG, które najprawdopodobniej były przyczyną rozwoju nefropatii [97]. Innym z autoantygenów podejrzewanych o udział w rozwoju powikłań nerkowych u chorych z cukrzycą są zmodyfikowane cząsteczki lipidów, znane z właściwości prozapalnych. W badaniu przeprowadzonym wśród niewielkiej grupy chorych z cukrzycą typu 1 wykazano obecność autoprzeciwciał przeciwko zmodyfikowanemu cząsteczkom lipoprotein, których liczba korelowała ze stopniem uszkodzenia nerek [87]. Podobne wyniki badań uzyskano oceniając 905 chorych z cukrzycą typu 2, u których obecność przeciwciał IgG reagujących ze zmodyfikowanymi formami lipoprotein tworzyła krążące kompleksy immunologiczne, korelujące z obecnością albuminurii [86]. W jednym z niedawnych badań wykazano ponadto obecność podwyższonego miana przeciwciał przeciwko kolagenowi IV u chorych z cukrzycą insulinoniezależną i nadciśnieniem tętniczym, których liczba korelowała z obecnością powikłań o charakterze mikroangiopatii [76]. Autoantygenem podejrzewanym o udział w patogenezie nefropatii cukrzycowej są komórki śródbłonka. W badaniu VA NEPHRON-D obejmującym 305 chorych z cukrzycą typu 2, obecność przeciwciał przeciwko komórkom śródbłonka miała związek ze stopniem albuminurii, rozwojem schyłkowej niewydolności nerek oraz ze śmiercią z przyczyn nerkowych [88]. Na podstawie tych badań wysunięto podejrzenie, iż odpowiada za to zmniejszona liczba regulatorowych limfocytów B, o fenotypie CD19+CD24hiCD38hi obserwowana u chorych z nefropatią cukrzycową [98]. Jak wykazano w innym badaniu, aktywność nefropatii u chorych z cukrzycą korelowała również z większą liczbą limfocytów foliularnych CD4+CXCR5+ oraz stężeniem IL-6 i -17 [99], o właściwościach prozapalnych.

Autoprzeciwciała w neuropatii cukrzycowej

Neuropatia cukrzycowa jest najczęstszym, przewlekłym powikłaniem cukrzycy o złożonej i wciąż niewystarczająco poznanej etiologii. Oprócz teorii metabolicznej i naczyniowej wyjaśniających jej patogenezę [100], coraz więcej badań wskazuje na udział czynników immunologicznych. W badaniach z ostatnich lat zwracano uwagę na rolę receptorów Toll-podobnych (TLR), które odpowiadają za

prawidłowe odróżnienie antygenów „własnych” od „obcych” oraz regulują odpowiedź immunologiczną. Sugeruje się, że sygnalizacja związana z receptorem TLR 2 i 4 wpływa na rozwój neuropatii czuciowej związanej z zaburzeniami metabolicznymi [101]. Wykazano również istotnie wyższe miano przeciwciał przeciwjądrowych ANA w surowicy krwi pacjentów z obwodową neuropatią cukrzycową w porównaniu do grupy kontrolnej [102]. Zauważono też zależność między mianem przeciwciał przeciwgangliozydowych w surowicy chorych z cukrzycą i obwodową neuropatią czuciową a stężeniem białka ostrej fazy (CRP), czynnika wzrostu nowotworów (TNF-alfa) oraz inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) [89], co wskazywałoby na ścisłą zależność między procesami autoimmunizacyjnymi i indukcją stanu zapalnego.

Mimo że obecność autoprzeciwciał badana jest od wielu lat, ich rola nadal nie jest dokładnie poznana, a wyniki badań często są sprzeczne. W badaniu 394 pacjentów z cukrzycą typu 1 wskazano częstsze występowanie autoprzeciwciał przeciwko strukturalnym układom autonomicznym w porównaniu do zdrowych osobników, bez związku z rozwojem retinopatii, nefropatii lub neuropatii obwodowej [91]. Natomiast w badaniu prospektywnym, przeprowadzonym w grupie 112 pacjentów z cukrzycą typu 1 w czasie 16-letniej obserwacji, wykazano związek między obecnością przeciwciał przeciwko strukturalnym autonomicznemu układowi nerwowemu a ryzykiem rozwoju neuropatii układu autonomicznego. Nieobecność przeciwciał prawie w 90% wiązała się z prawidłowymi wynikami testów oceniających układ autonomiczny, takich jak próba Valsalvy lub test głębokich oddechów [103]. Związku między wymienionymi przeciwciałami a dysfunkcją układu autonomicznego nie wykazano w grupie chorych z cukrzycą typu 2 [104], co sugerowałoby odmienne podłoże patogenetyczne rozwoju neuropatii w obu typach cukrzycy.

Autoprzeciwciała w niewydolności serca w cukrzycy

Coraz więcej badań wskazuje, że podłoże patogenetyczne kardiomiopatii cukrzycowej jest złożone i różni się w zależności od typu cukrzycy, przy czym w cukrzycy typu 1 znaczącą rolę w jej rozwoju może odgrywać autoimmunizacja [105]. Proponowanym autoantygenem komórek T CD 4+ w rozwoju kardiomiopatii cukrzycowej jest izoforma α łańcucha ciężkiego miozyny (α -MyHC). Dowiedziono, że zarówno w mysim modelu spontanicznego zapalenia mięśnia sercowego, jak i u ludzi z zapaleniem mięśnia sercowego, w śródspikowych komórkach nabłonkowych grasicy (mTEC) i obwodowych limfoidalnych komórkach zrębu brakuje transkryptów genów kodujących α -MyHC, dlatego naruszona zostaje centralna tolerancja wobec tego autoantygeny [106]. Wykazano, że

w zwierzęcym modelu cukrzycy typu 1 u nieotyłej myszy (NOD) po zawale serca wystąpiło przedłużone wytwarzanie autoprzeciwciał przeciwko α -miozynie sercowej, które nie występowało w modelu myszy bez genetycznej predyspozycji do rozwoju cukrzycy typu 1 (C57BL/6). Co istotne, wytwarzanie autoprzeciwciał korelowało z naciekiem limfocytarnym i destrukcją mięśnia sercowego, wywołując rozwój niewydolności serca [92]. Podobne wyniki uzyskano u chorych z cukrzycą typu 1 po zawale serca, u których prawie u 83% badanych stwierdzono obecność autoprzeciwciał przeciwko α - i β -miozynie sercowej, troponinie sercowej lub aktyninie-2, w zestawieniu z chorymi po zawale mięśnia sercowego, bez cukrzycy (przeciwciała były obecne tylko u 4% badanych) lub z cukrzycą typu 2 (przeciwciała były obecne u 15% badanych) [92]. W innym badaniu zasugerowano, iż czynnikiem wyzwalającym wytwarzanie przeciwciał przeciwsercowych u chorych na cukrzycę typu 1 może być incydent kwasicy ketonowej. Wyniki tych badań wskazywały na związek między obserwowaną w surowicy chorych po incydencie kwasicy ketonowej obecnością przeciwciał przeciwko miozynie sercowej, wimentynie i K alpha 1-tubulinie, a wytwarzaniem cytokin prozapalnych prowadzących do rozwoju kardiomiopatii cukrzycowej [93]. W badaniu kohortowym potwierdzono związek między obecnością przeciwciał przeciwsercowych, a stanem zapalnym i podwyższonym ryzykiem sercowo-naczyniowym, przy czym zależność ta była istotniejsza u pacjentów ze złym wyrównaniem metabolicznym i występowała tylko w typie 1 cukrzycy [107]. Powyższe obserwacje mogą wyjaśnić gorszy przebieg i rokowanie incydentów sercowo-naczyniowych u pacjentów z cukrzycą typu 1, wskazując na ważny udział dysfunkcji w układzie immunologicznym.

Autoprzeciwciała w enteropatii cukrzycowej

Według najnowszej hipotezy u podłoża enteropatii cukrzycowej leży nie tylko neuropatia autonomiczna, ale również zaburzenie równowagi między stężeniem insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1), a białkiem wiążącym insulinopodobny czynnik wzrostu (IGFBP-3). Podejrzewa się, że obniżenie stężenia IGF-1 w surowicy chorych z cukrzycą typu 1, przy wzroście stężenia IGFBP-3, wpływa na aktywność receptora Tmem219, znajdującego się w kryptach jelitowych, uruchamiając szlak kaspaz zaburzających różnicowanie komórek macierzystych okrężnicy [108, 109]. Brak negatywnego wpływu IGF-1 na wydzielanie hormonu wzrostu powoduje jego nadmierne wydzielanie oraz może wpływać na rozwój powikłań naczyniowych [110]. Najnowsze doniesienia sugerują ponadto związek między równowagą hormonalną a autoimmunizacją w rozwoju enteropatii cukrzycowej. Hormon uwalniający gonadotropinę (GnRH1) coraz częściej

postrzegany jest jako główny neuroprzekaznik w jelitowym układzie nerwowym, a przeciwciała przeciwko niemu mogą mieć związek z przewlekłymi zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi u chorych z cukrzycą [33]. Wykazano wyższe miano przeciwciał przeciwko GnRH1, progesteronowi, hormonowi luteinizującemu (LH) u chorych z cukrzycą i zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi w porównaniu do grupy kontrolnej [94]. Badanie przeprowadzono jednak w niewielkiej grupie chorych, dlatego do określenia dokładnej roli tych autoprzeciwciał w patogenezie powikłań cukrzycowych oraz wykorzystania tej wiedzy w praktyce potrzeba jeszcze wielu badań.

Autoprzeciwciała w rozwoju stawu Charcota

Powikłaniem cukrzycowym silnie związanym z neuropatią, którego podłoże wciąż pozostaje nie w pełni poznane, jest neuroartropatia Charcota. W jednym z badań obejmującym 124 chorych z cukrzycą typu 2 wykryto obecność przeciwciał przeciwko oksydacyjnie zmodyfikowanemu kolagenowi typu II u chorych z neuroartropatią, co sugerowałoby udział czynników autoimmunizacyjnych w jej patogenezie [95]. Biorąc pod uwagę przebieg i ciężkość tego powikłania oraz brak skutecznej przyczynowej terapii, wydaje się, że pogłębienie wiedzy o immunopatogenezie tego powikłania mogłoby zostać wykorzystane w opracowaniu terapii, która umożliwiłaby skuteczne zahamowanie destrukcji aparatu kostno-stawowego u chorych z cukrzycą.

Podsumowanie

Najnowsze doniesienia badawcze sugerujące ważny udział układu odpornościowego w rozwoju nie tylko typu 1, ale również typu 2 cukrzycy oraz obserwowany ich związek z innymi schorzeniami o podłożu autoimmunizacyjnym zmieniają sposób postrzegania patogenezy powikłań cukrzycowych. Na podstawie przeglądu badań można stwierdzić, że komponenta autoimmunizacyjna powodująca ich rozwój, choć obecna w obu typach cukrzycy, bardziej wyrażona jest w cukrzycy insulinozależnej, szczególnie w powikłaniach sercowo-naczyniowych, negatywnie rzutując na przebieg choroby. Tym samym konieczne wydaje się odmienne podejście terapeutyczne do tych powikłań, w zależności od dysfunkcji w układzie immunologicznym pacjenta. Jak wykazano, opisane wyniki wskazujące na udział autoagresji w uszkodzeniu poszczególnych narządów w cukrzycy – choć mają charakter eksperymentalny i dotyczą modeli zwierzęcych – mogą zainspirować badania kliniczne i być może wypracować nowe standardy leczenia powikłań

ukrzyżyc z wykorzystaniem terapii ukierunkowanych na układ odpornościowy.

Wykaz skrótów

ANA – przeciwciała przeciwnjądrowe (anti-nuclear antibodies), **APCA** – autoprzeciwciała przeciwko komórkom okładzinowym żołądka (anti-parietal cell antibody), **CTLA-4** – antygen 4 limfocytów T cytotoksycznych (cytotoxic T cell antigen 4), **FOXP3** – czynnik transkrypcyjny FOXP3 (forkhead box P3), **GADA** – przeciwciała przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (anti-glutamic acid decarboxylase antibody), **GnRH1** – hormon uwalniający gonadotropinę (gonadotropin-releasing hormone), **HLA** – antygeny ludzkich leukocytów (human leukocyte antigen), **IAA** – przeciwciała przeciwinulinowe (insulin autoantibodies), **IA2** – przeciwciała przeciw fosfatazie tyrozyny (insulinoma-associated antigen 2), **ICA** – przeciwciała przeciwwyspowe (islet cell antibodies), **IF** – czynnik wewnętrzny (intrinsic factor), **IFN** – interferon, **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor), **IGFBP3** – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor-binding protein 3), **IL** – interleukina (interleukin), **LH** – hormon luteinizujący (luteinizing hormone), **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex), **MPO** – mieloperoksydaza (myeloperoxidase), **NK** – naturalne komórki cytotoksyczne (natural killers), **OxLDL** – utleniona postać lipoprotein o niskiej gęstości (oxidized low-density lipoproteins), **PD-1** – receptor programowanej śmierci (programmed death receptor 1), **PTPN22** – niereceptorowe białko fosfatazy tyrozynowej typu 2 (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22), **P450scc** – enzym oddzielający boczny łańcuch cholesterolu (cholesterol side-chain cleavage enzyme), **Tc** – limfocyty T cytotoksyczne (T cytotoxic), **Th** – limfocyty T pomocnicze (T helper), **TLR** – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors), **TRAb** – przeciwciała wiążące się z receptorem TSH, **Treg** – limfocyty T regulatorowe (T regulatory cells), **tTG** – transglutaminaza tkankowa (tissue transglutaminase), **ZnT8A** – przeciwciała przeciwko transporterowi cynku 8 (antibodies against the zinc transporter 8).

Konflikt interesów

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

Piśmiennictwo

[1] Ehrlich P.: On immunity with special reference to cell life. Proc. R. Soc. Lond., 1900; 66: 424-448

- [2] Steinman L.: Escape from "horror autotoxicus": Pathogenesis and treatment of autoimmune disease. Cell, 1995; 80: 7-10
- [3] Dighiero G., Lymberi P., Guilbert B., Ternynck T., Avrameas S.: Natural autoantibodies constitute a substantial part of normal circulating immunoglobulins. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1986; 475: 135-145
- [4] Bottazzo G.F., Florin-Christensen A., Doniach D.: Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. Lancet, 1974; 2: 1279-1283
- [5] Wilkin T.J.: The accelerator hypothesis: Weight gain as the missing link between type I and type II diabetes. Diabetologia, 2001; 44: 914-922
- [6] Wilkin T.J.: The accelerator hypothesis: A review of the evidence for insulin resistance as the basis for type I as well as type II diabetes. Int. J. Obes., 2009; 33: 716-726
- [7] Zhou T., Hu Z., Yang S., Sun L., Yu Z., Wang G.: Role of adaptive and innate immunity in type 2 diabetes mellitus. J. Diabetes Res., 2018; 2018: 7457269
- [8] Moura J., Madureira P., Leal E.C., Fonseca A.C., Carvalho E.: Immune aging in diabetes and its implications in wound healing. Clin. Immunol., 2019; 200: 43-54
- [9] Winer D.A., Winer S., Shen L., Wadia P.P., Yantha J., Paltser G., Tsui H., Wu P., Davidson M.G., Alonso M.N. i wsp.: B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. Nat. Med., 2011; 17: 610-617
- [10] Winer S., Chan Y., Paltser G., Truong D., Tsui H., Bahrami J., Dorfman R., Wang Y., Zielinski J., Mastrorandi F. i wsp.: Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. Nat. Med., 2009; 15: 921-929
- [11] Cooper G.S., Bynum M.L., Somers E.C.: Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: Improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. J. Autoimmun., 2009; 33: 197-207
- [12] Giancchetti E., Fierabracci A.: Recent advances on microbiota involvement in the pathogenesis of autoimmunity. Int. J. Mol. Sci., 2019; 20: 283
- [13] Hewagama A., Richardson B.: The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. J. Autoimmun., 2009; 33: 3-11
- [14] Romagnani S.: Immunological tolerance and autoimmunity. Intern. Emerg. Med., 2006; 1: 187-196
- [15] Tomer Y.: Mechanisms of autoimmune thyroid diseases: From genetics to epigenetics. Annu. Rev. Pathol., 2014; 9: 147-156
- [16] Jacobson E.M., Huber A., Tomer Y.: The HLA gene complex in thyroid autoimmunity: From epidemiology to etiology. J. Autoimmun., 2008; 30: 58-62
- [17] Burek C.L., Talor M.V.: Environmental triggers of autoimmune thyroiditis. J. Autoimmun., 2009; 33: 183-189
- [18] Yoshitake T., Murakami T., Yoshitake S., Suzuma K., Dodo Y., Fujimoto M., Ito S., Tsujikawa A.: Anti-hexokinase 1 antibody as a novel serum biomarker of a subgroup of diabetic macular edema. Sci. Rep., 2019; 9: 4806
- [19] Schroner Z., Lazurova I., Petrovicova J.: Autoimmune thyroid dis-

- eases in patients with diabetes mellitus. *Bratisl. Lek. Listy*, 2008; 109: 125-129
- [20] Cerna M.: Epigenetic regulation in etiology of type 1 diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019; 21: 36
- [21] Phillips B.E., Garciafigueroa Y., Engman C., Trucco M., Giannoukakis N.: Tolerogenic dendritic cells and T-regulatory cells at the clinical trials crossroad for the treatment of autoimmune disease; emphasis on type 1 diabetes therapy. *Front. Immunol.*, 2019; 10: 148
- [22] Erichsen M.M., Løvås K., Skinningsrud B., Wolff A.B., Undlien D.E., Svartberg J., Fougner K.J., Berg T.J., Bollerslev J., Mella B. i wsp.: Clinical, immunological, and genetic features of autoimmune primary adrenal insufficiency: Observations from a Norwegian registry. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009; 94: 4882-4890
- [23] Bronstad I., Wolff A.S., Løvås K., Knappskog P.M., Husebye E.S.: Genome-wide copy number variation (CNV) in patients with autoimmune Addison's disease. *BMC Med. Genet.*, 2011; 12: 111
- [24] Bjanosoy T.E., Andreassen B.K., Bratland E., Reiner A., Islam S., Husebye E.S., Bakke M.: Altered DNA methylation profile in Norwegian patients with autoimmune Addison's disease. *Mol. Immunol.*, 2014; 59: 208-216
- [25] Hellesen A., Bratland E.: The potential role for infections in the pathogenesis of autoimmune Addison's disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 2019; 195: 52-63
- [26] Hellesen A., Edvardsen K., Breivik L., Husebye E.S., Bratland E.: The effect of types I and III interferons on adrenocortical cells and its possible implications for autoimmune Addison's disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 2017; 176: 351-362
- [27] Bizzaro N., Antico A.: Diagnosis and classification of pernicious anemia. *Autoimmun. Rev.*, 2014; 13: 565-568
- [28] Lahner E., Gentile G., Purchiaroni F., Mora B., Simmaco M., Annibale B.: Single nucleotide polymorphisms related to vitamin B12 serum levels in autoimmune gastritis patients with or without pernicious anaemia. *Dig. Liver Dis.*, 2015; 47: 285-290
- [29] Lahner E., Annibale B.: Pernicious anemia: New insights from a gastroenterological point of view. *World J. Gastroenterol.*, 2009; 15: 5121-5128
- [30] Chou R., Bougatsos C., Blazina I., Mackey K., Grusing S., Selph S.: Screening for celiac disease: Evidence report and systematic review for the US preventive services task force. *JAMA*, 2017; 317: 1258-1268
- [31] Ludvigsson J.F., Bai J.C., Biagi F., Card T.R., Ciacci C., Ciclitira P.J., Green P.H., Hadjivassiliou M., Holdoway A., van Heel D.A. i wsp.: D. Diagnosis and management of adult coeliac disease: Guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut*, 2014; 63: 1210-1228
- [32] Garner C.P., Murray J.A., Ding Y.C., Tien Z., van Heel D.A., Neuhäuser S.L.: Replication of celiac disease UK genome-wide association study results in a US population. *Hum. Mol. Genet.*, 2009; 18: 4219-4225
- [33] Ohlsson B., Ekblad E., Veress B., Montgomery A., Janciauskiene S.: Antibodies against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and destruction of enteric neurons in 3 patients suffering from gastrointestinal dysfunction. *BMC Gastroenterol.*, 2010; 10: 48
- [34] Betterle C., Dal Pra C., Mantero F., Zanchetta R.: Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: Autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr. Rev.*, 2002; 23: 327-364
- [35] Checchi S., Montanaro A., Ciulli C., Brusco L., Pasqui L., Fioravanti C., Sestini F., Pacini F.: Prevalence of parietal cell antibodies in a large cohort of patients with autoimmune thyroiditis. *Thyroid*, 2010; 20: 1385-1389
- [36] Kahaly G.J., Frommer L.: Polyglandular autoimmune syndromes. *J. Endocrinol. Invest.*, 2018; 41: 91-98
- [37] Nederstigt C., Uitbeijerse B.S., Janssen L.G., Corssmit E.P., de Koning E.J., Dekkers O.M.: Associated auto-immune disease in type 1 diabetes patients: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Endocrinol.*, 2019; 180: 135-144
- [38] Shimura K., Miura J., Kawamoto M., Kawaguchi Y., Yamanaka H., Uchigata Y.: Genetic differences between type 1 diabetes with and without other autoimmune diseases. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2018; 34: e3023
- [39] Stene L.C., Rewers M.: Immunology in the clinic review series; focus on type 1 diabetes and viruses: The enterovirus link to type 1 diabetes: Critical review of human studies. *Clin. Exp. Immunol.*, 2012; 168: 12-23
- [40] Wen L., Ley R.E., Volchkov P.Y., Stranges P.B., Avanesyan L., Stonebraker A.C., Hu C., Wong F.S., Szot G.L., Bluestone J.A. i wsp.: Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature*, 2008; 455: 1109-1113
- [41] Sepa A., Wahlberg J., Vaarala O., Frodi A., Ludvigsson J.: Psychological stress may induce diabetes-related autoimmunity in infancy. *Diabetes Care*, 2005; 28: 290-295
- [42] Bach J.F., Chatenoud L.: The hygiene hypothesis: An explanation for the increased frequency of insulin-dependent diabetes. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2012; 2: a007799
- [43] Frederiksen B., Kroehl M., Lamb M.M., Seifert J., Barriga K., Eisenbarth G.S., Rewers M., Norris J.M.: Infant exposures and development of type 1 diabetes mellitus: The diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). *JAMA Pediatr.*, 2013; 167: 808-815
- [44] Zipitis C.S., Akobeng A.K.: Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Arch. Dis. Child.*, 2008; 93: 512-517
- [45] Norris J.M., Yin X., Lamb M.M., Barriga K., Seifert J., Hoffman M., Orton H.D., Barón A.E., Clare-Salzler M., Chase H.P. i wsp.: Omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes. *JAMA*, 2007; 298: 1420-1428
- [46] Hemminki K., Liu X., Försti A., Sundquist J., Sundquist K., Ji J.: Subsequent type 2 diabetes in patients with autoimmune disease. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 13871
- [47] Toulis K., Tsekmekidou X., Potolidis E., Didangelos T., Gotzamani-Psarrakou A., Zebekakis P., Daniilidis M., Yovos J., Kotsa K.: Thyroid autoimmunity in the context of type 2 diabetes mellitus:

- Implications for vitamin D. *Int. J. Endocrinol.*, 2015; 2015: 710363
- [48] Kizilgul M., Ozcelik O., Beysel S., Akinci H., Kan S., Ucan B., Apaydin M., Cakal E.: Screening for celiac disease in poorly controlled type 2 diabetes mellitus: Worth it or not? *BMC Endocr. Disord.*, 2017; 17: 62
- [49] Cao Y.L., Zhang F.Q., Hao F.Q.: Th1/Th2 cytokine expression in diabetic retinopathy. *Genet. Mol. Res.*, 2016; 15: 15
- [50] Sathyapalan T., Atkin S.L.: Is there a role for immune and anti-inflammatory therapy in type 2 diabetes? *Minerva Endocrinol.*, 2011; 36: 147-156
- [51] Buldak Ł., Łabuzek K., Buldak R.J., Kozłowski M., Machnik G., Liber S., Suchy D., Dulawa-Buldak A., Okopień B.: Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacol. Rep.*, 2014; 66: 418-429
- [52] Xu X., Lin S., Chen Y., Li X., Ma S., Fu Y., Wei C., Wang C., Xu W.: The effect of metformin on the expression of GPR109A, NF-κB and IL-1β in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2017; 47: 556-562
- [53] Herder C., Dalmás E., Böni-Schnetzler M., Donath M.Y.: The IL-1 pathway in type 2 diabetes and cardiovascular complications. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2015; 26: 551-563
- [54] Ridker P.M., Everett B.M., Thuren T., MacFadyen J.G., Chang W.H., Ballantyne C., Fonseca F., Nicolau J., Koenig W., Anker S.D. i wsp.: Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N. Engl. J. Med.*, 2017; 377: 1119-1131
- [55] McCaughy T.M., Hogquist K.A.: Central tolerance: What have we learned from mice? *Semin. Immunopathol.*, 2008; 30: 399-409
- [56] Giancchetti E., Delfino D.V., Fierabracci A.: NK cells in autoimmune diseases: Linking innate and adaptive immune responses. *Autoimmun. Rev.*, 2018; 17: 142-154
- [57] Goodnow C.C., Sprent J., Fazekas de St Groth B., Vinuesa C.G.: Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*, 2005; 435: 590-597
- [58] Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y.: Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 330-336
- [59] Okubo Y., Torrey H., Butterworth J., Zheng H., Faustman D.L.: Treg activation defect in type 1 diabetes: Correction with TNFR2 agonism. *Clin. Transl. Immunology*, 2016; 5: e56
- [60] Wang M., Chen F., Wang J., Zeng Z., Yang Q., Shao S.: Th17 and Treg lymphocytes in obesity and Type 2 diabetic patients. *Clin. Immunol.*, 2018; 197: 77-85
- [61] El-Shabrawy R.M., Ahmed A.M., Selim F.O., Said N.M.: Association between CD4⁺, CD25⁺, FOXP3⁺ regulatory T-cells and cardiovascular complications in diabetic patients type 1. *Egypt. J. Immunol.*, 2019; 26: 129-139
- [62] Abouzeid S., Sherif N.: Role of alteration in Treg/Th17 cells' balance in nephropathic patients with Type 2 diabetes mellitus. *Electron. Physician.*, 2015; 7: 1613-1618
- [63] Pelanda R., Piccirillo C.A.: Tolerance, immune regulation, and autoimmunity: Cells and cytokines that make a difference. *Curr. Opin. Immunol.*, 2008; 20: 629-631
- [64] Abdel-Moneim A., Bakery H.H., Allam G.: The potential pathogenic role of IL-17/Th17 cells in both type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Biomed. Pharmacother.*, 2018; 101: 287-292
- [65] Qiu A.W., Liu Q.H., Wang J.L.: Blocking IL-17A alleviates diabetic retinopathy in rodents. *Cell Physiol. Biochem.*, 2017; 41: 960-972
- [66] Lavoz C., Rayego-Mateos S., Orejudo M., Opazo-Ríos L., Marchant V., Marquez-Exposito L., Tejera-Muñoz A., Navarro-González J.F., Droguett A., Ortiz A. i wsp.: Could IL-17A be a novel therapeutic target in diabetic nephropathy? *J. Clin. Med.*, 2020; 9: 272
- [67] Cortvrindt C., Speeckaert R., Moerman A., Delanghe J.R., Speeckaert M.M.: The role of interleukin-17A in the pathogenesis of kidney diseases. *Pathology*, 2017; 49: 247-258
- [68] Gauci M.L., Boudou P., Baroudjian B., Vidal-Trecan T., Da Meda L., Madelaine-Chambrin I., Basset-Seguín N., Bagot M., Pages C., Mourah S. i wsp.: Occurrence of type 1 and type 2 diabetes in patients treated with immunotherapy (anti-PD-1 and/or anti-CTLA-4) for metastatic melanoma: A retrospective study. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2018; 67: 1197-1208
- [69] Parenti A., Pala L., Paccosi S., Rotella C.M.: Potential role for dendritic cells in endothelial dysfunction, diabetes and cardiovascular disease. *Curr. Pharm. Des.*, 2017; 23: 1435-1444
- [70] Mráz M., Cinkajzlová A., Kloučková J., Lacinová Z., Kratochvílová H., Lipš M., Pořízka M., Kopecký P., Lindner J., Kotulák T. i wsp.: Dendritic cells in subcutaneous and epicardial adipose tissue of subjects with type 2 diabetes, obesity, and coronary artery disease. *Mediators Inflamm.*, 2019; 2019: 5481725
- [71] Marca V., Giancchetti E., Fierabracci A.: Type 1 diabetes and its multi-factorial pathogenesis: The putative role of NK cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018; 19: 794
- [72] Chiba H., Fukui A., Fuchinoue K., Funamizu A., Tanaka K., Mizunuma H.: Expression of natural cytotoxicity receptors on and intracellular cytokine production by NK cells in women with gestational diabetes mellitus. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2016; 75: 529-538
- [73] Lobo T.F., Borges C.M., Mattar R., Gomes C.P., de Angelo A.G., Pendelowski K.P., Daher S.: Impaired Treg and NK cells profile in overweight women with gestational diabetes mellitus. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2018; 79: e12810
- [74] Tylutka A., Zembroń-Łacny A.: Starzenie się układu immunologicznego i jego konsekwencje dla zdrowia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2020; 74: 259-270
- [75] Wańkiewicz-Kalińska A.: Zjawiska autoimmunizacyjne. W: *Immunologia*, red.: J. Gołąb, M. Jakóbsiak, W. Lasek, T. Stokłosa. PWN, Warszawa 2012, 360-362
- [76] Nikolov A., Tzekova M., Blazhev A.: Relationship between lipid indices, type IV collagen turnover and the development of microvascular complications in diabetic patients with arterial hypertension. *Folia Med.*, 2019; 61: 231-239
- [77] Attawia M.A., Nayak R.C.: Circulating antipericyte autoantibodies

- in diabetic retinopathy. *Retina*, 1999; 19: 390-400
- [78] Nayak R.C., Agardh C.D., Kwok M.G., Stjernquist H., Farthing-Nayak P.J., Agardh E.: Circulating anti-pericyte autoantibodies are present in type 2 diabetic patients and are associated with non-proliferative retinopathy. *Diabetologia*, 2003; 46: 511-513
- [79] Zhang L., Li Y., Payne J., Srivastava S., Fan X., Fung J., Li X., Kern T.S., Lin F.: Presence of retinal pericyte-reactive autoantibodies in diabetic retinopathy patients. *Sci. Rep.*, 2016; 6: 20341
- [80] Fredrikson G.N., Anand D.V., Hopkins D., Corder R., Alm R., Bengtsson E., Shah P.K., Lahiri A., Nilsson J.: Associations between autoantibodies against apolipoprotein B-100 peptides and vascular complications in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2009; 52: 1426-1433
- [81] Vavuli S., Salonurmi T., Loukovaara S., Nissinen A.E., Savolainen M.J., Liinamaa M.J.: Elevated levels of plasma IgA autoantibodies against oxidized LDL found in proliferative diabetic retinopathy but not in nonproliferative retinopathy. *J. Diabetes Res.*, 2016; 2016: 2614153
- [82] Sinha S., Saxena S., Das S., Prasad S., Bhasker S.K., Mahdi A.A., Kruzliak P.: Antimyeloperoxidase antibody is a biomarker for progression of diabetic retinopathy. *J. Diabetes Complications*, 2016; 30: 700-704
- [83] Yoshitake S., Murakami T., Suzuma K., Yoshitake T., Uji A., Moorooka S., Dodo Y., Fujimoto M., Shan Y., Fort P.E. i wsp.: Antifumarase antibody promotes the dropout of photoreceptor inner and outer segments in diabetic macular oedema. *Diabetologia*, 2019; 62: 504-516
- [84] Türk A., Mollamehmetoğlu S., Alver A., Menteşe A., Nuhoğlu I., Erem C., Imamoğlu H.I.: The relationship between serum carbonic anhydrase II autoantibody levels and diabetic retinopathy in type 1 diabetes patients. *Turk. J. Ophthalmol.*, 2017; 47: 85-88
- [85] Nakaizumi A., Fukumoto M., Kida T., Suzuki H., Morishita S., Satou T., Oku H., Ikeda T., Nakamura K.: Measurement of serum and vitreous concentrations of anti-type II collagen antibody in diabetic retinopathy. *Clin. Ophthalmol.*, 2015; 9: 543-547
- [86] Lopes-Virella M.F., Hunt K.J., Baker N.L., Virella G., VADT Group of Investigators: High levels of AGE-LDL, and of IgG antibodies reacting with MDA-lysine epitopes expressed by oxLDL and MDA-LDL in circulating immune complexes predict macroalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *J. Diabetes Complications*, 2016; 30: 693-699
- [87] Virella G., Carter R.E., Saad A., Crosswell E.G., Game B.A., DCCT/EDIC Study Group, Lopes-Virella M.F.: Distribution of IgM and IgG antibodies to oxidized LDL in immune complexes isolated from patients with type 1 diabetes and its relationship with nephropathy. *Clin. Immunol.*, 2008; 127: 394-400
- [88] Zimering M.B., Zhang J.H., Guarino P.D., Emanuele N., McCullough P.A., Fried L.F., Investigators for the VA NEPHRON-D: Endothelial cell autoantibodies in predicting declining renal function, end-stage renal disease, or death in adult type 2 diabetic nephropathy. *Front. Endocrinol.*, 2014; 5: 128
- [89] Ge S., Xie J., Zheng L., Yang L., Zhu H., Cheng X., Shen F.: Associations of serum anti-ganglioside antibodies and inflammatory markers in diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2016; 115: 68-75
- [90] Menichella D.M., Jayaraj N.D., Wilson H.M., Ren D., Flood K., Wang X.Q., Shum A., Miller R.J., Paller A.S.: Ganglioside GM3 synthase depletion reverses neuropathic pain and small fiber neuropathy in diet-induced diabetic mice. *Mol. Pain*, 2016; 12: 1744806916666284
- [91] Ejskjaer N., Arif S., Dodds W., Zanone M.M., Vergani D., Watkins P.J., Peakman M.: Prevalence of autoantibodies to autonomic nervous tissue structures in type 1 diabetes mellitus. *Diabet. Med.*; 1999; 16: 544-549
- [92] Gottumukkala R.V., Lv H., Cornivelli L., Wagers A.J., Kwong R.Y., Bronson R., Stewart G.C., Schulze P.C., Chutkow W., Wolpert H.A. i wsp.: Myocardial infarction triggers chronic cardiac autoimmunity in type 1 diabetes. *Sci. Transl. Med.*, 2012; 4: 138ra80
- [93] Hoffman W.H., Sharma M., Cihakova D., Talor M.V., Rose N.R., Mohanakumar T., Passmore G.G.: Cardiac antibody production to self-antigens in children and adolescents during and following the correction of severe diabetic ketoacidosis. *Autoimmunity*, 2016; 49: 188-196
- [94] Roth B., Berntorp K., Ohlsson B.: The expression of serum antibodies against gonadotropin-releasing hormone (GnRH1), progesterone, luteinizing hormone (LH), and related receptors in patients with gastrointestinal dysfunction or diabetes mellitus. *Drug Target Insights*, 2014; 8: 45-50
- [95] Rizzo P., Pitocco D., Zaccardi F., Di Stasio E., Strollo R., Rizzi A., Scavone G., Costantini F., Galli M., Tinelli G. i wsp.: Autoantibodies to post-translationally modified type I and II collagen in Charcot neuroarthropathy in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2017; 33: e2839
- [96] Xiao X., Ma B., Dong B., Zhao P., Tai N., Chen L., Wong F.S., Wen L.: Cellular and humoral immune responses in the early stages of diabetic nephropathy in NOD mice. *J. Autoimmun.*, 2009; 32: 85-93
- [97] Nicoloff G., Blazhev A., Petrova C., Christova P.: Circulating immune complexes among diabetic children. *Clin. Dev. Immunol.*, 2004; 11: 61-66
- [98] Li T., Yu Z., Qu Z., Zhang N., Crew R., Jiang Y.: Decreased number of CD19⁺CD24^{hi}CD38^{hi} regulatory B cells in diabetic nephropathy. *Mol. Immunol.*, 2019; 112: 233-239
- [99] Zhang N., Tai J., Qu Z., Zhang Z., Zhao S., He J., Zhang S., Jiang Y.: Increased CD4⁺CXCR5⁺ T follicular helper cells in diabetic nephropathy. *Autoimmunity*, 2016; 49: 405-413
- [100] Cameron N.E., Eaton S.E., Cotter M.A., Tesfaye S.: Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 2001; 44: 1973-1988
- [101] Elzinga S., Murdock B.J., Guo K., Hayes J.M., Tabbey M.A., Hur J., Feldman E.L.: Toll-like receptors and inflammation in metabolic neuropathy; a role in early versus late disease? *Exp. Neurol.*, 2019; 320: 112967
- [102] Janahi N.M., Santos D., Blyth C., Bakhtiet M., Ellis M.: Diabetic

