



**UNIwersYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU**

Collegium Medicum  
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

**Bydgoszcz 2023 r.**



**UNIwersytet  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU**  
Wydział Lekarski  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

**Anna Piórkowska**

**Ocena zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D,  
wybranych adipocytokin i wykładników stanu zapalnego a  
poziomem metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych**

**Promotor:**

**dr hab. Karolina Szewczyk-Golec, prof. UMK**

**Promotor pomocniczy:**

**dr n. med. Anna Kamińska**

**Bydgoszcz 2023**

*Składam szczególne podziękowania  
Pani Promotor, dr hab. Karolinie Szewczyk-Golec, prof. UMK  
za poświęcony mi czas i nieocenioną pomoc w realizacji niniejszej pracy.*

## Spis treści

1. WSTĘP .....	13
1.1. Historia cukrzycy .....	13
1.2. Cukrzyca – definicja.....	15
1.3. Epidemiologia wszystkich typów cukrzycy na świecie .....	17
1.4. Epidemiologia wszystkich typów cukrzycy w Polsce.....	20
1.4.1. Epidemiologia rejestrowana .....	20
1.5. Patofizjologia cukrzycy typu 2 .....	26
1.5.1. Insulinooporność .....	26
1.5.1.1. Metabolizm glukozy w mięśniach szkieletowych.....	27
1.5.1.2. Metabolizm glukozy w tkance tłuszczowej .....	28
1.5.1.3. Metabolizm glukozy w wątrobie .....	29
1.6. Przewlekłe powikłania cukrzycy .....	30
1.6.1. Retinopatia cukrzycowa.....	31
1.6.2. Nefropatia cukrzycowa .....	31
1.6.3. Neuropatia cukrzycowa .....	32
1.7. Czynniki ryzyka cukrzycy typu 2 .....	33
1.7.1. Otyłość .....	35
1.7.2. Adipocytokiny .....	36
1.7.2.1. Leptyna.....	36

1.7.2.2.	Rezystyna.....	38
1.7.2.3.	Wisfatyna .....	39
1.7.2.4.	Adiponektyna .....	40
1.7.2.5.	Interleukina-6.....	40
1.8.	Witamina D.....	41
1.8.1.	Metabolizm witaminy D.....	42
1.8.2.	Pleiotropowe działanie witaminy D.....	43
1.8.3.	Wpływ witaminy D na gospodarkę wapniowo-fosforanową i układ kostny .....	44
1.8.4.	Witamina D a otyłość.....	46
1.8.5.	Witamina D a cukrzyca typu 2 .....	47
1.9.	Równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna.....	48
1.9.1.	Wpływ reaktywnych form tlenu na biomolekuły .....	49
1.9.2.	Peroksydacja lipidów .....	51
1.10.	Mechanizmy obrony przed stresem oksydacyjnym .....	54
1.10.1.	Enzymy antyoksydacyjne .....	55
1.10.1.1.	Dysmutazy ponadtlenkowe (SODs).....	55
1.10.1.2.	Katalaza (CAT).....	56
1.10.1.3.	Peroksydazy glutationowe (GPxs).....	57
1.10.2.	Nieenzymatyczne antyoksydanty.....	57
1.10.2.1.	Glutation.....	58

1.10.2.2.	Witamina C.....	58
1.10.2.3.	Witamina E .....	58
1.10.2.4.	Witamina A.....	59
1.10.2.5.	Melatonina .....	60
2.	Cel pracy.....	62
3.	Materiał i metody.....	64
3.1.	Charakterystyka badanych grup.....	64
3.2.	Pomiary antropometryczne .....	65
3.2.1.	Pomiar wysokości ciała .....	65
3.2.2.	Pomiar masy ciała .....	65
3.2.3.	Wskaźnik Queteleta- BMI (ang. <i>body mass index</i> ) .....	66
3.3.	Oznaczenia laboratoryjne .....	66
3.3.1.	Materiał kliniczny i jego wstępne przygotowanie do badań .....	66
3.3.2.	Metody badań.....	67
3.3.2.1.	Oznaczenie stężenia wisfatyny w surowicy .....	67
3.3.2.2.	Oznaczenie stężenia rezystyny w surowicy.....	70
3.3.2.3.	Oznaczenie stężenia adiponektyny w surowicy .....	72
3.3.2.4.	Oznaczenie stężenia leptyny w surowicy .....	73
3.3.2.5.	Oznaczenie stężenia interleukiny 6 w surowicy.....	75
3.3.2.6.	Oznaczenie stężenia oxLDL w surowicy .....	77

3.3.2.7.	Oznaczenie stężenia witaminy 25(OH)-D w surowicy.....	79
3.3.2.8.	Oznaczenie stężenia melatoniny w surowicy.....	82
3.4.	Metody statystyczne .....	84
4.	Wyniki.....	84
4.1.	Podział badanych grup .....	84
4.2.	Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych.....	90
4.3.	Występowanie przewlekłych powikłań cukrzycy, nadciśnienia tętniczego oraz hiperlipidemii u osób z DM2.....	93
4.4.	Analiza korelacji między powszechnie stosowanymi wykładnikami wyrównania glikemii a badanymi parametrami.....	94
4.5.	Porównanie wybranych zmiennych między pacjentami z DM2 z przewlekłymi powikłaniami cukrzycy oraz bez powikłań .....	99
4.6.	Porównanie grupy badanej, kontrolnej oraz badanych osób o podwyższonym ryzyku rozwoju DM2 pod względem zmiennych analizowanych w badaniu.....	102
4.7.	Porównanie grupy badanej oraz badanych osób otyłych bez DM2 pod względem zmiennych analizowanych w badaniu. ....	109
4.8.	Analiza korelacji między badanymi zmiennymi u osób z DM2 .....	112
5.	Dyskusja.....	114
5.1.	Stężenie wybranych adipokin w przebiegu cukrzycy typu 2.....	115
5.2.	Stężenie wybranych markerów stanu zapalnego w przebiegu cukrzycy typu 2.....	121
5.3.	Stężenie witaminy D w przebiegu cukrzycy typu 2 .....	125

5.4. Stężenie melatoniny w przebiegu cukrzycy typu 2 .....	129
5.5. Analiza stężenia badanych parametrów w powikłaniach cukrzycy typu II .....	131
6. Wnioski .....	136
7. Streszczenie .....	138
8. Abstract .....	140
9. Piśmiennictwo .....	142
10. Spis tabel .....	193
11. Spis rycin .....	195
12. Kserokopia zgody Komisji Bioetycznej .....	198



## Wykaz stosowanych skrótów

**4-HNE** - 4-hydroksynonenal (ang. *4-hydroxy-2-nonenal*)

**ADA** - Amerykańskie Towarzystwo Diabetologiczne (ang. *American Diabetes Association*)

**AdipoR1** – receptor 1 adiponektyny (ang. *adiponectin receptor 1*)

**AdipoR2** – receptor 2 adiponektyny (ang. *adiponectin receptor 2*)

**ALS** - stwardnienie zanikowe boczne (ang. *amyotrophic lateral sclerosis*)

**BAT** - brunatna tkanka tłuszczowa (ang. *brown adipose tissue*)

**BMI** - (ang. *body mass index*)

**CAT** - katalaza (ang. *catalase*)

**CM** - chylomikron (ang. *chylomicron*)

**CRP** - białko C-reaktywne (ang. *C-reactive protein*)

**DM 2** - cukrzyca typu 2 (ang. *diabetes mellitus type 2*)

**FFA** - wolne kwasy tłuszczowe (ang. *free fatty acids*)

**GFR** - wskaźnik filtracji kłębuszkowej (ang. *glomerular filtration rate*)

**GH** - hormonu wzrostu (ang. *growth hormone*)

**GLP-1** - glukagonopodobny peptydu 1 (ang. *glucagon-like peptide-1*)

**GLUT4** – transporter glukozy typu 4 (ang. *glucose transporter type 4*)

**GPxs** - peroksydazy glutationowe (ang. *glutathione peroxidases*)

**HDL** – (ang. *high-density lipoprotein*)

**HEI** - wskaźnik zdrowego odżywiania (ang. *Healthy Eating Index*)

**HRP** - peroksydaza chrzanowa (ang. *horseradish peroxidase*)

**IFR** - Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna (ang. *International Diabetes Federation*)

**IGF** - nieprawidłowa glikemia na czczo (ang. *impaired fasting glucose*)

**IGF-1** - insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (ang. *insulin-like growth factor*)

**IGT** - nieprawidłowa tolerancja glukozy (ang. *impaired glucose tolerance*)

**IL-1Ra** - receptor IL-1 (ang. *IL-1receptor antagonist*)

**IL-1 $\beta$**  - interleukina 1  $\beta$  (ang. *interleukin 1 $\beta$* )

**IL-6** - interleukina 6 (ang. *interleukin 6*)

**INSR** - receptorem insulinowy (ang. *insulin receptor*),

**IR** - insulinooporność (ang. *insulin resistance*)

**LADA** - (ang. *Latent Autoimmune Diabetes in Adults*)

**LDL** - (ang. *low-density lipoprotein*)

**LEP-R** - receptoram leptyny (ang. *leptin receptor*)

**LOX-1** - receptor dla oxLDL typu 1 (ang. *lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1*)

**MDA** - aldehyd malonowy (ang. *malondialdehyde*)

**MT1** - receptor melatoniny 1 (MT1, ang. *melatonin receptor 1*)

**NF- $\kappa$ B** - jądrowy czynnik transkrypcyjny (ang. *kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

**NLRP3** - kompleks inflamasomu NLRP3 (ang. *NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3*)

**OGTT** - doustny test obciążenia glukozą (ang. *oral glucose tolerance test*)

**oxLDL** - utleniona lipoproteina o niskiej gęstości (ang. *oxidized low-density lipoprotein*)

**PSQI** - kwestionariusz oceny jakości snu (ang. *Pittsburgh Sleep Quality Index*)

**PTH** - parathormon (ang. *parathyroid hormone*)

**RAA** - renina-angiotensyna-aldosteron (ang. *renin-angiotensin-aldosterone*)

**ROS** - reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*)

**SCN** - jądro nadskrzyżowaniowe (ang. *suprachiasmatic nucleus*)

**SGLT2** - kontransporter sodowo-glukozowej typu 2 (ang. *sodium-glucose co-transporter-2*)

**SODs** - dysmutazy ponadtlenkowe (ang. *superoxide dismutase*)

**s-TNF** - rozpuszczalny receptor TNF (ang. *soluble tumor necrosis factor receptor*)

**TGA** - triacyloglicerol (ang. *triacylglycerol*)

**TNF- $\alpha$**  - czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ),

**UVB** (ang. *ultraviolet light in the B*)

**VDR** (ang. *vitamin D receptor*)

**VLDL** – lipoproteina o bardzo małej gęstości (ang. *very low density lipoprotein*)

**WAT** - biała tkanka tłuszczowa (ang. *white adipose tissue*)

**WHO** - Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

## **1. WSTĘP**

Cukrzyca to grupa chorób metabolicznych obejmujących metabolizm węglowodanów, lipidów i białek, charakteryzująca się trwałą hiperglikemią [1]. Aktualne dane epidemiologiczne podają, że 9% dorosłych choruje na cukrzycę, natomiast oszacowano, że w 2012 roku z powodu tej choroby zmarło 1,5 mln osób. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) w 2030 roku cukrzyca będzie siódmą przyczyną wszystkich zgonów na świecie [2].

### **1.1. Historia cukrzycy**

Cukrzyca ma długą historię sięgającą starożytności. Jednak w tym okresie, ze względu na słabą znajomość anatomii, patofizjologii i brak narzędzi diagnostycznych, cukrzyca pozostawała dla lekarzy niezwykle zagadkowa. Mimo tego, lekarze w starożytności zaobserwowali charakterystyczne jej cechy. Jednym z pierwszych dokumentów zawierających wzmianki o cukrzycy był papirus Ebersa, datowany na 1500 r. p.n.e. Możemy znaleźć w nim fragmenty opisujące pacjentów, którzy cierpią z powodu nadmiernego pragnienia, obfitego oddawania moczu i charakteryzują się bardzo szybkim wyniszczeniem ciała kończącym się w krótkim czasie śmiercią [3].

Około V wieku p.n.e. słynny indyjski chirurg Sushruta w swoim dziele *Samhita* zidentyfikował cukrzycę, używając określenia *madhumeha* (hind. mocz podobny do miodu) i zwrócił uwagę nie tylko na słodki smak moczu, ale także na jego lepkie uczucie w dotyku i zdolność przyciągania mrówek. Sushruta wspomina dalej, że cukrzyca dotyka przede wszystkim bogatych kast i jest związana z nadmiernym spożyciem pokarmów, takich jak ryż, zboża i słodczyce [4].

Od VIII wieku n.e. lekarze obserwowali u chorych na cukrzycę tendencję do zapadania na infekcje skórne w postaci owrzodzeń oraz pogorszenie wzroku. W XI wieku n.e. słynny arabsko-islamski lekarz Avicenna (980-1037) w swoim podręczniku *El-Kanun* (Kanon medycyny) opisał cukrzycę, a jako jej powikłania wymienił gangrenę i zaburzenia funkcji seksualnych. Wiele lat później średniowieczny uczyony Moises Maimonides (1138-1204) szczegółowo opisał cukrzycę, w tym objawy kwasicy [4].

Dopiero wiek XIX był przełomowy w historii cukrzycy. Wówczas francuski lekarz Apollinaire Bouchardat (1813-1878) odkrył, że bardzo niskokaloryczna dieta przedłuża życie chorych. Kolejni badacze wysunęli hipotezę o roli trzustki w fizjopatologii cukrzycy, co stwierdzili dzięki badaniom pośmiertnym chorych, podczas których uwidaczniano trzustki zanikowe [5].

Punkt zwrotny w historii cukrzycy nastąpił w 1889 roku dzięki eksperymentom Oskara Minkowskiego i Josepha von Meringa na Uniwersytecie w Strasburgu, polegających na pankreatektomii u psów, które pozwoliły wykazać, że trzustka jest gruczołem wydzielania wewnętrznego ważnym dla utrzymania homeostazy glukozy [6].

W 1923 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny otrzymali Frederick Banting i John MacLeod za odkrycie insuliny [7]. Pionierskie prace tych uczonych uratowały życie milionom ludzi, a diabetycy zaczęli żyć normalnie. Firma farmaceutyczna Lilly Pharmaceutical Company (Indiana, USA) dzięki współpracy z oboma naukowcami w 1923 roku wprowadziła na rynek Iletin, pierwszy na świecie komercyjnie dostępny preparat insuliny [6].

## 1.2. Cukrzyca – definicja

Cukrzyca to choroba metaboliczna charakteryzująca się hiperglikemią, spowodowaną nieprawidłowym wydzielaniem i/lub działaniem insuliny [8]. Przewlekłe podwyższona glikemia początkowo zaburza czynność, a następnie uszkadza różne narządy, zwłaszcza oczy, nerki, serce i naczynia krwionośne [9]. WHO wyróżnia kilka głównych typów cukrzycy: cukrzycę typu 1, cukrzycę typu 2, cukrzycę o znanej etiologii (np. defekty genetyczne komórek  $\beta$  trzustki, defekty genetyczne działania insuliny), cukrzycę ciążową i cukrzycę w ciąży oraz wolno rozwijającą się cukrzycę o podłożu autoimmunologicznym u dorosłych (dawniej LADA, (ang. *Latent Autoimmune Diabetes in Adults*), obecnie uznawana za cukrzycę typu 1 [10]. Początkowo defekt metabolizmu glukozy może nie dawać klinicznych implikacji, ale stany przedcukrzycowe, czyli nieprawidłowa glikemia na czczo (IFG, ang. *impaired fasting glucose*) wynosząca 100–125 mg/dl (5,6– 6,9 mmol/l) i/lub nieprawidłowa tolerancja glukozy (IGT, ang. *impaired glucose tolerance*), wykazana w doustnym teście obciążenia glukozą (OGTT, ang. *oral glucose tolerance test*) - w 120. minucie testu glikemia 140–199 mg/dl (7,8–11 mmol/l), zwiększają ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2, w szczególności, gdy występują jednocześnie [11].

Wiele przypadków cukrzycy przebiega bezobjawowo, dlatego zaleca się wykonywanie badań przesiewowych – wykonanie oznaczenia glikemii na czczo lub OGTT [12]. Jak podają wytyczne Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego – ADA (ang. *American Diabetes Association*) z 2022 roku, badanie w kierunku cukrzycy należy przeprowadzać co 3 lata u każdej osoby powyżej 45. roku życia [13]. Ponadto, niezależnie od wieku, badanie to należy wykonywać co roku w grupach zwiększonego ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2, w których występują czynniki takie jak: nadwaga ( BMI (ang. *body mass index*) 25-29 kg/m<sup>2</sup> ) lub otyłość (BMI  $\geq$  30kg/m<sup>2</sup>) i/lub obwód w talii  $\geq$  80 cm (kobiety) lub  $\geq$  94 cm (mężczyźni), cukrzyca występująca w rodzinie (rodzice bądź rodzeństwo), mała aktywność fizyczna, uprzednio

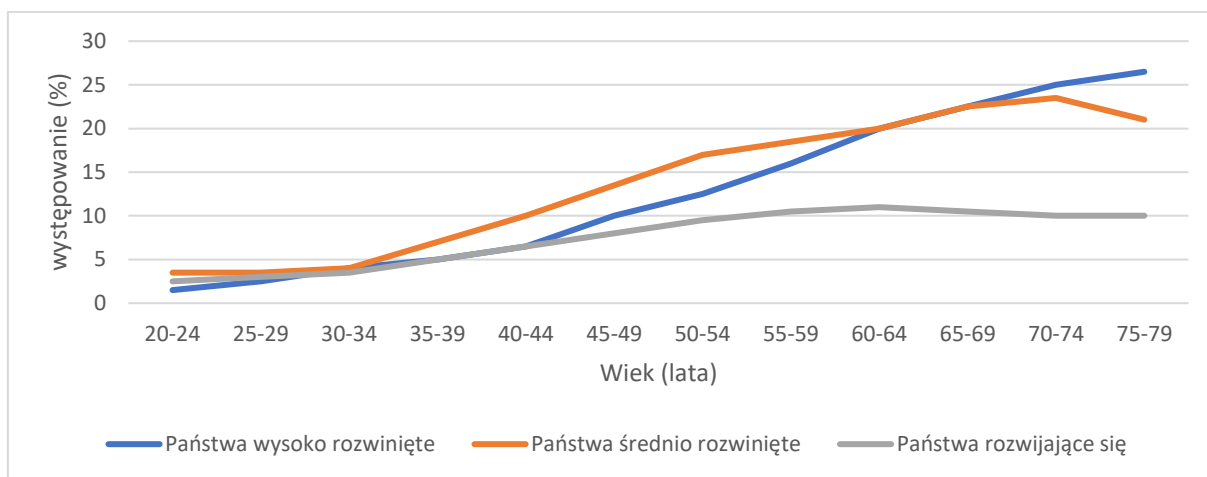
stwierdzone zaburzenia gospodarki węglowodanowej (IFG lub IGT), przebyta cukrzyca ciążowa, urodzenie dziecka o masie ciała >4 kg, nadciśnienie tętnicze ( $\geq 140/90$  mm Hg), niski poziom frakcji lipoprotein wysokiej gęstości (HDL, ang. *high-density lipoprotein*) <40 mg/dl lub stężenie triglicerydów >150 mg/dl, zespół policystycznych jajników, miażdżycowa choroba układu krążenia, mukowiscydoza (badanie 1x/rok od 10 roku życia) [14]. Nieprawidłowo kontrolowana cukrzyca prowadzi do powikłań narządowych [15]. Poprzez należyte wyrównanie metaboliczne u chorych na cukrzycę typu 2, u których powikłania już się rozwinęły, można spowolnić ich progresję [16]. Dążąc do jak najlepszego wyrównania metabolicznego cukrzycy precyzyjnie zdefiniowano cele w jej leczeniu, które obejmują uzyskanie wartości docelowych w zakresie glikemii, ciśnienia tętniczego, profilu lipidowego oraz prawidłowej masy ciała [17]: (1) u osób z cukrzycą ogólny cel wyrównania glikemii wyrażony wartością procentową hemoglobiny glikowanej (HbA1c)  $\leq 7,0\%$  (53 mmol/mol); (2) stężenie cholesterolu frakcji LDL (ang. *low-density lipoprotein*) <55 mg/dl (<1,4 mmol/l) i redukcja wartości tego parametru o co najmniej 50% w stosunku do wartości wyjściowej u osób z cukrzycą bardzo wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego; (3) stężenie cholesterolu frakcji LDL <100 mg/dl (2,6 mmol/l) u osób umiarkowanego ryzyka sercowo-naczyniowego (młode osoby <35. roku życia z cukrzycą typu 1 bez przewlekłych powikłań i innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego lub osoby z cukrzycą typu 2 <50. roku życia, z czasem trwania cukrzycy <10 lat, bez innych czynników ryzyka); (4) zalecana wartość ciśnienia tętniczego krwi: <130/80 mm Hg [17]. Zwraca się uwagę, aby nie oznaczać poziomu HbA1c, jeśli występują stany wpływające na wynik lub uniemożliwiające jego interpretację, takie jak hemoglobinopatie, niedokrwistości, stan po przetoczeniu koncentratu krwinek czerwonych, hipertriglicydemia, hiperbilirubiniemia, niewydolność nerek, dializoterapia, ciąża i połów, stosowanie erytropoetyny, marskość wątroby, przyjmowanie salicylanów w dużych ilościach



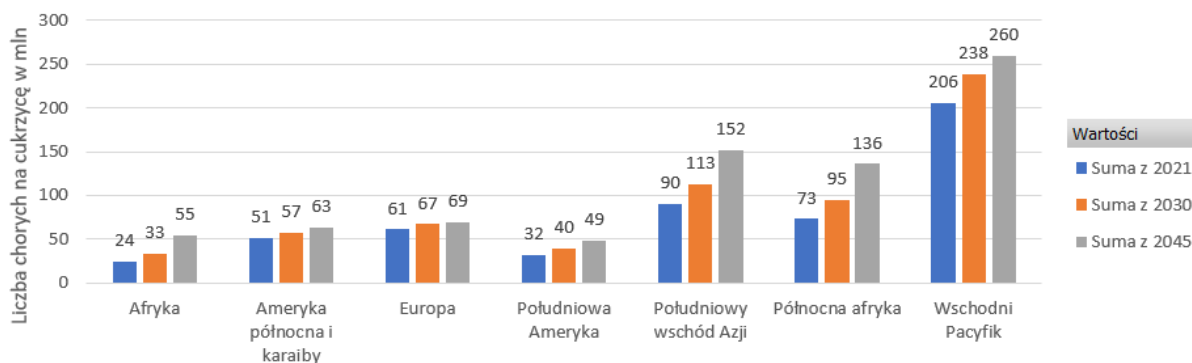
[18]. Wówczas należy posługiwać się kryteriami diagnostycznymi opartymi na stężeniu glukozy we krwi, jednakże dotychczas nie określono wskaźników precyzujących stopień wyrównania glikemii w tej grupie osób [18].

### 1.3. Epidemiologia wszystkich typów cukrzycy na świecie

Według Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF, ang. *International Diabetes Federation*) w 2019 roku na świecie z cukrzycą żyło około 463 mln osób (9,3% światowej populacji), z czego cukrzyca typu 2 stanowiła 85-90% wszystkich przypadków choroby [19]. Przewiduje się, że największe wzrosty w zachorowalności nastąpią na obszarach, gdzie gospodarki przechodzą ze statusu niskiego do średniego dochodu (Ryc. 1), przy czym do 2030 i 2045 roku liczba chorych na świecie wzrośnie odpowiednio do 578 i 700 milionów (Ryc. 2). Rozwój gospodarczy, modernizacja, spożywanie niezdrowej diety, starzenie się populacji i siedzący tryb życia to główne czynniki odpowiedzialne za narastającą epidemię cukrzycy [20]

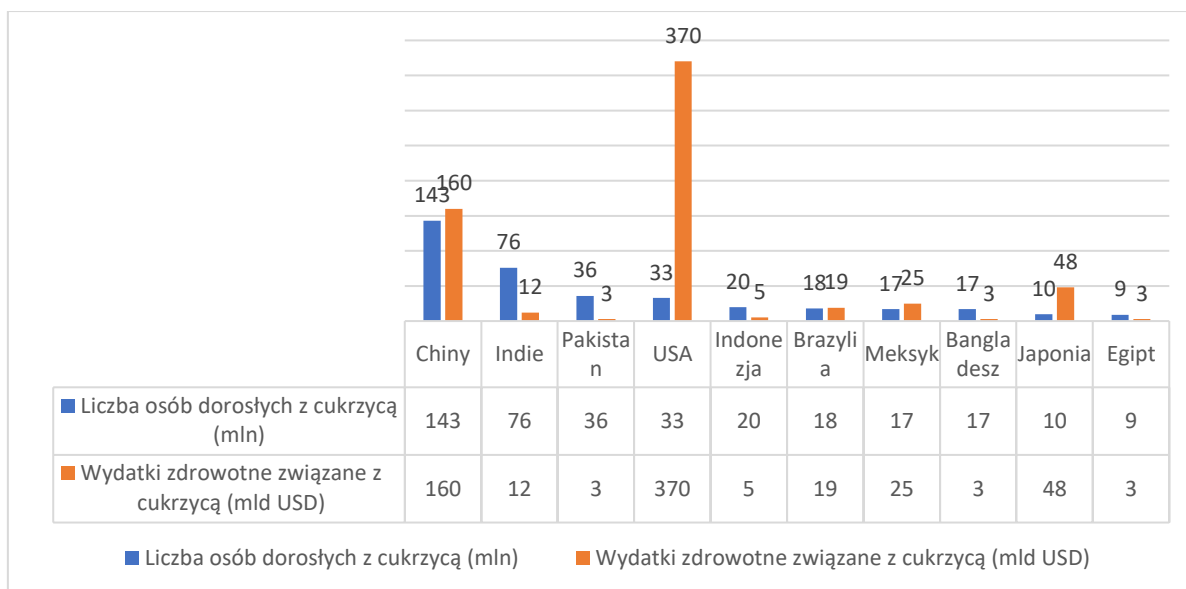


Ryc. 1 Rozpowszechnienie cukrzycy według wieku i grupy dochodowej (%), 2021 (opracowanie własne, na podstawie [21])



Ryc. 2 Liczba chorych na cukrzycę w wieku 20-79 lat z podziałem na państwa (opracowanie własne, na podstawie [21])

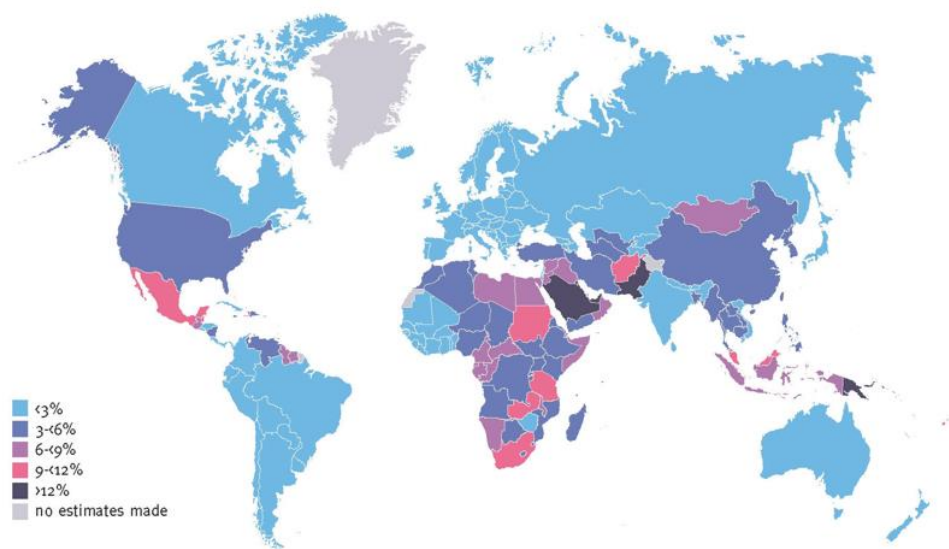
IDF przedstawiła dane dotyczące 10 krajów z największą liczbą chorych na cukrzycę w 2021 roku (Ryc. 3). Spośród wszystkich krajów znajdujących się w czołówce cztery z nich znajdują się w Azji [21]. Ze względu na szybką urbanizację, modernizację i rozwój gospodarczy Azji prognozuje się, że kontynent ten stanie się epicentrum światowej epidemii cukrzycy [22]. Powyższe czynniki powodują również znaczny wzrost liczby osób chorych na cukrzycę wśród krajów Zatoki Perskiej na Bliskim Wschodzie [23].



Ryc. 3 Państwa z największą liczbą osób chorych na cukrzycę w 2021 roku (opracowanie własne, na podstawie [21])

Szacuje się, że 4,2 mln zgonów wśród dorosłych w wieku 20-79 lat można przypisać cukrzycy (jeden na dziewięć zgonów), a cukrzyca przyczynia się każdego roku do 11,3% zgonów na świecie, przy czym jej udział waha się od 6,8% (najniższy) w regionie Afryki do 16,2% (najwyższy) na Bliskim Wschodzie i w Afryce Północnej [24] (Ryc. 4). Około połowa (46,2%) zgonów przypisywanych cukrzycy występuje u osób w wieku poniżej 60 lat, przy czym region Afryki ma najwyższy (73,1%), a region Europy najniższy (31,4%) odsetek zgonów przypisywanych cukrzycy u osób w tej grupie wiekowej [25].

Powyższe dane epidemiologiczne jednoznacznie wskazują, że zapobieganie cukrzycy i jej powikłaniom ma zasadnicze znaczenie, zwłaszcza w krajach o średnich dochodach, gdzie szacuje się, że obecny wpływ jest największy. Dla potwierdzenia tych szacunków potrzebne są współczesne dane z różnych populacji [25].



Ryc. 4 Odsetek osób (%), które zmarły z powodu cukrzycy przed 60 rokiem życia w 2021 roku (opracowanie własne, za [21]).

#### **1.4. Epidemiologia wszystkich typów cukrzycy w Polsce**

Częstość występowania cukrzycy rośnie szybciej w krajach o niskich i średnich niż w krajach o wysokich dochodach na osobę [26]. W przypadku Europy, w ostatnich latach standaryzowane wiekiem współczynniki zapadalności w części krajów uległy stabilizacji (m.in. w Danii, Szwecji, Norwegii) lub wzrosły nieznacznie (kraje Europy wschodniej, centralnej i południowej). Wzrost zachorowalności wynika m.in. ze wzrostu odsetka osób otyłych i spadku aktywności fizycznej [27].

W roku 2014 Polska była wśród 46 krajów europejskich na 13. miejscu pod względem największego odsetka dorosłych osób z cukrzycą wśród mężczyzn oraz na 15. miejscu pod względem największego odsetka osób z cukrzycą wśród kobiet [28].

Zgodnie z danymi Narodowego Funduszu Zdrowia (NFZ), w Polsce w latach 1980–2014 stale wzrastała liczba dorosłych osób chorych na cukrzycę [29]. W 2014 r. było 2,97 mln chorych w wieku powyżej 18 r.ż. W przypadku dorosłych mężczyzn liczba chorych wzrosła z 598 tys. w roku 1980 do 1 450 tys. w roku 2014 (wzrost o około 143%). W przypadku kobiet, liczba osób z cukrzycą wzrosła z 914 tys. w roku 1980 do 1 517 tys. w roku 2014 (wzrost o 66%). Dorosłe osoby chore na cukrzycę stanowiły w 2014 r. 9,5% populacji Polski. Odsetek ten był wyższy o 3,5% niż w 1980 roku.

##### **1.4.1. Epidemiologia rejestrowana**

W celu oszacowania skali występowania cukrzycy w Polsce posłużono się pojęciem chorobowości rejestrowanej, rozumianej jako liczba pacjentów, którym w danym roku lub poprzedzających trzech latach udzielono co najmniej jednego świadczenia finansowanego przez NFZ z rozpoznaniem cukrzycy (głównym lub współistniejącym) i którzy żyli na koniec danego roku [30].

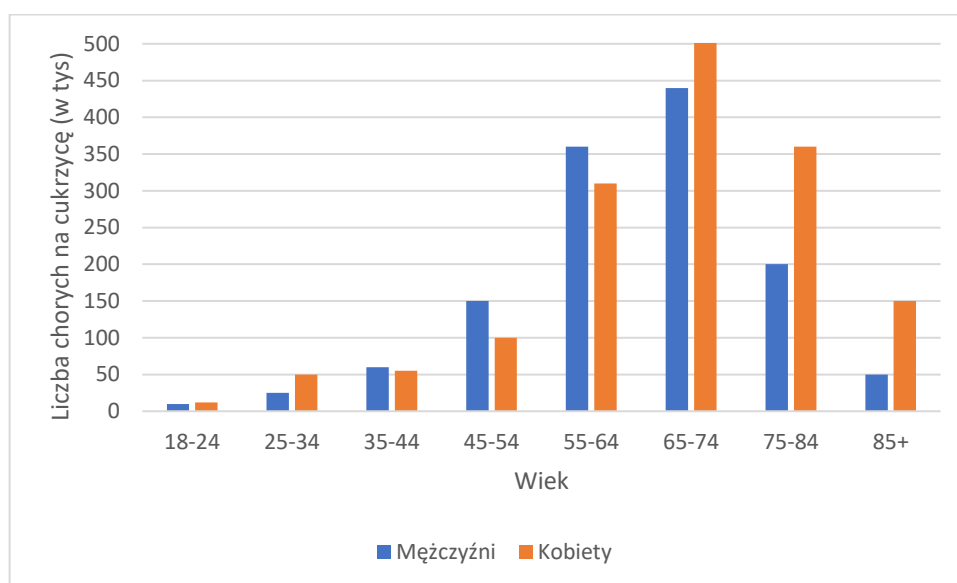
W 2018 r. w Polsce było 2,9 mln dorosłych osób chorych na cukrzycę, co odpowiada 9,1% populacji dorosłych (Tab. 1). W 2018 roku wśród chorych na cukrzycę było 1,3 mln dorosłych mężczyzn, co stanowi 8,6% dorosłej, męskiej populacji, a także 1,6 mln dorosłych kobiet, co przekłada się na 9,5% populacji dorosłych kobiet. W porównaniu z rokiem 2013 liczba dorosłych chorych wzrosła o 379 tys. (o 15,2%), co przekłada się na wzrost odsetka populacji dorosłych chorych na cukrzycę o 1,2 punktu procentowego (z 7,9% na 9,1%) [28].

Rok	Liczba chorych (w tys.)			% populacji dorosłych	Współczynnik chorobowości na 1000 dorosłych			Standaryzowany względem wieku i płci współczynnik chorobowości na 1 000 dorosłych		
	Ogółem	Kobiety	Mężczyźni		Ogółem	Kobiety	Mężczyźni	Ogółem	Kobiety	Mężczyźni
2013	2 485	1397	1088	7,9%	78,9	84,9	72,3	77,6	83,6	71,1
2014	2 550	1423	1127	8,1%	80,9	86,3	74,9	78,2	83,7	72,3
2015	2 613	1446	1167	8,3%	82,9	87,7	77,5	78,9	83,8	73,5
2016	2 709	1492	1217	8,6%	85,9	90,5	80,8	80,5	85,2	75,4
2017	2 794	1532	1262	8,9%	88,7	93,0	83,9	81,9	86,4	77,0
2018	2 864	1564	1300	9,1%	91,0	95,1	86,5	82,9	87,3	78,1

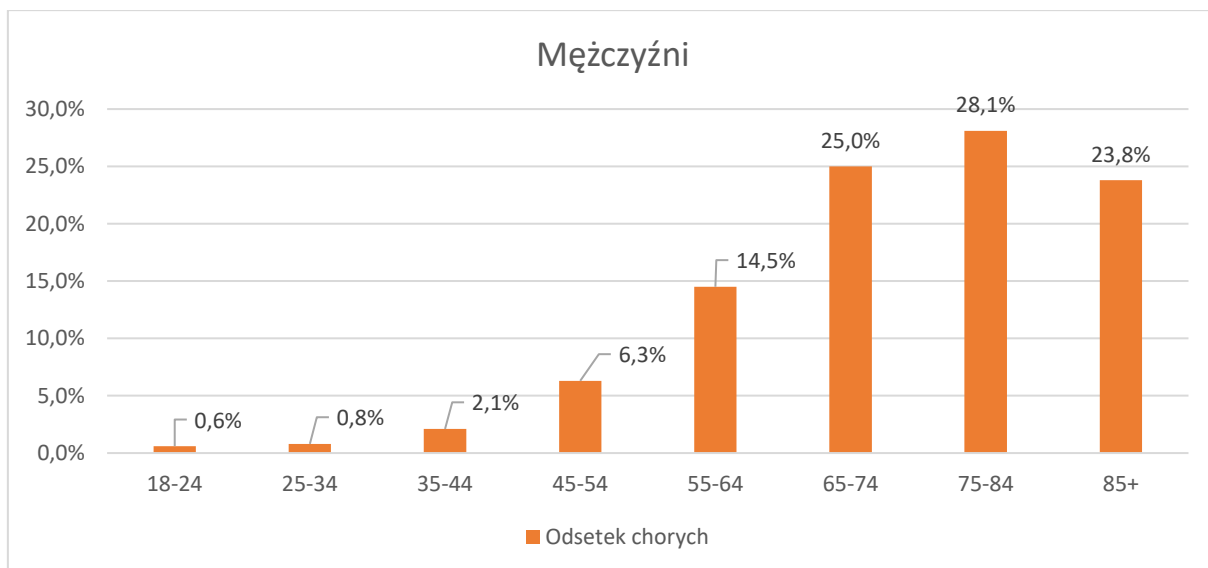
Tab. 1 Występowanie cukrzycy wśród osób dorosłych w Polsce (na podstawie danych o udzielonych świadczeniach) (na podstawie [28]).