- peripheral neuropathy, is it an autoimmune disease? *Immunol. Lett.*, 2015;168: 73-79
- [103] Zanone M.M., Raviolo A., Coppo E., Trento M., Trevisan M., Cavallo F., Favaro E., Passera P., Porta M., Camussi G.: Association of autoimmunity to autonomic nervous structures with nerve function in patients with type 1 diabetes: A 16-year prospective study. *Diabetes Care*, 2014; 37: 1108-1115
- [104] Schnell O., Schwarz A., Muhr-Becker D., Standl E.: Autoantibodies against autonomic nervous tissues in type 2 diabetes mellitus: No association with cardiac autonomic dysfunction. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2000; 108: 181-186
- [105] Łukawska-Tataczuk M., Mrozikiewicz-Rakowska B., Franek E., Czupryniak L.: Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2020; 74: 452-463
- [106] Lv H., Havar E., Pinto S., Gottumukkala R.V., Cornivelli L., Radassi K., Matsui T., Rosenzweig A., Bronson R.T., Smith R. i wsp.: Impaired thymic tolerance to α -myosin directs autoimmunity to the heart in mice and humans. *J. Clin. Invest.*, 2011; 121: 1561-1573
- [107] Sousa G.R., Pober D., Galderisi A., Lv H., Yu L., Pereira A.C., Doria A., Kosiborod M., Lipes M.A.: Glycemic control, cardiac autoimmunity, and long-term risk of cardiovascular disease in type 1 diabetes mellitus. *Circulation*, 2019; 139: 730-743
- [108] Tomaszewska A., Mrozikiewicz-Rakowska B., Czupryniak L.: Diabetic enteropathy – still undefeated? *Clin. Diabetology*, 2017; 6: 105-110
- [109] D'Addio F., La Rosa S., Maestroni A., Jung P., Orsenigo E., Ben Nasr M., Tezza S., Bassi R., Finzi G., Marando A. i wsp.: Circulating IGF-I and IGFBP3 levels control human colonic stem cell function and are disrupted in diabetic enteropathy. *Cell Stem Cell*, 2015; 17: 486-498
- [110] Bereket A., Lang C.H., Wilson T.A.: Alterations in the growth hormone-insulin-like growth factor axis in insulin dependent diabetes mellitus. *Horm. Metab. Res.*, 1999; 31: 172-181

6.3. Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?

ORIGINAL PAPER



Submitted: 07.12.2021
Accepted: 28.12.2021
Early publication date: 05.04.2022

Endokrynologia Polska
DOI: 10.5603/EPa.2022.0018
ISSN 0423-104X, e-ISSN 2299-8306

Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?

Magdalena Maria Łukawska-Tatarczuk^{1,2}, Jakub Zieliński³, Edward Franek^{2,4}, Leszek Czupryniak¹, Beata Mrozikiewicz-Rakowska¹

¹Department of Diabetology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Poland

²Department of Internal Diseases, Endocrinology, and Diabetology, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland

³Interdisciplinary Centre for Mathematical and Computational Modelling, Warsaw, Poland

⁴Mosakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

ORIGINAL PAPER

Abstract

Introduction: It has been hypothesized that autoimmunity may contribute to cardiovascular complications and may be an important trigger for processes leading to atherosclerosis, especially in type 1 diabetes mellitus (T1DM). This pilot study aimed to answer the question of whether markers of thyroid autoimmunity are associated with increased carotid intima-media thickness (cIMT) in young, asymptomatic T1DM women.

Material and methods: The study population consisted of 102 women, including 72 with T1DM and 30 healthy controls. All patients had thyroid hormones within the normal range. According to the antiperoxidase antibodies (aTPO) titre, the T1DM women were divided into an aTPO-positive (T1DM aTPO+) (n = 41) and an aTPO-negative (T1DM aTPO-) (n = 31) group. In all patients, aTPO, thyroglobulin antibody (aTG) titres, thyroid-stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT3), free triiodothyronine (FT4), lipid parameters, glycated haemoglobin, thyroid ultrasonography, and cIMT assessment were evaluated. The association of cIMT with different risk factors related to thyroid autoimmunity was determined.

Results: Carotid intima-media thickness was significantly greater in T1DM aTPO+ females (0.66 ± 0.10 mm) than in T1DM aTPO- (0.59 ± 0.11 mm) and healthy controls (0.58 ± 0.10 mm) ($p = 0.007$, $p = 0.001$, respectively). In all women cIMT was significantly, positively correlated with aTPO ($p = 0.005$, $r = 0.273$), Hashimoto's thyroiditis (HT) duration ($p = 0.00015$, $r = 0.367$), levothyroxine dose per week ($p = 0.006$, $r = 0.269$), and ultrasound features of HT ($p = 0.004$, $r = 0.281$) and inversely with fT3 concentration ($p = 0.014$, $r = -0.243$) and FT3/FT4 ratio ($p = 0.042$, $r = -0.201$). A logistic regression analysis showed that HT duration (OR: 1.102, 95% CI: 1.008–1.206, $p = 0.032$) and a positive history family of IIT (OR: 3.909, 95% CI: 1.014–15.071, $p = 0.045$) were risk factors for increased cIMT. However, multivariate regression analysis showed that the studied parameters related to thyroid autoimmunity are not independent risk factors for increased cIMT.

Conclusions: We expanded the data on cIMT in young women with T1DM and showed that thyroid autoimmunity, and in particular the duration of exposure to anti-thyroid antibodies, despite adequate levothyroxine substitution, is associated with subclinical atherosclerosis in young women with T1DM. However, thyroid-related parameters are not independent risk factors for increased cIMT in euthyroid women.

Key words: type 1 diabetes; thyroid autoimmunity; anti-thyroid antibodies; atherosclerosis

Introduction

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) has an autoimmune aetiology and is associated with many complications, of which cardiovascular (CV) diseases caused by accelerated atherosclerosis remain the most challenging in clinical practice [1]. Coexistence of autoimmune disorders, of which Hashimoto's thyroiditis (HT) is the most common [2], is believed to amplify the elevated CV risk. However, evidence that thyroid autoimmunity is a predictor of atherosclerosis is controversial.

An increasing number of reports indicate the involvement of immunological factors in the devel-

opment of diabetic complications, of which the most significant association is suspected in CV complication in T1DM [3]. It seems that an imbalance in the immune system may be a key trigger of processes underlying atherosclerosis, which include inflammation [4], endothelial dysfunction [5], and accumulation of prothrombotic factors [6]. Interestingly, autoimmune factors in CV complications appear to be particularly relevant in women. It was found that the antioxidant and anti-inflammatory effects of oestrogen observed in healthy women are due to the regulatory Th2, macrophage, and T regulatory cell immune response and are probably disrupted in the presence of autoimmune

✉ Beata Mrozikiewicz-Rakowska, Department of Diabetology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Poland;
e-mail: rakowskab123@gmail.com

disease [7]. This may explain the increased CV risk in premenopausal women with T1DM compared to those without diabetes as well as the sex differences in CV disease development [8]. In fact, a recent meta-analysis has reported that women with diabetes have a 58% and 13% greater risk of coronary heart disease and all-cause mortality, respectively, compared to men with the same disease [9]. The latest guidelines of the European Society of Cardiology suggest that CV complications increase most in young women with early onset T1DM, highlighting the need for further research on new CV risk factors specific to this group [10].

It is estimated that up to 25% of people with T1DM have elevated thyroid antibodies, and about half of them will develop clinical autoimmune thyroid disease [11]. There is increasing evidence that coexistence of diabetes and thyroid disease leads to endothelial damage, which has a significant impact on the development of macro- and microangiopathic complications [12]. Despite the proven impact of already subclinical hypothyroidism on the increased CV risk in young patients with T1DM [13], the data on the influence of the thyroid autoimmunity on the CV system in euthyroid patients are still inconclusive [14, 15]. Thus, the aim of this study was to answer the question of whether thyroid markers of immunological response are associated with elevated carotid intima-media thickness (cMT) in young women with T1DM, providing new insight into CV risk factors in this group of patients.

Material and methods

Study population

A total of 72 female with T1DM were prospectively recruited from the patients of the Diabetes Outpatient Clinic of the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw between May 2018 and October 2020. Data on duration of diabetes, daily insulin dose, levothyroxine dose per week, presence of microangiopathy complications, and family history of HT were collected from the medical interview and past medical records. The inclusion criteria were diagnosis of T1DM, age 18–40 years, female sex, glycated haemoglobin (HbA_{1c}) < 10%, body mass index (BMI) < 30 kg/m², and current euthyroid status in laboratory tests. The exclusion criteria were as follows: smoking behaviour, pregnancy, hypertension, history of any other CV disease, infectious disease, kidney disease, and taking any medication other than insulin or levothyroxine. The diagnosis of HT was established based on standard criteria: positive aTPO or thyroglobulin antibody (aTG) and a typical ultrasound image. Based on laboratory tests, patients with T1DM were divided into antiperoxidase antibody (aTPO)-positive (T1DM aTPO+) and aTPO-negative (T1DM aTPO-) subgroups. The control group consisted of healthy medication-free, age-matched women. Inclusion criteria were as follows: age 18–40 years, female sex, BMI < 30 kg/m², and no history of diabetes, CV disease, hypothyroidism, or any other disease. Patients with positive antithyroid antibodies and with HT features on ultrasound examination were excluded from the control group. The study protocol was approved by the Ethics and Surveillance Committee for Research in Human and Animal Sciences at the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in War-

saw and was conducted according to the Declaration of Helsinki. All participants had signed an informed consent form before they were included within the study.

Anthropometric, laboratory, and ultrasound data

Interview and physical examination were performed for all study participants. The body mass index (BMI) was determined as body weight [kg]/height [metres] squared. For laboratory tests, thyroid-stimulating hormone (TSH) (normal values 0.27–4.2 μIU/mL), free thyroxine (fT4) (normal values 0.93–1.7 ng/dL), free triiodothyronine (fT3) (normal values 2–4.4 pg/mL), aTG (positive values were > 115 IU/mL), aTPO (positive values were > 34 IU/mL), HbA_{1c} , and lipid concentrations were performed in the morning after an overnight fast in the hospital laboratory using standard methods. The fT3:fT4 ratio was derived by dividing plasma concentrations of fT3 by those of fT4.

All patients underwent thyroid ultrasonography and bilateral B-mode ultrasound to evaluate cMT according to the guidelines presented by the Polish Ultrasonography Society [16, 17]. Carotid arteries were examined using a 10 MHz linear transducer probe using a high-definition echograph (Canon Aplio a) and were performed by the same experienced sonographer. cMT was measured three times on each side (right and left), and the mean value was calculated for all six measurements. The volume of the thyroid gland considered in the study was the sum of the volumes of the right and left lobe. The analysis included the assessment of the features of HT — reduced echogenicity of the parenchyma and hyperechoic echoes from the stromal connective tissue.

Statistical analysis

Analysis was performed using Statistica 13. Continuous variables are presented as the mean ± 1 SD, while categorical variables are presented as numbers (percentage). The Lilliefors and Shapiro-Wilk tests were used to verify the normal distribution of data. Student's t-test for normally distributed data, the Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis ANOVA for variables non-normally distributed, and the chi-square test for categorical variables were used to compare the differences between the groups. Correlations and their significance were calculated using the non-parametric Spearman test. cMT was assumed to be a binary variable, and the threshold value of IMT for pathology was adopted at level 0.75 mm (IMT ≥ 0.75 mm was calculated as pathology). Logistic regression analyses and multivariate logistic regression analysis were performed to evaluate effects of various factors on cMT. The statistical significance level was set at $p < 0.05$.

Results

The general characteristics of analysed groups are presented in Table 1. The study population comprised 102 females, including 30 controls with mean age 26.57 ± 3.68 years and 72 participants with T1DM with mean age 26.26 ± 4.86 years and with mean diabetes duration of 12.10 ± 6.31 years and HbA_{1c} at the time of the analysis $8.01 \pm 1.51\%$. T1DM patients were divided into two subgroups depending on the titre of aTPO: T1DM aTPO+ ($n = 41$) and T1DM aTPO- ($n = 31$). Among studied patients, in the T1DM aTPO+ group, 26 (63.41%) were treated chronically with levothyroxine. Among studied patients in the T1DM aTPO- group, 7 (22.58%) were treated chronically with levothyroxine but without typical elevated antibodies. All study participants had thyroid hormones within normal

Table 1. Anthropometric, clinical, biochemical, and ultrasound characteristics of the studied groups

	T1DM (n = 72)	T1DM aTPO+ (n = 41)	T1DM aTPO- (n = 31)	Controls (n = 30)	P (T1DM vs. Controls)	P (T1DM aTPO+ vs. T1DM aTPO-)
Age [years]	26.26 ± 4.86	27.02 ± 4.89	25.26 ± 4.70	26.57 ± 3.68	0.561	0.130
BMI [kg/m ²]	22.66 ± 2.87	22.89 ± 2.98	22.36 ± 2.74	22.78 ± 3.28	0.921	0.556
Diabetes ± duration (years)	12.10 ± 6.31	12.68 ± 7.33	11.32 ± 4.63	0	< 0.001***	0.549
Daily insulin dose (units)	39.26 ± 17.89	38.79 ± 19.40	39.87 ± 15.98	0	< 0.001***	0.587
Presence of diabetes microangiopathy complications (%)	9.0	9.7	12.9	0	< 0.001***	0.679
HbA _{1c} (%)	8.01 ± 1.51	8.14 ± 1.30	7.85 ± 1.77	5.18 ± 0.26	< 0.001***	0.248
Total cholesterol [mg/dL]	177.29 ± 32.52	177.90 ± 32.47	178.48 ± 33.10	172.87 ± 28.80	0.690	0.821
LDL-C [mg/dL]	90.87 ± 29.51	90.29 ± 29.78	91.65 ± 29.61	84.6 ± 28.20	0.476	0.830
HDL-C [mg/dL]	70.11 ± 18.51	71.51 ± 18.61	68.26 ± 18.51	72.70 ± 20.94	0.586	0.297
Triglyceride [mg/dL]	86.28 ± 42.68	80.51 ± 40.90	93.90 ± 44.44	79.23 ± 28.57	0.801	0.117
HT duration [years]	3.83 ± 5.61	6.76 ± 5.99	0	0	< 0.001***	< 0.001***
L-thyroxine dose per week [μg]	245.94 ± 308.11	355.07 ± 326.86	101.61 ± 210.84	0	< 0.001***	< 0.001***
TSH [μIU/mL]	2.16 ± 1.72	2.33 ± 2.10	1.93 ± 1.03	2.33 ± 1.03	0.096	0.659
ft4 [ng/dL]	1.24 ± 0.22	1.27 ± 0.24	1.21 ± 0.18	1.25 ± 0.17	0.779	0.120
ft3 [pg/mL]	2.90 ± 0.45	2.91 ± 0.42	2.89 ± 0.49	3.25 ± 0.54	< 0.001***	0.435
ft3/ft4 ratio	0.237 ± 0.04	0.23 ± 0.05	0.24 ± 0.04	0.26 ± 0.05	0.022*	0.470
aTPO [IU/mL]	118.34 ± 180.44	198.77 ± 205.79	11.97 ± 7.09	8.81 ± 5.79	< 0.001***	< 0.001***
aTG [IU/mL]	197.92 ± 485.94	316.41 ± 615.98	41.21 ± 91.54	68.41 ± 125.96	< 0.001***	< 0.001***
Thyroid volume [mL]	11.68 ± 3.37	11.86 ± 3.68	11.43 ± 2.95	11.70 ± 3.99	0.586	0.651
Ultrasound features of HT (%)	61.11	100	9.6	0	< 0.001***	< 0.001***
Positive family history of HT (%)	55.56	60.97	48.39	53.33	0.839	0.294
cIMT mean [mm]	0.63 ± 0.11	0.66 ± 0.10	0.59 ± 0.11	0.58 ± 0.10	0.028*	0.007**

*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; *Data presented as mean ± SD or N (%); BMI — body mass index; HbA_{1c} — glycated haemoglobin; LDL-C — low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C — high-density lipoprotein cholesterol; HT — Hashimoto's thyroiditis; TSH — thyroid-stimulating hormone; ft4 — free thyroxine; ft3 — free triiodothyronine; aTPO-anti — thyroid peroxidase antibody; aTG — anti-thyroglobulin antibody; cIMT — carotid intima-media thickness

range. There were no differences in age, BMI, lipids parameters, TSH, ft4 levels, thyroid volume, and positive family history of HD between patients with and without T1DM (p > 0.05). FT3 and the ft3/ft4 ratio were significantly lower in the T1DM group than in controls (p < 0.001, p = 0.022, respectively). The studied subgroups of T1DM also did not differ significantly in age, BMI, lipid parameters, TSH, ft4, thyroid volume, and positive family history of HD as well as in ft3, mean diabetes duration, daily insulin dose, presence of diabetes microangiopathy complications, and HbA_{1c}. As intended, the groups differed significantly in anti-thyroid antibody titres (aTPO and aTG) and the presence of features of HT in ultrasonography (Tab. 1).

To compare the cIMT values between groups, the mean of all six measurements from both sides were calculated. We found that mean cIMT was significantly higher in T1DM patients than in controls (p = 0.028) and significantly higher in aTPO-positive T1DM patients than aTPO-negative T1DM patients (p = 0.007). Conversely, there was no significant difference between cIMT in the T1DM aTPO- group and controls (p = 0.704). Figure 1 shows the differences in cIMT between groups: the T1DM aTPO+ vs. T1DM aTPO- vs. controls.

We evaluated the association of cIMT with thyroid parameters including clinician date — HT duration, levothyroxine dose per week reflecting the severity of HT,

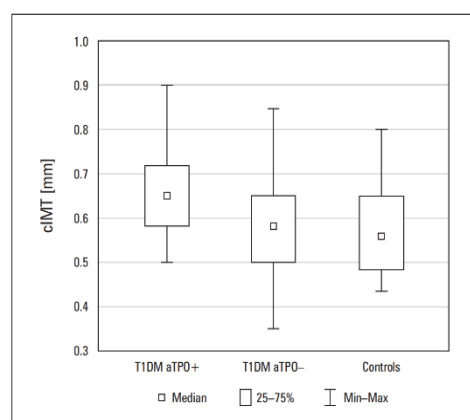


Figure 1. Carotid intima-media thickness (cIMT) in women with type 1 diabetes mellitus (T1DM) and positive antithyroid peroxidase antibody titre (aTPO+) vs. women with T1DM and negative aTPO titre (aTPO-) ($p = 0.007$) vs. healthy controls ($p = 0.001$)

family history of HT; laboratory data — TSH, FT3, FT4, aTPO, aTG, and ultrasound data — thyroid volume, ultrasound features of HT. In Table 2, we present results of the correlation analysis between cIMT and studied variable factors in all women ($n = 102$), in women with T1DM ($n = 72$), and in controls ($n = 30$).

In the whole population, cIMT was positively correlated with age, HT duration, levothyroxine dose per week, aTPO, and ultrasound features of HT and

negatively correlated with FT3 levels and free triiodothyronine/free thyroxine (fT3/fT4) ratio. In the T1DM group ($n = 72$), we also found a significantly positive correlation between cIMT and age, duration of HT, and levothyroxine dose per week, but without significant correlation with other parameters. There was also no significant correlation between all cIMT measurements and the studied parameters in the control group.

To examine risk factors of cIMT among thyroid parameters, univariate logistic regression analyses were performed (Tab. 3).

Our results showed that the increased cIMT was significantly associated with HT duration with an odds ratio of 1.102 ($p = 0.032$, 95% CI: 1.008–1.206) and positive family history of HT with an odds ratio of 3.909 ($p = 0.045$, 95% CI: 1.014–15.071). Interestingly, we did not show statistical significance for age as a major risk factor for atherosclerosis, which is probably due to the narrow age range in the study group (18–40 years), the young age of the study population (88% of the studied women were under 31 years of age), and the relatively small sample size. Surprisingly, logistic regression analysis showed that higher aTG was a beneficial factor against cIMT ($p = 0.006$) with an odds ratio of 0.995. However, in other tests we did not confirm these results. The Mann-Whitney U test indicated that the group of patients with thicker cIMT had a higher median aTG and a lower mean aTG than the group with thinner cIMT. The discrepancy is because incidentally several patients in our study had very high aTG titre and thin cIMT thickness, causing a statistical artefact.

Table 2. Analysis of the intima-media thickness correlation with selected variables in all women ($n = 102$), in women with diabetes type 1 mellitus (T1DM) ($n = 72$), and in controls ($n = 30$)

Variable vs. cIMT	All patients					
	All women ($n = 102$)		T1DM ($n = 72$)		Controls ($n = 30$)	
	r	p	r	p	r	p
Age	0.266	0.007**	0.268	0.023*	0.220	0.241
HT duration	0.367	0.00015***	0.358	0.002**	–	–
L-thyroxine dose per week	0.269	0.006**	0.242	0.040*	–	–
TSH [uIU/L]	–0.123	0.217	–0.236	0.044	0.304	0.102
fT4	0.057	0.572	0.066	0.583	0.036	0.849
fT3	–0.243	0.014*	–0.133	0.266	–0.291	0.119
fT3/fT4	–0.201	0.042*	–0.098	0.411	–0.279	0.136
aTPO	0.273	0.005**	0.226	0.055	–0.043	0.820
aTG	0.179	0.072	0.103	0.390	–0.048	0.800
Thyroid volume	–0.086	0.391	–0.096	0.424	–0.201	0.288
Ultrasound features of HT	0.281	0.004**	0.225	0.057	–	–
Positive family history of HT	–0.006	0.946	0.014	0.906	–0.050	0.792

* $p < 0.05$. ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$. HT — Hashimoto's thyroiditis; TSH — thyroid-stimulating hormone; fT4 — free thyroxine; fT3 — free triiodothyronine; aTPO — anti-thyroid peroxidase antibody; aTG — anti-thyroglobulin antibody; cIMT — carotid intima-media thickness

Table 3. Univariate logistic regression analyses of thyroid risk factors for intima-media thickness

Dependent variable	Predictors	Odds ratio	95% CI	p value
cIMT	Age	1.083	0.961–1.219	0.183
	HT duration	1.102	1.008–1.206	0.032
	L-thyroxine dose per week	1.001	0.999–1.002	0.315
	TSH	0.778	0.457–1.323	0.348
	fT4	1.908	0.134–27.402	0.629
	fT3	0.315	0.081–1.221	0.091
	fT3/fT4	0.000	0.000–45.553	0.160
	aTPO	1.000	0.997–1.004	0.730
	aTG	0.995	0.992–0.999	0.006
	Thyroid volume	0.860	0.712–1.038	0.112
	Ultrasound features of HT	3.119	0.967–10.058	0.054
	Positive family history of HT (%)	3.909	1.014–15.071	0.045

HT — Hashimoto's thyroiditis; TSH — thyroid-stimulating hormone; fT4 — free thyroxine; fT3 — free triiodothyronine; aTPO — anti-thyroid peroxidase antibody; aTG — anti-thyroglobulin antibody; cIMT — carotid intima-media thickness; CI — confidence interval

Therefore, we cannot consider the obtained result from the logistic regression analysis regarding aTG as reliable. On the other hand, for reduced echogenicity of the thyroid gland on ultrasound, we found a minimally non-significant association with cIMT ($p = 0.054$) with an odds ratio of 3.12. However, dividing the patients into two subgroups according to the reduced echogenicity on ultrasonography using Wilcoxon Mann-Whitney test, we found that patients with ultrasound features of HT had significantly higher cIMT ($p = 0.004$), which may also suggest the significance of the association of this factor with atherosclerosis. For other examined variables, the effects on cIMT were not significant. Multivariate logistic regression analysis showed that, of the studied parameters related to thyroid autoimmunity, there were no significant independent predictive factors for increased cIMT.

Discussion

Although CV risk factors have been studied quite extensively in diabetic groups, most of these data come from analyses of groups without sex stratification, especially in T1DM. The current study provides a unique opportunity to explore the new CV risk factors linked to thyroid autoimmunity in young women with T1DM.

As is well known, hyperlipidaemia is one of the most important risk factors responsible for the development of atherosclerosis. Interestingly, in our study there were no significant differences in lipid parameters between the aTPO-positive and aTPO-negative groups, and despite this, there were significant differences in cIMT thickness. We suspect that other factors related to thyroid autoimmunity may be the cause of sub-

clinical atherosclerosis in this group of patients. In HT, anti-thyroid antibodies are a marker of autoimmunity, and among HT patients the prevalence of aTPO is about 90%, whereas aTG is 60–80% [18]. Their action outside the thyroid is not clear. Although our studied groups differed significantly in both antithyroid antibody levels, we found a significant, positive correlation with cIMT only for the aTPO antibody. However, in multivariate logistic regression analysis we did not confirm that aTPO is an independent risk factor for cIMT. In fact, antithyroid antibodies appear to have only an indirect relationship with the development of atherosclerosis, with unknown exact mechanisms explaining this relationship. It is well recognized that local thyroid autoimmunity is closely related to the activation of the inflammatory process, which probably affects other tissues, even in the euthyroid stage [19, 20]. Interestingly, one study found a correlation between positive aTPO titres and increased oxidative stress and advanced glycation end products in serum in euthyroid HT patients, which may promote atherosclerosis [21]. Notably, patients with autoimmune thyroid disease present an imbalance between Th1/Th2 and Th17/Reg, causing activation of the inflammatory process and exacerbating thyroid damage [22]. Thus, it seems that polyautoimmunity may enhance this imbalance and the pro-inflammatory effect also in other tissue. In the present study, there was a significant positive correlation between ultrasound features of HT and increased cIMT, which confirms this hypothesis. Of interest, similarly to our study, Pittoco D et al. showed that in patients with two autoimmune diseases — T1DM and celiac disease — cIMT was greater than in those presenting only T1DM or celiac disease [23]. In addition, in the

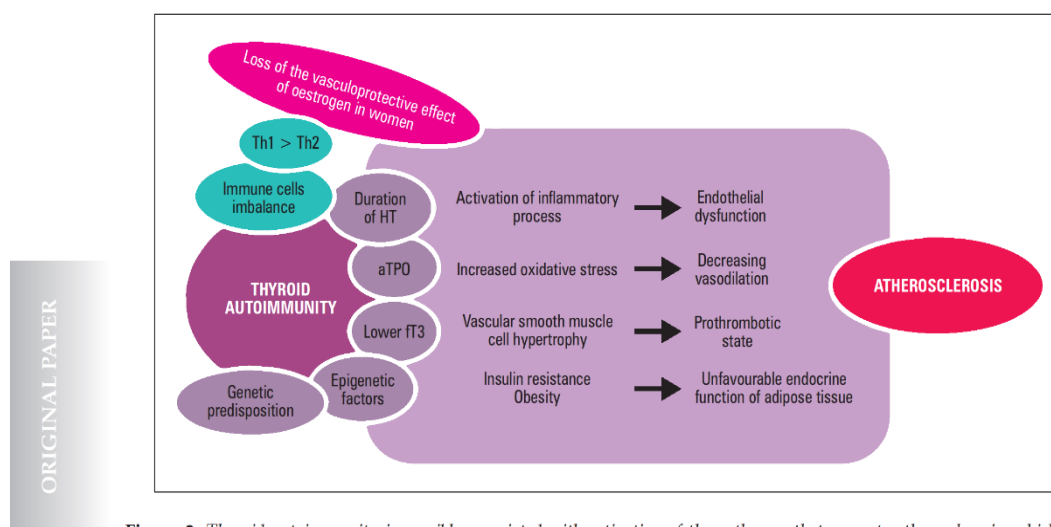


Figure 2. Thyroid autoimmunity is possibly associated with activation of the pathways that promote atherosclerosis, which may contribute to the loss of vasoprotection in women, explaining why they are at higher cardiovascular risk. Own elaboration based on the data obtained in the study and [5, 6, 8, 21, 22, 29, 31, 38, 41]. Th — T helper cell; HT — Hashimoto's thyroiditis; aTPO — anti-thyroid peroxidase antibody; fT3 — free triiodothyronine

study by Raterman et al. aTPO was associated with increased progression of cIMT in patients with another autoimmune disease — rheumatoid arthritis [15].

To date, only a few studies have presented data on cIMT thickness in patients with T1DM and coexisting thyroid autoimmunity in euthyrosis. In contrast to our study, the data obtained by Głowińska-Olszewska et al. showed no significant effect of the presence of HT on cIMT in the euthyroid T1DM population [14]. One explanation for these discrepancies may be that in this study the groups included both sexes. As we hypothesise, thyroid autoimmunity may have a stronger effect on cIMT in women because of the disruption of the anti-inflammatory effect of oestrogens likely to occur in people with autoimmune disorders [7]. Indeed, consistent with this view are the results obtained by Topaloglu et al. in euthyroid premenopausal women with HT but without T1DM [24], suggesting a link between thyroid autoimmunity and subclinical atherosclerosis in this group of patients. In fact, referring to previous studies in nondiabetic women with HT, thyroid autoimmunity was associated with chronic inflammation that may cause endothelial dysfunction [5], which promotes the development of atherosclerosis.

Of note, correlation analysis showed a significant association between the increase in cIMT and age and duration of HT in T1DM women. In fact, as demonstrated in previous studies, there is an increase in the intima-media complex with age [25], which is a well-known risk factor for atherosclerosis [26]. This

is likely to be related to atherogenic remodelling in response to age and haemodynamic factors, including disruption of endothelial barrier integrity, stiffening of the intima, and deposition of fibronectin and collagen [27]. Notably, with age the structure of intima changes due to migration of smooth muscle cells from the media to intima and the degree of inflammatory cell infiltration correlates with the severity of atherosclerotic plaques [28]. It therefore appears that the presence of an autoimmune disease may favour the progression of inflammation in the tunica intima-media and may be more important with longer duration.

Similarly to our study, lower serum fT3 levels were associated with elevated cIMT, but in patients without diabetes [29] and with type 2 diabetes [30]. The anti-atherosclerotic effect of fT3 is probably due to its inhibition of angiotensin II-induced expression of pro-inflammatory cytokines and vascular smooth muscle cell hypertrophy, as well as by increasing vasodilation [31]. A negative correlation between fT3 levels and the fT3/fT4 ratio and the presence of peripheral artery disease was found among the euthyroid Chinese population [32], which also is in agreement with our results. In contrast, recent studies have revealed that a higher fT3/fT4 ratio is a significant predictor of insulin resistance and metabolic syndrome [33, 34], which can contribute to higher CV risk. However, in our study we found an inverse correlation of fT3/fT4 with cIMT. One reason for the observed differences may be the levothyroxine substitution used by some of

our study patients, which has proved to decrease the fT3/fT4 ratio [35]. Therefore, the negative correlation of the fT3/fT4 ratio with cIMT in our study may indirectly indicate an association with levothyroxine supplementation and thereby the insufficient hormone production resulting from thyroid autoimmunity. Similarly, the positive correlation between levothyroxine dose per week and an increase in cIMT shown in our study does not mean that the hormone replacement favours the formation of atherosclerotic changes, but only indirectly indicates the relationship with the degree of progression of thyroid insufficiency. Increased cIMT has been also shown in women with HT, regardless of thyroid function and other CV risk factors, but only if connected with overweight or obesity [36]. This is because thyroid autoimmunity probably has some effect on adipose tissue even in euthyroidism [37]. Although all the women in our study were non-obese, the BMI in the T1DM aTPO+ group was slightly higher than in the T1DM aTPO- group. Interestingly, in a study by Liu et al. aTPO levels were associated with chronic inflammation and insulin resistance in patients without obesity [38]. These findings may suggest that aTPO promotes endocrine dysfunction of adipose tissue also in non-obese people, which may promote atherosclerotic plaque formation.

Our results also indicate that a positive family history of HT may be a risk factor of increased cIMT, which could suggest the influence of genetic factors. Relevant studies have shown that human leukocyte antigen (HLA), autoimmune regulator (AIRE), lymphoid protein tyrosine phosphatase (LYP), forkhead box protein P3 (FOXP3), and cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4) confer susceptibility to the development of autoimmune thyroiditis and T1DM [39]. What is important, these factors associated with autoimmunity are also important in regulating the inflammatory processes that underlie CV complication [40]. Interestingly, epigenetic factors may mediate the link between autoimmunity, adipose tissue, and the atherosclerotic plaque formation [41], but the exact mechanism of these relationships remains unclear and requires further study. Figure 2 shows the possible mechanisms involved in the association between factors related to thyroid autoimmunity and atherosclerosis in women.

The strength of our study was to qualify a homogeneous group of young asymptomatic women with T1DM to eliminate CV risk factors such as obesity, hypertension, or hyperlipidaemia. Moreover, for the first time we performed a thorough analysis of factors associated with thyroid autoimmunity in young T1DM women. However, there were also some limitations in our study. First, the number of patients in this study was relatively small. Second, data on diabetes and associated

complications were assessed based on medical diagnoses recorded from interviews and past medical records, implying a potential misclassification. Moreover, in view of the possible long interval between the appearance of subclinical changes in the CV system and the first manifestation of CV disease, prolonged follow-up of women with T1DM aTPO+ is needed.

Conclusions

The original findings of our study are that not only the co-occurrence of aTPO, but also the duration of antibody exposure, severity of HT, and genetic predisposition independent of thyroid function may be associated with subclinical atherosclerosis. However, parameters associated with thyroid autoimmunity are not independent risk factors for increased cIMT in women with type 1 diabetes. In fact, thyroid autoimmunity probably has no harmful effect per se but may be an indicator of an immune imbalance that indirectly induces pathways involved in atherosclerotic plaque formation. We suspect that intima-media thickening may be mediated by autoimmunity, which may be related to sex differences. Overall, future research on a larger group of patients is needed for a better understanding of the mechanisms leading to atherosclerosis in T1DM women, which may contribute to personalized and gender-specific treatment of vascular complications.

Acknowledgments

We are grateful to the participants and staff of the Department of Internal Diseases, Endocrinology, and Diabetology of the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw for making the study possible.

Conflict of interests

None of the authors have any potential conflicts of interest associated with this research.

Funding

This research was funded by a Diabetes Poland Scientific Grant (27.08.2020).

Contributors

M.E.T. contributed to the conception and design of the study and data collection, researched and analysed the data, and wrote the manuscript. J.Z. contributed to the conception and statistical data analysis and the critical revision of the manuscript. B.M.R., E.E., and I.C. contributed to the conception and design of the study and the critical revision of the manuscript. All approved the final version of the manuscript.

Ethical approval

The study was approved by the Ethics and Surveillance Committee for Research in Human and Animal Sciences at the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs (no. 22/2018 of 09.05.2018).

References

- de Ferranti SD, de Boer III, Fonseca V, et al. Type 1 diabetes mellitus and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association and American Diabetes Association. *Circulation*. 2014; 130(13): 1110–1130, doi: 10.1161/CIR.0000000000000034, indexed in Pubmed: 25114208.
- Kozhakmetova A, Wyatt RC, Caygill C, et al. A quarter of patients with type 1 diabetes have co-existing non-islet autoimmunity: the findings of a UK population-based family study. *Clin Exp Immunol*. 2018; 192(3): 251–258, doi: 10.1111/cei.13115, indexed in Pubmed: 29431870.
- Łukawska-Tatarczuk M, Mrozikiewicz-Rakowska B, Franek E, et al. Molecular pathogenesis of heart failure in diabetes mellitus — new direction for the therapeutic approach. *Postepy Hig Med Dosw*. 2020; 74: 452–463, doi: 10.5604/01.3001.0014.4856.
- Lim H, Kim YUK, Sun H, et al. Proatherogenic conditions promote autoimmune T helper 17 cell responses in vivo. *Immunity*. 2014; 40(1): 153–165, doi: 10.1016/j.immuni.2013.11.021, indexed in Pubmed: 24412615.
- İşgüven B, Gündüz Y, Kılıç M. Effects of Thyroid Autoimmunity on Early Atherosclerosis in Euthyroid Girls with Hashimoto's Thyroiditis. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2016; 8(2): 150–156, doi: 10.4274/jcrpe.2145, indexed in Pubmed: 26761929.
- Moschonas IC, Tselepis AD. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis. *Atherosclerosis*. 2019; 288: 9–16, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.919, indexed in Pubmed: 31280097.
- Di Florio DN, Sin J, Coronado MJ, et al. Sex differences in inflammation, redox biology, mitochondria and autoimmunity. *Redox Biol*. 2020; 31: 101482, doi: 10.1016/j.redox.2020.101482, indexed in Pubmed: 32197947.
- Madonna R, Balistreri CR, De Rosa S, et al. Impact of Sex Differences and Diabetes on Coronary Atherosclerosis and Ischemic Heart Disease. *J Clin Med*. 2019; 8(1), doi: 10.3390/jcm8010098, indexed in Pubmed: 30654523.
- Wang Y, O'Neil A, Jiao Y, et al. Sex differences in the association between diabetes and risk of cardiovascular disease, cancer, and all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and meta-analysis of 5,162,654 participants. *BMC Med*. 2019; 17(1): 136, doi: 10.1186/s12916-019-1355-0, indexed in Pubmed: 31296205.
- Grant PJ, Cosentino F, Cosentino F, et al. ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J*. 2020; 41(2): 255–323, doi: 10.1093/eurheartj/ehz486, indexed in Pubmed: 31497854.
- Kahalay GJ, Hansen MP. Type 1 diabetes associated autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2016; 15(7): 644–648, doi: 10.1016/j.autrev.2016.02.017, indexed in Pubmed: 26903475.
- Stefanowicz-Rutkowska MM, Baranowska-Jurkun A, Matuszewski W, et al. Thyroid dysfunction in patients with diabetic retinopathy. *Endokrynol Pol*. 2020; 71(2): 176–183, doi: 10.5603/EPa.2020.0013, indexed in Pubmed: 32396211.
- Denzer C, Karges B, Nake A, et al. DPV Initiative and the BMBF-Competence Network Diabetes Mellitus. Subclinical hypothyroidism and dyslipidemia in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2013; 168(4): 601–608, doi: 10.1530/EJE-12-0703, indexed in Pubmed: 23384709.
- Głowinska-Olszewska B, Borysewicz-Sańczyk H, Sawicka B, et al. Does Hashimoto's Thyroiditis Increase the Risk of Cardiovascular Disease in Young Type 1 Diabetic Patients? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 431, doi: 10.3389/fendo.2020.00431, indexed in Pubmed: 32793113.
- Rateman HG, Voskuyl AF, Simsek S, et al. Increased progression of carotid intima media thickness in thyroid peroxidase antibodies-positive rheumatoid arthritis patients. *Eur J Endocrinol*. 2013; 169(6): 751–757, doi: 10.1530/EJE-13-0394, indexed in Pubmed: 24005313.
- Trzebińska A, Dobruch-Sobczak K, Jakubowski W, et al. Standardy badań ultrasonograficznych Polskiego Towarzystwa Ultrasonografii cznego – aktualizacja. Badanie ultrasonograficzne tarczycy oraz biopsja tarczycy pod kontrolą ultrasonografii. *J Ultrasonography*. 2014; 14(56): 49–60, doi: 10.15557/jou.2014.0005.
- Elwertowski M, Malek G. Standardy badań ultrasonograficznych Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego – aktualizacja. Badanie zewnątrzczaszkowych odcinków tętnic szyjnych oraz kręgowych. *J Ultrasonography*. 2014; 14(57): 179–191, doi: 10.15557/jou.2014.0018.
- Carvalho GA, Perez CL, Ward LS. The clinical use of thyroid function tests. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013; 57(3): 193–204, doi: 10.1590/s0004-27302013000300005, indexed in Pubmed: 23681265.
- Bilge M, Yesilova A, Adas M, et al. Neutrophil- and Platelet- to Lymphocyte Ratio in Patients with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019; 127(8): 545–549, doi: 10.1055/a-0723-3441, indexed in Pubmed: 30267388.
- Sieminska L, Wojciechowska C, Walczak K, et al. Associations between metabolic syndrome, serum thyrotropin, and thyroid antibodies status in postmenopausal women, and the role of interleukin-6. *Endokrynol Pol*. 2015; 66(5): 394–403, doi: 10.5603/EP.2015.0049, indexed in Pubmed: 26457493.
- Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, et al. Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid*. 2016; 26(4): 504–511, doi: 10.1089/thy.2015.0592, indexed in Pubmed: 26854840.
- Janyga S, Marek B, Kajdaniuk D, et al. CD4+ cells in autoimmune thyroid disease. *Endokrynol Pol*. 2021; 72(5): 572–583, doi: 10.5603/EPa.2021.0076, indexed in Pubmed: 34647609.
- Pitocco D, Giubilato S, Martini I, et al. Combined atherogenic effects of celiac disease and type 1 diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2011; 217(2): 531–535, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.042, indexed in Pubmed: 21601206.
- Topaloglu O, Gokay E, Kucukler K, et al. Is autoimmune thyroiditis a risk factor for early atherosclerosis in premenopausal women even if in euthyroid status? *Endocrine*. 2013; 44(1): 145–151, doi: 10.1007/s12020-012-9842-5, indexed in Pubmed: 23184180.
- Loizou CP, Nicolaidis A, Kyriacou E, et al. A Comparison of Ultrasound Intima-Media Thickness Measurements of the Left and Right Common Carotid Artery. *IEEE J Transl Eng Health Med*. 2015; 3: 1900410, doi: 10.1109/JTFHM.2015.2450735, indexed in Pubmed: 27170894.
- Head T, Daunert S, Goldschmidt-Clermont PJ. The Aging Risk and Atherosclerosis: A Fresh Look at Arterial Homeostasis. *Front Genet*. 2017; 8: 216, doi: 10.3389/fgene.2017.00216, indexed in Pubmed: 29312440.
- Vanderburgh JA, Reinhart-King CA. The Role of Age-Related Intimal Remodeling and Stiffening in Atherosclerosis. *Adv Pharmacol*. 2018; 81: 365–391, doi: 10.1016/bs.apha.2017.08.008, indexed in Pubmed: 29310802.
- Milutinović A, Šuput D, Zorc-Plesković R. Pathogenesis of atherosclerosis in the tunica intima, media, and adventitia of coronary arteries: An updated review. *Bosn J Basic Med Sci*. 2020; 20(1): 21–30, doi: 10.17305/bjbm.2019.4320, indexed in Pubmed: 31465719.
- Zhou Y, Zhao L, Wang T, et al. Free Triiodothyronine Concentrations are Inversely Associated with Elevated Carotid Intima-Media Thickness in Middle-Aged and Elderly Chinese Population. *J Atheroscler Thromb*. 2016; 23(2): 216–224, doi: 10.5551/jat.30338, indexed in Pubmed: 26423715.
- Wang L, Chen T, Yu J, et al. Clinical Associations of Thyroid Hormone Levels with the Risk of Atherosclerosis in Euthyroid Type 2 Diabetic Patients in Central China. *Int J Endocrinol*. 2020; 2020: 2172781, doi: 10.1155/2020/2172781, indexed in Pubmed: 32714391.
- Fukuyama K, Ichiki T, Imayama I, et al. Thyroid hormone inhibits vascular remodeling through suppression of cAMP response element binding protein activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26(9): 2049–2055, doi: 10.1161/01.ATV.0000233358.87583.01, indexed in Pubmed: 16794221.
- Wang Po, DU R, Lin L, et al. Association between Free Triiodothyronine Levels and Peripheral Arterial Disease in Euthyroid Participants. *Biomed Environ Sci*. 2017; 30(2): 128–133, doi: 10.3967/bes2017.016, indexed in Pubmed: 28292350.
- Park SoY, Park SeE, Jung SW, et al. Free triiodothyronine/free thyroxine ratio rather than thyrotropin is more associated with metabolic parameters in healthy euthyroid adult subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2017; 87(1): 87–96, doi: 10.1111/cei.13345, indexed in Pubmed: 28374508.
- Štěpánek I, Horáková D, Štěpánek L, et al. Free triiodothyronine/free thyroxine (FT3/FT4) ratio is strongly associated with insulin resistance in euthyroid and hypothyroid adults: a cross-sectional study. *Endokrynol Pol*. 2021; 72(1): 8–13, doi: 10.5603/EPa.2020.0066, indexed in Pubmed: 33125689.
- Strich D, Chay C, Karavani G, et al. Levothyroxine Therapy Achieves Physiological FT3/FT4 Ratios at Higher than Normal TSH Levels: A Novel Justification for T3 Supplementation? *Horm Metab Res*. 2018; 50(11): 827–831, doi: 10.1055/a-0751-0498, indexed in Pubmed: 30396211.
- Ciccone MM, De Pergola G, Porcelli MT, et al. Increased carotid IMT in overweight and obese women affected by Hashimoto's thyroiditis: an adiposity and autoimmune linkage? *BMC Cardiovasc Disord*. 2010; 10: 22, doi: 10.1186/1471-2261-10-22, indexed in Pubmed: 20509904.
- Tamer G, Mert M, Tamer I, et al. Effects of thyroid autoimmunity on abdominal obesity and hyperlipidaemia. *Endokrynol Pol*. 2011; 62(5): 421–428, indexed in Pubmed: 22069103.
- Liu J, Duan Y, Fu J, et al. Association Between Thyroid Hormones, Thyroid Antibodies, and Cardiometabolic Factors in Non-Obese Individuals With Normal Thyroid Function. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9: 130, doi: 10.3389/fendo.2018.00130, indexed in Pubmed: 29674996.
- Li L, Liu S, Yu J. Autoimmune thyroid disease and type 1 diabetes mellitus: same pathogenesis; new perspective? *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2020; 11: 2042018820958329, doi: 10.1177/2042018820958329, indexed in Pubmed: 32973994.
- Fang Pu, Li X, Dai J, et al. Immune cell subset differentiation and tissue inflammation. *J Hematol Oncol*. 2018; 11(1): 97, doi: 10.1186/s13045-018-0637-x, indexed in Pubmed: 30064449.
- Łukawska-Tatarczuk M, Franek E, Czupryniak L, et al. Sirtuin 1, Viscerofat and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease. *Biomolecules*. 2021; 11(8), doi: 10.3390/biom11081110, indexed in Pubmed: 34439776.

6.4. Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography.

Title:

Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography

Running Head:

Thyroid autoimmunity and cardiac function

Magdalena Łukawska-Tatarczuk^{1,2}, Agnieszka Pawlak^{3,4}, Jakub Zieliński⁵, Edward Franek^{1,4}, Leszek Czupryniak², Beata Mrozikiewicz-Rakowska^{2*}

¹ Department of Internal Diseases, Endocrinology and Diabetology, Central Clinical Hospital of the MSWiA in Warsaw, Warsaw, Poland,

² Department of Diabetology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

³ Department of Invasive Cardiology, Central Clinical Hospital of the MSWiA in Warsaw, Warsaw, Poland

⁴ Department of Human Epigenetics, Mossakowski Medical Research Institute, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

⁵ Interdisciplinary Centre for Mathematical and Computational Modeling, University of Warsaw, Warsaw, Poland

*Correspondence, Beata Mrozikiewicz-Rakowska, MD, PhD, Department of Diabetology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Banacha 1a, 02-097 Warsaw, Poland; tel. (+48) 22 599 25 83; e-mail: rakowskab123@gmail.com

Abstract

Introduction: The presence of diabetes is associated with loss of cardioprotection in premenopausal women; however, the mechanisms involved remain unknown. Autoimmune factors are suspected to play a role in cardiovascular complications, especially in type 1 diabetes (T1DM). The aim of this pilot study was to explore whether antithyroid peroxidase antibody (aTPO) as a marker of increased immune activity is related to cardiac dysfunction in young, asymptomatic women with T1DM.

Material and Methods: Eighty-eight euthyroid women (59 with T1DM and 29 healthy controls) underwent physical examination, laboratory tests, thyroid ultrasound, and two-dimensional speckle-tracking echocardiography. According to the antiperoxidase antibodies (aTPO) titre, the T1DM women were divided into an aTPO positive (T1DM aTPO+) (n=34) and an aTPO negative (T1DM aTPO-) (n=25) group. The relationship between thyroid autoimmunity parameters and echocardiographic parameters was evaluated.

Results: Global longitudinal strain (GLS) was slightly reduced in T1DM aTPO+ group compared to T1DM aTPO- and significantly compared to controls (p=0.051, p=0.015, respectively). Although, the lower values of longitudinal strain of left ventricular were found in the majority of segments in the T1DM aTPO+ group in comparison to T1DM aTPO- and

controls, significant differences were only found in the two-chamber view (specifically in the anterior segments) between the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups ($p=0.030$) and in the four-chamber view (specifically in the anterolateral segments) between the T1DM aTPO+ and controls ($p=0.021$). Echocardiographic parameters of diastolic and systolic function of both ventricles were significantly correlated with parameters of thyroid autoimmunity. A logistic regression analysis showed that Hashimoto's thyroiditis (HT) duration (OR: 0.997, 95%CI: 0.995-0.999, $p=0.008$), the dose of levothyroxine (OR: 0,814, 95%CI: 0.689-0.960, $p=0.013$), and reduced echogenicity on thyroid ultrasound (OR: 0,309, 95%CI: 0.120-0.793, $p=0.013$) had significant influence on reduced GLS.

Conclusions: Our results suggest that coexistence of aTPO with T1DM was associated with poorer myocardial function, particularly in the anterior and anterolateral segments, which may be related to an autoimmune factor. The impaired function of these segments is probably the first sign of myocardial systolic dysfunction in women with T1DM, which needs to be confirmed in further studies.

Keywords: type 1 diabetes mellitus; thyroid autoimmunity; speckle tracking echocardiography; diabetic cardiomyopathy; heart failure

INTRODUCTION

The most challenging problem in clinical practice in patients with diabetes are cardiovascular (CV) complications, as they develop more rapidly and are associated with a significantly worse course in this group of patients [1]. On the basis of preclinical and clinical evidence, it is hypothesized that autoimmunity may be a determinant factor in their development especially in type 1 diabetes mellitus (T1DM) [2-4].

Recently, one of the meta-analysis including more than 12 million individuals showed that the excess risk of heart failure (HF) associated with diabetes is significantly greater in women than in men, with T1DM increasing by 47% and in type 2 diabetes by about 9% [5]. Hashimoto's thyroiditis (HT) is the most common autoimmune concomitant disease with T1DM and is more prevalent in women [6]. Previous studies demonstrated that already subclinical hypothyroidism is associated with impaired systolic and diastolic function of the left ventricle (LV), but some adverse changes can be reversed by levothyroxine therapy [7]. Despite the known effects of thyroid hormones on the CV system [8], the number of studies evaluating the effects of thyroid autoimmunity on cardiac function is limited. Antithyroid peroxidase antibodies (aTPO) are frequently detected in T1DM patients (up to 50%), but their importance during euthyroidism is not sufficiently studied [9]. On the basis of our knowledge,

to date, whether the presence of aTPO in asymptomatic young euthyroid women with T1DM is associated with myocardial dysfunction has not been investigated. This assessment seems all the more appropriate since, in children and young adults with T1DM, cardiac dysfunction has been demonstrated, despite short disease duration, good metabolic control, and the absence of other complications [10,11]. Given that premenopausal women with T1DM present increased incidence of CV disease than diabetic men [12] and are also more at risk of developing autoimmune conditions [6], we hypothesized that autoimmunity specifically may contribute to the development of HF in this group of patients.

Accordingly, the aim of this pilot study was to determine whether aTPO and other parameters associated with thyroid autoimmunity are associated with echocardiographic signs of subclinical cardiac dysfunction in young, asymptomatic, euthyroid women with T1DM using tissue Doppler and speckle tracking echocardiography (STE).

MATERIALS AND METHODS

Participants and Study Design

For this prospective pilot study, we enrolled 59 females with T1DM aged 20 to 35 years and 29 age- and sex-matched healthy controls. Participants of study group were recruited from the patient population attending the Diabetes Outpatient Clinic of the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs and Administration in Warsaw, while control group was recruited from hospital employees, and their relatives between May 2018 and October 2020. The study protocol was approved by the local medical ethics committee (permit No. 22/2018 of 09.05.2018) and was prepared in accordance with the Declaration of Helsinki. All subjects signed informed consent papers before participation.

Exclusion criteria for all participants were as follows: history of any CV disease (especially hypertension, coronary artery disease, cardiac arrhythmia, congenital heart disease), smoking, known renal disease, or any other chronic disease. All patients who were taking drugs other than insulin and levothyroxine were excluded from the study.

Inclusion criteria for the study group were as follows: diagnosed T1DM, HbA1c <10%, aged between 20 and 35 years, female, and current euthyreosis status in laboratory tests. Patients were qualified on the basis of the results of previous medical records indicating an autoimmune background of the T1DM (presence of diabetes-specific autoantibody) or a typical clinical picture based on the National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) recommendations for the diagnosis of T1DM in adults [13]. The diagnosis of Hashimoto's thyroiditis (HT) was based on the demonstration of circulating antibodies to thyroid antigens

(aTPO and/or antithyroglobulin antibody (aTG)) and reduced echogenicity on thyroid ultrasound [14]. For the control group, a negative history of diabetes or thyroid disorders was required.

All women meeting the inclusion and exclusion criteria for the study were surveyed concerning the duration of diabetes, daily insulin dose, the presence of microangiopathy complications, duration of HT, levothyroxine dose per week, and comorbidity with other autoimmune diseases. The data on the presence of microangiopathy complications and the duration of HT were assessed on the basis of past medical records (all patients qualified for the study with T1DM were under regular care of a hospital outpatient clinic). Body mass index (BMI) was determined as the weight in kilograms divided by the square of height in meters. The systolic and diastolic blood pressures were measured during echo analysis using a standard mercury sphygmomanometer after 10 minutes of rest. Heart rate was estimated by measurement from standard 12-lead electrocardiography (ECG). Data of study population were collected on a computerized data sheet.

Laboratory Evaluation and Thyroid Assessment

Glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c), serum total cholesterol (TC), low-density lipoproteins (LDL), high-density lipoproteins (HDL), triglyceride (TG), glycated hemoglobin (HbA1c), thyroid-stimulating hormone (TSH), free thyroxine (fT4), free triiodothyronine (fT3), aTPO, and aTG were measured for all patients using standard methods in the hospital laboratory. The range of normal values for fT4 was between 0.93 and 1.7 (ng/dL), for fT3, it was between 2 and 4.4 (pg/ml), and for TSH, it was between 0.27 and 4.2 (μ IU/ml). The positive values for antibodies were >34 IU/mL for aTPO and >115 (IU/mL) for aTG. Thyroid ultrasonography using a 5 to 12 MHz linear array transducer was performed in all patients by the same experienced sonographer using a high-definition echograph (Aplio a, Canon Medical System) according to the guidelines presented by the Polish Ultrasonography Society [15].

Echocardiography

A complete echocardiographic study was performed on each patient and control using an EPIQ system (version 7C/CVx, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) by a single experienced echocardiographer, blinded to the examined group. It included a detailed conventional, tissue Doppler and two-dimensional (2D) STE imaging evaluation. All measurements were made in accordance with the recommendations of the European Association of Cardiovascular Imaging and the American Society of Echocardiography [16,17].

Using 2D imaging in the parasternal long-axis view LV dimension, the interventricular septum (IVS), the posterior wall dimensions (PWD) in systole and diastole, and the right ventricular dimension in diastole (RVDd) were measured. The left atrial volume index (LAVI) was calculated by dividing the left atrium volume by the body surface area (BSA). The LV mass index was calculated according to the formulae of Devereux et al. [18]. Tricuspid plane systolic excursion (TAPSE) was obtained from the four-chamber (4CH) view as the difference between end-diastolic and end-systolic positions of the tricuspid annulus. The LV ejection fraction (EF) was assessed with Simpson's method from the apical 4CH and two-chamber (2CH) views [17].

Using pulse-wave Doppler imaging, the mitral early diastolic flow (E), late diastolic flow (A) velocities and E/A ratios were calculated. The deceleration time (DT) of the E-wave was also determined. The isovolumic relaxation time (IVRT) was calculated from the end of the maximal systolic myocardial velocity until the beginning of the early diastolic myocardial velocity wave.

Using the tissue Doppler peak, the early (Emed') and late (Amed') diastolic velocity of the septal mitral annulus were measured. Mitral E/Emed' and E/Amed' ratios were calculated. Speckle tracking analyses were performed on standard images from apical 4-, 3-, and 2CH views for LV longitudinal strain (LS). We used the automatic global longitudinal strain (GLS) evaluation software AutoStrain, which eliminates manual errors, providing an efficient and reproducible results [19]. Strain values of LV were assessed in 18 segments, and the mean value of each strain was calculated as GLS.

Statistical Analysis

Analysis was performed using Statistica 13. Continuous variables were examined through the Shapiro–Wilk test for normality. To assess differences between the two groups, we used the Student's t test for variables with a normal distribution or the Mann-Whitney U test for variables with a nonnormal distribution. To assess differences between the three groups, we used the analysis of variance with Tukey's post hoc RIR test for unequal numbers for variables with a normal distribution or the ANOVA rang Kruskal-Wallis test and the pairwise Mann-Whitney U tests with Bonferroni correction for variables with a nonnormal distribution. Categorical variables were presented as percentages and compared using Fisher's exact test. The degree of association between thyroid data and echocardiography measurements was demonstrated using the Spearman test. Univariate logistic regression analyses were performed to identify clinical predictors of abnormal LVGLS in the whole group. The LVGLS threshold

for pathology was adopted at a level of -18% (LVGLS \geq -18% (LVGLS \leq 18% in absolute values) was calculated as pathology). Odds ratios (ORs) with 95% confidence interval (95% CI) were calculated. The statistical significance level was set at $p < 0.05$.

RESULTS

Clinical characteristics

This study included 59 women with T1DM (mean age, 26 ± 4.5 years; diabetes duration 13.1 ± 6.2 years, HbA1c $7.8 \pm 1.3\%$) and 29 age- and sex-matched healthy controls (mean age, 26.8 ± 3.8 years). All patient with T1DM use an insulin pump or multiple daily insulin injections. None of our patients had nephropathy, but five had history of diabetic retinopathy and three had chronic sensorimotor peripheral neuropathy. According to the antithyroid peroxidase antibody (aTPO) titer, the T1DM women were divided into an aTPO positive (T1DM aTPO+) (n=34) and an aTPO negative (T1DM aTPO-) (n=25) group. Diabetes duration, daily insulin dose, presence of microangiopathy complication, HbA1c, TSH, fT4 and fT3 were similar in both groups of T1DM (aTPO+ and aTPO-), whereas aTPO, aTG, ultrasound features of HT, HT duration, and levothyroxine dose per week were significantly higher in the T1DM aTPO+ group than the T1DM aTPO- group. No significant differences were detected between the T1DM subgroups and the healthy controls with regard to age, BMI, lipid parameters, TSH, fT4, heart rate and systolic and diastolic blood pressure. FT3 was significantly lower in patients with T1DM aTPO- than in the control group ($p < 0.05$) (Table 1).

Table 1

There were no significant differences between groups in terms of BSA, LVEDd, PWS, PWD, IVSD, RVDd, LAVI, LVMI, E, A, E/A, E/Emed', E'/Amed', DT of LVEF. Table 2 shows the echocardiographic parameters in the study groups and the results of the comparative analysis.

Table 2

Within cardiac chamber size, we found significant differences only in the IVS in systole, in both the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups compared to controls ($p = 0.007$, $p = 0.030$, respectively).

In certain parameters describing diastolic function, we found significant differences in the Emed', with the lowest values in the T1DM aTPO+ groups ($p = 0.025$ in comparison to controls) and in the IVRT, with the highest values in the T1DM aTPO+ groups ($p < 0.0001$ in comparison to controls). Emed' was also significantly different ($p = 0.047$), while IVRT was similar ($p = 0.053$) between the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups (Figure 1A, 1B).

Within systolic function, we found significant differences in TAPSE (RV systolic function), with the lowest values in the T1DM aTPO+ group ($p = 0.0002$ in comparison to controls), and in GLS (LV systolic function), with the lowest values in the T1DM aTPO+ group ($p = 0.015$ in comparison to controls). However, when comparing the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups, the difference for TAPSE was nonsignificant ($p=0.814$), while for GLS was borderline insignificant ($p=0.051$) (Figure 1C, 1D).

Figure 1

We also performed a comparative analysis of LS from three apical views: 4CH, reflecting the function of inferoseptal and anterolateral segments; 3CH, showing the function of inferolateral and anteroseptal segments; and 2CH, presenting the function of inferior and anterior segments of LV. The lowest values of LS were found in the majority of segments in the T1DM aTPO+ group. However, significant differences were only found in the 4CH view between the T1DM aTPO+ and the control group ($p=0.021$) and in the 2CH view between the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups ($p=0.030$) (Figure 2).

Figure 2

When assessing the differences between segmental LV LS, we found that both the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups had significantly lower anterolateral wall strain as compared to controls ($p=0.016$, $p=0.014$, respectively) and only T1DM aTPO+ group exhibited significantly lower anterior wall strain as compared to controls ($p=0.017$).

Table 3

Our results may contribute to the identification of characteristics for the development of diabetic cardiac dysfunction. Figure 3 shows an example of the LS bull's eye plot in women with T1DM.

Figure 3

We performed correlation analyses between thyroid parameters and selected echocardiographic parameters, which were significantly different in the comparative analysis. IVSS was significantly negatively correlated with aTPO levels ($r=0.26$, $p=0.02$). Figure 4 shows the results of the most significant correlation between thyroid parameters and selected echocardiographic parameters.

Figure 4

In the univariate regression analyses, the risk factors for GLS in all women ($n=88$) were HT duration, levothyroxine dose per week, and reduced echogenicity on thyroid ultrasound (Table 4). The remaining thyroid-related parameters, such as fT3, fT4, aTPO, aTG, the presence of connective tissue echoes on ultrasound were not significantly associated with GLS.

Table 4

DISCUSSION

On the basis of our knowledge, this is the first report to evaluate echocardiographic parameters in euthyroid women with T1DM in relation to aTPO and others thyroid autoimmunity parameters in such detail. The strength of this study is the use of the STE, which is an accurate and angle-independent technique that allows an objective analysis of myocardial deformation [20]. Importantly, among different types of strain assessment, GLS allows precise evaluation of subendocardial longitudinal fibre damage, which are the most vulnerable and affected even in subclinical disease stages [21]. It has been proven that GLS can be a biomarker of diabetic cardiomyopathy in patients with preserved ejection fraction [22]. Although imaging patterns of LF systolic function using STE provide valuable insight into the characteristics of various cardiomyopathies [23], the current literature does not contain comprehensive data on the typical “bull’s eye” pattern in patients with diabetes. Our results suggest that coexistence of aTPO with T1DM was associated with worse strain function specifically in anterior and anterolateral segments, which may be related to the autoimmunity factor. We are led to this conclusion by the fact that autoimmunity probably participates in the development of cardiac complications in T1DM, and the presence of antithyroid antibodies indicates increased activity of the immune system. The impairment of the function of these segments probably appears in the early development of diabetic cardiac dysfunction. Our results are the first to contribute to the identification of characteristic strain “bull’s eye” plot patterns in women with diabetes or coexisting diabetes and aTPO, which may be of great value in early cardiac diagnosis. Nevertheless, studies on a larger group of patients are needed.