Wśród dorosłych najliczniejszą grupę chorych na cukrzycę w 2018 r. stanowiła grupa kobiet w wieku od 65 do 74 lat (Ryc. 5). W przypadku mężczyzn, chorzy dominowali również w tej grupie wiekowej. Dla obydwu płci odsetek chorych w całej populacji wzrastał wraz z grupą wiekową aż do 85. r.ż. (Ryc. 6a, 6b). Największy udział chorych w 2018 roku przypadł na grupę od 75 do 84 r.ż. i wynosił odpowiednio 30% dla kobiet i 28,1% dla mężczyzn. W 2018 r. najwyższe współczynniki chorobowości na 1000 mieszkańców występowały w województwach śląskim (103) i łódzkim (101,4), natomiast najniższe w podlaskim (78,5) oraz podkarpackim (79,5) (Ryc. 7). Podobnie, standaryzowany względem ogólnopolskiej struktury

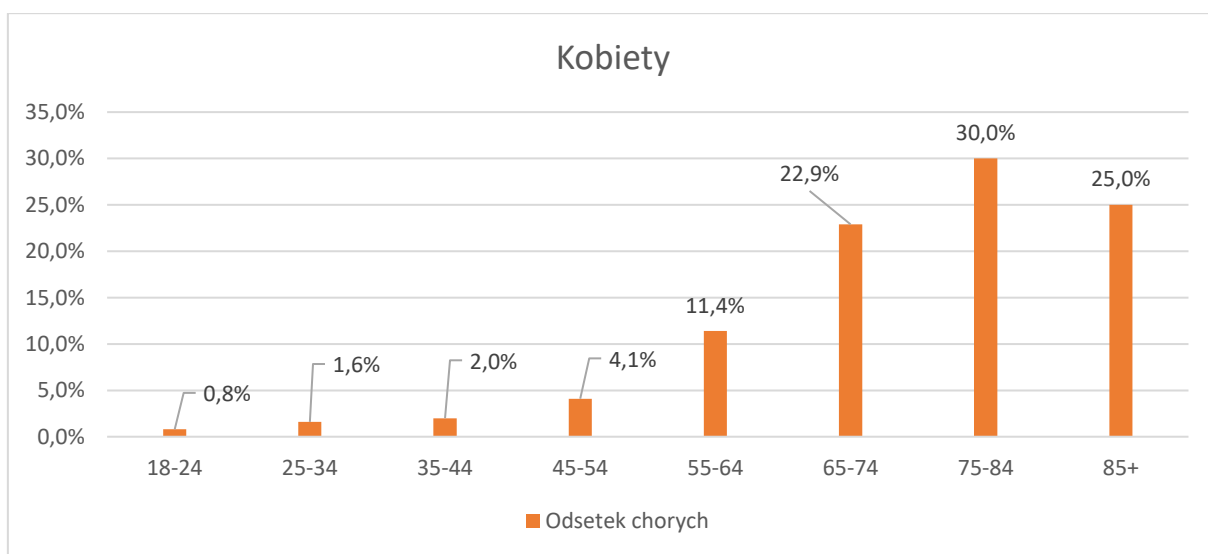
płci i grup wiekowych współczynnik chorobowości w 2018 r. osiągnął najwyższą wartość w województwie śląskim (99,0) oraz wielkopolskim (97,0), a najniższą w podlaskim (78,5) oraz podkarpackim (83,1) (Ryc.8).



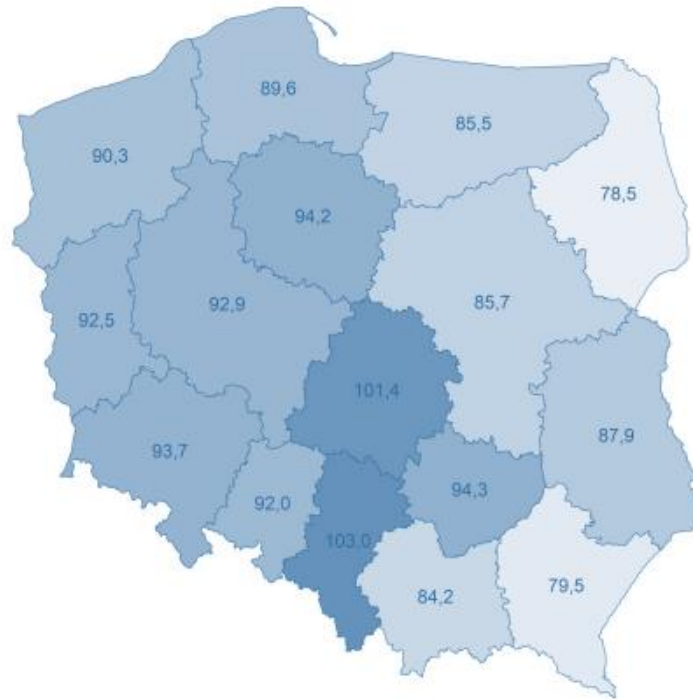
Ryc. 5 Liczba dorosłych osób chorych na cukrzycę wg płci i grup wiekowych (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28]



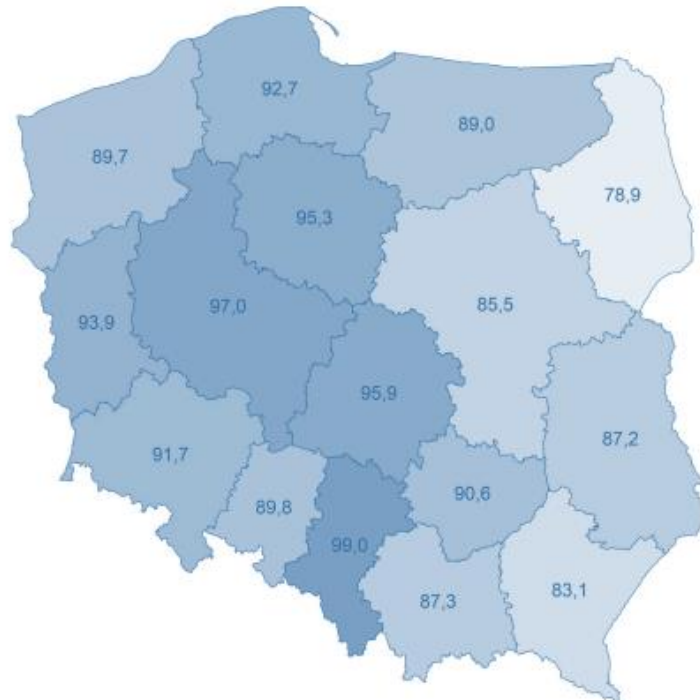
Ryc. 6a Odsetek dorosłych mężczyzn chorych na cukrzycę wg grup wiekowych (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28].



Ryc.6b Odsetek dorosłych kobiet chorych na cukrzycę wg grup wiekowych (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28].



Ryc. 7 Surowy współczynnik chorobowości dla cukrzycy wg województwa zamieszkania pacjenta (2018 r.) Opracowanie własne, na podstawie [28].



Ryc. 8 Standaryzowany względem ogólnopolskiej struktury wieku i płci w roku 2018 współczynnik chorobowości dla cukrzycy wg województwa zamieszkania pacjenta (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28].



Każdego roku, w latach 2013–2018, odnotowywano w systemie publicznym blisko 300 tys. nowych przypadków cukrzycy wśród osób dorosłych (Tab. 2). Liczba nowo rozpoznanych dorosłych osób z cukrzycą wzrastała (za wyjątkiem 2017 r.) - w 2013 r. odnotowano 301 tys. osób, w 2018 r. 343 tys. osób (wzrost o 13,7%). Współczynniki zapadalności wzrastały dla prawie każdej z grup wiekowych i dla grup wiekowych powyżej 45 r.ż. były wyższe u mężczyzn niż u kobiet (Tab. 2). Należy zauważyć, że przyjmując współczynniki zapadalności z 2013 r. oczekiwaloby się, że w 2018 r. zachorowalność na cukrzycę u dorosłych wyniesie 320,5 tys. Dane wskazują jednak, że w 2018 r. zachorowalność wynosiła 342,6 tys., co wskazuje, że w przybliżeniu za wzrost zachorowalności o 22 tys. odpowiadały czynniki inne niż demograficzne. Oznacza to, że za wzrost zachorowalności o 13,7% odpowiadały w połowie zmiany w strukturze demograficznej, a w połowie inne czynniki [28].

Rok	Zachorowalność (w tys.)			Współczynnik zapadalności na 1000 dorosłych osób		
	Ogółem	Kobiety	Mężczyźni	Ogółem	Kobiety	Mężczyźni
2013	301,4	163,0	138,4	9,6	9,9	9,2
2014	320,0	176,2	149,8	10,3	10,7	10,0
2016	331,3	177,7	153,5	10,5	10,8	10,2
2016	341,4	184,2	157,2	10,8	11,2	10,4
2017	337,0	181,0	155,1	10,7	11,0	10,3
2018	342,6	184,0	158,6	10,9	11,2	10,6

Tab. 2 Zachorowalność i współczynnik zapadalności na cukrzycę wśród dorosłych. Opracowanie własne, na podstawie [28].

## **1.5. Patofizjologia cukrzycy typu 2**

Analizując patofizjologię cukrzycy typu 2, można stwierdzić, iż nieprawidłowe funkcjonowanie pętli sprzężenia zwrotnego między działaniem insuliny, a jej wydzielaniem skutkuje nieprawidłowo wysokim stężeniem glukozy we krwi [31]. Komórki  $\beta$  trzustki tworzą miąższ wysepek Langerhansa i odpowiadają za wydzielanie insuliny, a w przypadku ich dysfunkcji wydzielanie tego hormonu jest zmniejszone, co ogranicza zdolność organizmu do utrzymania prawidłowego poziomu glukozy. Z drugiej strony, insulinooporność (IR, ang. *insulin resistance*) przyczynia się do zmniejszonego wychwytu glukozy zarówno w mięśniach, wątrobie, jak i tkance tłuszczowej. Nawet jeśli oba procesy zachodzą na wczesnym etapie patogenezy i przyczyniają się do rozwoju choroby, dysfunkcja komórek  $\beta$  jest zwykle bardziej nasiloną niż IR. Jednak w przypadku występowania zarówno dysfunkcji komórek  $\beta$ , jak i IR, hiperglikemia nasila się, prowadząc do progresji cukrzycy typu 2 (DM2, ang. *diabetes mellitus type 2*) [32].

### **1.5.1. Insulinooporność**

IR odnosi się do zmniejszenia odpowiedzi metabolicznej komórek reagujących na insulinę [33]. Następstwa IR obejmują m.in. hiperglikemię, upośledzenie układu sercowo-naczyniowego, przewlekły stan zapalny, zaburzenie równowagi w zakresie stresu oksydacyjnego oraz wystąpienie zespołu metabolicznego [33]. Na potrzeby naukowych rozważań, wyróżnić można trzy kategorie oporności na insulinę lub stanów niedoboru insuliny: (1) zmniejszone wydzielanie insuliny przez komórki  $\beta$ ; (2) obecność antagonistów insuliny w osoczu (hormony kontrregulacyjne lub cząsteczki niehormonalne), które upośledzają działanie receptorów insulinowych lub sygnalizację; (3) upośledzona odpowiedź na insulinę w tkankach docelowych [34]. Na działanie insuliny wpływa współdziałanie dodatkowych cząsteczek, w tym

hormonu wzrostu (GH, ang. *growth hormone*) i insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1, ang. *insulin-like growth factor*) w stanie odżywienia [35]. Podczas postu odpowiedź insulinowa jest antagonizowana przez glukagon, glikokortykoidy i katecholaminy, aby zapobiec hipoglikemii wywołanej insuliną [36]. Podczas gdy katecholaminy promują lipolizę i glikogenolizę, glikokortykoidy promują katabolizm mięśniowy, glukoneogenezę i lipolizę. Stąd nadmierne wydzielanie tych hormonów może być odpowiedzialne za indukowanie IR [36]. Jeśli chodzi o ostatnią kategorię, istnieją trzy główne pozatrzustkowe narządy wrażliwe na insulinę, które odgrywają istotną rolę w wyżej wymienionych procesach: mięśnie szkieletowe, tkanka tłuszczowa i wątroba. Wadliwe działanie insuliny w tych tkankach często poprzedza rozwój ogólnoustrojowej IR, a tym samym stopniowo prowadzi do DM2 [37].

#### **1.5.1.1. Metabolizm glukozy w mięśniach szkieletowych**

IR mięśni szkieletowych jest uważana za najważniejszy pozatrzustkowy czynnik rozwoju cukrzycy typu 2 [38]. W warunkach fizjologicznych insulina stymuluje syntezę glikogenu mięśniowego poprzez wychwyt glukozy z osocza. W wychwyt glukozy i syntezę glikogenu zaangażowane są trzy podstawowe czynniki limitujące tempo tego procesu: syntaza glikogenowa, heksokinaza i transporter glukozy GLUT4 (ang. *glucose transporter type 4*) (ang. *glucose transporter type 4*) (Cartee, 2015) Po związaniu insuliny z receptorem insulinowym (INSR, ang. *insulin receptor*), GLUT4 w komórkach mięśniowych ulega translokacji z przedziałów wewnątrzkomórkowych do błony plazmatycznej. Proces ten umożliwia wychwyt glukozy i zmniejsza krążące stężenie glukozy [40]. Mutacje genowe, które zmniejszają ekspresję receptora insulinowego lub GLUT4, jak również wszelkie defekty w ścieżce sygnalizacyjnej, zmniejszają pobór glukozy do mięśnia, skutkując stanem hiperglikemii [41]. Aktywacja aktywności kinazy tyrozynowej INSR jest niezbędna dla wpływu insuliny na

metabolizm glukozy [40]. Wiązanie się insuliny z podjednostką  $\alpha$  INSR powoduje fosforylację podjednostki  $\beta$  na wielu resztach tyrozynowych i umożliwia sygnalizację pośredniczoną przez insulinę. Zatem mutacje w którymkolwiek z głównych miejsc fosforylacji mogą upośledzać aktywność kinazy tyrozynowej INSR, a tym samym osłabiać działanie insuliny na mięśnie szkieletowe [42]

Oprócz mutacji czy wadliwej regulacji epigenetycznej istotną rolę w wychwycie glukozy przez mięsień mogą odgrywać również czynniki środowiskowe. Aktywność fizyczna zwiększa przepływ krwi do komórek mięśni szkieletowych, a tym samym zwiększa utylizację glukozy [37]. Otyłość, która wiąże się z przewlekłym stanem zapalnym, przyczynia się do rozwoju IR i DM2 [43]. Coraz więcej dowodów wskazuje, że w konsekwencji otyłości zwiększona infiltracja komórek odpornościowych i wydzielanie cząsteczek prozapalnych w międzykomórkowej i okołomięśniowej tkance tłuszczowej prowadzi do zapalenia mięśni szkieletowych. To ostatecznie prowadzi do zapalenia miocytów, upośledzenia ich metabolizmu i przyczynia się do nasilenia IR [43].

#### **1.5.1.2. Metabolizm glukozy w tkance tłuszczowej**

Tkanka tłuszczowa jest dynamiczną metabolicznie tkanką zdolną do syntezy szerokiej gamy biologicznie aktywnych związków, które regulują homeostazę metaboliczną na poziomie ogólnoustrojowym [44]. Insulina działa na tkankę tłuszczową na dwa różne sposoby: stymulując wychwyt glukozy i syntezę triglicerydów oraz hamując hydrolizę triglicerydów i indukując wychwyt wolnych kwasów tłuszczowych (FFA, ang. *free fatty acids*) i glicerolu z krążenia [45]. W stanie odżywienia GLUT4 umożliwia wychwyt glukozy z krwiobiegu do adipocytów, aktywując glikolizę. Następnie powstaje triacyloglicerol (TGA, ang. *triacylglycerol*), który jest magazynowany w kropelkach lipidowych. W stanie głodu, kropelki

TGA w adipocycie dostarczają FFA, które mogą być wykorzystane jako źródło energii [45]. Upośledzona odpowiedź tkanki tłuszczowej na stymulację insuliną jest znana jako „*adipose-IR*” (insulinooporność tkanki tłuszczowej). Adipose-IR może prowadzić do upośledzonego hamowania lipolizy, upośledzonego wychwytu glukozy i zwiększonego uwalniania FFA do osocza nawet w obecności wysokiego poziomu insuliny [46]. Wykazano, że nieprawidłowo zwiększona masa tkanki tłuszczowej i rozmiar adipocytów korelują dodatnio z patologicznym unaczynieniem, hipoksją, zwłóknieniem i nasileniem stanu zapalnego [47]. Przerośnięte adipocyty, jak również komórki odpornościowe rezydujące w tkance tłuszczowej przyczyniają się do zwiększenia poziomu krążących cytokin prozapalnych. Z kolei wzrost krążących cząsteczek prozapalnych, wraz ze wzrostem lokalnego uwalniania cytokin, takich jak czynnik martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ , ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), interleukina 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ , ang. *interleukin 1 $\beta$* ) oraz interleukina 6 (IL-6, ang. *interleukin 6*), ułatwia powstanie przewlekłego stanu zapalnego o niskim stopniu nasilenia [48]. Ten przewlekły stan zapalny jest uważany za kluczowy element w patogenezie IR i DM2 [49].