We found that Emed’ values were significantly lower in the T1DM aTPO+ group as compared with the T1DM aTPO- group and controls, which may suggest greater predisposition to diastolic dysfunction [24]. Other parameters suggestive of worse myocardial diastolic function, such as a prolongation of IVRT, a reduction in mitral E velocity, and an increase in E/Emed’ ratio, were also present in the T1DM aTPO+ group in comparison with the T1DM aTPO- group, but without statistical significance. In turn, comparing the T1DM aTPO+ group with the control group, a statistical difference was found between two parameters reflecting diastolic function (Emed’ and IVRT). These findings are consistent with previous results related to diastolic dysfunction at very early stages of diabetes in asymptomatic patients with T1DM [25,26]. Interestingly, we demonstrated that both Emed’ and IVRT were correlated with the presence of antithyroid antibodies (aTPO, aTG), and the features of thyroid autoimmunity on ultrasound, levothyroxine dose, and the duration of HT. Whereas, the most significant effects

on GLS were the duration of HT and the severity of HT as reflected by levothyroxine dose and ultrasound features of HT, but not the presence of antithyroid antibodies. It may be that, already in the early stages of thyroid autoimmunity, there are processes that promote myocardial dysfunction, which develops as HT disease progresses and includes successively diastolic and systolic dysfunction. In accordance with this assumption, there are recent reports that suggest that hyperglycemia in T1DM may induce autoimmunity, which leads to the development of long-term CV complications, possibly through inflammatory pathways [27]. In fact, both T1DM and HT exhibit immune dysfunction associated with infiltration of CD4+ cells involved in stimulation of effector cell cytotoxicity and humoral responses, implying CV complications [28,29]. This is evidenced by anticardiac antibodies being identified in T1DM patients with cardiac abnormalities, which was not observed in type 2 diabetes [30]. Importantly, cardiac autoantibodies production correlated with lymphocytic infiltration and myocardial destruction, inducing the development of HF [31]. Thus, it cannot be excluded that processes resulting from autoimmunity in the thyroid gland, leading to parenchymal destruction and fibrosis, also occur in myocardial tissue. Indeed, in both autoimmune thyroiditis and HF in diabetes, there is increased transforming growth factor- β expression associated with increased fibrotic processes [32,33]. Our results showed a significant positive correlation between the presence of connective tissue echoes in thyroid on ultrasound and echocardiographic parameters reflecting systolic and diastolic function of LV. The possible mechanisms associated with this relationship may be the activation of the inflammatory process and oxidative stress connected with thyroid autoimmunity, which may have a systemic effect [34-36]. Indeed, it has recently been shown that early myocardial dysfunction may be related to sirtuin 1 and interleukin 27, whose serum concentrations were higher in women with T1DM and HT than in women with T1DM alone and correlated significantly with several echocardiographic parameters [37]. This is a new insight into the development of HF in women with T1DM and needs to be verified in further research.

In addition to the importance of IVRT in the assessment of diastolic function, this parameter also proved to be a good tool for differentiating between different types of cardiac remodeling, e.g., concentric cardiac hypertrophy in pressure overload with decreased IVRT and eccentric hypertrophy in LV volume overload with increased IVRT [38]. Interestingly, clinical studies on HF in diabetes mainly describe two phenotypes: a dilated phenotype with eccentric LV remodeling, more frequently observed in T1DM, and a restrictive phenotype with concentric LV remodeling, characteristic of patients with type 2 diabetes [39]. A significantly longer IVRT time was observed in the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- group compared to

controls, supporting the eccentric nature of myocardial hypertrophy. Nevertheless, all our study participants had normal myocardial dimensions and normal EF, showing only discrete differences in echocardiographic parameters. Surprisingly, LVMI and IVSS were lower in patients with T1DM as compared to controls. This may be explained by the fact that the autophagy process is enhanced in T1DM, which may precede cardiomyocyte hypertrophy [40]. In fact, in an animal model of T1DM, heart weights were reduced, and cardiac fibrosis developed in parallel with changes in cardiac diastolic function, although cardiomyocyte size remained unchanged [41]. This observation from preclinical rodent studies could explain our results, although this requires further investigation.

TAPSE reflects the longitudinal function of the right ventricle (RV) and appears to signal early systolic dysfunction and vascular stiffness [42]. In all study groups, TAPSE was within the normal range; however, when comparing groups with T1DM, significant differences were found as compared to the controls. These findings suggest that metabolic disturbances associated with diabetes, can influence right ventricular function, which is consistent with previous studies conducted in both type 1 [43,44] and type 2 diabetes [45,46]. This may be due to systemic effects of glucotoxicity, lipotoxicity, and epigenetic or immunological factors underlying heart failure in diabetes [47]. Although there were no significant TAPSE differences between the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups, the correlation analysis showed a significant negative association with aTPO and the presence of reduced echogenicity of the thyroid parenchyma on ultrasound. These findings are coherent with previous results showing impaired RV and LV function in euthyroid HT patients when compared with controls [48-50].

Our study had several limitations. Firstly, data on the presence of microangiopathies were assessed on the basis of medical diagnoses in the history and there was a lack of a cardiac autonomic neuropathy assessment; thus, we cannot exclude the possibility of misclassification. Secondly, considering the demonstration of only minor differences between groups in terms of cardiac function, there is the possibility of a chance finding due to the relatively small group of patients. Given that the precise immunological mechanisms linking thyroid autoimmunity and cardiac dysfunction in T1DM women could be used to improve prevention and even to develop sex- and immune-targeted therapies further exploration on a larger group of patients in this area is critical.

Conclusions

Although our data do not allow us to conclude a direct link between the presence of aTPO and cardiac dysfunction in women with T1DM, they indicate an association of thyroid autoimmunity parameters with several echocardiographic parameters of right and left

ventricular diastolic and systolic function. Our results are the first to suggest that the anterior and anterolateral segments are likely to be primarily affected in the early stages of cardiac dysfunction in women with T1DM; although these data need to be confirmed in a larger group of patients, they may have important implications in early cardiac diagnosis.

Acknowledgments: We are grateful to the participants and staff of the Department of Internal Diseases, Endocrinology and Diabetology of the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw for making the study possible.

Disclosure: None of the authors have any potential conflicts of interest associated with this research.

Contributors: MLT contributed to the conception and design of the study, data collection, researched and analyzed the data and wrote the manuscript. AP contributed to the data collection and critical revision of the manuscript, JZ contributed to the conception and statistical data analysis and the critical revision of the manuscript. BMR, EF and LC contributed to conception and design of the study and the critical revision of the manuscript. All approved the final version of the manuscript.

Funding: This research was founded by Diabetes Poland Scientific Grant (27.08.2020).

Ethical Approval: The study was approved by the Ethics and Surveillance Committee for Research in Human and Animal Sciences at the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs; No. 22/2018 of 09.05.2018).

Table 1. Characteristics of the studied subgroups of type 1 diabetes mellitus (T1DM): with positive antiperoxidase antibody titer (T1DM aTPO+) and negative antiperoxidase antibody titer (T1DM aTPO-) and healthy controls (p value of the analysis of variance or the ANOVA Kruskal–Wallis test).

	T1DM aTPO+ (n=34)	T1DM aTPO- (n=25)	Controls (n=29)	p
Age (years)	26 (23-30)	24 (23-27)	26 (24-29)	0.355
BMI ± (kg/m ²)	22.5 (20.8-24.9)	22.0 (20.3-24.5)	22.0 (20.3-23.0)	0.397
Diabetes duration (years)	13 (8-19)	11 (9-16)	-	0.291*
daily insulin dose (units)	36 (30-46)	41 (25-45)	-	0.699*
microangiopathy (%)	4 (11.7)	4 (16.0)	-	0.711*
HbA1c (%)	7.8 (7.0-9.2)	7.4 (6.8-8.0)	-	0.080*
Total cholesterol (mg/dl)	174 (160-196)	173 (151-196)	173 (153-191)	0.848
LDL (mg/dl)	89 (72-117)	83 (67-104)	83 (66-104)	0.685
HDL (mg/dl)	66 (57-78)	71 (51-82)	67 (1-85)	0.904
Triglyceride (mg/dl)	67 (58-86)	76 (60-108)	77 (61-109)	0.368
TSH (μIU/mL)	2.1 ± 1.1	2.0 ± 1.1	2.4 ± 1.0	0.285
ft4 (ng/dl)	1.2 (1.1-1.4)	1.2 (1.1-1.4)	1.2 (1.1-1.2)	0.345
ft3 (pg/ml)	3.2 (2.8-3.2)	3.0 (2.6-3.2)	3.2 (3.0-3.4)	0.019
aTPO (IU/ml)	185 ± 203	12 ± 8	11 ± 9	p < 0.001
aTG (IU/ml)	179 (57-388)	12 (11-33)	11 (5-70)	p < 0.001
Reduced echogenicity of the thyroid gland on ultrasound (%)	(31) 91.2%	0	0	p < 0.001
Presence of connective tissue echoes on thyroid ultrasound (%)	(21) 61.8%	0	0	p < 0.001
HT duration (years)	7.2 ± 6.5	0	0	p < 0.001
l-thyroxine dose per week (μg)	336.4 ± 338.4	91.0 ± 220.9	0	0.029*
Heart rate	72 (63-78)	69 (65-85)	72 (55-90)	0.970
Systolic blood pressure (mm Hg)	115 ± 7	117 ± 6	115 ± 4	0.163
Diastolic blood pressure (mm Hg)	73 ± 7	75 ± 6	76 ± 4	0.252

*p of Mann-Whitney U test for variables with nonparametric distribution or Student's t test for variables with parametric distribution or Fisher's exact test for categorical variables between T1DM aTPO+ vs. T1DM aTPO-; Data presented as median (interquartile range) or mean ± SD (standard deviation) or number (percentage); aTG—anti-thyroglobulin antibody; aTPO—anti-thyroid peroxidase antibody; BMI—body mass index; ft3—free triiodothyronine; ft4—free thyroxine; HbA1c—glycated hemoglobin; HDL—high-density lipoprotein; HT—Hashimoto's thyroiditis; LDL—low-density lipoprotein; SD—standard deviation; TSH—thyroid-stimulating hormone.

Table 2. Echocardiography parameters in women with type 1 diabetes mellitus (T1DM) and positive antiperoxidase antibody titers (T1DM aTPO+) versus women with T1DM and negative aTPO titers (T1DM aTPO-) versus the control group (p value of the analysis of variance or the ANOVA Kruskal–Wallis test).

	T1DM aTPO+ (n=34)	T1DM aTPO- (n=25)	Controls (n=29)	p value
BSA [m ²]	1.71 (1.65 – 1.78)	1.69 (1.61 – 1.78)	1.67 (1.59 – 1.79)	p =0.597
Cardiac chamber size				
LVEDd [mm]	43.0 (41.0 – 46.0)	44.5 (42.0 – 46.0)	45.0 (43.0 – 46.0)	p =0.368
IVSD [mm]	9.0 (8.0 – 9.0)	8.0 (8.0 – 9.0)	9.0 (8.0 – 9.0)	p =0.263
PWD [mm]	9.0 (8.0 – 10.0)	8.5 (8.0 – 9.0)	9.0 (8.0 – 9.0)	p =0.151
LVSDd [mm]	32.0 (29.0 – 34.0)	30.0 (27.0 – 32.0)	31.0 (29.0 – 33.0)	p =0.221
IVSS [mm]	11.0 (10.0 – 12.0)	10.5 (9.0 – 12.0)	12.0 (11.0 – 13.0)	p =0.021 ^A
PWS [mm]	12.0 (11.0 – 13.0)	11.0 (10.0 – 13.0)	12.0 (12.0 – 13.0)	p =0.129
RVDd [mm]	26.0 (24.0 – 29.0)	26.5 (23.0 – 28.0)	27.0 (25.0 – 28.0)	p =0.801
LAVI [mL/m ²]	21.0 (17.8 – 25.0)	26.0 (22.0 – 28.6)	24.0 (19.0 – 26.0)	p =0.094
LVMI [g/m ²]	70.0 (60.5 – 80.0)	67.9 (61.0 – 77.0)	73.9 (71.0 – 79.3)	p =0.076
Diastolic function				
E [cm/s]	88.3 (80.0 – 96.0)	94.1 (84.9 – 106.0)	94.0 (82.0 – 99.0)	p =0.594
A [cm/s]	58.0 (53.0 – 63.5)	49.0 (43.7 – 67.4)	55.0 (48.0 – 69.0)	p =0.289
E/A	1.53 (1.3 – 1.7)	1.72 (1.4 – 2.1)	1.50 (1.1 – 2.0)	p =0.350
Emed' [cm/s]	11.8 (10.7 – 13.1)	12.9 (12.1 – 13.6)	13.8 (11.5 – 14.8)	p =0.031 ^B
E/Emed'	7.4 (6.4 – 8.6)	7.2 (6.7 – 8.1)	6.8 (6.4 – 7.5)	p =0.173
E/Amed'	1.7 (1.6 – 2.0)	1.9 (1.6 – 2.5)	1.8 (1.4 – 2.3)	p =0.313
DT [ms]	211.0 (180.0 – 236.0)	218.0 (197.0 – 250.0)	211.0 (194.0 – 243.0)	p =0.490
IVRT [ms]	98.0 (90.0 – 104.0)	91.5 (85.0 – 99.0)	81.0 (79.0 – 85.0)	p < 0.0001 ^C
Systolic function				
TAPSE [mm]	22.0 (20.0 – 24.0)	22.0 (20.0 – 24.0)	26.0 (23.0 – 27.0)	p =0.0001 ^D
LV GLS [%]	17.1 (16.20 – 18.15)	18.3 (17.4 – 19.6)	18.5 (17.1 – 20.0)	p =0.031 ^E
LV ejection fraction [%]	62.5 ± 3.1	62.6 ± 3.9	63.3 ± 2.4	p =0.570

Data presented as median (interquartile range) or mean ± SD (standard deviation); in A,B,C,D below, we present the significant differences that came out between groups:

^AT1DM aTPO+ vs. controls, p=0.007; T1DM aTPO- vs. controls, p=0.030;

^BT1DM aTPO+ vs. controls, p=0.025; T1DM aTPO+ vs. T1DM aTPO-, p=0.047;

^CT1DM aTPO+ vs. controls, p<0.0001; T1DM aTPO- vs. controls, p=0.0002;

^DT1DM aTPO+ vs. controls, p=0.0002; T1DM aTPO- vs. controls, p=0.0001;

^ET1DM aTPO+ vs. controls, p=0.015.

A—mitral inflow peak late velocity; BSA—body surface area; DT—deceleration time; E—mitral inflow peak early velocity; E/A—mitral E-wave velocity divided by mitral A-wave velocity; Emed'—early diastolic velocity of the septal mitral annulus; E/Amed'—mitral E-wave velocity divided by late diastolic velocity of the septal mitral annulus; E/Emed'—mitral E-wave velocity divided by early diastolic velocity of the septal mitral annulus; IVRT— isovolumic relaxation time; IVSD—interventricular septum end-diastolic diameter; IVSS—interventricular septum end-systolic diameter; LAVI—left atrial volume index; LVEDd—left ventricle end-diastolic diameter; LVESd—left ventricle end-systolic diameter; LV GLS—left ventricular global longitudinal strain; LVMI—left ventricular mass index; PWD—posterior wall thickness at end-diastole; PWS—posterior wall thickness at end-systole; RVDd—right ventricular dimension in diastole; TAPSE—tricuspid annular plane systolic excursion.

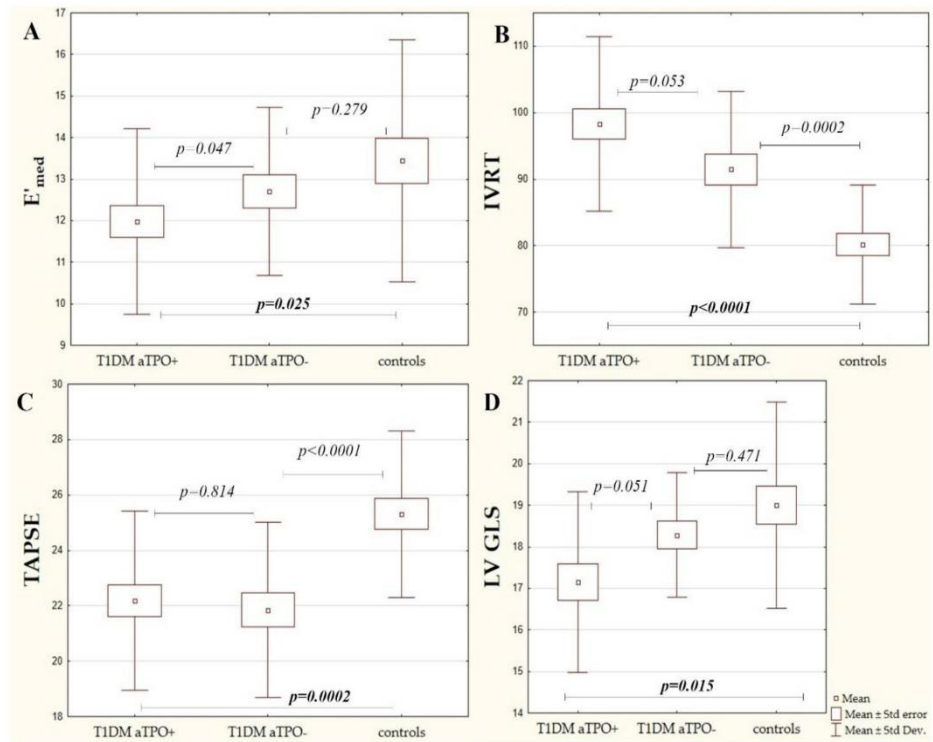


Figure 1. Comparison of selected echocardiographic parameters: (A) early diastolic velocity of the septal mitral annulus (E_{med}); (B) isovolumic relaxation time (IVRT); (C) tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE); (D) left ventricular global longitudinal strain (LV GLS) in absolute values between groups.

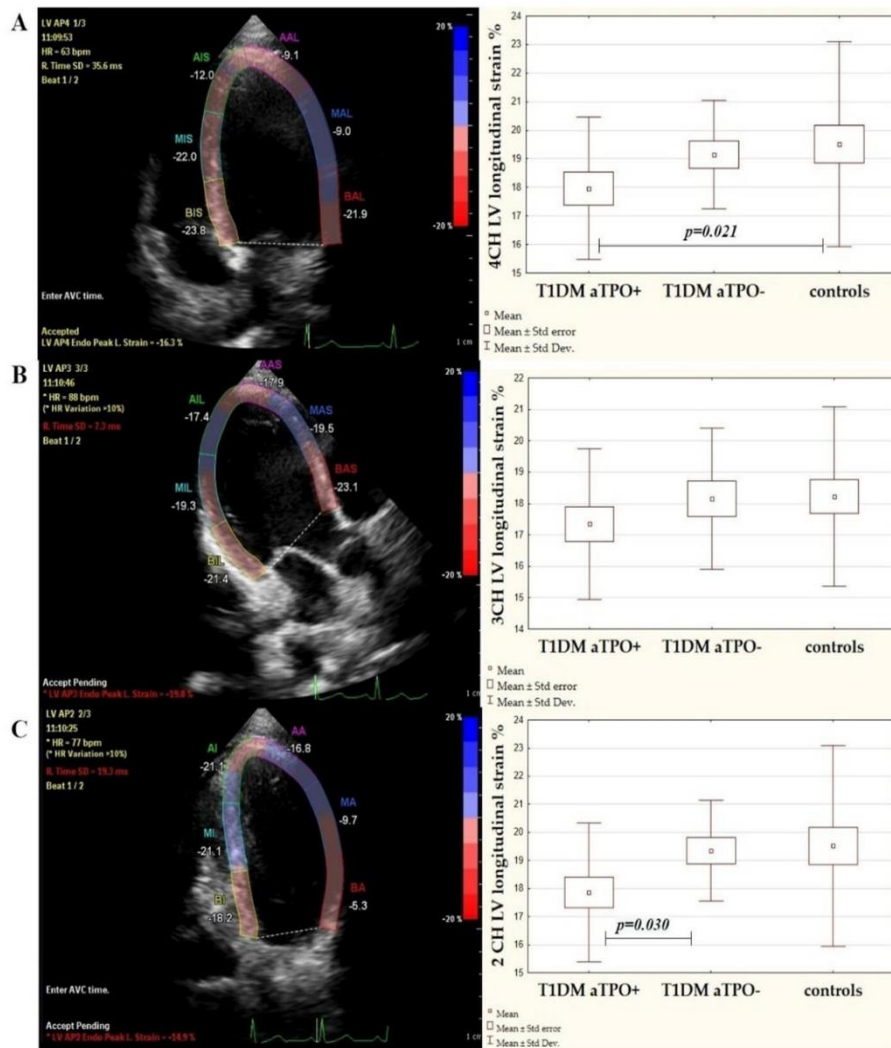


Figure 2. Images of left ventricular longitudinal strain (LV LS) from apical views: **(A)** four-chamber (4CH) inferoseptal and anterolateral segments; **(B)** three-chamber (3CH) inferolateral and anteroseptal segments; and **(C)** two-chamber (2CH) inferior and anterior segments. The graphs next to images show that the lowest longitudinal strain values were in the group of women with type 1 diabetes and positive antithyroid peroxidase antibodies (T1DM aTPO+). However, significant differences were found only in 4CH LV LS between the T1DM aTPO+ group and controls ($p=0.021$) and in 2CH LV LS between the T1DM aTPO+ and T1DM aTPO- groups ($p=0.03$). LS in the graphs is presented in absolute values.

Table 3. Comparison of left ventricular longitudinal strain (LV LS) from apical views in women with type 1 diabetes mellitus and positive antiperoxidase antibody (T1DM aTPO+) versus women with type 1 diabetes mellitus and negative antiperoxidase antibody (T1DM aTPO-) versus control group. LS presented in absolute values (p value of the ANOVA Kruskal–Wallis test).

	T1DM aTPO+ (n=34)	T1DM aTPO- (n=25)	Controls (n=29)	p value
LV LS 4CH strain %	17.3 (16.0-19.0)	17.7 (15.6-20.4)	19.5 (17.5-20.5)	0.057 ^A
anterior lateral	16.8 (14.6-18.5)	17.2 (15.3-18.6)	19.2 (17.4-20.3)	0.014 ^B
inferior septal	18.1 (16.6-20.2)	19.2 (15.5-19.9)	19.2 (17.8-21.2)	0.321
LV LS 3CH strain %	17.4 (16.1-18.9)	17.7 (16.6-19.6)	17.1 (16.5-19.2)	0.619
inferior lateral	16.9 (15.4-18.6)	17.4 (15.4-19.4)	18.4 (16.5-21.9)	0.154
anterior septal	17.5 (16.2-19.2)	17.7 (16.5-21.2)	17.1 (14.5-19.3)	0.447
LV LS 2CH strain %	17.3 (16.2-19.7)	19.9 (17.4-21.1)	19.2 (17.5-21.3)	0.093 ^C
anterior	15.7 (14.5-18.2)	17.7 (15.5-19.7)	18.3 (16.2-19.7)	0.056 ^D
inferior	19.7 (17.8-20.5)	19.6 (18.4-22.0)	19.9 (17.6-21.7)	0.629

In A,B,C,D below, we present the significant differences that came out between groups:

^AT1DM aTPO+ vs. controls, p=0.021;

^BT1DM aTPO+ vs. controls, p=0.016; T1DM aTPO- vs. controls, p=0.014;

^CT1DM aTPO+ vs. T1DM aTPO-, p=0.030;

^DT1DM aTPO+ vs. controls, p=0.017.

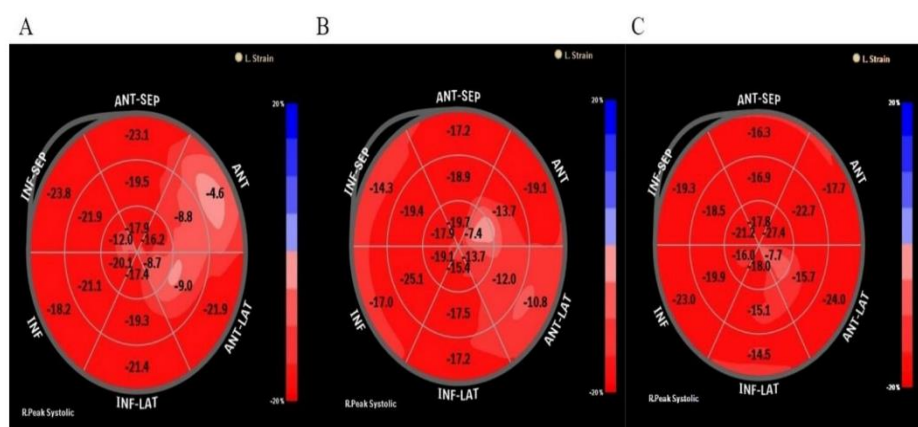


Figure 3. Examples of the longitudinal strain bull's eye plot derived from 2D speckle tracking imaging in the study population of women with type 1 diabetes mellitus (T1DM). **A.** 29-year-old female with positive antiperoxidase antibody (T1DM aTPO+) with a 15-year duration of T1DM and Hashimoto's thyroiditis (HT). **B.** 23-year-old female with positive antiperoxidase antibody (T1DM aTPO+) with an 8-year duration of T1DM and 5 years of HT. **C.** 31-year-old female with negative antiperoxidase antibody (T1DM aTPO-) with a 16-year duration of T1DM.

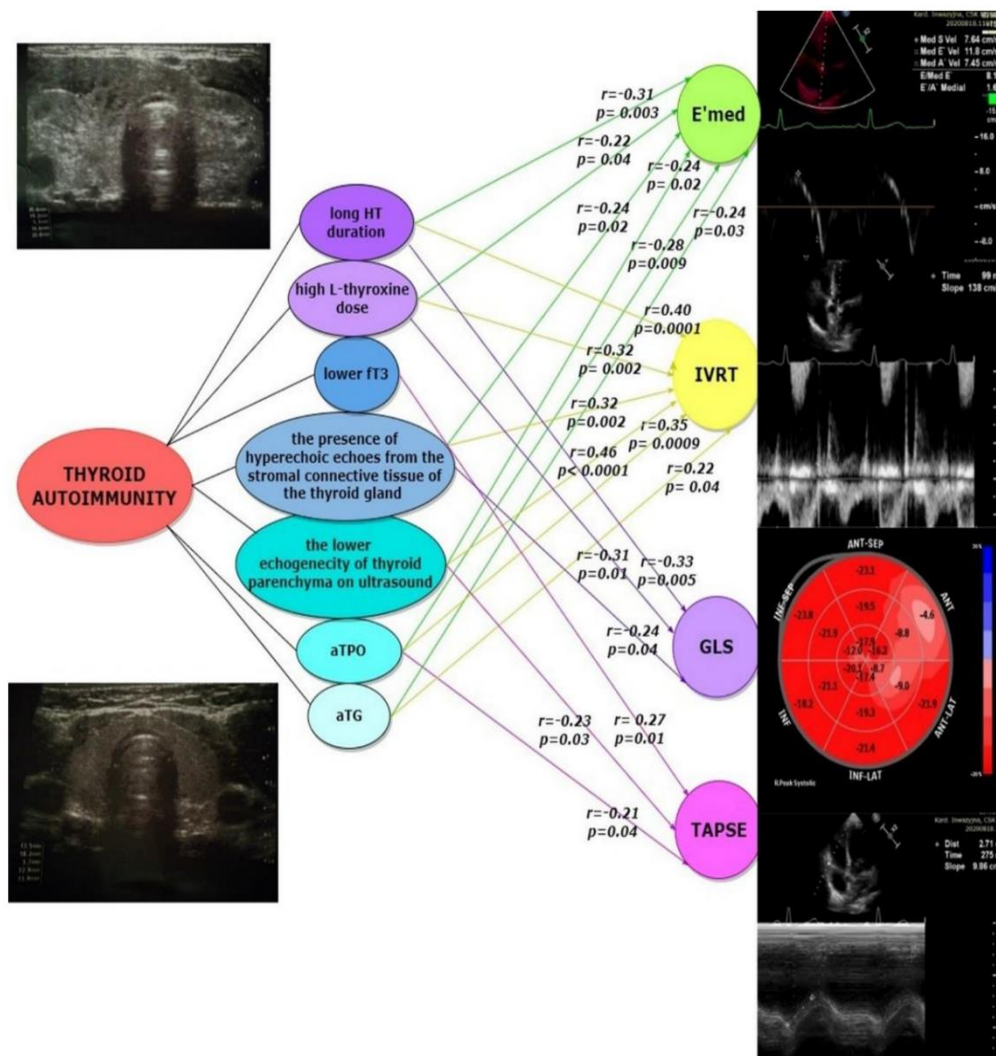


Figure 4. The correlation analyses between parameters related to thyroid autoimmunity and echocardiographic parameters of diastolic and systolic function.

Table 5. Univariate logistic regression analyses of thyroid risk factors for global longitudinal strain (GLS).

Dependent variable	Predictors	Odds ratio	95%CI	p value
GLS	HT duration	0.997	0.995-0.999	0.008
	l-thyroxine dose per week	0.814	0.689-0.960	0.013
	reduced echogenicity on thyroid ultrasound	0.309	0.120-0.793	0.013

References

1. Htay T, Soe K, Lopez-Perez A, et al. Mortality and Cardiovascular Disease in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Current cardiology reports* 2019;21:45. doi: 10.1007/s11886-019-1133-9.
2. Lipes MA, Galderisi A. Cardiac autoimmunity as a novel biomarker, mediator, and therapeutic target of heart disease in type 1 diabetes. *Current diabetes reports* 2015;15:30. doi: 10.1007/s11892-015-0598-1.
3. Hoffman WH, Sharma M, Cihakova D, et al. Cardiac antibody production to self-antigens in children and adolescents during and following the correction of severe diabetic ketoacidosis. *Autoimmunity* 2016;49:188-96. doi: 10.3109/08916934.2015.1134509.
4. Łukawska-Tataczuk M, Mrozikiewicz-Rakowska B, Franek E, et al. Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2021;75:802-14. doi: 10.2478/ahem-2021-0043.
5. Ohkuma T, Komorita Y, Peters SAE, et al. Diabetes as a risk factor for heart failure in women and men: a systematic review and meta-analysis of 47 cohorts including 12 million individuals. *Diabetologia* 2019;62:1550-60. doi: 10.1007/s00125-019-4926-x.
6. Rogers MAM, Wei MY, Kim C, et al. Sex Differences in Autoimmune Multimorbidity in Type 1 Diabetes Mellitus and the Risk of Cardiovascular and Renal Disease: A Longitudinal Study in the United States, 2001-2017. *Journal of women's health (2002)* 2020;29:511-19. doi: 10.1089/jwh.2019.7935.
7. Nakova VV, Krstevska B, Kostovska ES, et al. The effect of levothyroxine treatment on left ventricular function in subclinical hypothyroidism. *Arch Endocrinol Metab* 2018;62:392-98. doi: 10.20945/2359-3997000000052.
8. Ahmadi N, Ahmadi F, Sadiqi M, et al. Thyroid gland dysfunction and its effect on the cardiovascular system: a comprehensive review of the literature. *Endokrynologia Polska* 2020;71:466-78. doi: 10.5603/EP.a2020.0052.
9. Basu M, Pandit K, Banerjee M, et al. Profile of Auto-antibodies (Disease Related and Other) in Children with Type 1 Diabetes. *Indian journal of endocrinology and metabolism* 2020;24:256-59. doi: 10.4103/ijem.IJEM_63_20.
10. Hensel KO. Subclinical left ventricular systolic and diastolic dysfunction in type 1 diabetic children and adolescents with good metabolic control. *Echocardiography* 2018;35:578-79. doi: 10.1111/echo.13887.
11. Yoldaş T, Örün UA, Sagsak E, et al. Subclinical left ventricular systolic and diastolic dysfunction in type 1 diabetic children and adolescents with good metabolic control. *Echocardiography* 2018;35:227-33. doi: 10.1111/echo.13764.
12. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *European heart journal* 2020;41:255-323. doi: 10.1093/eurheartj/ehz486.
13. 2019 surveillance of diabetes (NICE guidelines NG17, NG18, NG19 and NG28) [Internet]. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2019 Jun 27. PMID: 31891469.
14. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmunity reviews* 2014;13:391-7. doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.007.
15. Trzebińska A, Dobruch-Sobczak K, Jakubowski W, et al. Standardy badań ultrasonografii cznych Polskiego Towarzystwa Ultrasonografii cznego – aktualizacja. *Badanie ultrasonografii czne tarczycy oraz biopsja*

- tarczycy pod kontrolą ultrasonografii. *Journal of Ultrasonography* 2014;14:49-60. doi: 10.15557/JoU.2014.0005.
16. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2015;28:1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003.
 17. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *European heart journal Cardiovascular Imaging* 2015;16:233-70. doi: 10.1093/ehjci/jev014.
 18. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *The American journal of cardiology* 1986;57:450-8. doi: 10.1016/0002-9149(86)90771-x.
 19. Knackstedt C, Bekkers SC, Schummers G, et al. Fully Automated Versus Standard Tracking of Left Ventricular Ejection Fraction and Longitudinal Strain: The FAST-EFs Multicenter Study. *Journal of the American College of Cardiology* 2015;66:1456-66. doi: 10.1016/j.jacc.2015.07.052.
 20. Cameli M, Mandoli GE, Sciacaluga C, et al. More than 10 years of speckle tracking echocardiography: Still a novel technique or a definite tool for clinical practice? *Echocardiography (Mount Kisco, NY)* 2019;36:958-70. doi: 10.1111/echo.14339.
 21. Beyhoff N, Brix S, Betz IR, et al. Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2017;30:1239-50.e2. doi: 10.1016/j.echo.2017.08.006.
 22. Flores-Ramírez R, Azpiri-López JR, González-González JG, et al. Global longitudinal strain as a biomarker in diabetic cardiomyopathy. A comparative study with Gal-3 in patients with preserved ejection fraction. *Archivos de cardiología de México* 2017;87:278-85. doi: 10.1016/j.acmx.2016.06.002.
 23. Liu D, Hu K, Nordbeck P, et al. Longitudinal strain bull's eye plot patterns in patients with cardiomyopathy and concentric left ventricular hypertrophy. *Eur J Med Res* 2016;21:21-21. doi: 10.1186/s40001-016-0216-y.
 24. Argento LV, Travetto CM, Colicigno MLM, et al. Tissue Doppler Imaging and strain rate of the left atrial lateral wall: age related variations and comparison with parameters of diastolic function. *Cardiovascular ultrasound* 2020;18:38. doi: 10.1186/s12947-020-00221-2.
 25. F MA-EA, Abdelghaffar S, E MH, et al. Evaluation of Cardiac Functions in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. *Journal of cardiovascular ultrasound* 2017;25:12-19. doi: 10.4250/jcu.2017.25.1.12.
 26. Altun G, Babaoğlu K, Binnetoğlu K, et al. Subclinical Left Ventricular Longitudinal and Radial Systolic Dysfunction in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Echocardiography (Mount Kisco, NY)* 2016;33:1032-9. doi: 10.1111/echo.13204.
 27. Sousa GR, Poher D, Galderisi A, et al. Glycemic Control, Cardiac Autoimmunity, and Long-Term Risk of Cardiovascular Disease in Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation* 2019;139:730-43. doi: 10.1161/circulationaha.118.036068.

28. El-Shabrawy RM, Ahmed AM, Selim FO, et al. Association between CD4+, CD25+, FOXP3+ Regulatory T-cells and Cardiovascular Complications in Diabetic Patients Type 1. *The Egyptian journal of immunology* 2019;26:129-39. PMID: 31333003.
29. Janyga S, Marek B, Kajdaniuk D, et al. CD4+ cells in autoimmune thyroid disease. *Endokrynologia Polska* 2021;72:572-83. doi: 10.5603/EP.a2021.0076
30. Sousa GR, Kosiborod M, Bluemke DA, et al. Cardiac Autoimmunity Is Associated With Subclinical Myocardial Dysfunction in Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation* 2020;141:1107-09. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044539.
31. Gottumukkala RV, Lv H, Cornivelli L, et al. Myocardial infarction triggers chronic cardiac autoimmunity in type 1 diabetes. *Science translational medicine* 2012;4:138ra80. doi: 10.1126/scitranslmed.3003551.
32. Kajdaniuk D, Marek A, Marek B, et al. Transcriptional activity of TGFβ1 and its receptors genes in thyroid gland. *Endokrynologia Polska* 2016;67:375-82. doi: 10.5603/EP.a2016.0045
33. Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis. *Cardiovascular research* 2021;117:1450-88. doi: 10.1093/cvr/cvaa324.
34. Siemińska L, Wojciechowska C, Walczak K, et al. Associations between metabolic syndrome, serum thyrotropin, and thyroid antibodies status in postmenopausal women, and the role of interleukin-6. *Endokrynologia Polska* 2015;66:394-403. doi: 10.5603/ep.2015.0049.
35. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, et al. Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* 2016;26:504-11. doi: 10.1089/thy.2015.0592.
36. Mikoś H, Mikoś M, Obara-Moszyńska M, et al. The role of the immune system and cytokines involved in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease (AITD). *Endokrynologia Polska* 2014;65:150-55. doi: 10.5603/EP.2014.0021.
37. Łukawska-Tataczuk M, Franek E, Czupryniak L, et al. Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease. 2021;11:1110. doi: 10.3390/biom11081110.
38. Schnelle M, Catibog N, Zhang M, et al. Echocardiographic evaluation of diastolic function in mouse models of heart disease. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2018;114:20-28. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.10.006.
39. Seferović PM, Paulus WJ. Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *European heart journal* 2015;36:1718-27, 27a-27c. doi: 10.1093/eurheartj/ehv134.
40. Kanamori H, Naruse G, Yoshida A, et al. Morphological characteristics in diabetic cardiomyopathy associated with autophagy. *Journal of cardiology* 2021;77:30-40. doi: 10.1016/j.jjcc.2020.05.009.
41. Kanamori H, Takemura G, Goto K, et al. Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy* 2015;11:1146-60. doi: 10.1080/15548627.2015.1051295.
42. Ferrara F, Rudski LG, Vriza O, et al. Physiologic correlates of tricuspid annular plane systolic excursion in 1168 healthy subjects. *International journal of cardiology* 2016;223:736-43. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.08.275.
43. Ahmed TA, Ahmed YA, Arafa AI, et al. Detection of occult right ventricular dysfunction in young Egyptians with type 1 diabetes mellitus by two-dimensional speckle tracking echocardiography. *Indian heart journal* 2018;70:665-71. doi: 10.1016/j.ihj.2018.06.019.

44. Berceanu M, Mirea O, Târtea GC, et al. The Significance of Right Ventricle in Young Subjects with Diabetes Mellitus Type 1. An echocardiographic study. *Current health sciences journal* 2019;45:174-78. doi: 10.12865/chsj.45.02.07.
45. Todo S, Tanaka H, Yamauchi Y, et al. Association of left ventricular longitudinal myocardial function with subclinical right ventricular dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular diabetology* 2021;20:212. doi: 10.1186/s12933-021-01404-5.
46. Hu BY, Wang J, Yang ZG, et al. Cardiac magnetic resonance feature tracking for quantifying right ventricular deformation in type 2 diabetes mellitus patients. *Scientific reports* 2019;9:11148. doi: 10.1038/s41598-019-46755-y.
47. Łukawska-Tatarczuk M, Mrozikiewicz-Rakowska B, Franek E, et al. Molecular pathogenesis of heart failure in diabetes mellitus – new direction for the therapeutic approach. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2020;74:452-63. doi: 10.5604/01.3001.0014.4856.
48. Vatan MB, Varım C, Ağaç MT, et al. Echocardiographic Evaluation of Biventricular Function in Patients with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre* 2016;25:143-9. doi: 10.1159/000442709.
49. Dogdus M, Diker S, Yenercag M, et al. Evaluation of left atrial and ventricular myocardial functions by three-dimensional speckle tracking echocardiography in patients with euthyroid Hashimoto's thyroiditis. *The international journal of cardiovascular imaging* 2021;37:459-65. doi: 10.1007/s10554-020-02011-3.
50. Azak E, Uçaktürk SA, Çetin İ, et al. Subclinical Myocardial Dysfunction Demonstrated by Speckle Tracking Echocardiography in Children with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology* 2019;11:410-18. doi: 10.4274/jcrpe.galenos.2019.2018.0273.

6.5. Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease.



Article

Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease

Magdalena Łukawska-Tataczuk ^{1,2}, Edward Franek ^{1,3}, Leszek Czupryniak ², Iłona Joniec-Maciejak ⁴, Agnieszka Pawlak ^{3,5}, Ewa Wojnar ⁴, Jakub Zieliński ⁶, Dagmara Mirowska-Guzel ⁴ and Beata Mrozikiewicz-Rakowska ^{2,*}

- ¹ Clinical Department of Internal Diseases, Endocrinology and Diabetology, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Wołoska 137, 02-507 Warsaw, Poland; magdalukawska89@gmail.com (M.L.-T.); edward.franek@cskmswia.pl (E.F.)
 - ² Department of Diabetology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Banacha 1a, 02-097 Warsaw, Poland; leszek.czupryniak@wum.edu.pl
 - ³ Mossakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Adolfa Pawińskiego 5, 02-106 Warsaw, Poland; a.pawlak1@wp.pl
 - ⁴ Department of Experimental and Clinical Pharmacology, Centre for Preclinical Research and Technology (CePT), Medical University of Warsaw, Banacha 1b, 02-097 Warsaw, Poland; Iłona.joniec@wum.edu.pl (I.J.-M.); ewojnar@wum.edu.pl (E.W.); dagmara.mirowska-guzel@wum.edu.pl (D.M.-G.)
 - ⁵ Department of Invasive Cardiology, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Wołoska 137, 02-507 Warsaw, Poland
 - ⁶ Interdisciplinary Centre for Mathematical and Computational Modeling, University of Warsaw, Adolfa Pawińskiego 5A, 02-106 Warsaw, Poland; j.zielinski@icm.edu.pl
- * Correspondence: rakowskab123@gmail.com; Tel.: +48-22-599-25-83



Citation: Łukawska-Tataczuk, M.; Franek, E.; Czupryniak, L.; Joniec-Maciejak, I.; Pawlak, A.; Wojnar, E.; Zieliński, J.; Mirowska-Guzel, D.; Mrozikiewicz-Rakowska, B. Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease. *Biomolecules* **2021**, *11*, 1110. <https://doi.org/10.3390/biom11081110>

Academic Editors: Pietro Scicchitano and Matteo Cameli

Received: 29 June 2021
Accepted: 24 July 2021
Published: 28 July 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The loss of cardioprotection observed in premenopausal, diabetic women may result from the interplay between epigenetic, metabolic, and immunological factors. The aim of this study was to evaluate the concentration of sirtuin 1, visfatin, and IL-27 in relation to cardiovascular parameters and Hashimoto's disease (HD) in young, asymptomatic women with type 1 diabetes mellitus (T1DM). Thyroid ultrasound, carotid intima-media thickness (cIMT) measurement, electrocardiography, and echocardiography were performed in 50 euthyroid females with T1DM (28 with HD and 22 without concomitant diseases) and 30 controls. The concentrations of serum sirtuin 1, visfatin and IL-27 were assessed using ELISA. The T1DM and HD group had higher cIMT ($p = 0.018$) and lower left ventricular global longitudinal strain ($p = 0.025$) compared to females with T1DM exclusively. In women with a double diagnosis, the sirtuin 1 and IL-27 concentrations were non-significantly higher than in other groups and significantly positively correlated with each other ($r = 0.445$, $p = 0.018$) and thyroid volume ($r = 0.511$, $p = 0.005$; $r = 0.482$, $p = 0.009$, respectively) and negatively correlated with relative wall thickness ($r = -0.451$, $p = 0.016$; $r = -0.387$, $p = 0.041$, respectively). These relationships were not observed in the control group nor for the visfatin concentration. These results suggest that sirtuin 1 and IL-27 contribute to the pathogenesis of early cardiac dysfunction in women with T1DM and HD.

Keywords: sirtuin 1; IL-27; visfatin; female; type 1 diabetes mellitus; thyroid autoimmunity; cardiovascular disease

1. Introduction

The accelerated atherosclerosis and early development of heart failure (HF) observed in diabetes patients have a multifactorial background and are still insufficiently understood [1]. In recent years, increasing attention is being paid to sex differences in cardiovascular (CV) risk, which in combination with diabetes leads to a loss of cardioprotection

observed in premenopausal women. However, the mechanisms by which sex may modulate the effect of diabetes on CV risk have not been exhaustively investigated.

It has been shown in large meta-analyses that there is a significantly higher risk of coronary heart disease [2] and HF associated with diabetes in women than men, especially in type 1 diabetes mellitus (T1DM) [3]. In fact, T1DM was associated with a 47% greater risk of HF in females than males as opposed to a 9% greater risk in type 2 diabetes mellitus (T2DM) [3]. Additionally, a registry-based cohort study confirmed that the onset of T1DM before the age of 10 years results in a higher loss of life years by 3.5 years in women than men [4]. Indeed, in light of the above studies, the latest guidelines from the European Society of Cardiology (ESC) in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD) indicate the need for further investigation explaining the excess CV risk in females, especially with early-onset T1DM [5].

According to current knowledge, the loss of cardioprotection in diabetic women may be due to genetic and epigenetic mechanisms [6], differences in anatomical structure and metabolism of adipose tissue [7], hormone-related oxidative stress [8], and the gut microbiome connected with inflammation [9] and molecular factors involved in the formation of AGEs [10]. Another possible explanation is that there is a link between CV diseases and autoimmunity, potentially through inflammatory pathways, especially in T1DM [11]. Furthermore, it appears that the coexistence of a second autoimmune condition, of which Hashimoto's disease (HD) is the most common, may be associated with increased CV risk [12]. Nevertheless, the exact mechanism of this phenomenon remains unclear.

As shown in Figure 1, the suspected link between epigenetic, metabolic, and immunological pathways may be sirtuin 1, an NAD⁺-dependent deacetylase that belongs to the enzymes of longevity [13,14].

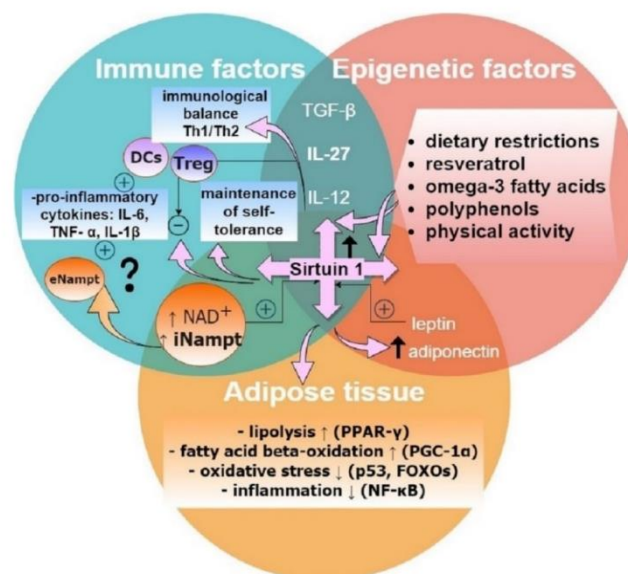


Figure 1. Sirtuin 1 is a possible link between metabolic and immunological pathways. The expression of sirtuin 1 depends on epigenetic factors and influences adipose tissue metabolism through various transcription factors to reduce lipogenesis [15] and oxidative stress [16], and it also has anti-inflammatory effects [17] and regulates the secretion of adipokines [18]. Visfatin intracellularly (iNAmpt) catalyzes the reaction of the NAD⁺ synthesis pathway, which increases sirtuin 1 activity [19], while extracellularly (eNAmpt) it regulates responses to oxidative stress and inflammation [20]. Sirtuin 1 influences the immune system through cytokines, maintaining the balance between Th1/Th2/Th17/Treg lymphocytes' defense against autoimmunity [21]. IL-27, together with

Treg lymphocytes, can exert an anti-inflammatory effect [22], protecting against autoimmune inflammation or a pro-inflammatory effect when secreted by dendritic cells (DCs), depending on the Toll-like receptor 4 (TLR 4) [23]. Abbreviations: DCs—dendritic cells, eNampt—extracellular nicotinamide phosphoribosyltransferase, FOXO—forehead box O, iNampt—intracellular nicotinamide phosphoribosyltransferase, NF- κ B—nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells, PGC1 α —peroxisome proliferator-activated receptor c coactivator 1 α , PPAR- γ —peroxisome proliferator-activated receptor gamma, TNF- α —tumor necrosis factor α , Treg—T regulatory lymphocytes.

Sirtuin 1, the epigenetic enzyme that regulates various cellular pathways, has attracted significant attention over recent years because it is involved in the pathogenesis of both CV diseases [24] and autoimmune disorders [25]. A recent meta-analysis of preclinical studies demonstrated that resveratrol and metformin reduce hyperglycemia, dyslipidemia, and insulin resistance, and exhibits a pro-inflammatory response by increasing the sirtuin 1-dependent intracellular antioxidant capacity [26]. Thus, it appears that sirtuin 1, due to its antioxidant properties, may be important in alleviating diabetic complications. Moreover, the ability of sirtuin 1 to regulate interleukin 27 (IL-27) expression probably determines the maintenance of the immune balance [27] and may be involved in the development of T1DM [28]. IL-27 can exert both pro-inflammatory and anti-inflammatory effects, which is currently being considered in novel therapeutic approaches for cardiovascular [29] and autoimmune diseases [30]. Another insufficiently explored molecule related to sirtuin 1 is visfatin [31]. This adipokine exhibits nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) activity, and as an intracellular form (iNAMPT) maintains the activity of NAD-dependent enzymes, such as sirtuin 1 [19], while the extracellular form (eNAMPT) can induce inflammation and endothelial dysfunction [32]. Recently, this adipokine was suggested to be a therapeutic target in cardiovascular-metabolic disorders [33]. Despite the known interaction between visfatin and sirtuin 1 in the regulation of many processes responsible for cell metabolism and control of circadian rhythm [34], these relationships are still not well understood, especially in relation to T1DM.

Given the often atypical or clinically silent progression of CV diseases in women with diabetes, identification of specific risk factors is a key step in early diagnosis and effective prevention. Thus, the purpose of this pilot study was to evaluate the potential utility of sirtuin 1, visfatin, and IL-27 as markers of early development of atherosclerosis or HF in young, asymptomatic women with T1DM and HD. To the best of our knowledge, no research to date has assessed these serum levels in this context. The most relevant finding of our study is the demonstration of a positive correlation between sirtuin 1 and IL-27 levels and their significant association with thyroid and echocardiographic parameters in women with T1DM and HD.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

Fifty patients with T1DM were enrolled at the Diabetes Outpatient Clinic of the Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration in *Warsaw, Poland*. Inclusion criteria were a diagnosis of T1DM, HbA1c < 10%, age 18–37 years, female, and current euthyrosis status in laboratory tests. Patients were excluded if they were pregnant or breastfeeding, had a positive history of CV diseases (hypertension, coronary heart disease, arrhythmia, HF), were smokers, or had hepatic or renal disorders. Women taking any additional medication apart from insulin treatment and levothyroxine were also excluded. The participants were divided into two study groups: group 1 ($n = 28$) included women diagnosed with both T1DM and HD, while group 2 ($n = 22$) included women diagnosed with T1DM without other diseases. The diagnosis of Hashimoto's thyroiditis was stated on the basis of the standard criteria: Elevated thyroid antibodies (aTPO and/or aTG) titer and typical ultrasound. Among the female patients with HD, 18 were treated chronically with

levothyroxine, and 10 had elevated antibodies and a typical ultrasound image indicating thyroid autoimmunity but with normal TSH and fT4 without medication.

Thirty age-matched, healthy women recruited from hospital employees and their relatives formed the control group ($n = 30$). The inclusion criteria were as follows: normal physical examination and no history of diabetes, CV diseases, autoimmune disorders, or other diseases. All the patients in the control group were without obvious features of thyroid autoimmunity during the ultrasound and had euthyrosis status in laboratory tests. Women taking any kind of medication, or who were pregnant or breastfeeding, were excluded.

The study protocol was prepared in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the local Ethical Committee (Approval of the Ethics and Surveillance Committee for Research in Human and Animal Sciences at the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs; No. 22/2018 of 09 May 2018). Each patient provided informed written consent to participate in this study.

2.2. Clinical Data Collection

Medical history and anthropometric measures were recorded during patient interviews. All the enrolled patients underwent a physical examination. The BMI (body mass index) was estimated as body weight divided by the squared height (kg/m^2). Basic data were collected from each individual on a computerized datasheet.

2.3. Echocardiography and Electrocardiography

Complete 2-dimensional echocardiograms and Doppler scan studies were performed and analyzed by an expert echocardiographer following the recommendations of the European Association of Cardiovascular Imaging [35] using an EPIQ system (version 7C, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands). The observer was blinded to the group under examination.

The left ventricular dimension (LVD), interventricular septum (IVS), and posterior wall dimensions (PWD) in systole and diastole were measured using M-mode by the parasternal long-axis view. Atrial volumes and left ventricular ejection fraction (EF) were assessed using Simpson's method [35]. The left atrial volume index (LAVI) was calculated by dividing the left atrium (LA) volume (measured from standard apical two- and four-chamber views at end-systole) by the body surface area of participants. The left ventricular mass (LVM) was calculated using the Devereux formula indexed to body surface area (left ventricular mass index (LVMI)) [36]. The relative wall thickness (RWT) was calculated as double the PWD divided by the left ventricle diastolic diameter [37]. E/A ratios were calculated using pulse-wave Doppler early (E) and late (A) diastolic mitral peak velocities together with the isovolumic relaxation time (IVRT) and deceleration time (DT). Pulse-wave Tissue Doppler Imaging was used to measure peak diastolic velocities of the septal (E'spt, A'spt) and lateral (E'lat, A'lat) corner of mitral annulus in apical four-chamber view. Two-dimensional speckle tracking analyses was performed in the longitudinal three-chamber, two-chamber, and four-chamber views for left ventricular global longitudinal strain (GLS) [35]. A 12-lead standard electrocardiography ECG (10 mm = 1 mV, 25 mm/s) was performed in a supine position during rest. The QT interval was corrected (QTc) for heart rate using the Bazett formula [38].

2.4. Measurement of Carotid Intima-Media Thickness and Thyroid Assessment

Carotid arteries were examined bilaterally using B-mode ultrasonography with a 10 MHz linear transducer and this procedure was performed by the same sonographer according to the guidelines of the Polish Ultrasonography Society [39]. CIMT was measured three times on each side (right and left) and the mean value was calculated for each side and for all six measurements included in the analyses. All participants underwent thyroid ultrasonography according to the guidelines of the Polish Ultrasonography Society [40]. The thyroid volume was calculated using a simplified formula for the volume of a spheroid:

$V = 0.5 \times W \times H \times L$, where V is the volume of the lobe, 0.5 is the simplified coefficient, W is the width, H is the height, and L is the length. The volume of the thyroid gland considered in the study was the sum of the volumes of the right and left lobes.

2.5. Biochemical Analysis

For laboratory tests, venous blood was collected after overnight fasting and included measurements of glycated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), triglyceride (TG) levels, and thyroid parameters. The range of normal values for fT4 was between 0.93 and 1.7 ng/dL, for fT3 it was between 2.0 and 4.4 pg/mL, and for TSH it was between 0.27 and 4.2 μ IU/mL. The positive values for antibodies were >34 IU/mL for anti-TPO-Abs and >115 IU/mL for anti-TG-Abs. All of the collected blood samples were subjected to biochemical analyses immediately after collection on an ongoing basis in the hospital laboratory using standard methods. For all participants, sera were separated by centrifugation of the whole blood samples for 10 min and were stored at -80 °C for further measurement of immune markers.

2.6. Sirtuin 1, Visfatin, and IL-27 Measurements

Serum concentrations of sirtuin 1, visfatin, and IL-27 were analyzed using commercial immunoenzymatic assays by an experienced laboratory technician in the Department of Experimental and Clinical Pharmacology (Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland). The IL-27 serum concentration was assessed in duplicate by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Human IL-27 ELISA Kit, Covalab, Bron, France; sensitivity: 12.8 pg/mL; reference range: 0–1000 pg/mL). The optical density was assessed at 450 nm using a BIOTEK spectrophotometric reader (EPOCH model, Winooski, VT, USA.). The visfatin serum level was determined in duplicate using a commercial ELISA kit (Human PBEF/Visfatin ELISA Kit, Abclonal, Wuhan, China; sensitivity: 0.55 ng/mL; reference range: 0–100 ng/mL). Optical density was assessed at 450 nm using spectrophotometric reader BIOTEK (model EL \times 800, Winooski, VT, USA). Finally, the serum concentration of sirtuin 1 was measured by competitive ELISA (Human SIRT1 (Sirtuin 1) ELISA Kit, FineTest, Wuhan, China; sensitivity: 0.188 ng/mL; reference range: 0.313–20 ng/mL). Optical density was assessed at 450 nm using a BIOTEK spectrophotometric reader (model EL \times 800, Winooski, VT, USA). Measurements for sirtuin 1 serum concentration were performed in a single replicate based on dilution tests. All procedures were performed in accordance with the manufacturer's recommendations.

2.7. Statistical Analysis

Data were analyzed using Statistica 13. The Lilliefors and Shapiro–Wilk tests were used to verify the normal distribution of data. A non-parametric Mann–Whitney U test was used to compare two groups of unrelated variables. Differences between multiple groups were evaluated using a Kruskal–Wallis ANOVA test. To explore correlations among variables, a Spearman's correlation (r) test was used. Statistical significance was set at a p -value < 0.05 .

3. Results

3.1. Study Population

The study population consisted of 80 females (mean age 26.4 ± 4.4 years and range 18–37 years) including 30 controls and 50 participants with T1DM divided into two groups: T1DM and HD (T1DM + HD, $n = 28$) and T1DM without any other additional diseases (T1DM – HD, $n = 22$) (Table 1).

Table 1. The main demographic and clinical characteristics of each test group.

	T1DM (n = 50)	T1DM + HD (n = 28)	T1DM – HD (n = 22)	Controls (n = 30)	<i>p</i> (T1DM vs. Controls)	<i>p</i> (T1DM + HD vs. T1DM – HD)
Age (years)	26.2 ± 4.75	26.68 ± 4.64	25.59 ± 4.92	26.7 ± 3.72	0.548	0.363
BMI (kg/m ²)	22.45 ± 3.14	22.78 ± 3.29	22.04 ± 2.95	22.53 ± 3.03	0.941	0.481
Diabetes duration (years)	13.04 ± 6.44	14.43 ± 7.20	11.27 ± 4.93	0.00	0.000	0.143
Daily insulin dose (units)	38.48 ± 18.86	39.85 ± 21.50	36.73 ± 15.15	0.00	0.000	0.837
HD duration (years)	4.08 ± 5.99	7.29 ± 6.40	0.00	0.00	0.000	0.000
HbA1c (%)	7.7 ± 1.33	8.03 ± 1.35	7.28 ± 1.20	5.18 ± 0.28	0.000	0.071
Total cholesterol (mg/dL)	173.06 ± 28.27	174.57 ± 27.97	171.14 ± 29.19	172.77 ± 29.23	0.917	0.647
LDL (mg/dL)	86.36 ± 25.91	87.75 ± 28.61	84.59 ± 22.52	83.93 ± 28.36	0.735	0.822
HDL(mg/dL)	70.66 ± 19.35	70.75 ± 18.73	70.55 ± 20.54	72.57 ± 21.10	0.713	0.718
TG (mg/dL)	81.14 ± 33.32	80 ± 34.96	82.59 ± 31.86	82.73 ± 30.36	0.651	0.777
TSH (μIU/mL)	2.26 ± 1.95	2.53 ± 2.45	1.90 ± 0.92	2.44 ± 1.15	0.127	0.718
ft4 (ng/dL)	1.25 ± 0.23	1.28 ± 0.26	1.22 ± 0.18	1.23 ± 0.17	0.608	0.200
ft3 (pg/mL)	2.97 ± 0.46	2.94 ± 0.42	3.01 ± 0.52	3.26 ± 0.53	0.007	0.992
aTPO IU/mL	102.51 ± 175.89	174.70 ± 209.32	10.64 ± 7.68	24.85 ± 65.16	0.000	0.000
aTG IU/mL	144.51 ± 167.58	225.89 ± 168.98	40.95 ± 93.53	80.88 ± 132.32	0.004	0.000
Thyroid volume (mL)	11.48 ± 3.55	11.38 ± 3.94	11.61 ± 3.08	11.52 ± 3.82	0.626	0.740
EKG-HR	72.86 ± 11.35	72.5 ± 10.56	73.32 ± 12.53	71.53 ± 10.16	0.673	0.992
EKG-Qtc	426.38 ± 19.51	427.71 ± 19.45	424.68 ± 19.91	421.27 ± 19.76	0.220	0.853
cIMT (mm)	0.66 ± 0.28	0.72 ± 0.34	0.58 ± 0.12	0.58 ± 0.10	0.046	0.018
EF (%)	62.27 ± 3.63	62.34 ± 3.40	62.19 ± 3.99	64.53 ± 2.03	0.001	0.399
LAVI mL/m ²	22.95 ± 5.3	21.51 ± 5.19	24.78 ± 4.97	24.29 ± 5.88	0.398	0.032
LVEDd (mm)	42.9 ± 4.16	42.11 ± 4.55	43.91 ± 3.45	44.57 ± 2.45	0.089	0.151
IVSD (mm)	8.56 ± 1.46	8.64 ± 1.68	8.45 ± 1.14	9 ± 1.31	0.114	0.992
PWD (mm)	8.92 ± 1.14	9.21 ± 1.20	8.55 ± 0.96	8.93 ± 0.98	0.858	0.082
LVMI g/m ²	69.02 ± 11.73	68.79 ± 11.76	69.32 ± 11.97	76.68 ± 10.16	0.010	0.792
RWT	0.42 ± 0.10	0.45 ± 0.12	0.39 ± 0.04	0.40 ± 0.04	0.592	0.040
A wave (ms)	58.01 ± 14.41	59.61 ± 12.16	55.98 ± 16.92	60.45 ± 15.72	0.499	0.324
E'sep (cm/s)	12.34 ± 2.21	12.11 ± 2.24	12.63 ± 2.17	13.20 ± 3.16	0.127	0.122
DT (ms)	215.72 ± 42.66	211.86 ± 41.78	220.63 ± 44.23	210.47 ± 40.70	0.945	0.384
IVRT (ms)	94.5 ± 13.14	96.61 ± 13.66	91.82 ± 12.21	79.87 ± 8.98	0.000	0.278
LV GLS	17.59 ± 1.97	16.90 ± 2.12	18.32 ± 1.53	18.96 ± 2.50	0.054	0.025
Sirtuin 1 (ng/mL)	19.51 ± 65.70	32.68 ± 86.06	2.76 ± 4.88	17.51 ± 38.39	0.106	0.278
Visfatin (ng/mL)	14.50 ± 47.82	8.87 ± 37.47	21.66 ± 58.61	22.06 ± 60.38	0.347	0.097
IL-27 (pg/mL)	18.23 ± 52.33	27.82 ± 68.87	6.05 ± 3.56	13.47 ± 33.88	0.622	0.132

There were no significant differences found in age, sex, body mass index (BMI), lipid parameters, TSH and ft4 levels, heart rate, or QTc interval among the sample groups. Importantly, women in all study groups had normal BMI and a favorable lipid profile. Notable, the rather low levels of LDL and TG, and fairly high levels of HDL present in the group with T1DM would generate a low atherogenicity index. Nevertheless, the group with T1DM had significantly thicker cIMT ($p = 0.046$) and lower EF ($p = 0.001$) compared to the control group. One explanation for these differences may be the association between historic glycemic exposure and its 'metabolic memory' and the long-term CV risk [41]. It appears that non-enzymatic glycation of proteins and lipids leads to the

activation of oxidative stress, causing long-term CV complications despite the attainment of glycemic control, which has been reported in T1DM [42]. Indeed, the metabolic memory phenomenon results from the dysregulation of epigenetic mechanisms that lead to changes in the expression of pathological genes responsible for chronic inflammation, which plays a key role in the development of atherosclerosis or cardiac dysfunction [43].

The groups of patients with T1DM were similar in diabetes duration, HbA1c, daily insulin requirement, lipid parameters, and thyroid hormones. However, women with T1DM and HD exhibited significantly thicker cIMT ($p = 0.018$) and lower left ventricular GLS ($p = 0.025$) compared to women with T1DM only (Figure 2). These observed differences may be due to the relationship between autoimmunity and CV risk, as further explained in the discussion. Among the echocardiographic parameters considered, we found significantly lower LVMI ($p = 0.01$) and higher IVRT ($p < 0.0001$) in women with T1DM compared with the control group, and lower LAVI ($p = 0.032$) and higher RWT ($p = 0.04$) in women with T1DM and HD compared to women with T1DM only.

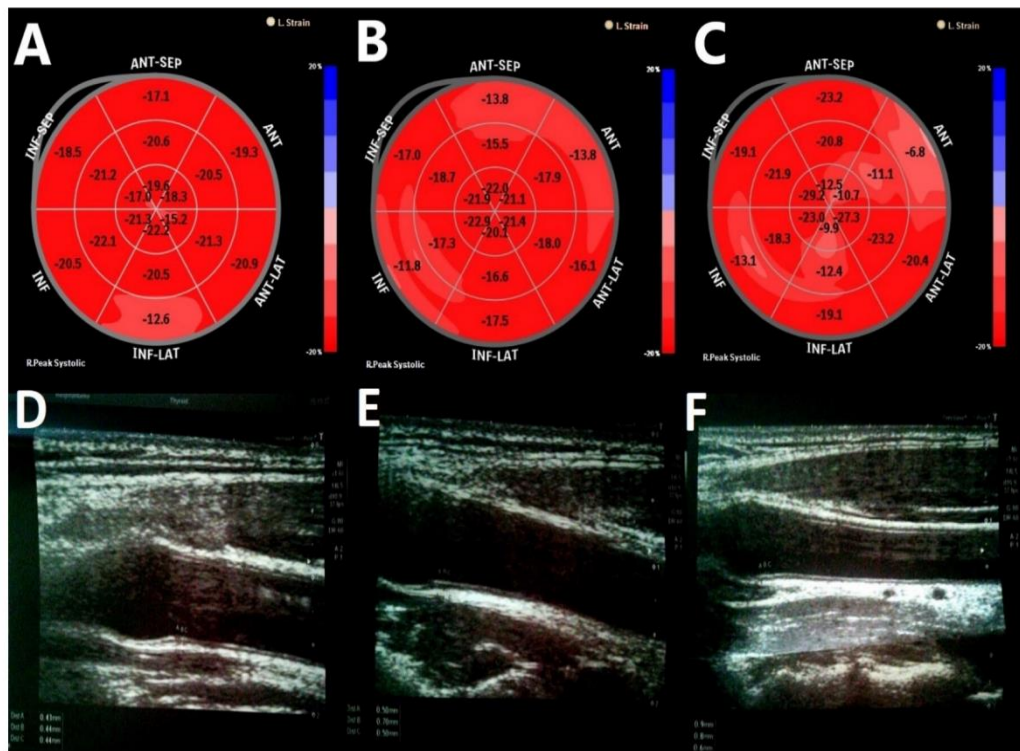


Figure 2. Left ventricular global longitudinal strain (GLS) in (A) a healthy subject, (B) women with exclusively type 1 diabetes mellitus (T1DM), (C) women with T1DM and Hashimoto's disease (HD); and ultrasound images of carotid intima-media thickness (cIMT) measurement in (D) a healthy subject, (E) women with exclusively T1DM, and (F) women with T1DM and HD.

3.2. Circulating Sirtuin 1, IL-27 and Visfatin Levels

Although there were no significant differences in the concentration of the markers tested between the sample groups, we highlight the differences that did exist. The levels of sirtuin 1 were non-significantly higher in patients with T1DM compared to controls (19.51 ± 65.70 ng/mL vs. 17.51 ± 38.39 ng/mL). Dividing T1DM patients into two groups according to the presence (T1DM + HD) or absence of HD (T1DM – HD), a higher sirtuin 1 concentration was found in the T1DM + HD group (32.68 ± 86.06 ng/mL vs.