### **1.5.1.3. Metabolizm glukozy w wątrobie**

W wątrobie insulina nie tylko reguluje produkcję glukozy, ale także wpływa na metabolizm lipidów [50]. Współdziałanie glukagonu i insuliny pozwala na precyzyjną regulację wątrobowej produkcji glukozy. Podczas gdy glukagon indukuje ten proces, insulina działa jako silny inhibitor produkcji glukozy, gdy jej stężenie we krwi jest podwyższone [51]. Podobnie jak w przypadku pozostałych tkanek wrażliwych na insulinę, w stanie IR fizjologiczne poziomy krążącej insuliny są niewystarczające do wywołania prawidłowej odpowiedzi insulinowej w hepatocytach [52]. W wątrobie IR upośledza syntezę glikogenu, nie hamuje produkcji glukozy, nasila lipogenezę i zwiększa syntezę białek, takich jak prozapalne białko C-reaktywne (CRP,

ang. *C-reactive protein*). Nieprawidłowa produkcja białek prozapalnych, takich jak adipocytokiny i cytokiny, w połączeniu z warunkami takimi jak stres oksydacyjny, może prowadzić do stanu zapalnego odpowiedzialnego za niewłaściwą odpowiedź wątroby na insulinę [53].

### **1.6. Przewlekłe powikłania cukrzycy**

Do przewlekłych powikłań cukrzycy należą:

- 1) powikłania oczne – głównie retinopatia cukrzycowa (razem z nefropatią cukrzycową zaliczana do powikłań mikroangiopatycznych), zaćma, zaburzenia refrakcji, jaskra wtórna krwotoczna, upośledzenie ruchów gałki ocznej (mononeuropatia nerwu czaszkowego III, IV lub VI);
- 2) powikłania nerkowe – cukrzycowa choroba nerek (nefropatia cukrzycowa), nawracające zakażenia układu moczowego (sprzyja im pęcherz neurogeny hipotoniczny), martwica brodawek nerkowych, tubulopatie;
- 3) neuropatia cukrzycowa (czuciowo-ruchowa i autonomiczna);
- 4) powikłania makroangiopatyczne – związane głównie z przyśpieszonym rozwojem miażdżycy (cukrzyca jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy), charakteryzującej się rozwojem w młodszym wieku, rozszanymi zmianami w tętnicach o mniejszym kalibrze, upośledzeniem powstawania krążenia obocznego wskutek mikroangiopatii, bezbólowym przebiegiem zespołów miażdżycowych (przewlekłego zespołu wieńcowego, choroby tętnic obwodowych);
- 5) zespół stopy cukrzycowej – wskutek zmian mikro- i makroangiopatycznych oraz neuropatii;
- 6) powikłania kostne, stawowe i skórne [54].

### **1.6.1. Retinopatia cukrzycowa**

Retinopatia cukrzycowa rozwija się u większości chorych na cukrzycę [55]. Badania okulistyczne u chorych na cukrzycę typu 2 musi być wykonane w momencie rozpoznania choroby lub krótko po jej zdiagnozowaniu [56]. Powikłania związane z cukrzycą dotyczą wielu struktur anatomicznych w układzie wzrokowym. Najczęściej występującą, zagrażającą utratę wzroku, jest retinopatia cukrzycowa i związany z nią cukrzycowy obrzęk plamki [57]. Do czynników ryzyka rozwoju i progresji retinopatii cukrzycowej należą czas trwania cukrzycy — najsilniejszy czynnik prognostyczny rozwoju i progresji retinopatii cukrzycowej, niewyrównanie metaboliczne cukrzycy, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia gospodarki lipidowej, cukrzycowa choroba nerek, okres ciąży u kobiet chorujących na cukrzycę, okres dojrzewania, operacja zaćmy, stany po transplantacji nerki i trzustki lub tylko nerki [55].

### **1.6.2. Nefropatia cukrzycowa**

Cukrzycowa choroba nerek to czynnościowe i strukturalne uszkodzenie nerek, rozwijające się w wyniku przewlekłej hiperglikemii [58]. Nefropatia cukrzycowa jest jednym z najgroźniejszych przewlekłych powikłań mikronaczyniowych i główną przyczyną schyłkowej niewydolności nerek [59]. Cukrzycowa choroba nerek zwykle charakteryzuje się hiperfiltracją i albuminurią we wczesnych fazach, po których następuje stopniowe pogorszenie funkcji nerek [60]. Postać cukrzycowej choroby nerek może być różna, szczególnie u pacjentów z DM2, u których jednoczesna obecność innych patologii kłębuszków i cewek nerkowych oraz ciężka choroba naczyń obwodowych mogą stanowić istotne czynniki przyspieszające rozwój niewydolności nerek [61].

Czynniki przyspieszające postęp cukrzycowej choroby nerek dzielimy na:

1) podlegające modyfikacji – hiperglikemia, nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, czynniki nefrotoksyczne, aktywacja układu RAA, zakażenia układu moczowego, przeszkoda w odpływie moczu, dieta bogatosodowa i bogatobiałkowa, białkomocz, hiperkalcemia, wzmożony katabolizm;

2) niepodlegające modyfikacji – starszy wiek, płeć męska, czynniki genetyczne [58].

Śmiertelność z wszystkich przyczyn u osób z nefropatią cukrzycową jest około 30 razy większa niż u pacjentów z cukrzycą bez nefropatii, a zdecydowana większość tych pacjentów umiera z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego [62]. Bardzo ważne jest postępowanie w zakresie zaburzeń metabolicznych i hemodynamicznych w celu zapobiegania i opóźniania progresji cukrzycowej choroby nerek. Jednym z głównych sposobów leczenia jest zapewnienie jak najlepszego wyrównania metabolicznego cukrzycy [63].

### **1.6.3. Neuropatia cukrzycowa**

Neuropatia cukrzycowa jest najczęstszym przewlekłym powikłaniem cukrzycy. Wskutek zaburzeń metabolicznych i zmian w naczyniach odżywczych nerwów dochodzi do odcinkowej demielinizacji, zaniku i zwyrodnienia neuronów [64]. Wyróżnić należy: (1) neuropatię bólową (polineuropatia czuciowo-ruchowa), najczęściej występującą, która objawiać się może parestezjami w obrębie rąk i stóp, bolesnymi kurczami mięśni lub napadami bólu [65] oraz (2) neuropatię autonomiczną, która może się przejawiać nieodczuwaniem hipoglikemii, hipotensją ortostatyczną, zaburzeniami motoryki przewodu pokarmowego, zaburzeniami wzrodu u mężczyzn, zaburzeniami potliwości, smaku i wydzielania śliny [64], [65]. Jedynym sposobem przyczynowego leczenia neuropatii cukrzycowej jest optymalne wyrównanie glikemii [66].



### 1.7. Czynniki ryzyka cukrzycy typu 2

Czynniki ryzyka cukrzycy typu 2 obejmują złożone implikacje czynników genetycznych, metabolicznych i środowiskowych, które wzajemnie na siebie oddziałują, przyczyniając się do jej rozwoju. Na całym świecie stwierdzono, że zapadalność i chorobowość DM2 różnią się znacznie w zależności od pochodzenia etnicznego i regionu geograficznego, przy czym największe ryzyko występuje u Japończyków, Latynosów i rdzennych Amerykanów [67]. Wykazano wyższą zapadalność u Azjatów w porównaniu z białą populacją amerykańską i białą populacją w Wielkiej Brytanii [68], gdzie najwyższe ryzyko występuje wśród populacji czarnej [69]. Nie znaleziono jednoznacznych przyczyn, jednakże postulowano czynniki sprzyjające, takie jak współczesne czynniki stylu życia (prowadzące do otyłości), socjoekonomiczne i bezpośrednie skłonności genetyczne lub interakcje genów ze środowiskiem. Chociaż indywidualna predyspozycja do cukrzycy typu 2 wynikająca z niemodyfikowalnych czynników ryzyka (pochodzenie etniczne i predyspozycja genetyczna) ma silne podłoże genetyczne, dowody z badań epidemiologicznych sugerują, że wielu przypadkom DM2 można zapobiec poprzez poprawę głównych modyfikowalnych czynników ryzyka (otyłość, mała aktywność fizyczna i niezdrowa dieta) [70].

Otyłość ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) jest najsilniejszym czynnikiem ryzyka DM2 [71] i wiąże się z zaburzeniami metabolicznymi prowadzącymi do insulinooporności [72]. Siedzący tryb życia jest kolejnym czynnikiem ryzyka DM2, co wykazano w badaniu Women's Health Study, w którym stwierdzono zmniejszenie ryzyka rozwoju DM2 u uczestników spacerujących 2-3 h tygodniowo [73]. Aktywność fizyczna sprzyja redukcji wisceralnej tkanki tłuszczowej, która jest znanym czynnikiem ryzyka sprzyjającym rozwojowi insulinooporności [74]. Wykazano również, że ćwiczenia o umiarkowanej intensywności poprawiają wrażliwość na insulinę oraz zwiększają o 40% wychwyt glukozy [75]. Aktywność fizyczna przyczynia się też do redukcji

wykładników stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego, które są czynnikami predysponującymi do DM2 [76].

Zmniejszona aktywność fizyczna oraz otyłość, prowadzące do rozwoju DM2, wiążą się ze wzrostem stężenia markerów przewlekłego stanu zapalnego o niewielkim nasileniu [77]. Wówczas do krwiobiegu i w obrębie tkanek uwalniane są cząsteczki prozapalne, takie jak IL-6, CRP, TNF alfa czy IL-1, które indukują stan zapalny [78]. Istotnie, IL-1 bierze udział w odpowiedzi autoimmunologicznej przeciwko komórkom  $\beta$  trzustki, hamowaniu funkcji komórek  $\beta$  i aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego (NF- $\kappa$ B, ang. *kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), promując w ten sposób apoptozę [79]. Dane przedkliniczne sugerują, że zredukowanie stanu zapalnego mogłoby zapobiec rozwojowi cukrzycy w otyłości, co zostało poparte doświadczalnie na modelu zwierzęcym (myszy), u których wykazano, że usunięcie kompleksu inflamasomu NLRP3 (NLRP3, ang. *NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3*), odpowiedzialnego za produkcję IL-1 $\beta$  i IL-18, skutkowało poprawą wrażliwości na insulinę (Vandanmagsar et al., 2011). Utrata masy ciała, w celu uzyskania jej normalizacji pozostaje podstawową terapią poprawiającą wrażliwość na insulinę, a w niektórych okolicznościach zapobiega wystąpieniu cukrzycy typu 2 u osób z wcześniejszą chorobą otyłościową i stanem przedcukrzycowym [81]. Regularna aktywność fizyczna powoduje zwiększenie produkcji cytokin przeciwzapalnych, takich jak antagonistą receptora IL-1 (IL-1Ra, ang. *IL-1receptor antagonist*) i rozpuszczalny receptor TNF (s-TNF, ang. *soluble tumor necrosis factor receptor*), które są antagonistami odpowiednio IL-1 i TNF- $\alpha$ . Osoby o zwiększonej aktywności fizycznej wykazują również zmniejszone stężenia IL-6, IL-18 i CRP oraz niższy poziom leptyny, hormonu produkowanego przez tkankę tłuszczową [82]. Ćwiczenia fizyczne mogą redukować nasilenie stresu oksydacyjnego poprzez indukowanie syntezy związków o charakterze antyoksydacyjnym, takich jak glutation (GSH), główny nieenzymatyczny

antyoksydant, a także enzymy antyoksydacyjne, co prowadzi do długotrwałego zmniejszenia poziomu wolnych rodników [83].

### **1.7.1. Otyłość**

Otyłość to nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej w organizmie przekraczające jego fizjologiczne potrzeby i możliwości adaptacyjne, mogące prowadzić do pogorszenia jakości życia i niepełnosprawności [84]. Najczęstszą przyczyną powstawania otyłości jest utrzymywanie dodatniego bilansu energetycznego spowodowane przyjmowaniem większej ilości kalorii niż zużywa organizm [85]. Do częstych powikłań otyłości należą zespół metaboliczny, choroby układu krążenia, cukrzyca typu 2, a nawet przedwczesna śmierć, a nawet przedwczesna śmierć (Kyrou et al., 2000). Nadmierna masa ciała zwiększa ryzyko wystąpienia raka jelita grubego, piersi, macicy, przełyku, trzustki, pęcherzyka żółciowego oraz nerek [87]. Dość łatwą, szybką do wykonania i najbardziej popularną metodą pomiaru otyłości jest wskaźnik masy ciała BMI, obliczany jako iloraz masy ciała osoby (w kilogramach) podzielonej przez kwadrat jej wzrostu (w metrach) [88]. Wartość BMI pomiędzy 18,5 i 24,9 kg/m<sup>2</sup> klasyfikuje się jako normalną masę ciała. Osoby z BMI większym lub równym 25 do 29,9 kg/m<sup>2</sup> zaliczamy do osób z nadwagą. Otyłości przypisane jest natomiast BMI równe i większe 30kg/m<sup>2</sup>, przy czym wartości 30,0–34,99 kg/m<sup>2</sup> to I stopień otyłości, 35,0-39,99 kg/m<sup>2</sup> – II stopień otyłości,  $\geq 40,0$  kg/m<sup>2</sup> – III stopień otyłości (otyłość patologiczna) [89].

Wysokokaloryczna dieta zawierająca znaczne ilości nasyconych kwasów tłuszczowych i węglowodanów prostych, które podwyższają we krwi krążącej stężenie glukozy, frakcji lipoprotein bardzo małej gęstości (VLDL, ang. *very low density lipoprotein*) oraz chylomikronów (CM, ang. *chylomicron*), bogatych w TGA. W konsekwencji indukowany jest

skokowy wzrost stężenia reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*), co z kolei prowadzi do nieprawidłowej generacji cząsteczek zapalnych. Biorąc pod uwagę, że stan zapalny jest uznanym induktorem stresu oksydacyjnego, po obfitym posiłku dochodzi do synergistycznej interakcji pomiędzy tymi dwoma procesami, co w konsekwencji prowadzi do wzmocnienia szkodliwych efektów. Wzrost stężenia ROS w znacznym stopniu przyczynia się do patogenezy IR i DM2. Jak już wspomniano, dysfunkcje metabolizmu u osób otyłych prowadzą do rozwoju oporności na insulinę, a co za tym idzie, do rozwoju cukrzycy typu 2 [90].

### **1.7.2. Adipocytokiny**

Tkanka tłuszczowa składa się z adipocytów, tkanki łącznej i nerwowej oraz elementów układu immunologicznego [91]. U ssaków wyróżnić można głównie białą tkankę tłuszczową (WAT, ang. *white adipose tissue*) oraz brunatną tkankę tłuszczową (BAT, ang. *brown adipose tissue*) [92]. WAT magazynuje energię w postaci TGA w stanie nadmiaru energetycznego, uwalnia natomiast FFA w okresach głodu, co przemawia za tym, że tkanka ta stanowi najważniejszy bufor dla bilansu energetycznego [93]. BAT pełni głównie funkcje związane z termogenezą [94]. Według najnowszych doniesień tkanka tłuszczowa pełni rolę nie tylko magazynu energii pod postacią triglicerydów, ale również funkcje auto-, para- i endokrynne [95]. Komórki tkanki tłuszczowej, czyli adipocyty, wytwarzają hormony, nazwane adipokinami [96]. Adipocytokiny (adipokiny) mogą mieć działanie prozapalne (jak leptyna, rezystyna, wisfatyna, TNF- $\alpha$ , IL-6), jak i przeciwzapalne (jak adiponektyna, omentyna-1 czy adipolina); większość z nich wykazuje jednak działanie prozapalne [97].

#### **1.7.2.1. Leptyna**

W 1994 roku Zhang i współpracownicy zidentyfikowali leptynę jako produkt genu otyłości (*ob*) po scharakteryzowaniu genetycznie otyłych (*ob/ob*) myszy [98]. W następnym

roku czynnik ten został nazwany leptyną, od greckiego słowa *leptos*, oznaczającego cienki [99]. Leptyna reguluje przyjmowanie pokarmu, działając na centralny układ nerwowy: wysokie stężenie leptyny hamuje apetyt, natomiast niskie – pobudza [100], hormon ten reguluje więc również masę ciała, ponadto odgrywa istotną rolę we wzroście płodu, prozapalnej odpowiedzi immunologicznej, angiogenezie i lipolizie [101]. Badania wykazały, że stężenie krążącej leptyny zmniejsza się podczas postu lub restrykcji energetycznej [102], ale wzrasta podczas ponownego karmienia i/lub przekarmienia [103]. Efekty te dają obraz tego, jak różne ścieżki regulują system sygnalizacji leptyny w celu utrzymania odpowiedniej masy ciała. Przykładowo, gdy zwiększa się liczba komórek tłuszczowych, poziom leptyny proporcjonalnie wzrasta, a hormon wiąże się z receptorami leptyny (LEP-R, ang. *leptin receptor*) w mózgu, które wysyłają sygnały hamujące przyjmowanie pokarmu i zwiększające wydatek energetyczny [104]. Jednakże, gdy dodatni bilans energetyczny (tj., gdy spożycie kalorii przekracza wydatek energetyczny) jest utrzymywany przez dłuższy czas, dochodzi do przyrostu masy ciała [104]. Leptyna była początkowo rozważana do zastosowania w leczeniu otyłości, jednak stwierdzono, że osoby otyłe mają wysoki poziom krążącej leptyny i nie są wrażliwe na egzogenne podawanie tego hormonu [105]. Niemożność wywierania przez leptynę działania anoreksygennego u osób otyłych, a tym samym brak przydatności klinicznej leptyny w otyłości, określa się mianem leptynooporności. Zjawisko to nie zostało dotychczas wystarczająco scharakteryzowane [105]. Badania nad otyłością i kontrolą metabolizmu nadal koncentrują się na tym interesującym hormonie, ponieważ zapobieganie i leczenie leptynooporności stanowi jedno z największych wyzwań w leczeniu otyłości [106]. Niektóre rozważania opierają się na założeniu, że oporność na leptynę jest spowodowana upośledzonym transportem leptyny przez barierę krew-mózg, jednak ta koncepcja jest jeszcze niejasna [107]. Nieustannie odkrywane są nowe mechanizmy i szlaki aktywowane przez leptynę, wraz z rozwojem nowych

technik i kombinacji leków, które mogłyby poprawić skuteczność i bezpieczeństwo leptyny jako metody leczenia otyłości. Podejścia te odnawiają nadzieję na wykorzystanie leptyny jako skutecznej metody leczenia tej choroby [108].