2.76 ± 4.88 ng/mL. The sirtuin 1 concentration was lower in patients with T1DM alone compared with the control group. These results suggest a possible association of elevated sirtuin 1 concentration with patients that have T1DM and HD (Figure 3A).

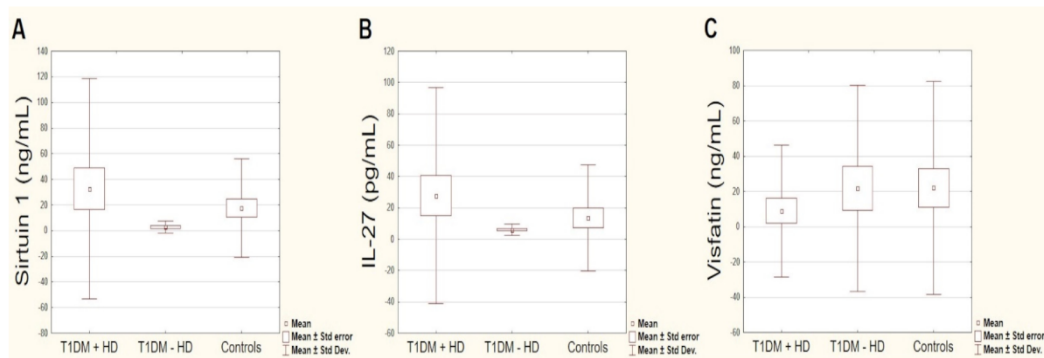


Figure 3. (A) Sirtuin 1 serum levels, (B) IL-27 serum levels, and (C) visfatin serum levels for each sample group in the study population.

The levels of IL-27 were also non-significantly higher in women with T1DM compared to controls (22.06 pg/mL vs. 14.5 pg/mL). Similar to sirtuin 1, the levels of IL-27 were highest in the group with T1DM and HD (27.82 pg/mL) (Figure 3B). We found a significant positive correlation between sirtuin 1 and IL-27 levels in patients with T1DM ($R = 0.329$, $p = 0.02$) and with T1DM and HD ($R = 0.445$, $p = 0.018$). There was no significant association between sirtuin 1 and IL-27 levels in controls. In turn, the levels of visfatin were non-significantly lower in women with T1DM compared to controls (14.50 ± 47.82 ng/mL vs. 22.06 ± 60.38 ng/mL). In the T1DM + HD group, the visfatin concentration was even lower than in women with T1DM only (8.87 ± 37.47 ng/mL vs. 21.66 ± 58.61 ng/mL) (Figure 3C). We found no correlation in the serum levels of visfatin and sirtuin 1 or visfatin and IL-27 in any of the groups.

3.3. Correlation Analysis between the Circulating Markers and Other Studied Variables Using Spearman's Correlation (r) (Supplementary Tables S1–S3)

We explored the correlation between sirtuin 1 (Table S1), IL-27 (Table S2), and visfatin (Table S3) levels with known CV risk factors (duration of diabetes, HbA1c, BMI, lipid parameters), thyroid parameters (TSH, fT4, fT3, anti-TPO, anti-TG, thyroid volume), and selected CV parameters (cIMT thickness, QTc interval, resting HR, echocardiographic parameters). All analyses were performed in four groups: group 1 + 2 included all women with T1DM ($n = 50$), group 1 comprised women with T1DM and HD ($n = 28$), group 2 comprised women with T1DM and no other conditions ($n = 22$), and group 3 contained healthy women as controls ($n = 30$).

Spearman's correlation tests revealed that there were no significant correlations between sirtuin 1, visfatin, and IL-27 serum levels with duration of diabetes, total daily dose of insulin, and HbA1c levels. The visfatin level was positively associated with BMI, but only in the control group ($R = 0.370$, $p = 0.044$), and was negatively correlated with total cholesterol in group 1 (T1DM + HD) ($R = -0.375$, $p = 0.049$). With regard to the lipid parameters, there was a negative correlation between triglyceride levels and IL-27 ($R = -0.437$, $p = 0.042$) and sirtuin 1 levels ($R = -0.489$, $p = 0.021$) in women with T1DM only (group 2). IL-27 levels were negatively associated with LDL levels in women with T1DM only ($R = -0.424$, $p = 0.05$). These findings suggest a possible role of sirtuin 1, visfatin, and IL-27 in the lipid balance of women with T1DM.

Considering thyroid parameters, women with T1DM and HD (group 1) exhibited a strong positive correlation between thyroid volume and both sirtuin 1 ($R = 0.511$, $p = 0.005$)

and IL-27 levels ($R = 0.482$, $p = 0.009$). Similar, although less pronounced associations were found in all women with T1DM, in which IL-27 was positively correlated with aTG ($r = 0.331$, $p = 0.019$). In turn, visfatin levels were positively associated with aTPO in all women with T1DM ($r = 0.321$, $p = 0.023$) and were negatively correlated with fT4 levels in group 2 (T1DM – HD) ($R = -0.591$, $p = 0.004$). These results suggest that higher visfatin concentrations in the group of women with T1DM but without HD may be associated with reduced thyroid endocrine function and perhaps a greater predisposition to the development of autoimmune thyroid disease.

The electrocardiographic parameters QTc interval and HR at rest were negatively correlated with sirtuin 1 in the T1DM – HD group ($R = -0.435$, $p = 0.043$ and $R = -0.506$, $p = 0.016$, respectively); in the control group, the QTc interval was significantly positively associated with sirtuin 1 ($R = 0.510$, $p = 0.004$). These differences may be due to the varied effects of sirtuin on the CV system depending on metabolic disturbances. Our results showed no significant correlation between either visfatin or IL-27 levels and QTc interval.

cIMT was positively correlated with visfatin levels in the control group ($R = 0.447$, $p = 0.013$). There was no correlation between cIMT and study markers in women with T1DM. Our results suggest a possible association of visfatin with subclinical carotid artery atherosclerotic lesions, but this relationship does not appear to be specific to T1DM.

Among the echocardiographic parameters studied, we found a significant negative correlation between RWT and PWD with sirtuin 1 ($R = -0.451$, $p = 0.016$; and $R = -0.522$, $p = 0.004$, respectively) in women with T1DM and HD (group 1). In patients with T1DM only (group 2), sirtuin 1 was correlated with wave E, E/A' med, and A' med ($R = -0.440$, $p = 0.040$; $R = 0.426$, $p = 0.048$; $R = -0.478$, $p = 0.024$, respectively). In the control group there was one significant correlation between sirtuin 1 and A' med ($R = 0.391$, $p = 0.033$). Thus, sirtuin 1 levels appear to be correlated with echocardiographic parameters related to diastolic function, specifically in women with T1DM or a double diagnosis.

IL-27 was correlated with RWT in patients with T1DM and HD ($R = -0.389$, $p = 0.041$), but this correlation was not observed in the other groups, which suggests an association of this cytokine with changes associated with myocardial hypertrophy in women with a double diagnosis. In contrast, visfatin levels were positively correlated with DT time ($R = 0.424$, $p = 0.019$) in the control group, suggesting an association between this adipokine and early myocardial dysfunction, irrespective of the presence of T1DM.

4. Discussion

In this study, we focused on young asymptomatic women with T1DM, who were divided into groups according to the co-occurrence of HD. As recent reports indicate, this diabetic group is at high risk of developing CV complications [2–4]. Although it is widely recognized that patients with autoimmune diseases are in a higher CV risk group, the molecular factors involved in this process are not well-known. A possible hypothesis is that this involves an interaction between epigenetic, metabolic, and immunological factors.

Our results show that women with T1DM and HD, despite laboratory euthyroidism, have more unfavorable CV parameters (i.e., significantly thicker cIMT and lower left ventricular GLS) compared to women with T1DM without HD. Such findings suggest the involvement of an autoimmune component connected with autoimmune thyroid disease in the development of CV complications. In order to gain a deeper understanding of the pathogenesis of CV disease in women, we also assessed sirtuin 1, IL-27, and visfatin levels in the study population and we checked their correlation with selected CV parameters. Despite finding no significant differences in marker concentrations between groups, we found that women with a double autoimmune diagnosis had higher sirtuin 1 and IL-27 levels and lower visfatin serum levels than women with T1DM only, or women in the control group. Moreover, the sirtuin 1 was positively correlated with IL-27 levels in women with T1DM and HD, which suggests an association with thyroid autoimmunity. Indeed, it has been shown that sirtuin 1 interacts with transcription factor IRF-1 (Interferon Regulatory Factor 1) at the molecular level, leading to the regulation of IL-27 expression,

which is important in Th17 differentiation [44]. In turn, Th17 lymphocytes have been shown to play an essential role in the induction of organ-specific autoimmune diseases including chronic lymphocytic thyroiditis [45]. Our data suggest a possible detrimental effect of IL-27, which is likely to contribute to the development of autoimmune thyroid disease in individuals with T1DM. In contrast, a recent study found reduced IL-27 serum levels in patients with Graves' disease, suggesting a possible anti-inflammatory role of these cytokines [46]. A possible explanation for these differences is the effect of IL-27 on the Th1 to Th2 ratio [47], which is dominant in HD, whereas it is non-dominant in Graves' disease [48]. IL-27 most likely enhances Th1 lymphocyte function and suppresses Th2, which would suggest an immune imbalance similar to that seen in T1DM or HD [49]. In line with this assumption, studies of single nucleotide polymorphisms have confirmed an association between IL-27 [50] and the SIRT1 gene with autoimmune thyroid diseases [51]. In this study, aTG was positively correlated with the IL-27 serum levels in women with T1DM, but not significantly with sirtuin 1 serum levels. However, both markers were significantly associated with thyroid volume, which may be connected to the autoimmune connective tissue proliferation. Therefore, an evaluation of the local concentration of sirtuin 1 and IL-27 in thyroid tissue should be considered as a future research direction.

Based on our findings, the marker most associated with echocardiographic parameters related to early cardiac dysfunction in women with T1DM is sirtuin 1. Interestingly, a significant negative correlation between sirtuin 1 with RWT and PWD was only found in women with T1DM and HD, which suggests an association between this marker with the left ventricular remodeling in this group of patients. Our results indicated that higher sirtuin 1 levels were correlated with reduced RWT, which on the one hand may be beneficial, but on the other can be associated with increased LVMI, which may suggest a higher risk of eccentric myocardial hypertrophy. As was suggested by previous studies, patients with T1DM are more likely than those with T2DM to have the dilated type of cardiomyopathy with systolic cardiac dysfunction, which is characterized by eccentric myocardial hypertrophy [52]. Notably, such cardiac remodeling is probably related to autoimmunity [53]. Moreover, the observed differences in the phenotype of HF depending on the type of diabetes have been explained by experimental studies in animal models, indicating different autophagy activity in cardiomyocytes, which was increased in subjects with T1DM and decreased in those with T2DM [54]. Indeed, the greater predisposition to developing HF with a dilated phenotype observed in longstanding T1DM is associated with cardiomyocyte loss and progressive fibrosis, which may have an autoimmune basis [55]. However, data on the assessment of sirtuin 1 and IL-27 in relation to CV parameters in autoimmune diseases are limited. The results of studies conducted in patients with T2DM were contradictory [56–58]. Nonetheless, a growing body of evidence suggests that increasing the sirtuin 1 expression using antidiabetic drugs, such as metformin [59] or SGLT2 inhibitors [60], may have a beneficial effect on the CV system. At the molecular level, it has been shown that this is associated with a strong antioxidant and anti-inflammatory effect by interacting with signaling pathways related to nuclear factor- κ B (NF- κ B), mitochondrial adapter p66Shc, and forkhead box O (FoxO) [24]. Sirtuin 1 probably reverses vascular endothelial dysfunction by inhibiting NF- κ B transcriptional activity, which mediates the production of inflammatory cytokines and prothrombotic markers [61]. Blood vessels can be protected from hyperglycemia-induced endothelial dysfunction by reducing the expression of p66Shc, which directly stimulates mitochondrial generation of reactive oxygen species [62]. Moreover, accumulating evidence supports the proposal that sirtuin 1 increases endothelial nitric oxide synthase and upregulates FoxO, activating its antioxidant properties and delaying cellular aging. Furthermore, sirtuin 1 is believed to inhibit the release of proinflammatory adipokines from dysfunctional perivascular adipose tissue that mediates vascular calcification [63]. Sirtuin 1 also exerts cardioprotective effects by reducing endoplasmic reticulum stress against myocardial infarction injury [64,65]. In conclusion, the protective properties of sirtuin 1 against oxidative stress reduce endothelial dysfunction, inflammation, remodeling of arterial walls, vascular aging, atherosclerosis,

and heart damage [24]. It has been suggested by experimental studies that the cardioprotective effect of sirtuin 1 depends on its concentration: A mild to moderate expression of sirtuin 1 exerted a beneficial effect, inhibiting aging of the heart, whereas a high level of sirtuin 1 increased oxidative stress and cardiac damage [66]. Furthermore, one recently published study has shown that sirtuin 1 activity in circulating peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) can be a biomarker of different HF phenotypes, with increased levels associated with a loss of myocardial systolic function [67]. Although in this study we measured serum sirtuin 1 levels in asymptomatic patients, our results gave similar observations. Indeed, higher serum sirtuin 1 levels were present in T1DM and HD patients who had lower left ventricular GLS, which is an early marker of cardiac systolic dysfunction. We found a significant positive correlation between IL-27 and RWT in women with T1DM and HD. This observation is in accordance with previous studies that showed an association between the IL-27 gene polymorphism involving SNP rs153109 with a predisposition to dilated cardiomyopathy [68] and the deterioration of left ventricular function in the course of acute coronary syndrome [69]. Our findings confirm the need for further research of the role of IL-27 in the pathogenesis of HF and have for the first time highlighted its association with sirtuin 1 levels.

We found a significant negative correlation between sirtuin 1 levels and the QTc interval in women with T1DM and a positive correlation for the same parameters in women in the control group. Hence, it appears that sirtuin 1 may exert both beneficial and negative effects on the development of CV complications depending on its concentration, local expression, and individual variability. Kedenko et al. demonstrated associations between genetic variations at the SIRT1 with carotid atherosclerosis, with about 3–4 times higher effect sizes for women than men [70]. However, we found no significant association between sirtuin 1 serum levels and cIMT in all groups of women. Similar results were obtained for IL-27, although its pathogenic role in the development of atherosclerotic disease has been indicated [71]. We did find an association between lipid parameters and IL-27 and sirtuin 1 levels in women with T1DM, which may lead to an increased risk of atherosclerosis. It was demonstrated in an experimental study that atherogenic dyslipidemia enhances autoimmune responses in a Toll-like receptor 4 and IL-27-dependent manner [23]. By contrast, in our study, women with T1DM had a favorable lipid profile, suggesting a low atherogenic index. Despite this, we found significantly higher cIMT and lower EF in the group of women with T1DM compared to the control group, and a significantly higher cIMT and lower left ventricular GLS in the group of women with T1DM and HD compared to women with T1DM exclusively. The hypothesis we propose to explain our results is that there is an association between autoimmunity and CV risk. Furthermore, increasing evidence suggests that inflammatory immune responses in patients with T1DM or HD are not restricted to the pancreas or thyroid gland, instead of causing systemic inflammation. [72,73]. It is important to note that our study was conducted with women only, while the immune response that increases inflammation through various signaling pathways is likely to depend on sex differences [74]. Sex steroids have been shown to be able to switch immune cells from anti-inflammatory to pro-inflammatory actions and to regulate mitochondrial production of reactive oxygen species. While in healthy women estrogens have the ability to reduce oxidative stress, in the presence of autoimmune disease this benefit diminishes, which could explain the increased CV risk in T1DM women [75]. However, the exact mechanism governing these relationships is not known, and there is a need for further research into the molecular basis of CV disease progression in autoimmune disorders.

Given the association of sirtuin 1 with visfatin at the cellular level and the recognition of this adipokine as a key mediator in the interaction between epigenetic and metabolic factors in CV complications, its serum levels were assessed in our study. Based on previous studies, visfatin has been identified as a potential biomarker of insulin resistance, obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and CV disease [76]. Moreover, recent reports have indicated its association with the development of inflammation in autoim-

mune inflammatory disorders [20,77–79]. However, results concerning visfatin in T1DM and/or HD are limited and conflicting. In previous studies, circulating visfatin levels in T1DM were higher [80,81] or lower [82–84] compared to healthy controls. Recent studies have suggested a relationship between increased visfatin levels and chronic autoimmune thyroiditis [78,85]. Our study showed non-significantly lower serum levels of visfatin in women with T1DM compared with women in the control group. The coexistence of two autoimmune diseases (T1DM and HD) was associated with even lower visfatin levels compared with women diagnosed exclusively with T1DM or healthy participants, but these differences were also non-significant. Our results correspond with those obtained in a recent study by Tompa et al., in which children with a combined diagnosis of two autoimmune diseases (T1DM and celiac disease) had lower visfatin levels compared with children diagnosed exclusively with T1DM [86]. A possible mechanism underlying the negative correlation of visfatin with autoimmune dual diagnosis may be due to the function of visfatin in initiating de novo NAD biosynthesis, a deficiency of which is associated with a decreased amount of Treg [87]. It is suspected that the altered function of natural Treg cells results from epigenetic modification and may be connected with susceptibility to common autoimmune diseases [88] including autoimmune thyroid diseases [89]. However, the significant negative correlation found in our study between visfatin and ft4 in women with T1DM only, and the positive correlation with aTPO in all women with T1DM, suggests an adverse effect of visfatin on the development of autoimmune thyroid disease, which needs to be verified through further study.

With regard to the CV parameters, no significant correlation with visfatin serum levels was found in women with T1DM or with a diagnosis of T1DM and HD. The significant association between visfatin serum levels and cIMT in controls suggest that this adipokine may be involved in the progression of atherosclerosis, but without the link to autoimmunity. Visfatin probably affects the endothelial function and secretion of pro-inflammatory cytokines through the NF- κ B pathway in the early stages of atherosclerotic plaque formation [79]. Notably, we also found a significant positive correlation between the deceleration time in controls, but not in T1DM women. This finding is consistent with previous studies, suggesting that an increased visfatin plasma level may be involved in the development of HF [90] or adverse CV events [91]. In fact, this adipokine, which is secreted by adipocytes and pro-inflammatory cells [92], probably exerts its effect on CV organs both through paracrine secretion in perivascular [93] and pericardial adipose tissue [94], as well as through its release into the circulation. Therefore, visfatin should be considered as a biomarker for the development of early atherosclerosis.

The main strength of our study is the inclusion of a homogeneous population of women, which allowed us to determine differences in CV parameters independent of poor metabolic control, hyperlipidemia, hypertension, or thyroid hormonal imbalance. In addition, this is the first study to determine serum sirtuin 1, IL-27, and visfatin levels in women with T1DM and HD in relation to CV parameters. Notably, parts of the study were conducted by independent, blinded, experienced investigators from different centers, which allowed a more objective summary of the results. However, this study also has some limitations: (1) a small sample of patients was included in each group, which may affect the results of the study; (2) a lack of local expression assessment of the markers in thyroid tissue or myocardium means we could not provide a complete insight of the interaction between the molecules; (3) we did not assess CV parameters and studied markers in women with HD only. Moreover, to establish the female specificity of the markers it would be necessary to compare their concentrations in male and symptomatic patients with T1DM and CV diseases. Data regarding diet and physical activity, which may alter the hormonal profile and outcomes associated with CVD and T1DM, could have improved the study. Nevertheless, the limitations of our pilot study indicate new directions for further research, providing a better understanding of the molecular mechanisms of CV complications specific to women with T1DM, which, in light of the high CV risk of this group of patients, is essential to discovering a new therapeutic approach.

5. Conclusions

In this study, young asymptomatic women with T1DM and HD, despite laboratory euthyroidism, had significantly higher cIMT thickness and lower left ventricular GLS compared to women with T1DM only or without T1DM (control group). Although we found no significant differences in serum concentrations of sirtuin 1, IL-27, or visfatin between groups, our results indicate that cardiac dysfunction in T1DM and HD females may be associated with higher levels of sirtuin 1 and IL-27, which were positively correlated with each other and with echocardiographic parameters. Based on these findings, we propose that an interaction between sirtuin 1 and IL-27 may be considered a biomarker of early cardiac dysfunction in women with T1DM and HD. However, further research with a larger sample size will be needed to assess the potential relevance of these serum levels and their effect on CV complications in T1DM patients.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biom11081110/s1>, Table S1: Correlation between sirtuin 1 serum levels and selected cardiovascular and thyroid parameters, Table S2: Correlation between IL-27 serum levels and selected cardiovascular and thyroid parameters, Table S3: Correlation between visfatin serum levels and selected cardiovascular and thyroid parameters.

Author Contributions: Conceptualization, M.L.-T., B.M.-R., E.F., L.C.; Methodology, M.L.-T., J.Z.; Resources, B.M.-R., E.F., L.C., D.M.-G.; Supervision, B.M.-R., E.F., L.C., I.J.-M., D.M.-G.; Data curation, M.L.-T.; Funding acquisition, M.L.-T., B.M.-R.; Investigation, M.L.-T., A.P., E.W.; Project Administration, M.L.-T.; Writing—original draft, M.L.-T., B.M.-R.; Visualization, M.L.-T.; Writing—review and editing, M.L.-T., B.M.-R., E.F., L.C., I.J.-M., D.M.-G., J.Z., A.P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Diabetes Poland Scientific Grant (27 August 2020).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics and Surveillance Committee for Research in Human and Animal Sciences at the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs; No. 22/2018 of 09.05.2018.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all the participants involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the first author. The data are not publicly available due to privacy restrictions.

Acknowledgments: We are grateful to the study participants and staff of the Department of Internal Diseases, Endocrinology and Diabetology and the Department of Dermatology of the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw for making the study possible.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Glovaci, D.; Fan, W.; Wong, N.D. Epidemiology of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease. *Curr. Cardiol. Rep.* **2019**, *21*, 21. [CrossRef]
2. Wang, Y.; O'Neil, A.; Jiao, Y.; Wang, L.; Huang, J.; Lan, Y.; Zhu, Y.; Yu, C. Sex differences in the association between diabetes and risk of cardiovascular disease, cancer, and all-cause and cause-specific mortality: A systematic review and meta-analysis of 5,162,654 participants. *BMC Med.* **2019**, *17*, 1–18. [CrossRef] [PubMed]
3. Ohkuma, T.; Komorita, Y.; Peters, S.A.E.; Woodward, M. Diabetes as a risk factor for heart failure in women and men: A systematic review and meta-analysis of 47 cohorts including 12 million individuals. *Diabetologia* **2019**, *62*, 1550–1560. [CrossRef] [PubMed]
4. Rawshani, A.; Sattar, N.; Franzén, S.; Rawshani, A.; Hattersley, A.T.; Svensson, A.-M.; Eliasson, B.; Gudbjörnsdóttir, S. Excess mortality and cardiovascular disease in young adults with type 1 diabetes in relation to age at onset: A nationwide, register-based cohort study. *Lancet* **2018**, *392*, 477–486. [CrossRef]
5. Cosentino, F.; Grant, P.J.; Aboyans, V.; Bailey, C.J.; Ceriello, A.; Delgado, V.; Federici, M.; Filippatos, G.; Grobbee, E.D.; Hansen, T.B.; et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur. Heart J.* **2019**, *41*, 255–323. [CrossRef]
6. Regitz-Zagrosek, V.; Kararigas, G. Mechanistic Pathways of Sex Differences in Cardiovascular Disease. *Physiol. Rev.* **2017**, *97*, 1–37. [CrossRef]

7. Zore, T.; Palafox, M.; Reue, K. Sex differences in obesity, lipid metabolism, and inflammation—A role for the sex chromosomes? *Mol. Metab.* **2018**, *15*, 35–44. [[CrossRef](#)]
8. Díaz, A.; Lopez-Grueso, R.; Gambini, J.; Monleón, D.; Mas-Bargues, C.; Abdelaziz, K.M.; Viña, J.; Borrás, C. Sex Differences in Age-Associated Type 2 Diabetes in Rats-Role of Estrogens and Oxidative Stress. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2019**, *2019*. [[CrossRef](#)]
9. Razavi, A.C.; Potts, K.S.; Kelly, T.N.; Bazzano, L.A. Sex, gut microbiome, and cardiovascular disease risk. *Biol. Sex Differ.* **2019**, *10*, 29. [[CrossRef](#)]
10. Madonna, R.; Balistreri, C.R.; Geng, Y.-J.; De Caterina, R. Diabetic microangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches. *Vasc. Pharmacol.* **2017**, *90*, 1–7. [[CrossRef](#)]
11. Sousa, G.; Pober, D.; Galderisi, A.; Lv, H.; Yu, L.; Pereira, A.C.; Doria, A.; Kosiborod, M.; Lipes, M.A. Glycemic Control, Cardiac Autoimmunity, and Long-Term Risk of Cardiovascular Disease in Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation* **2019**, *139*, 730–743. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Głównska-Olszewska, B.; Borysewicz-Sańczyk, H.; Sawicka, B.; Klonowska, B.; Charemska, D.; Żelazowska-Rutkowska, B.; Bossowski, A. Does Hashimoto's Thyroiditis Increase the Risk of Cardiovascular Disease in Young Type 1 Diabetic Patients? *Front. Endocrinol.* **2020**, *11*, 431. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Kane, A.E.; Sinclair, D.A. Sirtuins and NAD⁺ in the Development and Treatment of Metabolic and Cardiovascular Diseases. *Circ. Res.* **2018**, *123*, 868–885. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Yu, Q.; Dong, L.; Li, Y.; Liu, G. SIRT1 and HIF1 α signaling in metabolism and immune responses. *Cancer Lett.* **2018**, *418*, 20–26. [[CrossRef](#)]
15. Ye, X.; Li, M.; Hou, T.; Gao, T.; Zhu, W.-G.; Yang, Y. Sirtuins in glucose and lipid metabolism. *Oncotarget* **2016**, *8*, 1845–1859. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Hori, Y.S.; Kuno, A.; Hosoda, R.; Horio, Y. Regulation of FOXOs and p53 by SIRT1 Modulators under Oxidative Stress. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e73875. [[CrossRef](#)]
17. Kauppinen, A.; Suuronen, T.; Ojala, J.; Kaarniranta, K.; Salminen, A. Antagonistic crosstalk between NF- κ B and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. *Cell. Signal.* **2013**, *25*, 1939–1948. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Qiang, L.; Wang, H.; Farmer, S.R. Adiponectin Secretion Is Regulated by SIRT1 and the Endoplasmic Reticulum Oxidoreductase Ero1-L α . *Mol. Cell. Biol.* **2007**, *27*, 4698–4707. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Revollo, J.R.; Grimm, A.A.; Imai, S.-I. The NAD Biosynthesis Pathway Mediated by Nicotinamide Phosphoribosyltransferase Regulates Sir2 Activity in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 50754–50763. [[CrossRef](#)]
20. Brentano, F.; Schorr, O.; Ospelt, C.; Stanczyk, J.; Gay, R.E.; Gay, S.; Kyburz, D. Pre-B cell colony-enhancing factor/visfatin, a new marker of inflammation in rheumatoid arthritis with proinflammatory and matrix-degrading activities. *Arthritis Rheum.* **2007**, *56*, 2829–2839. [[CrossRef](#)]
21. Chen, X.; Lu, Y.; Zhang, Z.; Wang, J.; Yang, H.; Liu, G. Intercellular interplay between Sirt1 signalling and cell metabolism in immune cell biology. *Immunology* **2015**, *145*, 455–467. [[CrossRef](#)]
22. Kim, D.; Le, H.T.; Nguyen, Q.T.; Kim, S.; Lee, J.; Min, B. Cutting Edge: IL-27 Attenuates Autoimmune Neuroinflammation via Regulatory T Cell/Lag3-Dependent but IL-10-Independent Mechanisms In Vivo. *J. Immunol.* **2019**, *202*, 1680–1685. [[CrossRef](#)]
23. Ryu, H.; Lim, H.; Choi, G.; Park, Y.-J.; Cho, M.; Na, H.; Ahn, C.W.; Kim, Y.C.; Kim, W.-U.; Lee, S.-H.; et al. Atherogenic dyslipidemia promotes autoimmune follicular helper T cell responses via IL-27. *Nat. Immunol.* **2018**, *19*, 583–593. [[CrossRef](#)]
24. D'Onofrio, N.; Servillo, L.; Balestrieri, M.L. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. *Antioxid. Redox Signal.* **2018**, *28*, 711–732. [[CrossRef](#)]
25. Rasha, F.; Mims, B.M.; Castro-Piedras, I.; Barnes, B.J.; Grisham, M.B.; Rahman, R.L.; Pruitt, K. The Versatility of Sirtuin-1 in Endocrinology and Immunology. *Front. Cell Dev. Biol.* **2020**, *8*, 589016. [[CrossRef](#)]
26. Dłudla, P.V.; Silvestri, S.; Orlando, P.; Gabuza, K.B.; Mazibuko-Mbeje, S.E.; Nyambuya, T.M.; Mxinwa, V.; Mokgalaboni, K.; Johnson, R.; Muller, C.J.F.; et al. Exploring the Comparative Efficacy of Metformin and Resveratrol in the Management of Diabetes-Associated Complications: A Systematic Review of Preclinical Studies. *Nutrients* **2020**, *12*, 739. [[CrossRef](#)]
27. Wang, Q.; Liu, J. Regulation and Immune Function of IL-27. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2016**, *941*, 191–211. [[CrossRef](#)]
28. Cieccko, A.; Foda, B.; Barr, J.Y.; Ramanathan, S.; Atkinson, M.A.; Serreze, D.V.; Geurts, A.M.; Lieberman, S.M.; Chen, Y.-G. Interleukin-27 Is Essential for Type 1 Diabetes Development and Sjögren Syndrome-like Inflammation. *Cell Rep.* **2019**, *29*, 3073–3086.e5. [[CrossRef](#)]
29. Phan, W.-L.; Huang, Y.-T.; Ma, M.-C. Interleukin-27 Protects Cardiomyocyte-Like H9c2 Cells against Metabolic Syndrome: Role of STAT3 Signaling. *BioMed Res. Int.* **2015**, *2015*, 1–10. [[CrossRef](#)]
30. Shahi, A.; Afzali, S.; Salehi, S.; Aslani, S.; Mahmoudi, M.; Jamshidi, A.; Amirzargar, A. IL-27 and autoimmune rheumatologic diseases: The good, the bad, and the ugly. *Int. Immunopharmacol.* **2020**, *84*, 106538. [[CrossRef](#)]
31. Hui, X.; Zhang, M.; Gu, P.; Li, K.; Gao, Y.; Wu, D.; Wang, Y.; Xu, A. Adipocyte SIRT 1 controls systemic insulin sensitivity by modulating macrophages in adipose tissue. *EMBO Rep.* **2017**, *18*, 645–657. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Spiroglou, S.G.; Kostopoulos, C.G.; Varakis, J.N.; Papadaki, H.H. Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: Differential expression and relation to atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.* **2010**, *17*, 115–130. [[CrossRef](#)]
33. Dakroub, A.; Nasser, S.A.; Younis, N.; Bhagani, H.; Al-Dhaheri, Y.; Pintus, G.; Eid, A.A.; El-Yazbi, A.F.; Eid, A.H. Visfatin: A Possible Role in Cardiovasculo-Metabolic Disorders. *Cells* **2020**, *9*, 2444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