#### **1.7.2.2. Rezystyna**

Rezystyna, bogaty w cysteinę polipeptyd kodowany przez gen *RETN*, została po raz pierwszy odkryta u myszy i zidentyfikowana jako wydzielany przez tkankę tłuszczową hormon łączący otyłość z IR [109]. U ludzi, rezystyna została scharakteryzowana jako hormon wydzielany przez komórki układu odpornościowego, zwłaszcza przez makrofagi i powiązana z wieloma reakcjami prozapalnymi, w tym zapaleniem tkanki tłuszczowej w wyniku infiltracji makrofagów [110]. Poziom rezystyny w osoczu jest skorelowany wprost proporcjonalnie z otyłością i IR, a myszy, którym podawano rezystynę oraz transgeniczne myszy z nadekspresją rezystyny wykazywały nietolerancję glukozy i upośledzenie wątrobowych reakcji na insulinę [111]. Rezystyna działa prozapalnie, poprzez stymulowanie syntezy cytokin prozapalnych, takich jak TNF- $\alpha$  i IL-6. Powoduje także IR, aktywując enzymy glukoneogenezy oraz wzmagając glikogenezę [112]. Sugeruje się, że oprócz działania obwodowego rezystyna może również działać ośrodkowo, bezpośrednio w mózgu, ponieważ stwierdzono jej obecność w ludzkim płynie mózgowo-rdzeniowym, co wskazuje na to, że przekracza barierę krew-mózg [113]. Rezystyna ludzka i mysia wykazują podobieństwa sekwencyjne i strukturalne, ale także różnice, które mogą tłumaczyć ich odmienne działanie [114]. U myszy, istnieją silne dowody związku wysokiego poziomu rezystyny w osoczu z otyłością i opornością na insulinę, sugerujące, że rezystyna może odgrywać ważną rolę w powstawaniu i progresji otyłości oraz oporności na insulinę poprzez generowanie przewlekłego stanu zapalnego [114]. U ludzi, związek między rezystyną a otyłością/IR jest nadal przedmiotem dyskusji i wymaga większej

liczby badań epidemiologicznych [114]. Rezystynę powiązano również z innymi chorobami przewlekłymi, takimi jak choroby sercowo-naczyniowe i nowotwory (rak piersi, płuca, gruczołu krokowego), gdzie w wielu badaniach zaproponowano ją jako marker biologiczny [115].

### **1.7.2.3. Wisfatyna**

Wisfatyna jest adipocytokiną o masie 52 kDa, po raz pierwszy opisaną w 2004 roku przez Fukuharę i współpracowników jako adipokina o działaniu insulinomimetycznym [116]. Nazwano ją wisfatyną, ponieważ uważano, że jest produkowana wyłącznie przez wisceralną tkankę tłuszczową [117]. W toku badań okazało się, że wisfatyna ma również inne źródła, takie jak podskórna tkanka tłuszczowa [118], mięśnie szkieletowe [119], wątroba [120], kardiomiocyty [121], czy kłębuszki nerkowe [122].

W badaniu na szczurach stwierdzono, że wisfatyna poprawia homeostazę glukozy u szczurów z cukrzycą poprzez zwiększanie uwalniania insuliny i wzrost wrażliwości podwzgórza, wykazując w ten sposób, że wisfatyna jest pozytywnym modulatorem homeostazy glukozy poprzez przekazywanie sygnałów z podwzgórza do tkanek obwodowych [123]. Wyższy poziom wisfatyny notowano u otyłych pacjentów z DM2 w porównaniu z otyłymi pacjentami bez DM2 [124]. Wysoki poziom wisfatyny u tych pacjentów był skorelowany ze wzrostem markerów zapalnych [124]. Wysoki poziom wisfatyny stwierdzany u pacjentów, którzy mają nieprawidłowo kontrolowane stężenie glukozy, może stanowić odpowiedź regulacyjną w próbie utrzymania homeostazy glukozy, ponieważ jednak wydzielanie insuliny/działanie insuliny jest u tych pacjentów upośledzone, dochodzi do zaburzenia równowagi w regulacji wisfatyny, z następowym wyraźnym wzrostem jej poziomu, przekraczającym wartość progową. Wzrost poziomu wisfatyny sprzyja uwalnianiu mediatorów zapalnych, o czym świadczy istotne powiązanie wysokiego poziomu wisfatyny z wysokim poziomem mediatorów

zapalnych niezależnie od obecności DM2 [125], sugerując rolę wisfatyny w rozwoju IR i DM2 w sposób zależny od dawki.

#### **1.7.2.4. Adiponektyna**

Kolejną, wartą uwagi adipokiną, jest adiponektyna. Adiponektyna jest cytokiną wydzielaną przede wszystkim przez tkankę tłuszczową [126]. Inne tkanki, takie jak osteoblasty, miocyty, hepatocyty wydzielają ją w bardzo małym stężeniu [127]. Zidentyfikowano dwa strukturalnie powiązane receptory: AdipoR1 (ang. *adiponectin receptor 1*) i AdipoR2 (ang. *adiponectin receptor 2*), które pełnią funkcję receptorów dla adiponektyny [128]. Adiponektyna ma właściwości przeciwcukrzycowe, przeciwzapalne i przeciwmiażdżycowe oraz promuje wrażliwość na insulinę [129]. Co ciekawe, pomimo tego, że dojrzałe adipocyty wydzielają adiponektynę, jej poziom w osoczu wykazuje odwrotną zależność od masy tkanki tłuszczowej. Osoby z otyłością mają niższy poziom adiponektyny we krwi niż osoby o prawidłowej masie ciała [130]. Tę samą ujemną korelację obserwuje się również w DM2 [130]. Hipoadiponektynemia w rozwoju DM2 upośledza metabolizm kwasów tłuszczowych i sprzyja przewlekłemu stanowi zapalnemu [131].

#### **1.7.2.5. Interleukina-6**

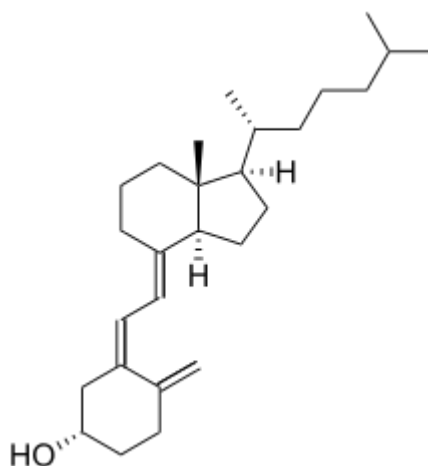
Interleukina 6 (IL-6, ang. *interleukin 6*) jest cytokiną o wielu fizjologicznych działaniach regulujących metabolizm [132]. Badania z zastosowaniem IL-6 u zdrowych ludzi wykazują zwiększone zużycie glukozy stymulowane insuliną, zwiększoną lipolizę, utlenianie glukozy i kwasów tłuszczowych oraz zwiększony wydatek energetyczny [133]. IL-6 jest jedną z szerzej poznanych cytokin kojarzonych z wystąpieniem stanu zapalnego w cukrzycy typu 2 [134]. Cytokina ta przyczynia się do rozwoju insulinoporności w przebiegu DM2 [135]. Eksperymenty *in vivo* i *in vitro* wykazały, że IL-6 stymuluje uwalnianie leptyny z



adipocytów [136], [137]. Podwyższone stężenia IL-6 są związane z otyłością i progresją cukrzycy, m.in. ze względu na fakt, iż interleukina ta ulega sekrecji w dużej ilości przez tkankę tłuszczową, tak więc wraz ze zwiększeniem masy tkanki tłuszczowej, wydzielanie przez nią IL-6 również jest zwiększone, co może następnie przyczynić się do rozwoju insulinooporności [138]. Właściwe ukierunkowanie szlaku sygnałowego IL-6 mogłoby być nowatorskim podejściem do osłabienia powikłań metabolicznych związanych z otyłością [139].

### **1.8. Witamina D**

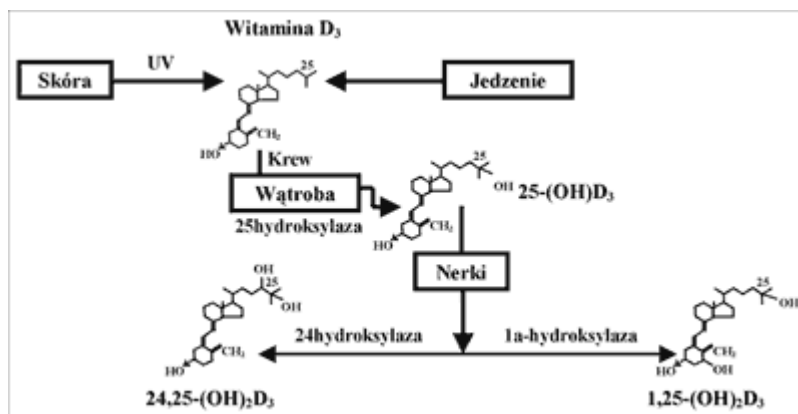
Termin witamina D odnosi się do dwóch związków: witaminy D2 (ergokalciferol) naturalnie występującej w organizmach roślinnych i drożdżach oraz witaminy D3 (cholekalcyferol, Ryc.9) występującej w organizmach zwierzęcych, która powstaje z 7-dehydrocholesterolu w wyniku syntezy skórnej pod wpływem promieniowania słonecznego UVB (ang. *ultraviolet light in the B*) [140]. W ten sposób powstaje aż 80–100% tej witaminy [141]. Efektywność skórnej syntezy witaminy D jest zależna od wielu czynników, takich jak szerokość geograficzna, pora roku, pora dnia, stopień zanieczyszczenia powietrza, czas ekspozycji na promieniowanie słoneczne, powierzchnia ciała poddana działaniu promieni słonecznych, stosowana ochrona przeciwsłoneczna (kremy z filtrami UV-B, odzież), wiek, pigmentacja skóry [142]. Podkreślić należy, że badania sposobu żywienia różnych populacji wykazały, iż w przypadku braku dodatkowego źródła witaminy D, jakim jest synteza skórna, nawet urozmaicona dieta nie pozwala pokryć dziennego zapotrzebowania na tę witaminę [143].



Ryc. 9 Wzór chemiczny witaminy D<sub>3</sub> (cholekalcyferolu) [142]

### 1.8.1. Metabolizm witaminy D

Pierwszy etap aktywacji metabolicznej witaminy D, którym jest hydroksylacja przy atomie C<sub>25</sub>, zachodzi w wątrobie. W wyniku hydroksylacji katalizowanej przez 25-hydroksylazę powstaje główny krążący we krwi metabolit witaminy D, czyli 25-hydroksywitamina D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> (kalcyfediol). Jest to bezsprzecznie forma zaopatrzenia organizmu w witaminę D, jednak metabolit ten ma słabą aktywność biologiczną [144]. Kluczowym miejscem metabolizmu witaminy D są nerki, gdzie w wyniku hydroksylacji, katalizowanej przez 1 $\alpha$ -hydroksylazę powstaje najbardziej aktywna forma, jaką jest kalcytriol - 1,25-dihydroksywitamina D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> [145]. Rycina 10 przedstawia schemat syntezy kalcytriolu w organizmie człowieka.



Ryc. 10 Przemiany witaminy D (za [142]).

### 1.8.2. Plejotropowe działanie witaminy D

Kalcytriol ma strukturę zbliżoną do hormonów steroidowych i wykazuje działanie hormonopodobne [146]. Oddziałuje na komórki docelowe przez receptor jądrowy VDR (ang. *vitamin D receptor*) [147]. Receptor VDR jest obecny w komórkach kostnych, kanalików nerkowych, a także nabłonka jelita. Ekspresja VDR została również zidentyfikowana praktycznie w każdej tkance człowieka, między innymi w sercu, ścianie naczyń krwionośnych, mózgu, gruczole krokowym, gruczole sutkowym, nadnerczach, komórkach β trzustki, jelicie cienkim, jelicie grubym, przytarczycach, limfocytach, makrofagach, keratynocytach i komórkach nowotworowych, co warunkuje plejotropowe działanie witaminy D [148]. Podstawową rolę witaminy D w organizmie człowieka jest regulacja gospodarki wapniowo-fosforanowej, poprzez wpływ na wydzielania parathormonu (PTH, ang. *parathyroid hormone*), absorpcję wapnia oraz wpływ na metabolizm kostny [149]. Poza działaniem na gospodarkę wapniowo-fosforanową, witamina D wpływa także na odpowiedź immunologiczną: (1) wpływa na różnicowanie aktywnych komórek T CD4<sup>+</sup>; (2) promuje różnicowanie monocytów w dojrzałe makrofagi; (3) przyczynia się do różnicowania linii monocytowo-makrofagowej; (4) zwiększa aktywność makrofagów i promuje ich aktywność przeciwbakteryjną i przeciwwirusową [150]. Hormon ten przyspiesza również dojrzewanie i różnicowanie

keratynocytów [150]. Kalcytriol wpływa ponadto na transport komórkowy jonów wapnia oraz syntezę aktyny niezbędnej dla prawidłowego funkcjonowania mięśni. Wykazano związek niedoboru witaminy D z miopatią [151]. Inne plejotropowe działanie witaminy D to działanie antykancerogenne, hamuje ona bowiem proliferację komórek nowotworowych [152]. Kalcytriol uczestniczy w regulacji produkcji progesteronu, estradiolu i estronu, co sugeruje jego ważną rolę w procesie folikulogenezy i owulacji, przez co może wpływać na płodność kobiet [153]. Dowiedziono, że witamina D powoduje zmniejszenie syntezy reniny, hamując w ten sposób działanie układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA, ang. *renin-angiotensin-aldosterone*), przez co umożliwia kontrolę objętości krążącej w ustroju krwi i przeciwdziała rozwojowi nadciśnienia tętniczego [154]. Niedobór witaminy D wiąże się z zastoinową niewydolnością serca, nagłym zawałem serca oraz chorobą niedokrwinną serca. Wyjaśnienia tych zjawisk upatruje się w fakcie, że witamina D wywiera efekt metaboliczny na kardiomiocyty oraz na mięśniówkę gładką i endometrium naczyń krwionośnych [154].

### **1.8.3. Wpływ witaminy D na gospodarkę wapniowo-fosforanową i układ kostny**

Witamina D odgrywa ważną rolę w metabolizmie wapnia i fosforu, pomaga zapewnić odpowiednie poziomy tych minerałów, utrzymując fizjologiczne funkcje metaboliczne i mineralizację kości [155]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D zwiększa efektywność jelitowego wchłaniania wapnia z 10-15% do 30-40% [156] poprzez receptor VDR i w następstwie promowanie ekspresji nabłonkowego kanału wapniowego i białka wiążącego wapń [157]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D zwiększa również jelitowe wchłanianie fosforu z 50-60% do około 80% [158]. Kalcytriol pośredniczy również w regulacji metabolizmu wapnia i fosforu poprzez regulację poziomu PTH, produkowanego przez przytarczyce. Może również bezpośrednio hamować syntezę PTH

poprzez bezpośrednią aktywację VDR [159]. Niedobór witaminy D wiąże się z niższym poziomem wapnia zjonizowanego w osoczu krwi, co jest bodźcem prowadzącym do wzrostu poziomu PTH. I odwrotnie, wyższe stężenie wapnia, które wiąże się z wyższym poziomem 25(OH)D, hamuje wydzielanie PTH [160]. PTH zwiększa reabsorpcję wapnia i zmniejsza reabsorpcję fosforu w kanalikach nerkowych [158]. PTH stymuluje również produkcję witaminy D [161]. Następnie wspólnie stymulują osteoblasty do mobilizacji szkieletowych zapasów wapnia [162]. Prawidłowe stężenie witaminy D ma zasadnicze znaczenie dla właściwego rozwoju szkieletu zarówno w życiu prenatalnym, jak i w dzieciństwie, a także dla osiągnięcia i utrzymania zdrowia kości u osób dorosłych [163]. U dzieci, niedobór witaminy D z poziomem <15 ng/mL powoduje dezorganizację i przerost chondrocytów oraz defekty mineralizacji szkieletu. Skutkuje to deformacjami kości i niskim wzrostem oraz krzywicą [164]. U dorosłych niskie stężenie witaminy D i wysokie stężenie PTH prowadzi również do niskiego iloczynu wapnia i fosforu w osoczu krwi, co skutkuje osteomalacją, czyli wadliwą mineralizacją kości, powodującą nieprawidłowości strukturalne i wiążącą się ze zwiększonym ryzykiem złamań [165]. Stwierdzono, że osteomalacja nie występowała u osób z poziomem witaminy D > 30 ng/mL, co sugeruje, że jest to minimalny poziom w surowicy dla utrzymania zdrowia kości. Nie udało się jednak określić minimalnego poziomu tej witaminy, który byłby nieuchronnie związany z defektami mineralizacji [166]. Ponieważ obniżenie stężenia 25(OH)D prowadzi do wtórnej nadczynności przytarczyc związanej z osteoklastogenezą i wzrostem resorpcji kości przewyższającym tworzenie kości przez osteoblasty, może to zwiastować i nasilać osteopenię i osteoporozę u dorosłych (Michael F Holick, 2007). Witamina D zapobiega rozwojowi osteoporozy poprzez utrzymywanie poziomu PTH na fizjologicznie zdrowym poziomie, stymulowanie aktywności osteoblastycznej i promowanie mineralizacji kości [168].

#### **1.8.4. Witamina D a otyłość**

W ostatnich doniesieniach hipowitaminozę D wiązano z ryzykiem wystąpienia IR, nieprawidłowej tolerancji glukozy, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego oraz otyłości typu wisceralnego, które mogą prowadzić do rozwoju DM2 [169]. W surowicy krwi otyłych osób obserwuje się obniżony poziom witaminy D, jednak etiologia tego zjawiska nie jest jeszcze w pełni poznana [170]. Wykazano, że związek między otyłością a hipowitaminozą D jest niezależny od suplementacji witaminy D i różnic dietetycznych, a także stwierdzono, że ryzyko niedoboru witaminy D jest skorelowane u osób z nadwagą i otyłością bardziej z nadmiarem tkanki tłuszczowej niż z niedostatecznym spożyciem tej witaminy [171]. Jedną z hipotez o przyczynach hipowitaminozy D u osób z chorobą otyłościową podaje, że tkanka tłuszczowa stanowi rezerwuar witaminy D, która jest związkiem rozpuszczalnym w tłuszczach, w związku z tym witamina D może gromadzić się w organizmie, gdzie jest szeroko rozprowadzana, ale głównie jest magazynowana w tkance tłuszczowej, a następnie stopniowo uwalniana. U osób otyłych powiększona pula trzewnej i podskórnej tkanki tłuszczowej prawdopodobnie zatrzymuje witaminę D i jej metabolity, zmniejszając ich biodostępność [171]. Dodatkowo, osoby otyłe mają zmniejszony zakres ekspozycji na światło słoneczne z powodu mniejszej aktywności fizycznej i mobilności, a także często z powodu stresu psychologicznego [172]. Co interesujące, wykazano, że u osób otyłych wzrost stężenia witaminy D po ekspozycji na promieniowanie UVB jest o 57% niższy niż u osób z prawidłową masą ciała [173]. Innym prawdopodobnym mechanizmem obniżonego stężenia witaminy D u osób otyłych jest zwiększona synteza aktywnego metabolitu witaminy D w nerkach, co w mechanizmie ujemnego sprzężenia zwrotnego hamuje jej produkcję w wątrobie [174].

### 1.8.5. Witamina D a cukrzyca typu 2

Stwierdzono, że dysregulacja szlaków sygnalizacyjnych insuliny oraz zaburzenie funkcjonowania komórek  $\beta$  wysp trzustkowych spowodowane niedoborem witaminy D mogą należeć do istotnych czynników powodujących zmniejszenie wrażliwości na insulinę, z kolei IR jest czynnikiem promującym rozwój DM2 [175]. Ponadto zaobserwowano również, że witamina D *in vivo* zwiększa ekspresję transportera glukozy GLUT4 w komórkach mięśniowych i promuje jego translokację w adipocytach w modelu zwierzęcym [176](Gomes Castro et al., 2014). Jak wykazano powyżej, ważnym aspektem, łączącym otyłość i IR, jest przewlekły stan zapalny o niskim stopniu nasilenia, często obserwowany u osób otyłych, co stanowi bezpośrednią konsekwencję zwiększonej produkcji cytokin prozapalnych przez makrofagi i adipocyty [177]. Udowodniono, że u osób z chorobą otyłościową niedobór witaminy D koreluje z nasileniem stanu zapalnego i zmniejszoną wrażliwością na insulinę, podczas gdy suplementacja witaminą D poprawia te czynniki [178]. Witamina D indukuje mniejsze uwalnianie chemokin i cytokin przez adipocyty oraz chemotaksję monocytów, przez co wykładniki przewlekłego stanu zapalnego ulegają redukcji [178].

Kolejnym czynnikiem, który może stanowić potencjalny związek między niedoborem witaminy D a insulinoopornością jest adiponektyna, wydzielana przez tkankę tłuszczową w stosunku odwrotnym do masy ciała i BMI. Należy wskazać, że niskie krążące poziomy obu tych substancji wiążą się z upośledzoną wrażliwością na insulinę, niezależnie od stopnia otyłości [179]. Wykazano, że adiponektyna ma działanie uwrażliwiające na insulinę w tkankach obwodowych, a także modulujący wpływ na glukoneogenezę, a jej receptory ulegają ekspresji także w komórkach  $\beta$  trzustki [180]. Sposób, w jaki witamina D współdziała z adiponektyną, nie jest dobrze poznany. Prawdopodobnie są one powiązane, ponieważ adiponektyna i metabolizm glukozy są regulowane przez osteokalcynę, białko pochodzące z osteoblastów, na

które z kolei wpływa witamina D [181]. Reasumując powyższe, utrata funkcji immunomodulującej witaminy D oraz zaburzenia w syntezie i wydzielaniu insuliny tłumaczą większe ryzyko cukrzycy u osób z hipowitaminozą D.

### **1.9. Równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna**

ROS są produkowane przez żywe organizmy w wyniku zarówno fizjologicznego metabolizmu komórkowego, jak i w stanach patologii [182]. W warunkach fizjologicznych nasiloną ich produkcja następuje podczas oddychania komórkowego, syntezy tlenku azotu, reakcji Fentona z udziałem metali grup przejściowych (np.  $Fe^{2+}$ ), czy podczas aktywności oksydazy NADPH neutrofilii [183]. W niskich stężeniach, ROS biorą udział w fizjologicznych procesach komórkowych (między innymi indukują apoptozę, stymulują transport glukozy do komórek oraz transport serotoniny do płytek krwi, regulują ekspresję genów, uczestniczą w podziałach komórkowych) [184], natomiast w zbyt wysokich stężeniach powodują niekorzystne modyfikacje składników budulcowych komórek: lipidów, białek i kwasów nukleinowych [185]. Szybkość i ilość powstających ROS powinna pozostawać w równowadze z ich neutralizowaniem przez mechanizmy antyoksydacyjne [186]. Organizmy tlenowe mają zintegrowane systemy antyoksydacyjne, obejmujące enzymatyczne i nieenzymatyczne antyoksydanty, które są zwykle skuteczne w blokowaniu szkodliwego wpływu ROS [187]. Jednak w warunkach patologicznych systemy antyoksydacyjne mogą zostać przeciążone. Zachwianie tej równowagi, związane najczęściej z nadprodukcją ROS i przesunięciem w kierunku procesów utleniania określane jest mianem „stresu oksydacyjnego” [188]. Nasilony stres oksydacyjny przyczynia się do wielu stanów patologicznych, w tym nowotworów, zaburzeń neurologicznych, miażdżycy, nadciśnienia, cukrzycy, zespołu ostrej niewydolności oddechowej, idiopatycznego zwłóknienia płuc, przewlekłej obturacyjnej choroby płuc oraz



astmy [189]. Do najważniejszych ROS należą anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\bullet-}$ ), rodnik hydroksylowy ( $HO\bullet$ ), rodnik wodoronadtlenkowy ( $HO_2\bullet$ ), rodnik alkoksylowy ( $RO\bullet$ ) oraz związki niebędące wolnymi rodnikami (nie posiadają niesparowanego elektronu): nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ), czy ozon ( $O_3$ ) [190]. Tkanka tłuszczowa, będąca narządem dokrewnym, wydzielającym adipocytokiny, które w większości działają prozapalnie, przyczynia się do podwyższonego poziomu stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów oraz zmniejszonej aktywności enzymów antyoksydacyjnych [191]. Produkcja ROS w tkance tłuszczowej następuje w wyniku nadmiernego spożycia pokarmów [192]. Warto zauważyć, że adiponektyna, jako jedna z nielicznych adipokin, działa przeciwzapalnie. Stężenie tego hormonu w otyłości zmniejsza się [193]. Poprzez zmniejszenie ekspresji tego hormonu u osób otyłych zmniejsza się również jego rola w poprawie wrażliwości na insulinę [194]. W efekcie u osób otyłych nasila się IR, która to prowadząc do wzrostu glikemii wiąże się z nasileniem stresu oksydacyjnego, predysponując kolejno do rozwoju DM2 [195].

### **1.9.1. Wpływ reaktywnych form tlenu na biomolekuły**

Szkodliwe działanie ROS w komórce w stanie stresu oksydacyjnego obejmuje nieodwracalne uszkodzenia DNA lub RNA, peroksydację lipidów oraz utlenianie białek (w tym białek enzymatycznych) obecnych w cytozolu komórki. W wyniku utleniania następują modyfikacje składników budulcowych komórki, uniemożliwiając im pełnienie pierwotnych funkcji [196].

Modyfikacje oksydacyjne w białkach są uważane za oznaki uszkodzenia przez stres oksydacyjny i starzenie [197]. Oksydanty mogą generować ogromną różnorodność modyfikacji w łańcuchach bocznych aminokwasów, jak również w szkielecie białek, a te postranslacyjne

zmiany mogą przyczyniać się do aktywacji szlaków transdukcji sygnału, a także pośredniczyć w szkodliwym działaniu oksydantów [198]. Najczęstszym mediatorem uszkodzenia oksydacyjnego białek jest rodnik hydroksylowy [188]. Również anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru uszkodzają białka w tym mechanizmie [188]. Wyróżniono trzy różne rodzaje oksydacyjnego uszkodzenia białek: (1) utlenianie bocznej grupy funkcyjnej aminokwasów, w której grupa tiolowa cysteiny lub grupa siarkowa metioniny są głównym celem reakcji utleniania; (2) utlenianie szkieletu węglowo-azotowego białka; (3) tworzenie pochodnych karbonylowych aminokwasów poprzez bezpośrednie utlenianie łańcucha bocznego aminokwasów (najczęściej lizyna, arginina, treonina) [199]. Pochodne te (np. karboksymetylolizyna) są wskaźnikami oksydacyjnych uszkodzeń białek [200]. Białka, które uległy nieodwracalnym zmianom są usuwane przez proteazy, jednak w miarę starzenia się komórek, kiedy ich aktywność enzymatyczna zmniejsza się, uszkodzone białka gromadzą się w komórce [201]. Utlenianie białek może prowadzić do rozerwania łańcucha polipeptydowego, pojawienia się zmienionych reszt aminokwasowych oraz tworzenia się agregatów białkowych, bądź modyfikacji ich struktury, czyli błędnego fałdowania [202]. W konsekwencji powyższe zmiany powodują utratę aktywności funkcjonalnej, przede wszystkim enzymów, białek regulatorowych i transporterów błonowych [202].

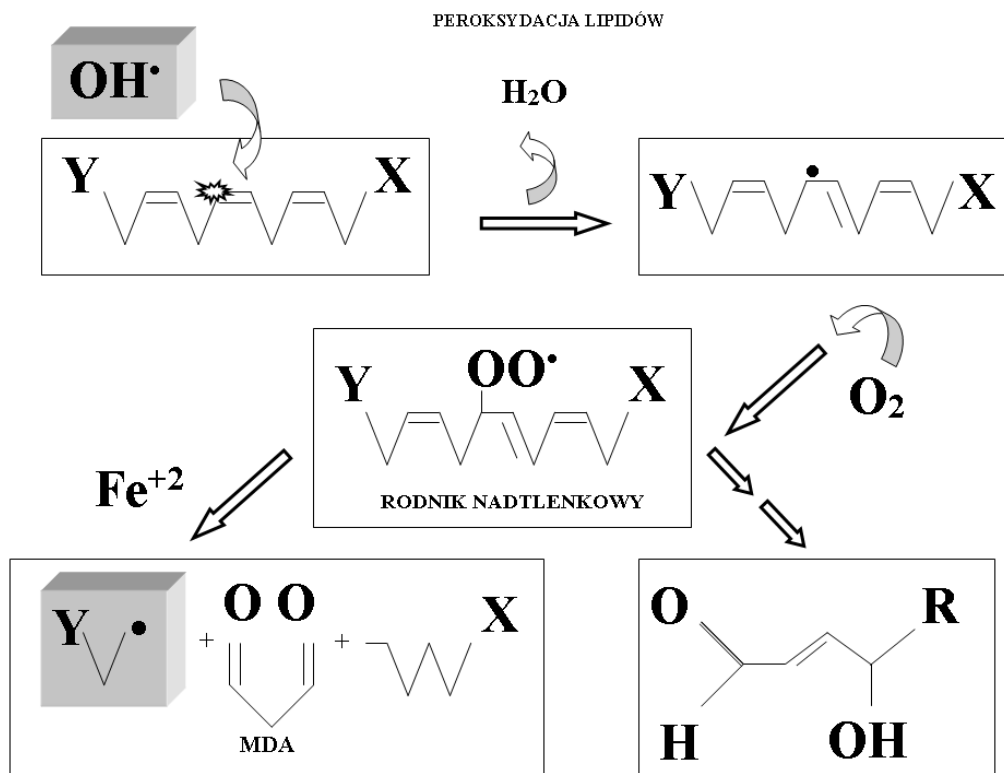
Poznanie procesu uszkodzenia DNA przez ROS, pochodzące ze źródeł endogennych lub egzogennych, stanowiło istotny przełom w badaniach nad kancerogenezą w ciągu ostatnich 20 lat [203]. Kwasy nukleinowe cechują się większą stabilnością niż białka bądź lipidy [204]. W cząsteczce DNA, ROS reagują z zasadami azotowymi i deoksyrybozą, powodując istotne reakcje oksydacyjne [205]. Może to prowadzić do mutacji, kancerogenezy, apoptozy, nekrozy i chorób dziedzicznych: dochodzi do fragmentacji DNA, wymuszonej pękaniem nukleosomów, co powoduje problemy w kondensacji i zwijaniu DNA w obrębie chromatyny, która odgrywa

ważną rolę w regulacji transkrypcji genów [206]. W związku z tym, zmiany właściwości funkcjonalnych chromatyny mogą skutkować błędami prowadzącymi do mutagenезy. Mutacje zachodzące pod wpływem ROS są charakterystyczne również dla genomu mitochondrialnego, gdzie modyfikacje te gromadzą się w miarę dojrzewania komórek i zakłada się, że są wywoływane przez długotrwały stres oksydacyjny [207]. Wykazano, że powyższe mechanizmy indukują zaburzenia mitochondrialnego DNA (mtDNA) w neuronalnych chorobach degeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, choroba Parkinsona i stwardnienie zanikowe boczne (ALS, ang. *amyotrophic lateral sclerosis*) [208].

Najbardziej podatne na utlenianie są lipidy, w tym głównie wielonienasycone kwasy tłuszczowe, zwłaszcza kwas arachidonowy i dokozaheksaenowy, a proces ten prowadzi do utworzenia wysoce toksycznych produktów końcowych, takich jak aldehyd dimalonowy (MDA, ang. *malondialdehyde*) i 4-hydroksynonenal (4-HNE, ang. *4-hydroxy-2-nonenal*), które uznano za markery oksydacyjnej destrukcji lipidów [209].

### **1.9.2. Peroksydacja lipidów**

Błony komórkowe są szczególnie wrażliwe na uszkodzenia przez ROS z uwagi na obecność wielonienasyconych kwasów tłuszczowych; wolny rodnik utleniania nienasyconych łańcuchów lipidowych, co prowadzi do powstania hydroperoksydowanego lipidu i rodnika alkilowego. Ta lipoperoksydacja powoduje zmiany w strukturze błony, wpływając na jej płynność, uszkadzając jej integralność i prowadząc do wytworzenia rodnika alkilowego [210]. W wyniku ciągłej asocjacji wolnych rodników tlenowych z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi w procesie peroksydacji lipidów powstaje szereg niezwykle reaktywnych aldehydów [211]. Proces ten jest przedstawiony na Rycinie 11.

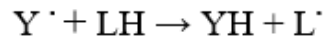
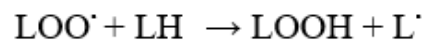
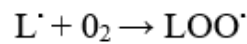
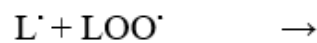


Ryc. 11 Proces wolnorodnikowego utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych, w wyniku którego powstają nadtenki (za [209]).

Peroksydacja lipidów to łańcuchowy proces o przebiegu wolnorodnikowym, zatem wyróżnić można trzy etapy: inicjację, propagację i terminację [212] (Ryc. 12). Inicjacja peroksydacji lipidów polega na oderwaniu cząsteczki wodoru od cząsteczki nienasyconego kwasu tłuszczowego wchodzącego w skład fosfolipidów, głównych składników budulcowych błony komórkowej (głównie fosfatydylocholiny i fosfatydyloetanolaminy). W reakcji propagacji wolne rodniki alkilowe reagują z tlenem dając wolne rodniki nadtlenkowe ( $\text{LOO}^\bullet$ ), a w końcu nadtlenek kwasu tłuszczowego. Reakcja terminacji może zachodzić między dwoma rodnikami alkilowymi, nadtlenkowymi lub dwoma rodnikami występującymi w układzie. Produktami tej reakcji są zmodyfikowane, uszkodzone cząsteczki lipidów [213].

**INICJACJA**

generowanie rodników  $\rightarrow Y \cdot$

**PROPAGACJA****TERMINACJA**

Produkty nierodnikowe



Ryc. 12 Etapy peroksydacji lipidów L-cząsteczka wielonienasyconego kwasu tłuszczowego, L•- wolny rodnik alkilowy, LOO•- wolny rodnik nadtlenkowy. Opracowanie własne, wg [213]

Stres oksydacyjny jest ważnym czynnikiem wyzwalającym utlenianie lipidów [214]. Utleniona lipoproteina o niskiej gęstości (oxLDL, ang. *oxidized low-density lipoprotein*) jest dobrze rozpoznaną cząsteczką proaterogenną, która funkcjonuje w miażdżycy [215]. Wzrost stężenia krążącego oxLDL uważa się za główny czynnik przyczyniający się do indukcji komórek piankowatych w śródbłonku tętnic, gdzie masywny wychwyt oxLDL przez makrofagi odbywa się za pośrednictwem receptorów zmiatających oraz podobnego do lektyny receptora dla oxLDL typu 1 (LOX-1, ang. *lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1*) [216]. Po

internalizacji dużych ilości oxLDL, komórki makrofagów przekształcają się w komórki piankowe z cytoplazmą wypełnioną lipidami [217]. Pojawienie się takich komórek jest specyficzną cechą wczesnych zmian miażdżycowych [218]. Natywny niemodyfikowany LDL również może wywoływać powstawanie komórek piankowatych, ale jego stężenie musi być około 40 razy większe niż w przypadku oxLDL [219]. W zapaleniu związanym z miażdżycą napływ makrofagów regulowany jest przez liczne cytokiny i chemokiny, a równowaga między sygnałami pro- i przeciwzapalnymi decyduje o stabilności blaszki miażdżycowej [220]. Dyslipidemia aterogenna jest najczęstszym zaburzeniem lipidowym występującym w DM2, co sprzyja szybszemu rozwojowi miażdżycy [221].