34. Nakahata, Y.; Sahar, S.; Astarita, G.; Kaluzova, M.; Sassone-Corsi, P. Circadian Control of the NAD⁺ Salvage Pathway by CLOCK-SIRT1. *Science* **2009**, *324*, 654–657. [[CrossRef](#)]
35. Lang, R.M.; Badano, L.P.; Mor-Avi, V.; Afilalo, J.; Armstrong, A.; Ernande, L.; Flachskampf, F.A.; Foster, E.; Goldstein, S.A.; Kuznetsova, T.; et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American society of echocardiography and the European association of cardiovascular imaging. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging* **2015**, *16*, 233–271. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Devereux, R.B.; Alonso, D.R.; Lutas, E.M.; Gottlieb, G.J.; Campo, E.; Sachs, I.; Reichek, N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: Comparison to necropsy findings. *Am. J. Cardiol.* **1986**, *57*, 450–458. [[CrossRef](#)]
37. Marwick, T.H.; Gillebert, T.; Aurigemma, G.; Chirinos, J.; Derumeaux, G.; Galderisi, M.; Gottdiener, J.; Haluska, B.; Ofili, E.; Segers, P.; et al. Recommendations on the Use of Echocardiography in Adult Hypertension: A Report from the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the American Society of Echocardiography (ASE)†. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* **2015**, *28*, 727–754. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Bazett, H.C. An analysis of the time-relations of electrocardiogram. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* **1997**, *2*, 177–194. [[CrossRef](#)]
39. Elwertowski, M.; Małek, G. Standardy badań ultrasonograficznych Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego—aktualizacja. *Badanie Zewnętrznych Odcinków Tętnic Szyjnych Oraz Kregowych*. *J. Ultrason.* **2014**, *14*, 179–191.
40. Trzebińska, A.; Dobruch-Sobczak, K.; Jakubowski, W.; Jędrzejowski, M. Standardy badań ultrasonograficznych Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego—aktualizacja. *Badanie ultrasonograficzne tarczycy oraz biopsja tarczycy pod kontrolą ultrasonografii*. *J. Ultrason.* **2014**, *14*, 49–60. [[CrossRef](#)]
41. Pop-Busui, R.; Braffett, B.H.; Zinman, B.; Martin, C.; White, N.H.; Herman, W.H.; Genuth, S.; Gubitosi-Klug, R. The DCCT/EDIC Research Group Cardiovascular Autonomic Neuropathy and Cardiovascular Outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study. *Diabetes Care* **2016**, *40*, 94–100. [[CrossRef](#)]
42. Lachin, J.M.; Orchard, T.; Nathan, D.M. For the DCCT/EDIC Research Group Update on Cardiovascular Outcomes at 30 Years of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study. *Diabetes Care* **2013**, *37*, 39–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Reddy, M.A.; Zhang, E.; Natarajan, R. Epigenetic mechanisms in diabetic complications and metabolic memory. *Diabetologia* **2015**, *58*, 443–455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Yang, H.; Lee, S.-M.; Gao, B.; Zhang, J.; Fang, D. Histone Deacetylase Sirtuin 1 Deacetylates IRF1 Protein and Programs Dendritic Cells to Control Th17 Protein Differentiation during Autoimmune Inflammation. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 37256–37266. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Shao, S.; Yu, X.; Shen, L. Autoimmune thyroid diseases and Th17/Treg lymphocytes. *Life Sci.* **2018**, *192*, 160–165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Saeed, M.-H.; Kurosh, K.; Zahra, A.; Hossein, D.M.; Davood, R.; Ataollahi, M.R. Decreased serum levels of IL-27 and IL-35 in patients with Graves disease. *Arch. Endocrinol. Metab.* **2020**, *64*, 521–527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Kang, B.Y.; Kim, T.S. Targeting Cytokines of the Interleukin-12 Family in Autoimmunity. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 1149–1156. [[CrossRef](#)]
48. Phenekos, C.; Vryonidou, A.; Gritzapis, A.D.; Baxevanis, C.N.; Goula, M.; Papamichail, M. Th1 and Th2 Serum Cytokine Profiles Characterize Patients with Hashimoto's Thyroiditis (Th1) and Graves' Disease (Th2). *Neuroimmunomodulation* **2004**, *11*, 209–213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Meka, R.R.; Venkatesha, S.H.; Dudics, S.; Acharya, B.; Moudgil, K.D. IL-27-induced modulation of autoimmunity and its therapeutic potential. *Autoimmun. Rev.* **2015**, *14*, 1131–1141. [[CrossRef](#)]
50. He, W.; Wang, B.; Mu, K.; Zhang, J.; Yang, Y.; Yao, W.; Li, S.; Zhang, J.-A. Association of single-nucleotide polymorphisms in the IL27 gene with autoimmune thyroid diseases. *Endocr. Connect.* **2019**, *8*, 173–181. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Sarumar, M.; Watanabe, M.; Inoue, N.; Hisamoto, Y.; Morita, E.; Arakawa, Y.; Hidaka, Y.; Iwatani, Y. Association between functional SIRT1 polymorphisms and the clinical characteristics of patients with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity* **2016**, *49*, 329–337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Seferović, P.M.; Paulus, W.J. Clinical diabetic cardiomyopathy: A two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *Eur. Heart J.* **2015**, *36*, 1718–1727. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Gottumukkala, R.V.; Lv, H.; Cornivelli, L.; Wagers, A.J.; Kwong, R.Y.; Bronson, R.; Stewart, G.C.; Schulze, P.C.; Chutkan, W.; Wolpert, H.A.; et al. Myocardial Infarction Triggers Chronic Cardiac Autoimmunity in Type 1 Diabetes. *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4*, 138ra80. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Kanamori, H.; Takemura, G.; Goto, K.; Tsujimoto, A.; Mikami, A.; Ogino, A.; Watanabe, T.; Morishita, K.; Okada, H.; Kawasaki, M.; et al. Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy* **2015**, *11*, 1146–1160. [[CrossRef](#)]
55. Hoffman, W.H.; Sharma, M.; Cihakova, D.; Talor, M.V.; Rose, N.R.; Mohanakumar, T.; Passmore, G.G. Cardiac antibody production to self-antigens in children and adolescents during and following the correction of severe diabetic ketoacidosis. *Autoimmunity* **2016**, *49*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Abaci, N.; Gok, O.; Karaali, Z.; Ergen, A.; Ekmekci, S.S. Serum sirtuin 1 protein as a potential biomarker for type 2 diabetes: Increased expression of sirtuin 1 and the correlation with microRNAs. *J. Res. Med. Sci.* **2019**, *24*, 56. [[CrossRef](#)]

57. Rahimi, M.; Ghanbari, S.; Khazaei, M.; Niroman, E. Comparison of sirtuin 1 level and related blood factors in diabetic and healthy subjects. *Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab.* **2020**, *26*, 17–21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Fathy, S.A.; Ibrahim, D.M.; Elkhayat, W.A.; Ahmed, H.S. Association between serum sirt 1 and advanced glycation end products levels in type 2 diabetic nephropathy patients. *Int. J. Biosci.* **2017**, *10*, 398–404.
59. Xu, W.; Deng, Y.-Y.; Yang, L.; Zhao, S.; Liu, J.; Zhao, Z.; Wang, L.; Maharjan, P.; Gao, S.; Tian, Y.; et al. Metformin ameliorates the proinflammatory state in patients with carotid artery atherosclerosis through sirtuin 1 induction. *Transl. Res.* **2015**, *166*, 451–458. [[CrossRef](#)]
60. Packer, M. Cardioprotective Effects of Sirtuin-1 and Its Downstream Effectors: Potential Role in Mediating the Heart Failure Benefits of SGLT2 (Sodium-Glucose Cotransporter 2) Inhibitors. *Circ. Heart Fail.* **2020**, *13*, 007197. [[CrossRef](#)]
61. Bagul, P.K.; Deepthi, N.; Sultana, R.; Banerjee, S.K. Resveratrol ameliorates cardiac oxidative stress in diabetes through deacetylation of NFkB-p65 and histone 3. *J. Nutr. Biochem.* **2015**, *26*, 1298–1307. [[CrossRef](#)]
62. Chen, H.-Z.; Wan, Y.-Z.; Liu, D.-P. Cross-talk between SIRT1 and p66Shc in vascular diseases. *Trends Cardiovasc. Med.* **2013**, *23*, 237–241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Lu, C.-L.; Liao, M.-T.; Hou, Y.-C.; Fang, Y.-W.; Zheng, C.-M.; Liu, W.-C.; Chao, C.-T.; Lu, K.-C.; Ng, Y.-Y. Sirtuin-1 and Its Relevance in Vascular Calcification. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1593. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Prola, A.; DA Silva, J.P.; Guilbert, A.; Lecru, L.; Piquereau, J.; Ribeiro, M.; Mateo, P.; Gressette, M.; Fortin, D.; Boursier, C.; et al. SIRT1 protects the heart from ER stress-induced cell death through eIF2 α deacetylation. *Cell Death Differ.* **2017**, *24*, 343–356. [[CrossRef](#)]
65. Hao, Y.; Lu, Q.; Yang, G.; Ma, A. Lin28a protects against postinfarction myocardial remodeling and dysfunction through Sirt1 activation and autophagy enhancement. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2016**, *479*, 833–840. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Alcendor, R.R.; Gao, S.; Zhai, P.; Zablocki, D.; Holle, E.; Yu, X.; Tian, B.; Wagner, T.; Vatner, S.F.; Sadoshima, J. Sirt1 Regulates Aging and Resistance to Oxidative Stress in the Heart. *Circ. Res.* **2007**, *100*, 1512–1521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Conti, V.; Corbi, G.; Polito, M.V.; Ciccarelli, M.; Manzo, V.; Torsello, M.; De Bellis, E.; D'Auria, F.; Vitulano, G.; Piscione, F.; et al. Sirt1 Activity in PBMCs as a Biomarker of Different Heart Failure Phenotypes. *Biomolecules* **2020**, *10*, 1590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Chen, Y.; Zhang, R.; Zeng, L.; Wei, H.; Chen, Y.; Zeng, J. IL-27 genetic variation and susceptibility of dilated cardiomyopathy in Chinese Han population. *Pers. Med.* **2017**, *14*, 401–408. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Grufman, H.; Yndigegn, T.; Gonçalves, I.; Nilsson, J.; Schiopu, A. Elevated IL-27 in patients with acute coronary syndrome is associated with adverse ventricular remodeling and increased risk of recurrent myocardial infarction and cardiovascular death. *Cytokine* **2019**, *122*, 154208. [[CrossRef](#)]
70. Kedenko, L.; Lamina, C.; Kedenko, I.; Kollerits, B.; Kiesslich, T.; Iglseder, B.; Kronenberg, F.; Paulweber, B. Genetic polymorphisms at SIRT1 and FOXO1 are associated with carotid atherosclerosis in the SAPHIR cohort. *BMC Med. Genet.* **2014**, *15*, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Gregersen, I.; Sandanger, Ø.; Askevold, E.T.; Sagen, E.L.; Yang, K.; Holm, S.; Pedersen, T.M.; Skjelland, M.; Krohg-Sørensen, K.; Hansen, T.V.; et al. Interleukin 27 is increased in carotid atherosclerosis and promotes NLRP3 inflammasome activation. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0188387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Bilge, M.; Yesilova, A.; Adas, M.; Helvaci, A. Neutrophil- and Platelet- to Lymphocyte Ratio in Patients with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **2018**, *127*, 545–549. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Zhang, M.-Y.; Dini, A.A.; Yang, X.-K.; Li, L.-J.; Wu, G.-C.; Leng, R.-X.; Pan, H.-F.; Ye, D.-Q. Association between serum/plasma adiponectin levels and immune-mediated diseases: A meta-analysis. *Arch. Dermatol. Res.* **2017**, *309*, 625–635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Di Florio, D.N.; Sin, J.; Coronado, M.J.; Atwal, P.S.; Fairweather, D. Sex differences in inflammation, redox biology, mitochondria and autoimmunity. *Redox Biol.* **2020**, *31*, 101482. [[CrossRef](#)]
75. Rattanasopa, C.; Phungphong, S.; Wattanapernpool, J.; Bupha-Intr, T. Significant role of estrogen in maintaining cardiac mitochondrial functions. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2015**, *147*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Chang, Y.H.; Chang, D.-M.; Lin, K.-C.; Shin, S.-J.; Lee, Y.-J. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: A meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2011**, *27*, 515–527. [[CrossRef](#)]
77. Neubauer, K.; Bednarz-Misa, I.; Walecka-Zacharska, E.; Wierzbicki, J.; Agrawal, A.; Gamian, A.; Krzystek-Korpaczka, M. Oversecretion and Overexpression of Nicotinamide Phosphoribosyltransferase/Pre-B Colony-Enhancing Factor/Visfatin in Inflammatory Bowel Disease Reflects the Disease Activity, Severity of Inflammatory Response and Hypoxia. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Farghaly, H.S.; Metwalley, K.A.; Ahmed, F.-A.; Raafat, D.M.; El-Asheer, O.M.; Ali, A.M.; Bahdawy, A.; Zahran, A.M. Visfatin level in children and adolescents with autoimmune thyroiditis. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* **2017**, *8*, 119–125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
79. Lee, W.-J.; Wu, C.-S.; Lin, H.; Lee, I.-T.; Tseng, J.-J.; Chou, M.-M.; Sheu, W.H.-H. Visfatin-induced expression of inflammatory mediators in human endothelial cells through the NF- κ B pathway. *Int. J. Obes.* **2009**, *33*, 465–472. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Haider, D.G.; Pleiner, J.; Francesconi, M.; Wiesinger, G.F.; Müllner, M.; Wolzt, M. Exercise Training Lowers Plasma Visfatin Concentrations in Patients with Type 1 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2006**, *91*, 4702–4704. [[CrossRef](#)]
81. López-Bermejo, A.; Recasens, M.; Casamitjana, R.; Ricart, W.; Chico-Julià, B.; Fernandez-Balsells, M.; Esteve, E.; Fernández-Real, J.M. Serum Visfatin Increases with Progressive -Cell Deterioration. *Diabetes* **2006**, *55*, 2871–2875. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

82. Toruner, F.; Altinova, A.; Bukan, N.; Arslan, E.; Akbay, E.; Ersoy, R.; Arslan, M. Plasma Visfatin Concentrations in Subjects with Type 1 Diabetes Mellitus. *Horm. Res.* **2009**, *72*, 33–37. [[CrossRef](#)]
83. El Samahi, M.H.; Ismail, N.; Matter, R.; Selim, A.; Ibrahim, A.; Nabih, W. Study of Visfatin Level in Type 1 Diabetic Children and Adolescents. *Open Access Maced. J. Med. Sci.* **2017**, *5*, 299–304. [[CrossRef](#)]
84. Alexiadou, K.; Kokkinos, A.; Liatis, S.; Perrea, D.; Katsilambros, N.; Tentolouris, N. Differences in plasma apelin and visfatin levels between patients with type 1 diabetes mellitus and healthy subjects and response after acute hyperglycemia and insulin administration. *Hormones* **2012**, *11*, 444–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Sawicka-Gutaj, N.; Zybek-Kocik, A.; Klimowicz, A.; Kloska, M.; Mańkowska-Wierzbicka, D.; Sowiński, J.; Ruchala, M. Circulating Visfatin in Hypothyroidism Is Associated with Free Thyroid Hormones and Antithyroperoxidase Antibodies. *Int. J. Endocrinol.* **2016**, *2016*, 1–6. [[CrossRef](#)]
86. Tompa, A.; Åkesson, K.; Karlsson, S.; Faresjö, M. Suppressed immune profile in children with combined type 1 diabetes and celiac disease. *Clin. Exp. Immunol.* **2020**, *201*, 244–257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Hubert, S.; Rissiek, B.; Klages, K.; Huehn, J.; Sparwasser, T.; Haag, F.; Koch-Nolte, F.; Boyer, O.; Seman, M.; Adriouch, S. Extracellular NAD⁺ shapes the Foxp3⁺ regulatory T cell compartment through the ART2–P2X7 pathway. *J. Exp. Med.* **2010**, *207*, 2561–2568. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Ohkura, N.; Yasumizu, Y.; Kitagawa, Y.; Tanaka, A.; Nakamura, Y.; Motooka, D.; Nakamura, S.; Okada, Y.; Sakaguchi, S. Regulatory T Cell-Specific Epigenomic Region Variants Are a Key Determinant of Susceptibility to Common Autoimmune Diseases. *Immunity* **2020**, *52*, 1119–1132.e4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
89. Chen, Z.; Wang, Y.; Ding, X.; Zhang, M.; He, M.; Zhao, Y.; Hu, S.; Zhao, F.; Wang, J.; Xie, B.; et al. The proportion of peripheral blood Tregs among the CD4⁺ T cells of autoimmune thyroid disease patients: A meta-analysis. *Endocr. J.* **2020**, *67*, 317–326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Wang, X.-H.; Dou, L.-Z.; Gu, C.; Wang, X.-Q. Plasma levels of omentin-1 and visfatin in senile patients with coronary heart disease and heart failure. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2014**, *7*, 55–62. [[CrossRef](#)]
91. Zheng, M.; Lu, N.; Ren, M.; Chen, H. Visfatin associated with major adverse cardiovascular events in patients with acute myocardial infarction. *BMC Cardiovasc. Disord.* **2020**, *20*, 271. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Curat, C.A.; Wegner, V.; Sengenès, C.; Miranville, A.; Tonus, C.; Busse, R.; Bouloumié, A. Macrophages in human visceral adipose tissue: Increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* **2006**, *49*, 744–747. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Wang, P.; Xu, T.-Y.; Guan, Y.-F.; Su, D.-F.; Fan, G.-R.; Miao, C.-Y. Perivascular adipose tissue-derived visfatin is a vascular smooth muscle cell growth factor: Role of nicotinamide mononucleotide. *Cardiovasc. Res.* **2008**, *81*, 370–380. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Malavazos, A.E.; Ermetici, F.; Cereda, E.; Coman, C.; Locati, M.; Morricone, L.; Corsi, M.M.; Ambrosi, B. Epicardial fat thickness: Relationship with plasma visfatin and plasminogen activator inhibitor-1 levels in visceral obesity. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2008**, *18*, 523–530. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Supplementary Data

Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Female in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease

Magdalena Łukawska-Tatarczuk^{1,2}, Edward Franek^{1,5}, Leszek Czupryniak², Ilona Joniec-Maciejak³, Agnieszka Pawlak^{4,5}, Ewa Wojnar³, Jakub Zieliński⁶, Dagmara Mirowska-Guzel³, Beata Mrozikiewicz-Rakowska^{2*}

¹ *Clinical Department of Internal Diseases. Endocrinology and Diabetology. Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration. Wołoska 137. 02-507 Warsaw. Poland; edward.franek@cskmswia.pl (E.D.); magdalukawska89@gmail.com (M. Ł-T.)*

² *Department of Diabetology and Internal Diseases. Medical University of Warsaw. Banacha 1a. 02-097 Warsaw. Poland; bigosik@poczta.onet.pl (L.C.)*

³ *Department of Experimental and Clinical Pharmacology. Centre for Preclinical Research and Technology (CePT). Medical University of Warsaw. Banacha 1b. 02-097 Warsaw. Poland; Ilona.joniec@wum.edu.pl (I.J-M.); ewojnar@wum.edu.pl (E.W.); dagmara.miroska-guzel@wum.edu.pl (D.M-G.)*

⁴ *Department of Invasive Cardiology. Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration. Wołoska 137. 02-507 Warsaw. Poland; a.pawlak1@wp.pl (A.P.)*

⁵ *Mossakowski Medical Research Centre. Polish Academy of Sciences. Adolfa Pawińskiego 5. 02-106 Warsaw. Poland;*

⁶ *Interdisciplinary Centre for Mathematical and Computational Modeling. University of Warsaw. Adolfa Pawińskiego 5A. 02-106 Warsaw. Poland; j.zielinski@icm.edu.pl (J.Z.)*

**Correspondence. rakowskab123@gmail.com (B.M-R.). tel. +48-22 599 25 83*

Table S1. Correlation between sirtuin 1 serum levels and selected cardiovascular (CV) and thyroid parameters.

	T1DM (n=50)		T1DM +HD (n=28)		T1DM -HD (n=22)		controls (n=30)	
Classical risk factor of CV								
	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
BMI (kg/m ²)	-0.168	0.250	-0.106	0.590	-0.265	0.233	0.015	0.936
Diabetes duration (years)	-0.023	0.876	-0.112	0.570	-0.165	0.462	-	-
Daily insulin dose (units)	-0.209	0.146	-0.255	0.190	-0.094	0.698	-	-
HbA1c %	-0.266	0.065	-0.266	0.171	-0.341	0.121	0.317	0.089
Total cholesterol (mg/dL)	0.047	0.749	0.165	0.400	-0.154	0.495	0.184	0.330
LDL-C (mg/dL)	-0.021	0.886	0.024	0.903	-0.201	0.369	0.184	0.331
HDL-C (mg/dL)	0.257	0.075	0.305	0.115	0.177	0.431	0.047	0.804
Triglyceride (mg/dL)	-0.303	0.034	-0.187	0.340	-0.489	0.021	0.254	0.176
Thyroid parameters								
TSH uIU/L	-0.133	0.357	-0.118	0.550	-0.162	0.470	0.195	0.303
ft4	0.041	0.779	0.060	0.763	-0.137	0.545	0.256	0.172
ft3	0.092	0.526	-0.020	0.920	0.234	0.294	0.002	0.993
aTPO IU/ml	0.058	0.689	-0.111	0.575	0.075	0.740	0.051	0.788
aTG IU/ml	0.23	0.108	0.235	0.229	0.032	0.891	-0.198	0.295
Thyroid volume (ml)	0.285	0.045	0.511	0.005	-0.051	0.822	-0.100	0.597
Selected CV parameters								
ECG-HR	-0.076	0.599	0.199	0.311	-0.506	0.016	0.332	0.073
ECG-Qtc	0.059	0.685	0.334	0.082	-0.435	0.043	0.510	0.004
cIMT (mm)	0.071	0.623	-0.138	0.483	0.193	0.389	-0.052	0.783
LAVI ml/m ²	-0.025	0.862	0.046	0.816	0.062	0.785	0.114	0.549
LVMI g/m ²	-0.084	0.560	-0.164	0.403	0.168	0.455	-0.057	0.765
PWD	-0.287	0.044	-0.522	0.004	-0.049	0.827	-0.111	0.560
RWT	-0.260	0.069	-0.451	0.016	-0.032	0.886	-0.039	0.838
E	-0.220	0.125	-0.108	0.583	-0.440	0.040	-0.225	0.233
E/A	0.060	0.677	0.035	0.861	0.183	0.416	-0.231	0.220
A'spt	-0.185	0.197	0.029	0.885	-0.478	0.024	0.391	0.033
E'spt	-0.021	0.883	0.101	0.608	-0.202	0.369	-0.152	0.424
E/E'spt	-0.213	0.137	-0.205	0.296	-0.115	0.612	-0.214	0.256
E'/A'spt	0.189	0.189	0.119	0.545	0.426	0.048	-0.335	0.070
DT (ms)	0.020	0.893	0.255	0.191	-0.354	0.106	-0.112	0.556
IVRT (ms)	-0.068	0.641	-0.280	0.149	0.182	0.418	-0.122	0.521
New biomarkers								
Sirtuin 1 & Visfatin	-0.095	0.512	-0.081	0.683	0.019	0.932	0.16	0.397
Sirtuin1 & IL-27	0.329	0.020	0.445	0.018	0.151	0.502	0.305	0.101
Visfatin & IL-27	0.24	0.093	0.303	0.118	0.141	0.531	0.142	0.453

Abbreviations: BMI- body mass index; HbA1c- glycated hemoglobin; LDL-C - low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C- high-density lipoprotein-cholesterol; TSH- thyroid-stimulating hormone; ft4- free thyroxine; ft3- triiodothyronine; aTPO-anti-thyroid peroxidase antibody; aTG- anti-thyroglobulin antibody; ECG- electrocardiogram; cIMT- carotid intima-media thickness; LAVI- left atrial volume index; LVMI- left ventricular mass index; PWD- posterior wall thickness dimension; RWT- relative wall thickness; DT- deceleration time; IVRT- isovolumetric relaxation time.

Table S2. Correlation between IL-27 serum levels and selected cardiovascular (CV) and thyroid parameters.

Variable	T1DM (n=50)		T1DM +HD (n=28)		T1DM -HD (n=22)		controls (n=30)	
Classical risk factor of CV								
	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
BMI (kg/m ²)	-0.055	0.705	0.034	0.862	-0.228	0.307	-0.222	0.237
Diabetes duration (years)	0.088	0.541	0.051	0.798	-0.116	0.608	-	-
Daily insulin dose (units)	0.037	0.801	0.257	0.186	-0.205	0.360	-	-
HbA1c %	-0.048	0.739	0.049	0.805	-0.266	0.232	-0.217	0.250
Total cholesterol (mg/dL)	-0.217	0.13	-0.126	0.522	-0.334	0.129	-0.050	0.794
LDL-C (mg/dL)	-0.221	0.124	-0.122	0.537	-0.424	0.050	0.012	0.951
HDL-C (mg/dL)	0.049	0.737	-0.038	0.848	0.234	0.295	0.057	0.765
Triglyceride (mg/dL)	-0.202	0.160	-0.036	0.855	-0.437	0.042	-0.260	0.165
Thyroid parameters								
TSH uIU/L	0.150	0.298	0.096	0.626	0.232	0.299	-0.124	0.515
ft4	-0.053	0.715	-0.123	0.534	0.039	0.863	0.303	0.104
ft3	0.014	0.925	0.114	0.564	-0.119	0.599	0.002	0.993
aTPO IU/ml	0.104	0.471	0.007	0.971	-0.260	0.243	0.051	0.788
aTG IU/ml	0.331	0.019	0.243	0.213	0.408	0.066	-0.194	0.303
Thyroid volume (ml)	0.279	0.050	0.482	0.009	0.084	0.709	0.021	0.913
Selected CV parameters								
ECG-HR	0.015	0.919	0.078	0.692	0.125	0.579	0.279	0.135
ECG-Qtc	-0.139	0.336	0.083	0.673	-0.411	0.057	0.248	0.186
cIMT (mm)	-0.046	0.752	-0.138	0.483	0.193	0.389	0.089	0.641
LAVI ml/m ²	0.072	0.620	0.206	0.294	0.114	0.612	0.096	0.614
LVMi g/m ²	-0.031	0.832	-0.091	0.645	0.138	0.539	-0.182	0.336
PWD	-0.148	0.306	-0.371	0.052	0.043	0.848	-0.193	0.306
RWT	-0.194	0.178	-0.389	0.041	-0.148	0.510	0.054	0.779
E/A	0.126	0.383	0.148	0.451	0.317	0.151	0.217	0.249
E/E'spt	0.022	0.881	0.053	0.789	-0.036	0.875	-0.270	0.150
E'/A'spt	0.184	0.202	0.145	0.462	0.334	0.129	0.151	0.425
DT (ms)	0.140	0.333	0.350	0.068	-0.071	0.754	0.079	0.677
IVRT (ms)	-0.224	0.119	-0.256	0.189	-0.309	0.162	0.181	0.339

Abbreviations: BMI- body mass index; HbA1c- glycated hemoglobin; LDL-C - low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C- high-density lipoprotein-cholesterol; TSH- thyroid-stimulating hormone; ft4- free thyroxine; ft3- triiodothyronine; aTPO-anti-thyroid peroxidase antibody; aTG- anti-thyroglobulin antibody; ECG- electrocardiogram; cIMT- carotid intima-media thickness; LAVI- left atrial volume index; LVMi- left ventricular mass index; PWD- posterior wall thickness dimension; RWT- relative wall thickness; DT- deceleration time; IVRT- isovolumetric relaxation time.

Table S3. Correlation between visfatin serum levels and selected cardiovascular (CV) and thyroid parameters.

Variable	T1DM (n=50)		T1DM +HD (n=28)		T1DM -HD (n=22)		controls (n=30)	
Classical risk factor of CV								
	Rho	p	Rho	p	Rho	p	Rho	p
BMI (kg/m2)	-0.071	0.625	-0.060	0.763	-0.139	0.538	0.370	0.044
Diabetes duration (years)	-0.007	0.961	-0.086	0.665	-0.011	0.960	-	-
Daily insulin dose (units)	0.001	0.996	0.068	0.732	-0.008	0.973	-	-
HbA1c %	0.029	0.839	-0.088	0.658	-0.143	0.524	-0.243	0.196
Total cholesterol (mg/dL)	-0.297	0.036	-0.375	0.049	-0.336	0.126	0.144	0.449
LDL-C (mg/dL)	0.171	0.234	-0.157	0.425	-0.239	0.284	0.352	0.057
HDL-C (mg/dL)	-0.221	0.123	-0.268	0.167	-0.205	0.360	-0.298	0.110
Triglyceride (mg/dL)	0.099	0.492	-0.057	0.774	0.264	0.234	0.041	0.830
Thyroid parameters								
TSH uIU/L	-0.018	0.899	-0.182	0.354	0.157	0.484	0.064	0.737
ft4	-0.240	0.093	-0.203	0.300	-0.591	0.004	0.238	0.205
ft3	-0.061	0.676	0.114	0.564	-0.187	0.405	-0.013	0.944
aTPO IU/ml	0.321	0.023	0.093	0.636	0.299	0.177	0.093	0.627
aTG IU/ml	0.137	0.344	0.119	0.546	-0.193	0.402	0.141	0.456
Thyroid volume (ml)	0.149	0.303	0.319	0.098	0.084	0.709	-0.019	0.919
Selected CV parameters								
ECG-HR	0.163	0.257	0.124	0.528	0.254	0.255	-0.266	0.156
ECG-Qtc	-0.065	0.653	0.001	0.996	-0.164	0.466	-0.076	0.689
cIMT (mm)	-0.068	0.639	-0.246	0.207	-0.050	0.825	0.447	0.013
LAVI ml/m2	0.165	0.251	0.275	0.156	0.136	0.548	-0.027	0.889
PWD	0.100	0.490	0.095	0.629	-0.049	0.827	0.073	0.703
LVMI g/m2	0.010	0.947	0.235	0.229	-0.161	0.473	-0.090	0.635
RWT	0.125	0.388	0.073	0.713	-0.027	0.906	0.165	0.384
E/A	0.013	0.931	0.020	0.919	0.057	0.802	0.144	0.448
E/E'spt	-0.071	0.626	-0.095	0.631	-0.141	0.531	0.127	0.505
E'/A'spt	0.163	0.259	0.270	0.165	0.242	0.277	0.059	0.755
DT (ms)	0.066	0.649	0.107	0.588	0.066	0.770	0.424	0.019
IVRT (ms)	0.027	0.853	-0.001	0.995	-0.029	0.898	0.340	0.066

Abbreviations: BMI- body mass index; HbA1c- glycated hemoglobin; LDL-C - low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C- high-density lipoprotein-cholesterol; TSH- thyroid-stimulating hormone; ft4- free thyroxine; ft3- triiodothyronine; aTPO-anti-thyroid peroxidase antibody; aTG- anti-thyroglobulin antibody; ECG- electrocardiogram; cIMT- carotid intima-media thickness; LAVI- left atrial volume index; LVMI- left ventricular mass index; PWD- posterior wall thickness dimension; RWT- relative wall thickness; DT- deceleration time; IVRT- isovolumetric relaxation time.

7. Zakończenie

7.1. Podsumowanie

Na podstawie przeglądu dotychczasowego piśmiennictwa, szczegółowo opisanego w **pracach poglądowych nr 1 i 2** niniejszej dysertacji, można stwierdzić, że podłoże niewydolności serca w cukrzycy jest bardzo złożone oraz różni się w zależności od jej typu. Mimo wielu badań eksperymentalnych oraz obserwacji klinicznych nadal nie jest ono wystarczająco dobrze poznane, szczególnie w T1DM. Podejrzewa się, że autoimmunizacja, która leży u podłoża T1DM odgrywa w tej grupie chorych równie ważną rolę w rozwoju miażdżycy i niewydolności serca negatywnie rzutując na ich przebieg.

Prezentowana rozprawa doktorska składa się z cyklu publikacji o spójnej tematyce, bowiem począwszy od poglądowego przedstawienia jako wstęp, znanych mechanizmów molekularnych biorących udział w rozwoju niewydolności serca w cukrzycy i uporządkowania doniesień badawczych sugerujących udział autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych prezentuje - jako część zasadniczą – ujęte w pracach oryginalnych zagadnienie związku pomiędzy autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT oraz nowymi markerami aktywności immunologicznej, takimi jak sirtuina 1, IL-27 i wisfatyna a obecnością subklinicznej miażdżycy lub dysfunkcji serca u młodych kobiet z T1DM.

W **pracy nr 3** przedstawiono dokładną analizę zależności pomiędzy autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT a grubością cIMT u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM. Obecność przeciwciał aTPO w badanej grupie pomimo eutyreozy wiązała się z grubszym kompleksem cIMT w porównaniu do kobiet z T1DM bez HT lub zdrową grupą kontrolną. Spośród parametrów związanych z autoimmunizacją tarczycy istotne statystycznie korelacje z cIMT wykazano dla: miana przeciwciał aTPO, czasu trwania HT, tygodniowej dawki lewotyroksyny, obecności cech sugerujących HT w badaniu ultrasonograficznym tarczycy, niższym fT3, mniejszym stosunkiem fT3/fT4 oraz dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku HT. Co ważne, korelację o największej sile i istotności stwierdzono dla czasu trwania HT. Analiza statystyczna wykazała jednak, że parametry związane z autoimmunizacją tarczycy nie są niezależnymi czynnikami ryzyka zwiększenia cIMT u kobiet z T1DM. W istocie prawdopodobnie są one jedynie wskaźnikiem ogólnych zaburzeń równowagi immunologicznej, które pośrednio indukują szlaki biorące udział w tworzeniu blaszek miażdżycowych. Dokładne mechanizmy

immunologiczne łączące autoimmunizację tarczycy oraz rozwój miażdżycy nie są jednak nadal poznane i wymagają dalszych badań.

W **pracy nr 4** zaprezentowano analizę zależności pomiędzy autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT a wybranymi parametrami echokardiograficznymi u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM. Mimo że uzyskane wyniki nie pozwoliły na stwierdzenie bezpośredniego związku pomiędzy dysfunkcją serca u młodych kobiet z T1DM a obecnością przeciwciał aTPO, to wykazano istotne korelacje parametrów autoimmunizacji tarczycy, przykładowo takich jak czas trwania HT, obraz ultrasonograficzny tarczycy sugerujący HT lub nasilenie HT wyrażone przyjmowaną dawką lewotyroksyny z kilkoma echokardiograficznymi parametrami funkcji rozkurczowej (IVRT, Emed') i skurczowej prawej (TAPSE) i lewej (GLS) komory mięśnia sercowego. Analiza statystyczna wykazała ponadto, że czas trwania HT, substytucja wyższymi dawkami lewotyroksyny oraz zmniejszona echogeniczność tarczycy w badaniu ultrasonograficznym miały istotny wpływ na obniżenie globalnej funkcji skurczowej mięśnia sercowego. Oznacza to, że od samej obecności przeciwciał aTPO, większe znaczenie ma prawdopodobnie czas ekspozycji na nie oraz stopień zaawansowania HT. Uzyskane wyniki dodatkowo wskazały na możliwą przydatność diagnostyczną oceny regionalnego odkształcenia podłużnego (LS, ang. longitudinal strain) lewej komory mięśnia sercowego za pomocą techniki 2D STE w ocenie subklinicznej postaci dysfunkcji serca u kobiet z T1DM. Wykazano, że regionalne LS lewej komory w grupie kobiet z T1DM i HT jest istotnie niższe w projekcji dwujamowej (szczególnie w segmentach przednich) w porównaniu do kobiet z T1DM bez HT i w projekcji czterojamowej (szczególnie w segmentach przednio-bocznych) w porównaniu do grupy kontrolnej. Takie wyniki oznaczają, że segmenty przednie i przednio-boczne są prawdopodobnie jako pierwsze dotknięte we wczesnych stadiach dysfunkcji serca u kobiet z T1DM, co może wynikać z czynnika autoimmunologicznego, którego markerem jest obecność przeciwciał aTPO w badanej grupie. Jakkolwiek dane te wymagają potwierdzenia w badaniach na większej grupie pacjentów, to przedstawiają one nową perspektywę praktycznego zastosowania we wczesnej diagnostyce kardiologicznej, która mogłaby mieć duże znaczenie w profilaktyce pierwotnej rozwoju niewydolności serca u kobiet z T1DM.