#### **1.10. Mechanizmy obrony przed stresem oksydacyjnym**

Ewolucyjne przystosowania organizmów do metabolizmu tlenowego wymagało wykształcenia przez nie systemów obronnych, regulujących procesy oksydacyjno-antyoksydacyjne, przeciwdziałających powstającemu stresowi oksydacyjnemu i naprawiające zaistniałe uszkodzenia biomolekuł [222]. W skład tych mechanizmów obronnych wchodzi enzymy, takie jak dysmutazy ponadtlenkowe (SODs, ang. *superoxide dismutases*), katalaza (CAT, ang. *catalase*), peroksydazy glutationowe (GPxs, ang. *glutathione peroxidases*), a także endo- i egzogenne nieenzymatyczne związki niskocząsteczkowe (antyoksydanty), takie jak GSH, kwas moczowy, koenzym Q, białka osocza krwi, witaminy A, E, C oraz melatonina, które podlegając działaniu ROS stanowią obronę dla składników budulcowych komórki [223].

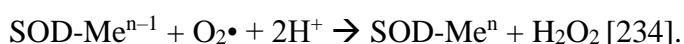
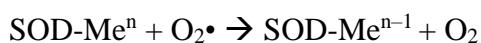
### **1.10.1. Enzymy antyoksydacyjne**

W warunkach stresu oksydacyjnego, wzrost ilości ROS jest ściśle skorelowany z cytotoksycznością [224], w efekcie enzymy antyoksydacyjne mogą ulegać uszkodzeniom, skutkującym modyfikacjami ich aktywności lub ich inaktywacją [225]. Pojawienie się odpowiedzi w postaci przeciwutleniaczy może zapobiegać oksydacyjnemu uszkodzeniu enzymów, kanałów jonowych, białek strukturalnych, czy lipidów błonowych [226]. Enzymy antyoksydacyjne można podzielić ze względu na mechanizm działania: wyróżniamy enzymy prewencyjne (zapobiegają reakcji ROS ze składnikami komórki), interwencyjne (przerywają kaskadę ROS), naprawcze (eliminują negatywne skutki działania ROS) [227].

#### **1.10.1.1. Dysmutazy ponadtlenkowe (SODs)**

SODs to enzymy z grupy oksydoreduktaz katalizujące dysmutację anionorodnika ponadtlenkowego [228]. Po raz pierwszy dysmutaza ponadtlenkowa została wyizolowana w 1939 roku z erytrocytów wołu [229]. SOD to pierwszy odkryty enzym, którego substratem jest wolny rodnik, a istotą działania tego enzymu jest katalizowanie reakcji dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru i wody [230]. Funkcja dysmutazowa SODs jest związana z redukcją i utlenianiem jonów metali stanowiących grupę prostetyczną enzymu [231]. U człowieka wyróżnia się trzy podstawowe izoformy enzymu: Zn,Cu-SOD (zawierająca miedź i cynk, występująca w cytoplazmie), Mn-SOD (zawierająca mangan, występująca w mitochondriach) i EC-SOD (zawierająca miedź i cynk, wydzielana na zewnątrz komórki) [232]. Reakcja przebiega dwuetapowo. Pierwszy etap to redukcja jonu metalu z jednoczesnym uwolnieniem cząsteczki tlenu [233].

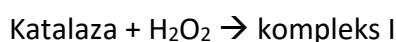
Drugi etap to utlenienie jonu metalu z udziałem anionorodnika ponadtlenkowego i wodoru z jednoczesnym wytworzeniem nadtlenu wodoru:



Zaobserwowano zmniejszenie aktywności SOD w erytrocytach otyłych pacjentów, w porównaniu z grupą kontrolną [235]. Ponadto wykazano, że aktywność SOD w erytrocytach jest ujemnie skorelowana z BMI [236]. Dramatyczny spadek aktywności SOD zaobserwowano u pacjentów z BMI > 50 kg/m<sup>2</sup> w porównaniu z grupą kontrolną [235]. Aktywność SOD jest znacząco obniżona również u osób z DM2 [237].

#### **1.10.1.2. Katalaza (CAT)**

Katalaza, podobnie jak dysmutazy ponadtlenkowe należy do oksydoreduktaz. Jest enzymem oligomerycznym, występującym najczęściej jako homotetramer o masie molowej 200–340 kDa i jest jednym z najbardziej aktywnych enzymów w organizmie człowieka [238]. Największą aktywność CAT stwierdzono w wątrobie, nerkach i erytrocytach [239]. W zależności od stężenia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w środowisku, enzym może wykazywać aktywność katalazową lub peroksydazową. Przy wysokich stężeniach H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> przeważa aktywność katalazowa. Po przyłączeniu cząsteczki nadtlenu wodoru do centrum katalitycznego, katalaza tworzy kompleks (I) zdolny do podjęcia funkcji enzymatycznej. Przy funkcji katalazowej kompleks ten reaguje z następną cząsteczką H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, przekształcając ją w wodę i tlen.



Natomiast przy niskim stężeniu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dominuje aktywność peroksydazowa katalazy, a substratami są związki o charakterze donorów wodoru, np. etanol i metanol [241].



Zaobserwowano obniżenie aktywności CAT w przebiegu wielu chorób, szczególnie o charakterze zapalnym na podłożu stresu oksydacyjnego, między innymi w cukrzycy, miażdżycy, w chorobach neurodegeneracyjnych [239].

### **1.10.1.3. Peroksydazy glutationowe (GPxs)**

GPxs to grupa enzymów wykazujących aktywność peroksydazy [242]. Peroksydazy glutationowe redukują zarówno nadtlenek wodoru, jak i nadtlenki organiczne przy udziale glutationu [242]. Wyróżnia się pięć izoenzymów należących do rodziny GPxs: klasyczną cytozolową, żołądkowo-jelitową, osoczną, peroksydazę glutationową wodorotlenków lipidów oraz jądrową. Prawie wszystkie z nich zawierają w swojej grupie prostetycznej selenocysteinę [243]. Obecność tego aminokwasu umożliwia dwuelektronowe utlenianie GSH bez uwalniania rodnika tiolowego. W wyniku utleniania GSH powstaje disulfid glutationu (GSSG), który następnie jest redukowany do dwóch cząsteczek GSH [243].

### **1.10.2. Nieenzymatyczne antyoksydanty**

Przeciwutleniacze nieenzymatyczne to grupa substancji chemicznych, które dezaktywują ROS poprzez przekazanie im swoich elektronów [244]. W ten sposób zabezpieczają komórkę przed działaniem wolnych rodników. W przeciwieństwie do enzymów antyoksydacyjnych, większość przeciwutleniaczy nieenzymatycznych nie jest syntezowana przez organizm ludzki i musi być pozyskiwana z pożywienia – są to antyoksydanty egzogenne, do których należą między innymi witamina A, C, E, kwasy tłuszczowe omega-3 oraz omega-6, czy mikroelementy takie jak selen, mangan, cynk [245]. Istnieje jednak szereg przeciwutleniaczy syntezowanych przez organizm – są to antyoksydanty endogenne, do których należą między innymi glutation, bilirubina, kwas moczowy, koenzym Q, a także melatonina [246].

#### **1.10.2.1. Glutation**

Glutation (gamma-glutamylcysteinylglycyna, GSH) to tripeptyd, będący jednym z głównych endogennych antyoksydantów w organizmie [247]. Glutation może odtwarzać grupy tiolowe (-SH) w białkach, w których uległy one utlenieniu do grup sulfonowych (-SO<sub>3</sub>H) lub wiązań disiarczkowych (-S-S-) [248]. Dzięki odwracalnej reakcji odłączania i przyłączania elektronów, GSH działa w organizmie na zasadzie układu oksydoredukcyjnego, chroniącego grupy -SH białek przed utlenieniem [249].

#### **1.10.2.2. Witamina C**

Witamina C (kwas askorbinowy) to organiczny związek chemiczny, należący do alkoholi polihydroksylowych [250]. Witamina C występuje w organizmie w postaci dwóch izomerów optycznie czynnych: lewoskrętnego - wykazującego aktywność biologiczną oraz prawoskrętnego - biologicznie nieaktywnego [251]. Kwas askorbinowy to witamina rozpuszczalna w wodzie, zawierająca w swej budowie chemicznej sąsiadujące ze sobą grupy hydroksylowe i karbonylowe, które stanowią istotne źródło elektronów dla innych cząsteczek, neutralizując niemal wszystkie rodzaje ROS [252].

#### **1.10.2.3. Witamina E**

Witamina E to grupa hydrofobowych organicznych związków organicznych, w skład której wchodzi tokoferole i tokotrienole; ich wspólną cechą jest dwupierścieniowy szkielet 6-chromanolu oraz łańcuch boczny zbudowany z 3 jednostek izoprenowych [253]. Witamina E jest silnym antyoksydantem przerywającym łańcuchowe reakcje oksydacji i hamującym wytwarzanie cząsteczek ROS. Działa jako pierwsza linia obrony przed peroksydacją lipidów, chroniąc błony komórkowe przed atakiem wolnych rodników [254]. Powstałe rodniki

tokoferoksylowe mogą: (1) utleniać inne lipidy; (2) ulegać dalszemu utlenianiu, tworząc chinony tokoferylu; (3) tworzyć niereaktywne dimery tokoferolu poprzez reakcję z innym rodnikiem tokoferylowym; (4) być redukowane przez inne przeciwutleniacze do tokoferolu [255]. Witamina E jest ponadto istotnym źródłem elektronów niezbędnych do redukcji nadtlenoazotynu, generowanego w dużych stężeniach w procesie starzenia [256]. Tokoferole i tokotrienole mogą pomóc w zapobieganiu lub opóźnianiu procesu starzenia i rozwoju chorób przewlekłych związanych z nadmiernym stresem oksydacyjnym, takich jak nowotwory, zapalenie stawów i zaćma [257]. Tokoferole, za pośrednictwem atomu wodoru z grupy hydroksylowej, hamują tworzenie rodników nadtlenkowych (ROO•), jednocześnie przekształcając się w mało reaktywny rodnik tokoferylowy ( $\alpha$ -TO•):



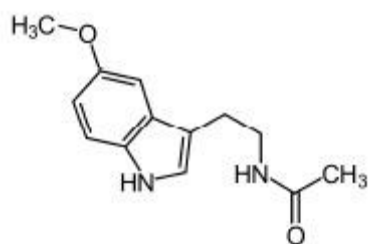
#### **1.10.2.4. Witamina A**

Mimo tego, że witamina A jest jedną z pierwszych odkrytych witamin, pełen zakres jej aktywności biologicznej nadal nie został określony [258]. Strukturalnie podobne do witaminy A karotenoidy stanowią grupę blisko 600 związków, z czego tylko około 50 ma aktywność prowitaminy A [259]. Ostatnie dowody wskazują, że witamina A i karotenoidy mogą być skutecznymi antyoksydantami hamującymi rozwój chorób rozwijających się na podłożu stresu oksydacyjnego, takich jak choroby sercowo-naczyniowe, choroba Alzheimera, choroba Parkinsona i inne choroby neurodegeneracyjne, a także cukrzyca [260]. Witamina A występuje w wielu pokarmach, przy czym zielone i żółte warzywa, produkty mleczne, owoce i mięso są jednymi z najbogatszych źródeł. Zalecane osobom dorosłym dzienne spożycie witaminy A wynosi 700-900  $\mu\text{g}$  [261]. W organizmie człowieka witamina A może występować jako retinol, retinal i kwas retinowy, a ponieważ wszystkie te formy są toksyczne w zbyt wysokich

stężeniach, pozostają związane z białkami w płynach pozakomórkowych i wewnątrz komórek [262]. Witamina A jest przechowywana przede wszystkim jako długołańcuchowe estry tłuszczowe oraz jako karotenoidy prowitaminowe w wątrobie, nerkach i tkance tłuszczowej [263]. Aktywność antyoksydacyjna witaminy A i karotenoidów wynika z hydrofobowego łańcucha jednostek polienowych, które mogą neutralizować tlen singletowy, rodniki tiolowe oraz łączyć się i stabilizować rodniki peroksyłowe [264]. Ze względu na swoją strukturę, witamina A i karotenoidy mogą ulegać autooksydacji przy wzroście ilości wolnych rodników, a więc są skutecznymi antyoksydantami [265].

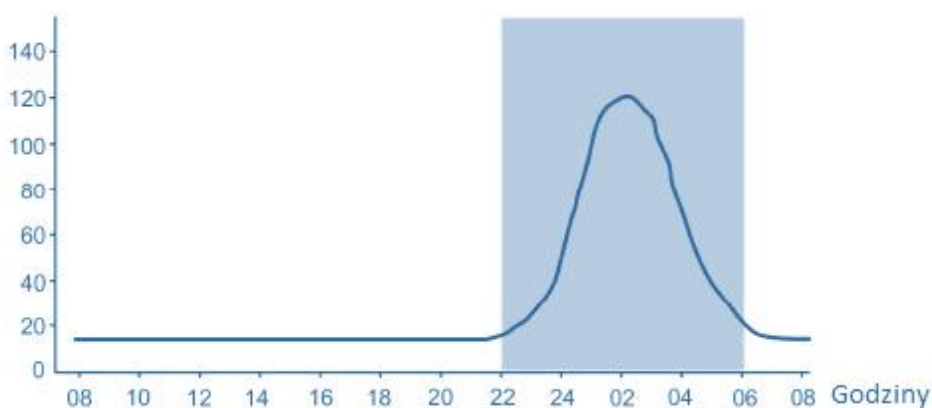
#### **1.10.2.5. Melatonina**

Melatonina, czyli 5 metoksy-N-acetylotryptamina (Ryc. 13), została odkryta i wyizolowana z szyszynki bydlęcej w 1958 roku przez Aarona Lerner[266]. Melatonina jest hormonem syntetyzowanym z tryptofanu przez pinealocyty szyszynki [267]. Poza szyszynką, melatonina wydzielana jest również w siatkówce, komórkach szpiku kostnego, płytkach krwi, skórze, limfocytach, mózdzku, a także w przewodzie pokarmowym [268]. Związek ten odpowiada w przewodzie pokarmowym za spowolnienie procesów trawiennych [269]. Ponadto melatonina ma korzystny wpływ na układ odpornościowy [270]. Wykazuje właściwości przeciwzapalne i hamuje progresję kancerogenezy [271]. Ma również pozytywny wpływ na metabolizm glukozy; doświadczenia na zwierzętach potwierdziły, że niedobór melatoniny przyczynia się do progresji IR i nieprawidłowej tolerancji glukozy [272].



Ryc. 13 Melatonina- struktura chemiczna [273]

Synteza i wydzielanie melatoniny są zwiększone przez ciemność i zahamowane przez światło długości fali 450-480 nm (długość fali odpowiadająca barwie niebieskiej) [273] (Ryc. 14). Informacja świetlna pod postacią impulsu nerwowego jest przekazywana z siatkówki do szyszynki przez jądro nadskrzyżowaniowe (SCN, ang. *suprachiasmatic nucleus*) podwzgórza [274]. U człowieka wydzielanie melatoniny rozpoczyna się wkrótce po zachodzie słońca, osiąga szczyt w środku nocy (między 2 a 4 rano) i stopniowo zmniejsza się w drugiej połowie nocy. Prawie 80% melatoniny jest syntetyzowane w nocy, a jej stężenie w surowicy waha się od 80 do 120 pg/ml. W godzinach dziennych stężenia w surowicy są niskie (10-20 pg/ml) [275].



Ryc. 14 Zmiany stężenia melatoniny w rytmie dobowym (obszar zacieniony to okres ciemności), za [268])

Istotną funkcją melatoniny jest działanie antyoksydacyjne [276]. Warto nadmienić, że dzięki temu, że jest ona rozpuszczalna zarówno w wodzie, jak i lipidach, może działać niemal w całym organizmie [277]. Hormon ten neutralizuje wiele cząsteczek ROS, między innymi

nadtlenek wodoru [278], tlen singletowy [279] czy rodnik hydroksylowy (Reiter et al., 2000). Melatonina wraz z produktami swoich biochemicznych przemian tworzy kaskadę antyoksydacyjną. Zdolności antyoksydacyjne melatonina zawdzięcza swojej budowie chemicznej: aromatycznemu pierścieniowi indolowemu bogatemu w zdelokalizowane elektrony, dzięki czemu może być ich donorem [280]. Omawiany hormon może wpływać na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną również w sposób pośredni - stymulując ekspresję genów kodujących enzymy antyoksydacyjne, takie jak SOD, czy GPx [281]. Obniżony poziom melatoniny ma związek z nasileniem się IR i rozwojem DM2 [282]. Badania wykazały, że mutacje w receptorze melatoniny 1 (MT1, ang. *melatonin receptor 1*), poprzez nadekspresję jego mRNA, są związane z upośledzoną tolerancją glukozy i zwiększonym ryzykiem DM2 [282]. Obniżony poziom melatoniny powoduje podwyższenie poziomu glukozy we krwi oraz zmniejszenie jej ochronnego działania antyoksydacyjnego i odpowiedzi przeciwzapalnej [283]. Jednakże istnieją sprzeczne doniesienia na temat efektów suplementacji melatoniną, dlatego konieczne są dalsze badania [283].

## **2. Cel pracy**

Cukrzyca typu 2 stanowi duże wyzwanie dla współczesnej medycyny. Liczba osób chorych na tę chorobę metaboliczną nieustannie się zwiększa. W Polsce, podobnie jak w innych krajach, obserwuje się epidemię choroby otyłościowej, wiodącą do cukrzycy typu 2. Nieprawidłowo kontrolowana cukrzyca prowadzi do szeregu powikłań. Poprzez należyte wyrównanie metaboliczne u chorych na cukrzycę typu 2, u których powikłania już się rozwinęły, można spowolnić ich progresję. Dążąc do jak najlepszego wyrównania metabolicznego cukrzycy precyzyjnie zdefiniowano cele w jej leczeniu, które obejmują uzyskanie wartości docelowych w zakresie glikemii (na podstawie HbA1c), ciśnienia

tętniczego, profilu lipidowego oraz prawidłowej masy ciała. Problem stanowią pacjenci, dla których pomiary HbA1c są niemiernodajne, a dotychczas nie określono dla tej grupy pacjentów wskaźników precyzujących stopień wyrównania glikemii. Ostatnie doniesienia naukowe wskazują, że zaburzone wydzielanie adipocytokin oraz wykładników stanu zapalnego, jak również niedobór witaminy D i melatoniny mogą mieć swój udział w rozwoju cukrzycy typu 2. Zagadnienia te nie są dostatecznie wyjaśnione, a wyniki badań są niejednoznaczne. W związku z powyższym celem niniejszych badań było określenie możliwych zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, a także wybranych adipokin i parametrów związanych ze stanem zapalnym a ryzykiem rozwoju cukrzycy typu drugiego i poziomem jej metabolicznego wyrównania, a także określenie prawdopodobnych nowych wskaźników wyrównania glikemii, które mogłyby znaleźć zastosowanie w szczególności u osób z ograniczeniami w posługiwaniu się poziomem HbA1c. W tym celu postanowiono przeprowadzić:

- 1) ocenę parametrów antropometrycznych u osób chorujących na cukrzycę typu 2, u osób z grup podwyższonego ryzyka rozwoju DM2, tj. u chorych na chorobę otyłościową oraz u osób z nadwagą, a także u osób z prawidłową masą ciała, stanowiących grupę kontrolną.
- 2) oznaczenie i porównanie stężenia melatoniny w czterech badanych grupach.
- 3) oznaczenie i porównanie stężenia adiponektyny, leptyny, rezystyny, wisfatyny oraz interleukiny 6 w czterech badanych grupach.
- 4) oznaczenie i porównanie stężenia witaminy D w grupie osób z DM2 i w grupie osób otyłych.
- 5) oznaczenie i porównanie stężenia kallistatyny i iryzyny w grupie osób z DM2 i w grupie osób otyłych.
- 6) oznaczenie i porównanie stężenia oxLDL w grupie osób z DM2 i w grupie osób otyłych.

- 7) ocena przydatności badanych parametrów w określaniu ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2.
- 8) odniesienie uzyskanych wartości do powszechnie stosowanych parametrów metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2 celem znalezienia ewentualnych nowych biomarkerów prawidłowej kontroli tej choroby.

### **3. Materiał i metody**

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

Badaniem objęto łącznie 133 osoby. Grupa badana (osoby z DM2) liczyła 46 pacjentów z Kliniki Endokrynologii i Diabetologii w Szpitalu Uniwersyteckim im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy. Osoby z grup podwyższonego ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2, w tym 30 osób z otyłością i 23 osoby z nadwagą, a także osoby z grupy kontrolnej (34 osoby z prawidłową masą ciała) byli rekrutowani jako ochotnicy, a krew do badań pobierano w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej w Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu. Średnia wieku w grupie badanej wyniosła 57,70 lat (SD = 9,30), w grupie osób z chorobą otyłościową 46,40 lat (SD = 10,38), w grupie osób z nadwagą 51,74 lat (SD = 8,49) oraz w grupie kontrolnej (osób z prawidłową masą ciała) 53,12 lat (SD = 10,52). Kryteria włączenia do badania to:

- rozpoznana cukrzyca typu 2- wiek 30 lat i powyżej
- stan somatyczny umożliwiający przeprowadzenie pełnego badania z zastosowaniem wybranych skali.

Kryteria wykluczenia z badania były następujące:

- wiek powyżej 75 lat
- brak możliwości samodzielnego poruszania się



- czynna choroba nowotworowa
- ostry stan chorobowy
- uzależnienie od alkoholu
- uzależnienie od palenia tytoniu
- głębokie zaburzenia poznawcze uniemożliwiające pełny kontakt z pacjentem (liczba punktów w teście MMSE poniżej 10).

Pacjenci wyrazili świadomą zgodę na przeprowadzenie badań. Badania przeprowadzono po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu (nr KB 452/2022).

### **3.2. Pomiary antropometryczne**

#### **3.2.1. Pomiar wysokości ciała**

Wysokość ciała osób zakwalifikowanych do badań mierzono od podstawy do najwyższego punktu anatomicznego na głowie, zwanego *vertex*, za pomocą stadiometru lub przenośnego antropometru z dokładnością do 1 cm. Wzrost mierzono bez obuwia, nakrycia głowy, skomplikowanych fryzur i ozdób do włosów. Osoby badane stały wyprostowane, tyłem do wzrostomierza tak, aby głowa, ramiona, pośladki i pięty dotykały urządzenia [284].

#### **3.2.2. Pomiar masy ciała**

Wartość masy ciała uczestników badania mierzono za pomocą legalizowanej wagi. Podczas badania jego uczestnicy stali w pozycji wyprostowanej na środku wagi, patrząc przed siebie, rozkładając ciężar ciała równomiernie na obie nogi [285].

### 3.2.3. Wskaźnik Queteleta- BMI (ang. *body mass index*)

Wartość BMI uzyskano poprzez obliczenie iloczynu masy ciała do kwadratu wysokości wyrażonej w metrach ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Uczestników badania kwalifikowano do podgrup zgodnie z klasyfikacją przedstawioną w tabeli 3.

Klasyfikacja	BMI [ $\text{kg}/\text{m}^2$ ]
Norma	18,5 - 24,9
Nadwaga	25,0 - 29,9
Otyłość I°	30,0 - 34,9
Otyłość II°	35,0 – 39,9
Otyłość III°	> 40

Tab. 3 Klasyfikacja masy ciała u osób dorosłych na podstawie wskaźnika BMI (wg kryteriów WHO) [88].

## 3.3. Oznaczenia laboratoryjne

### 3.3.1. Materiał kliniczny i jego wstępne przygotowanie do badań

Materiał kliniczny do badań stanowiła krew żylna pobrana z żyły odłokciowej (ok. 9 ml). Pobranie krwi przez wykwalifikowany personel medyczny przeprowadzono w godzinach rannych, u osób będących na czczo, przebywających w pozycji siedzącej.

Krew była pobierana do probówek z antykoagulantem. W czasie transportu do Katedry i Zakładu Biochemii CM UMK, materiał przechowywany był w temperaturze ok. 4°C. Do badań przystępowano w tym samym dniu w ciągu ok. 1 godziny od pobrania krwi. Osocze oddzielano od elementów morfotycznych krwi przez wirowanie, które trwało 10 minut przy 1000 x g, otrzymany supernatant (surowica) rozpipetowywano do odpowiedniej liczby probówek typu eppendorf. Materiał w oczekiwaniu na badania przechowywano w temp. -86°C, a następnie

po rozmrożeniu postępowano z nim zgodnie z instrukcją postępowania dla metody biochemicznej badania stężenia danego analitu. Oznaczenia stężenia interleukiny 6, witaminy D, leptyny, adiponektyny, wisfatyny, rezystyny, melatoniny oraz oxLDL dokonywano za pomocą gotowych testów immunoenzymatycznych (ELISA). Oznaczenia stężenia hemoglobiny glikowanej, cholesterolu całkowitego, frakcji LDL oraz HDL cholesterolu oraz trójglicerydów wykonano w laboratorium Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. A. Jurasza w Bydgoszczy przy użyciu automatycznego analizatora biochemicznego.

### **3.3.2. Metody badań**

#### **3.3.2.1. Oznaczenie stężenia wisfatyny w surowicy**

Do oznaczenia stężenia ludzkiej wisfatyny w surowicy posłużył gotowy zestaw kliniczny oparty na metodzie ELISA wykorzystującej reakcję immunoenzymatyczną typu kanapka - Human Visfatin ELISA, Clinical Range (BioVendor, Brno, Czech Republic). Schemat oznaczenia przedstawia Rrc. 15.

#### **Zasada metody**

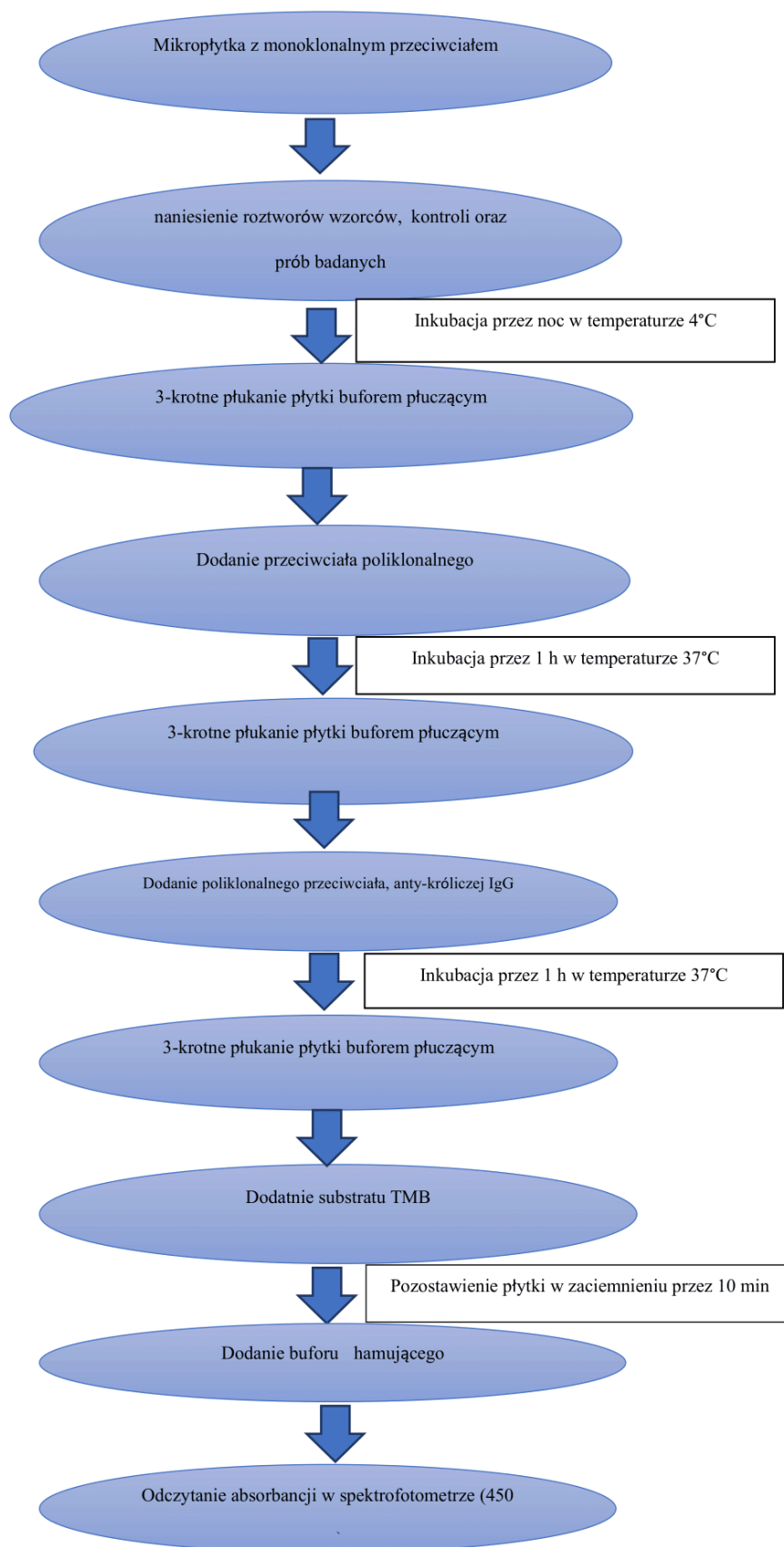
Zestaw zawierał mikropłytkę z 96 dołkami, których ścianki były opłaszczane monoklonalnym przeciwciałem skierowanym przeciwko ludzkiej wisfatynie. Po przygotowaniu niezbędnych odczynników na płytkę naniesiono roztwory wzorców, kontroli oraz prób badanych, a następnie nakryto folią ochronną i inkubowano przez noc w temperaturze 4°C. W celu usunięcia niezwiązanych molekuł wykonano 3-krotne płukanie płytki buforem płuczącym. W kolejnym etapie do dołków dodano poliklonalne przeciwciało skierowane przeciwko ludzkiej wisfatynie (*Detection Antibody*), płytkę nakryto folią ochronną i inkubowano przez 1 godzinę

w 37°C. Następnie ponownie wykonano 3-krotne płukanie buforem płuczącym i dodano rozcieńczone poliklonalne przeciwciało oznakowane peroksydazą chrzanową (HRP, ang. *horseradish peroxidase*). Wykonano kolejną godziną inkubację w 37°C, która pozwoliła na związanie przeciwciała z wisfatyną, a po 3-krotnym płukaniu zainicjowano reakcję pozostałej peroksydazy chrzanowej z roztworem substratu 3,3',5,5'-tetrametylobenzydyny (TMB). Płytkę pozostawiono w zaciemnieniu przez 10 minut, a następnie zatrzymano reakcję przez dodanie buforu hamującego. Natężenie reakcji barwnej mierzono przy 450 nm i była ona wprost proporcjonalna do stężenia wisfatyny w próbkach.

Przygotowanie odczynników i próby badanej

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej. Roztwory koniugatów, wzorców i buforów wymagały rozcieńczenia. Dodatkowo do roztworu wzorca przed rozcieńczeniem została dodana zdejonizowana woda.

Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.



Ryc. 15 Uproszczony schemat oznaczania stężenia wisfatyny metodą ELISA.

### **3.3.2.2. Oznaczenie stężenia rezystyny w surowicy**

Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując gotowy zestaw bezpośredniego testu immunoenzymatycznego Human Resistin ELISA (BioVendor, Brno, Czech Republic). Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 16.

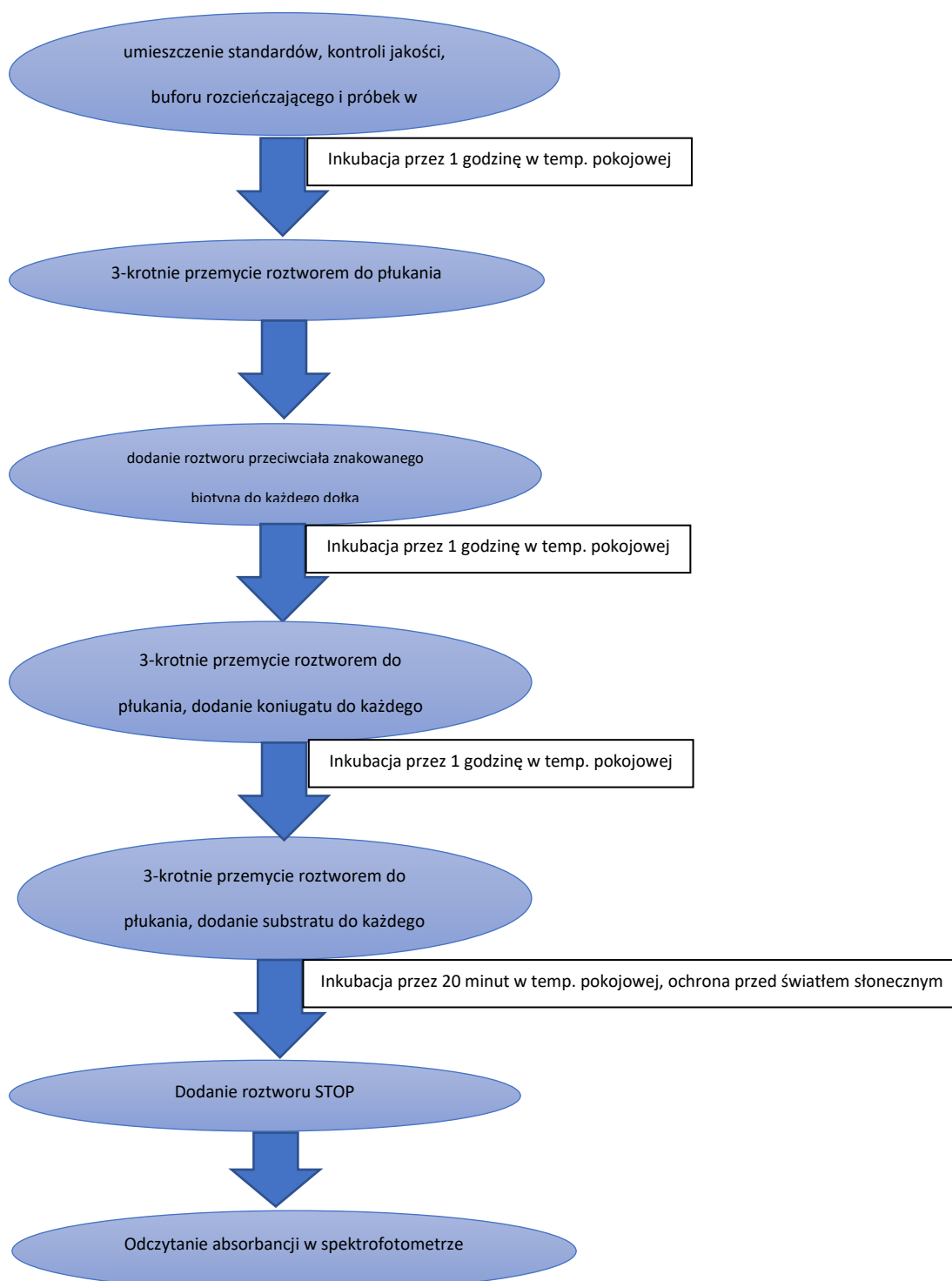
#### Zasada metody

Badane próbki oraz kontrole były inkubowane w studzienkach mikroplatek wstępnie pokrytych poliklonalnym przeciwciałem przeciwko ludzkiej rezystynie. Po 60 minutach inkubacji i płukaniu, dodawano kolejne poliklonalne przeciwciało przeciwko ludzkiej rezystynie znakowane biotyną. Następnie inkubowano płytkę przez 60 minut. Po kolejnym płukaniu dodawano koniugat streptawidyna-HRP. Po 60 minutach inkubacji i ostatnim etapie płukania, pozostały koniugat był poddawany reakcji z roztworem substratu - tetrametylobenzydyną (TMB). Reakcja była zatrzymywana przez dodanie roztworu kwasu siarkowego, po czym mierzono absorbancję powstałego produktu przy długości fali równej 450 nm. Absorbancja była proporcjonalna do stężenia rezystyny.

#### Przygotowanie odczynników i próby badanej

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej.

Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.



Ryc. 16 Uproszczony schemat oznaczania stężenia rezystyny metodą ELISA

### **3.3.2.3. Oznaczenie stężenia adiponektyny w surowicy**

Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując gotowy zestaw pośredniego testu immunoenzymatycznego Human Adiponectin ELISA (Bio Vendor, Brno, Czech Republic). Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 17.