W **pracy nr 5** przedstawiono wyniki badania pilotażowego, które miało na celu ocenę stężenia sirtuiny 1, wisfatyny i interleukiny 27 (IL-27) w surowicy krwi młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM w odniesieniu do wybranych parametrów układu

sercowo-naczyniowego i współwystępowania HT. Badanie przeprowadzono w oparciu o hipotezę, że utrata kardioprotekcji obserwowana u kobiet z cukrzycą w okresie przedmenopauzalnym, może wynikać z interakcji pomiędzy czynnikami epigenetycznymi, metabolicznymi i immunologicznymi. Pomimo braku istotnych różnic w stężeniach sirtuiny 1, IL-27 i wisfatyny w surowicy krwi pomiędzy grupami, uzyskane wyniki sugerują, że przebudowa serca i tarczycy u kobiet z T1DM i HT może być związana z interakcją pomiędzy sirtuiną 1 a IL-27, gdyż te były dodatnio skorelowane ze sobą w tej grupie chorych oraz z objętością tarczycy i względną grubością ścian lewej komory (RWT, ang. the relative wall thickness). Ta korelacja nie wystąpiła w grupie kontrolnej, jak również nie obserwowano jej dla wisfatyny. Wyniki badań nie dostarczyły dowodów na obecność związku pomiędzy stężeniami w surowicy krwi sirtuiny 1, IL-27 lub wisfatyny a obecnością subklinicznej miażdżycy u kobiet z T1DM i HT lub T1DM bez HT. Stwierdzono jednak dodatnią korelację pomiędzy stężeniem wisfatyny, a grubością cIMT w grupie kontrolnej, co sugeruje jej związek z powstawaniem blaszki miażdżycowej jednak niezależnie od czynnika zależnego od T1DM lub HT. Podobnie nie wykazano związku pomiędzy wisfatyną a parametrami echokardiograficznymi w grupach kobiet z T1DM i HT oraz T1DM bez HT, natomiast zaobserwowano związek z jednym parametrem funkcji rozkurczowej mięśnia sercowego (z czasem deceleracji, DT, ang. deceleration time) w grupie kontrolnej. Wydaje się więc, że spośród badanych markerów jedynie sirtuina 1 i IL-27 może mieć związek z rozwojem dysfunkcji serca u kobiet z T1DM, co wymaga dalszych badań. Biorąc pod uwagę, szczególnie wysokie ryzyko sercowo-naczyniowe obserwowane w tej grupie chorych są one niezbędne do odnalezienia nowych metod terapeutycznych, celowanych w układ immunologiczny i umożliwiających personalizację terapii – z uwzględnieniem różnic zależnych od płci, które mogłyby uchronić tę grupę chorych przed przedwczesną śmiercią.

7.2. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można postawić następujące wnioski:

1. Współwystępowanie HT u młodych kobiet z T1DM w porównaniu do kobiet z wyłącznie T1DM, pomimo eutyreozy może wiązać się ze zmianami czynnościowymi (niższe wartości regionalnego odkształcenia podłużnego lewej komory) i morfologicznymi (grubsza cIMT) w układzie sercowo-naczyniowym.

2. Nieinwazyjna ocena zarówno cIMT, jak i odkształcenia podłużnego lewej komory za pomocą techniki śledzenia markerów akustycznych obrazów dwuwymiarowych (2D STE, ang. two-dimensional speckle tracking echocardiography) dostarcza cennych informacji o obecności wczesnych zmian w układzie sercowo-naczyniowym u młodych, bezobjawowych kobiet z T1DM, co mogłoby znaleźć praktyczne zastosowanie w prewencji pierwotnej, prognozowaniu oraz modyfikacji przebiegu choroby w tej grupie chorych.
3. Ocena cIMT jako zastępczego punktu końcowego dla chorób sercowo-naczyniowych sugeruje, że młode kobiety z T1DM i HT - pomimo eutyreozy - są bardziej narażone na wystąpienie choroby niedokrwiennej serca lub udaru mózgu niż kobiety z T1DM bez HT w porównaniu do grupy kontrolnej. Taka wiedza może mieć znaczenie we wczesnej identyfikacji osób o wysokim ryzyku sercowo-naczyniowym oraz wskazuje na konieczność wczesnej prewencji w grupie kobiet z T1DM i HT, polegającej być może na rutynowej ocenie cIMT.
4. Obecność niższej kurczliwości mięśnia sercowego, szczególnie w segmentach przednich i przednio-bocznych wykazana u kobiet z T1DM i HT w porównaniu do kobiet z T1DM bez HT lub grupy kontrolnej oznacza, że upośledzenie funkcji tych segmentów prawdopodobnie pojawia się we wczesnym okresie rozwoju cukrzycowej dysfunkcji serca oraz jest związane z obecnością czynnika autoimmunologicznego, którego markerem jest obecność przeciwciał aTPO, co wymaga weryfikacji w badaniach na większej grupie osób.
5. Spośród parametrów związanych z autoimmunizacją tarczycy w przebiegu HT silniejszy związek z rozwojem subklinicznej miażdżycy lub obniżeniem globalnej funkcji skurczowej mięśnia sercowego od samej obecności przeciwciał aTPO, ma prawdopodobnie czas ekspozycji na nie oraz stopień zaawansowania HT - wyrażony obrazem ultrasonograficznym tarczycy lub dawką przyjmowanej lewotyroksyny.
6. Obecność przeciwciał aTPO u kobiet z T1DM nie jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy lub obniżenia globalnej funkcji skurczowej mięśnia sercowego, ale prawdopodobnie jest jedynie markerem zaburzonej równowagi immunologicznej, która z kolei odgrywa ważną rolę

w patogenezie powikłań sercowo-naczyniowych w tej grupie chorych, przy czym dokładne mechanizmy molekularne, leżące u podłoża tego związku, nadal nie zostały poznane.

7. Wyniki badań nie dostarczyły dowodów na obecność związku pomiędzy stężeniami w surowicy krwi sirtuiny 1, IL-27 lub wisfatny a obecnością subklinicznej miażdżycy u kobiet z T1DM i HT lub T1DM bez HT. Wykazano jednak istotną korelację pomiędzy stężeniami sirtuiny 1 i IL-27, a parametrami związanymi z przebudową serca i tarczycy u kobiet z T1DM i HT, czego nie stwierdzono w grupie kobiet z T1DM bez HT lub grupie kontrolnej. Konieczne są dalsze badania, mające na celu lepsze zrozumienie interakcji pomiędzy sirtuiną 1 i IL-27 w podłożu patogenetycznym dysfunkcji serca u kobiet z T1DM i HT.

8. Bibliografia

1. Araszkievicz A, Bandurska-Stankiewicz E, Borys S, Budzyński A, Cyganek K, Cypryk K, et al. 2021 Guidelines on the management of patients with diabetes. A position of Diabetes Poland. *Clinical Diabetology*. 2021;10(1):1-113.
2. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*. 2022;183:109119.
3. Gagnum V, Stene LC, Jenssen TG, Berteussen LM, Sandvik L, Joner G, et al. Causes of death in childhood-onset Type 1 diabetes: long-term follow-up. *Diabet Med*. 2017;34(1):56-63.
4. Heintjes EM, Houben E, Beekman-Hendriks WL, Lighaam E, Cremers SM, Penning-van Beest FJA, et al. Trends in mortality, cardiovascular complications, and risk factors in type 2 diabetes. *The Netherlands journal of medicine*. 2019;77(9):317-29.
5. Kanamori H, Takemura G, Goto K, Tsujimoto A, Mikami A, Ogino A, et al. Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy*. 2015;11(7):1146-60.
6. Radovits T, Korkmaz S, Mátyás C, Oláh A, Németh BT, Páli S, et al. An altered pattern of myocardial histopathological and molecular changes underlies the different characteristics of type-1 and type-2 diabetic cardiac dysfunction. *Journal of diabetes research*. 2015;2015:728741.
7. Gottumukkala RV, Lv H, Cornivelli L, Wagers AJ, Kwong RY, Bronson R, et al. Myocardial infarction triggers chronic cardiac autoimmunity in type 1 diabetes. *Science translational medicine*. 2012;4(138):138ra80.
8. Hoffman WH, Sharma M, Cihakova D, Talor MV, Rose NR, Mohanakumar T, et al. Cardiac antibody production to self-antigens in children and adolescents during and following the correction of severe diabetic ketoacidosis. *Autoimmunity*. 2016;49(3):188-96.
9. Sousa GR, Kosiborod M, Bluemke DA, Lipes MA. Cardiac Autoimmunity Is Associated With Subclinical Myocardial Dysfunction in Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation*. 2020;141(13):1107-9.
10. Sousa GR, Pober D, Galderisi A, Lv H, Yu L, Pereira AC, et al. Glycemic Control, Cardiac Autoimmunity, and Long-Term Risk of Cardiovascular Disease in Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation*. 2019;139(6):730-43.

11. Carstensen B, Rønn PF, Jørgensen ME. Prevalence, incidence and mortality of type 1 and type 2 diabetes in Denmark 1996-2016. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020;8(1):e001071.
12. Wang Y, O'Neil A, Jiao Y, Wang L, Huang J, Lan Y, et al. Sex differences in the association between diabetes and risk of cardiovascular disease, cancer, and all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and meta-analysis of 5,162,654 participants. *BMC medicine*. 2019;17(1):136.
13. Ohkuma T, Komorita Y, Peters SAE, Woodward M. Diabetes as a risk factor for heart failure in women and men: a systematic review and meta-analysis of 47 cohorts including 12 million individuals. *Diabetologia*. 2019;62(9):1550-60.
14. Chadalavada S, Jensen MT, Aung N, Cooper J, Lekadir K, Munroe PB, et al. Women With Diabetes Are at Increased Relative Risk of Heart Failure Compared to Men: Insights From UK Biobank. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2021;8:658726.
15. Rawshani A, Sattar N, Franzén S, Rawshani A, Hattersley AT, Svensson AM, et al. Excess mortality and cardiovascular disease in young adults with type 1 diabetes in relation to age at onset: a nationwide, register-based cohort study. *Lancet (London, England)*. 2018;392(10146):477-86.
16. Htay T, Soe K, Lopez-Perez A, Doan AH, Romagosa MA, Aung K. Mortality and Cardiovascular Disease in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Current cardiology reports*. 2019;21(6):45.
17. Soedamah-Muthu SS, Fuller JH, Mulnier HE, Raleigh VS, Lawrenson RA, Colhoun HM. All-cause mortality rates in patients with type 1 diabetes mellitus compared with a non-diabetic population from the UK general practice research database, 1992-1999. *Diabetologia*. 2006;49(4):660-6.
18. Lind M, Bounias I, Olsson M, Gudbjörnsdóttir S, Svensson AM, Rosengren A. Glycaemic control and incidence of heart failure in 20,985 patients with type 1 diabetes: an observational study. *Lancet (London, England)*. 2011;378(9786):140-6.
19. Dal Canto E, Ceriello A, Rydén L, Ferrini M, Hansen TB, Schnell O, et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2020;26(2_suppl):25-32.
20. Seferović PM, Paulus WJ. Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *European heart journal*. 2015;36(27):1718-27, 27a-27c.

21. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmunity reviews*. 2014;13(4-5):391-7.
22. Kahaly GJ, Hansen MP. Type 1 diabetes associated autoimmunity. *Autoimmunity reviews*. 2016;15(7):644-8.
23. Basu M, Pandit K, Banerjee M, Mondal SA, Mukhopadhyay P, Ghosh S. Profile of Auto-antibodies (Disease Related and Other) in Children with Type 1 Diabetes. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2020;24(3):256-9.
24. Moon S, Kim MJ, Yu JM, Yoo HJ, Park YJ. Subclinical Hypothyroidism and the Risk of Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2018;28(9):1101-10.
25. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *European heart journal*. 2020;41(2):255-323.
26. Urbina EM, Dabelea D, D'Agostino RB, Jr., Shah AS, Dolan LM, Hamman RF, et al. Effect of type 1 diabetes on carotid structure and function in adolescents and young adults: the SEARCH CVD study. *Diabetes care*. 2013;36(9):2597-9.
27. Dalla Pozza R, Bechtold S, Bonfig W, Putzker S, Kozlik-Feldmann R, Netz H, et al. Age of Onset of Type 1 Diabetes in Children and Carotid Intima Medial Thickness. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(6):2053-7.
28. Sibal L, Agarwal SC, Home PD. Carotid intima-media thickness as a surrogate marker of cardiovascular disease in diabetes. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*. 2011;4:23-34.
29. Matsuura E, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Turiel M, Lopez LR, Nurmohamed MT. Is atherosclerosis an autoimmune disease? *BMC medicine*. 2014;12:47-.
30. Sherer Y, Shoenfeld Y. Mechanisms of disease: atherosclerosis in autoimmune diseases. *Nature clinical practice Rheumatology*. 2006;2(2):99-106.
31. Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2008;201(1):17-32.
32. Aziz M, Kandimalla Y, Machavarapu A, Saxena A, Das S, Younus A, et al. Effect of Thyroxin Treatment on Carotid Intima-Media Thickness (CIMT) Reduction in Patients with Subclinical Hypothyroidism (SCH): a Meta-Analysis of Clinical Trials. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2017;24(7):643-59.

33. Głowinska-Olszewska B, Borysewicz-Sańczyk H, Sawicka B, Klonowska B, Charemska D, Żelazowska-Rutkowska B, et al. Does Hashimoto's Thyroiditis Increase the Risk of Cardiovascular Disease in Young Type 1 Diabetic Patients? *Frontiers in endocrinology*. 2020;11:431.
34. Blum MR, Gencer B, Adam L, Feller M, Collet TH, da Costa BR, et al. Impact of Thyroid Hormone Therapy on Atherosclerosis in the Elderly With Subclinical Hypothyroidism: A Randomized Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2018;103(8):2988-97.
35. Raterman HG, Voskuyl AE, Simsek S, Schreurs MW, van Hoogstraten IM, Peters MJ, et al. Increased progression of carotid intima media thickness in thyroid peroxidase antibodies-positive rheumatoid arthritis patients. *European journal of endocrinology*. 2013;169(6):751-7.
36. Ciccone MM, De Pergola G, Porcelli MT, Scicchitano P, Caldarola P, Iacoviello M, et al. Increased carotid IMT in overweight and obese women affected by Hashimoto's thyroiditis: an adiposity and autoimmune linkage? *BMC cardiovascular disorders*. 2010;10:22.
37. Shi Z, Zhang X, Chen Z, Liebeskind DS, Lou M. Elevated thyroid autoantibodies and intracranial stenosis in stroke at an early age. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*. 2014;9(6):735-40.
38. Willeit P, Tschiderer L, Allara E, Reuber K, Seekircher L, Gao L, et al. Carotid Intima-Media Thickness Progression as Surrogate Marker for Cardiovascular Risk: Meta-Analysis of 119 Clinical Trials Involving 100 667 Patients. *Circulation*. 2020;142(7):621-42.
39. Salem M, El Behery S, Adly A, Khalil D, El Hadidi E. Early predictors of myocardial disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric diabetes*. 2009;10(8):513-21.
40. Altun G, Babaoğlu K, Binnetoğlu K, Özsu E, Yeşiltepe Mutlu RG, Hatun Ş. Subclinical Left Ventricular Longitudinal and Radial Systolic Dysfunction in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Echocardiography (Mount Kisco, NY)*. 2016;33(7):1032-9.
41. Kim EH, Kim YH. Left ventricular function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Korean circulation journal*. 2010;40(3):125-30.

42. Zairi I, Mzoughi K, Kamoun S, Moussa FB, Rezgallah R, Maatoug J, et al. Impairment of left and right ventricular longitudinal strain in asymptomatic children with type 1 diabetes. *Indian heart journal*. 2019;71(3):249-55.
43. Vazeou A, Papadopoulou A, Miha M, Drakatos A, Georgacopoulos D. Cardiovascular impairment in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes mellitus (T1DM). *European journal of pediatrics*. 2008;167(8):877-84.
44. Suys BE, Katier N, Rooman RP, Matthys D, Op De Beeck L, Du Caju MV, et al. Female children and adolescents with type 1 diabetes have more pronounced early echocardiographic signs of diabetic cardiomyopathy. *Diabetes care*. 2004;27(8):1947-53.
45. Labombarda F, Leport M, Morello R, Ribault V, Kauffman D, Brouard J, et al. Longitudinal left ventricular strain impairment in type 1 diabetes children and adolescents: a 2D speckle strain imaging study. *Diabetes Metab*. 2014;40(4):292-8.
46. F MA-EA, Abdelghaffar S, E MH, A MF. Evaluation of Cardiac Functions in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. *Journal of cardiovascular ultrasound*. 2017;25(1):12-9.
47. Hodzic A, Ribault V, Maragnes P, Milliez P, Saloux E, Labombarda F. Decreased regional left ventricular myocardial strain in type 1 diabetic children: a first sign of diabetic cardiomyopathy? *Journal of translational internal medicine*. 2016;4(2):81-7.
48. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *The New England journal of medicine*. 2001;344(7):501-9.
49. Holt E, Sjaastad I, Lunde PK, Christensen G, Sejersted OM. Thyroid hormone control of contraction and the Ca(2+)-ATPase/phospholamban complex in adult rat ventricular myocytes. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1999;31(3):645-56.
50. Kaasik A, Paju K, Vetter R, Seppet EK. Thyroid hormones increase the contractility but suppress the effects of beta-adrenergic agonist by decreasing phospholamban expression in rat atria. *Cardiovascular research*. 1997;35(1):106-12.
51. von Hafe M, Neves JS, Vale C, Borges-Canha M, Leite-Moreira A. The impact of thyroid hormone dysfunction on ischemic heart disease. *Endocrine connections*. 2019;8(5):R76-r90.
52. Onat A, Aydın M, Can G, Çelik E, Altay S, Karagöz A, et al. Normal thyroid-stimulating hormone levels, autoimmune activation, and coronary heart disease risk. *Endocrine*. 2015;48(1):218-26.

53. Zoncu S, Pigliaru F, Putzu C, Pisano L, Vargiu S, Deidda M, et al. Cardiac function in borderline hypothyroidism: a study by pulsed wave tissue Doppler imaging. *European journal of endocrinology*. 2005;152(4):527-33.
54. Collet TH, Bauer DC, Cappola AR, Asvold BO, Weiler S, Vittinghoff E, et al. Thyroid antibody status, subclinical hypothyroidism, and the risk of coronary heart disease: an individual participant data analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(9):3353-62.
55. Flores-Ramírez R, Azpiri-López JR, González-González JG, Ordaz-Farías A, González-Carrillo LE, Carrizales-Sepúlveda EF, et al. Global longitudinal strain as a biomarker in diabetic cardiomyopathy. A comparative study with Gal-3 in patients with preserved ejection fraction. *Archivos de cardiología de Mexico*. 2017;87(4):278-85.
56. Beyhoff N, Brix S, Betz IR, Klopffleisch R, Foryst-Ludwig A, Krannich A, et al. Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2017;30(12):1239-50.e2.
57. Liu D, Hu K, Nordbeck P, Ertl G, Störk S, Weidemann F. Longitudinal strain bull's eye plot patterns in patients with cardiomyopathy and concentric left ventricular hypertrophy. *Eur J Med Res*. 2016;21(1):21-.
58. Zito C, Longobardo L, Citro R, Galderisi M, Oreto L, Carerj ML, et al. Ten Years of 2D Longitudinal Strain for Early Myocardial Dysfunction Detection: A Clinical Overview. *BioMed research international*. 2018;2018:8979407-.
59. İşgüven P, Gündüz Y, Kılıç M. Effects of Thyroid Autoimmunity on Early Atherosclerosis in Euthyroid Girls with Hashimoto's Thyroiditis. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*. 2016;8(2):150-6.
60. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A, et al. Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2016;26(4):504-11.
61. Moschonas IC, Tselepis AD. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis. *Atherosclerosis*. 2019;288:9-16.
62. Fukuyama K, Ichiki T, Imayama I, Ohtsubo H, Ono H, Hashiguchi Y, et al. Thyroid hormone inhibits vascular remodeling through suppression of cAMP response element binding protein activity. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(9):2049-55.

63. Liu J, Duan Y, Fu J, Wang G. Association Between Thyroid Hormones, Thyroid Antibodies, and Cardiometabolic Factors in Non-Obese Individuals With Normal Thyroid Function. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:130.
64. D'Onofrio N, Servillo L, Balestrieri ML. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. *Antioxidants & redox signaling*. 2018;28(8):711-32.
65. Sarumaru M, Watanabe M, Inoue N, Hisamoto Y, Morita E, Arakawa Y, et al. Association between functional SIRT1 polymorphisms and the clinical characteristics of patients with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*. 2016;49(5):329-37.
66. Rasha F, Mims BM, Castro-Piedras I, Barnes BJ, Grisham MB, Rahman RL, et al. The Versatility of Sirtuin-1 in Endocrinology and Immunology. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2020;8:589016.
67. Hui X, Zhang M, Gu P, Li K, Gao Y, Wu D, et al. Adipocyte SIRT1 controls systemic insulin sensitivity by modulating macrophages in adipose tissue. *EMBO reports*. 2017;18(4):645-57.
68. Chen X, Lu Y, Zhang Z, Wang J, Yang H, Liu G. Intercellular interplay between Sirt1 signalling and cell metabolism in immune cell biology. *Immunology*. 2015;145(4):455-67.
69. Revollo JR, Grimm AA, Imai S. The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(49):50754-63.
70. Brentano F, Schorr O, Ospelt C, Stanczyk J, Gay RE, Gay S, et al. Pre-B cell colony-enhancing factor/visfatin, a new marker of inflammation in rheumatoid arthritis with proinflammatory and matrix-degrading activities. *Arthritis and rheumatism*. 2007;56(9):2829-39.
71. Neubauer K, Bednarz-Misa I, Walecka-Zacharska E, Wierzbicki J, Agrawal A, Gamian A, et al. Oversecretion and Overexpression of Nicotinamide Phosphoribosyltransferase/Pre-B Colony-Enhancing Factor/Visfatin in Inflammatory Bowel Disease Reflects the Disease Activity, Severity of Inflammatory Response and Hypoxia. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(1).
72. Farghaly HS, Metwalley KA, Ahmed FA, Raafat DM, El-Asheer O, Ali AM, et al. Visfatin level in children and adolescents with autoimmune thyroiditis. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*. 2017;8(8):119-25.

73. Dakroub A, S AN, Younis N, Bhagani H, Al-Dhaheri Y, Pintus G, et al. Visfatin: A Possible Role in Cardiovasculo-Metabolic Disorders. *Cells*. 2020;9(11).
74. Wang Q, Liu J. Regulation and Immune Function of IL-27. *Advances in experimental medicine and biology*. 2016;941:191-211.
75. Ciecko AE, Foda B, Barr JY, Ramanathan S, Atkinson MA, Serreze DV, et al. Interleukin-27 Is Essential for Type 1 Diabetes Development and Sjögren Syndrome-like Inflammation. *Cell reports*. 2019;29(10):3073-86.e5.
76. Phan WL, Huang YT, Ma MC. Interleukin-27 Protects Cardiomyocyte-Like H9c2 Cells against Metabolic Syndrome: Role of STAT3 Signaling. *BioMed research international*. 2015;2015:689614.
77. Shahi A, Afzali S, Salehi S, Aslani S, Mahmoudi M, Jamshidi A, et al. IL-27 and autoimmune rheumatologic diseases: The good, the bad, and the ugly. *International immunopharmacology*. 2020;84:106538.

9. Opinia Komisji Bioetycznej



**Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie**

ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa
email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881
Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

DECYZJA NR 22/2018

z dn. 09.05.2018 r.

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach CSK MSWiA w Warszawie
na posiedzeniu w dniu **09 maja 2018 r.**

- **zapoznała się z projektem nowego badania naukowego pt:**

„Związek podwyższonego miana przeciwciał przeciwtarczycowych z wybranymi parametrami układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z cukrzycą typu 1”.

którego badaczem jest: **lek. med. Magdalena Łukawska** - Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Diabetologii CSK MSWiA, 02-507 Warszawa, ul. Wołoska 137.

Po zapoznaniu się z całością dokumentacji* zgodnie z zasadami ICH-GCP Komisja Etyki

- wyraziła zgodę na przeprowadzenie badania zgodnie z załączoną dokumentacją.

W ramach niniejszego zezwolenia badania mogą być prowadzone do 06.03.2021 r.

Warszawa, 09.05.2018 r.

Przewodniczący Komisji Etyki
Prof. dr hab. n. med. Robert J. Gil

***Do Komisji Etycznej wpłynęły następujące dokumenty:**

1. Wniosek do Komisji Etyki,
2. Zgoda Dyrektora Szpitala,
3. Zgłoszenie badania,
4. Opis badania,
5. Formularz Informacji dla uczestnika badania,
6. Formularz świadomej zgody pacjenta na udział w badaniu,
7. Ankieta dla pacjenta.

10. Oświadczenia współautorów

Włamec, 23.03.2022
.....(miejsowość, data)

Dr hab.n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 80%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: koncepcje pracy, zebrane literatury,
.....
.....
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji) *

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Dr hab.n.med. Beata
Mrozikiewicz-Rakowska
Specjalista chorób wewnętrznych
Diabetolog
4431054

.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Wameno, 1304.2022
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Edward Franek

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. **Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne**. oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

nadzór merytoryczny, krytyczna korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 80 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: .. *koncepcja pracy, kwerenda literatury, pisanie manuskryptu*

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji) *

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 23.03.22
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Leszek Czupryniak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Podłoże molekularne niewydolności serca w cukrzycy – nowe możliwości terapeutyczne.*” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

wybór merytoryczny
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako *5* %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako *80* %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: *konceptja pracy, zbranie literatury, prace merytoryczne*
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji) *

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

prof. dr hab. med.
Leszek Czupryniak
specjalista chorób wewnętrznych

.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Komerc, 23.03.2012
.....(miejsowość, data)

Dr hab. n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako.....¹⁰ %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako.....⁸⁰ %.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on:
.....
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji) *

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Dr hab. n. med. Beata
Mrozikiewicz-Rakowska
Specjalista chorób wewnętrznych
.....
447 154

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Wrocław 13.04.2017
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Edward Franek

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. ***Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań.*** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:
nadzór merytoryczny, krytyczna korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako 80 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: *koncepcja pracy, kwerenda literatury, pisanie manuskryptu*

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

.....
(miejsowość, data)

Worene, 23.03.22
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Leszek Czupryniak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Rola autoimmunizacji w rozwoju powikłań cukrzycowych – przegląd badań.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

..... wkład merytoryczny

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako 80 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: koncepty pracy, literatura literatury, przegląd badań, pisane manuskrypty

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

prof. dr hab. med.
Leszek Czupryniak
specjalista chorób wewnętrznych
diabetologii
217007

.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

31 03 2022
.....(miejsowość, data)

Dr n. med. Jakub Zieliński

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

510, wkład merytoryczny
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 51%.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 95%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: ocena 95% wkładu w przygotowanie pracy, piśmiennicze
.....
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Jakub Zieliński
.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Prof. dr hab. n. med. Edward Franek

(imię i nazwisko)

Wawone, 13.04.2022

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. ***Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?***, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

koncepcja i projekt badania, nadzór merytoryczny, krytyczna korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 75 %,

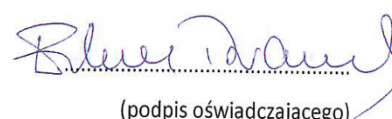
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: *koncepcja i projekt badania, metodyka, wykonanie badań ultrasonograficznych tarczycy oraz ocena cIMT, zebranie i analiza danych, pisanie manuskryptu*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Wronie, 23.03.22
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Leszek Czupryniak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako.....%.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako.....%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: projekt badawczy, obliczenia i analiza danych, przegląd literatury, prace merytoryczne

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

prof. dr hab. med.
Leszek Czupryniak
specjalista chorób wewnętrznych
i diabetologii
2176677

.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 23.03.2022
.....(miejscowość, data)

Dr hab. n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Is thyroid autoimmunity associated with subclinical atherosclerosis in young women with type 1 diabetes mellitus?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako ¹⁰..... %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako ⁷⁵..... %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on:.....
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Dr hab. n. med. Beata
Mrozikiewicz-Rakowska
Specjalista od chorób wewnętrznych
Diabetolog

.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 11.04.2022 r.
.....(miejscowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Pawlak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. *Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography*, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....*wykonanie badań echokardiograficznych, krytyczna korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej pracy*.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 70 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: *projekt badania, metodyka, wykonanie USG tarczycy, zebranie i analiza danych, przesłanie manuskryptu*

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

M. Pawlak
Dr hab. n. med. Agnieszka Pawlak, Prof. PAN
Specjalista chorób wewnętrznych Kardiolog
9190701
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

31.03.2022 (miejsowość, data)

Dr n. med. Jakub Zieliński

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography”, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

51%, analiza i redagowanie publikacji

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 51%.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako 70%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: analizę danych (statystyka),
pisanie manuskryptu

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Jakub Zieliński
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa 13 04 2022 (miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Edward Franek

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. ***Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography***, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

koncepcja i projekt badania, nadzór merytoryczny, krytyczna korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako 70 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: *koncepcja i projekt badania, metodyka, wykonanie badań ultrasonograficznych tarczycy, zebranie i analiza danych, pisanie manuskryptu*

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Wronie, 23.03.22
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Leszek Czupryniak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako.....⁵ %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako.....⁷⁰ %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on:.....

opracowanie projektu badania, wykonanie badań
kard. i xg, ocena C/MT, rebranie i analiza danych,
jedynt literatury, rozprawy naukowe.
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Prof. dr hab. med.
Leszek Czupryniak
specjalista chorób wewnętrznych
i diabetologii
2176677

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Homew, 23.03.2022
.....(miejsowość, data)

Dr hab. n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „*Association of antithyroid peroxidase antibodies with cardiac function in euthyroid women with type 1 diabetes mellitus - assessment with two-dimensional speckle-tracking echocardiography*”, oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako..... %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako..... %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on:.....
.....
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Dr hab. n. med. Beata
Mrozikiewicz-Rakowska
Specjalista
Dzia. Endokrynologii
.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 13.04.2022 (miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Edward Franek

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. ***Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease***, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

koncepcja i projekt badania, nadzór merytoryczny, krytyczna korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 70 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


obejmował on: *koncepcja i projekt badania, metodyka, wykonanie badań ultrasonograficznych tarczycy oraz ocena cIMT, zebranie i analiza danych, pisanie manuskryptu*

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Lwów, 23.03.22
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Leszek Czupryniak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

..... wkład merytoryczny
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 70 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie projektu badania, wykonanie badań USG tarczycy, ocena cięciw, rebrano i ścięgna dłonie, przelot tarczycy, próba mousty pom.
(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

prof. dr hab. med.
Leszek Czupryniak
specjalista chorób wewnętrznych
i diabetologii
2716677

.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

.....(miejsowość, data)

Naszaowa 1.04.2002

Dr hab. n. med. Ilona Joniec-Maciejak

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease”, oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

rola merytoryczna
.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 25 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tarczuc w powstawanie publikacji określam jako 70 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: projekt pracy, metodyka, wykonanie badań,
analiza danych, pisanie manuskryptu
.....
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tarczuc

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

I. Joniec - Maciejak
.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa 11.04.2022 r.
.....(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Pawlak

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. *Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease*, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

wykonanie badań echokardiograficznych, krytyczna
korekta manuskryptu, akceptacja wersji ostatecznej
pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5... %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk w powstawanie publikacji określam jako 70... %.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: projekt badawczy, metodykę, wykonanie USG
tarczycy i ocena cIMT, zebrane i analizowane dane, pisanie manuskryptu

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.
Magdaleny Łukawskiej-Tatarczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

dr hab. n. med. Agnieszka Pawlak, Prof. PAN
Specjalista chorób wewnętrznych Kardiolog
9190701

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 04.2022(miejsowość, data)

mgr Ewa Wojnar

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease”, oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

wykonanie badań ELISA, korekta manuskryptu

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 25%.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako 70%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: projekt pracy, metodykę, wykonanie badań
analiza danych, pisanie manuskryptu

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Wojnar

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

31 03 2022 (miejsowość, data)

Dr n. med. Jakub Zieliński

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease”, oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

25% udziałem magdaleny

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 25%.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako 70%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: ocenę i sędziarstwo

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

Jakub Zieliński

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 31.03.2022 (miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Dagmara Mirowska-Guzel

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease”, oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
własny wkład merytoryczny, korektura korekta manuskryptu, akceptacja ostatecznej wersji pracy
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2,5 %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstanie publikacji określam jako 70 %,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: projekt badania, metodyka, zestawienie danych, wykonanie badań i pisanie manuskryptu
.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek.

Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

.....
Mirowska

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

26 marca, 23.03.2022

Dr hab. n. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska

(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Sirtuin 1, Visfatin and IL-27 Serum Levels of Type 1 Diabetic Females in Relation to Cardiovascular Parameters and Autoimmune Thyroid Disease”, oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

.....
.....
.....
.....

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako.....5..... %.

Wkład Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk w powstawanie publikacji określam jako.....20.....%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on:.....konsepcję pracy / zbiorów literatury,
.....i schemat metodologiczny.....

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Magdaleny Łukawskiej-Tataczuk

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

.....
.....

(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników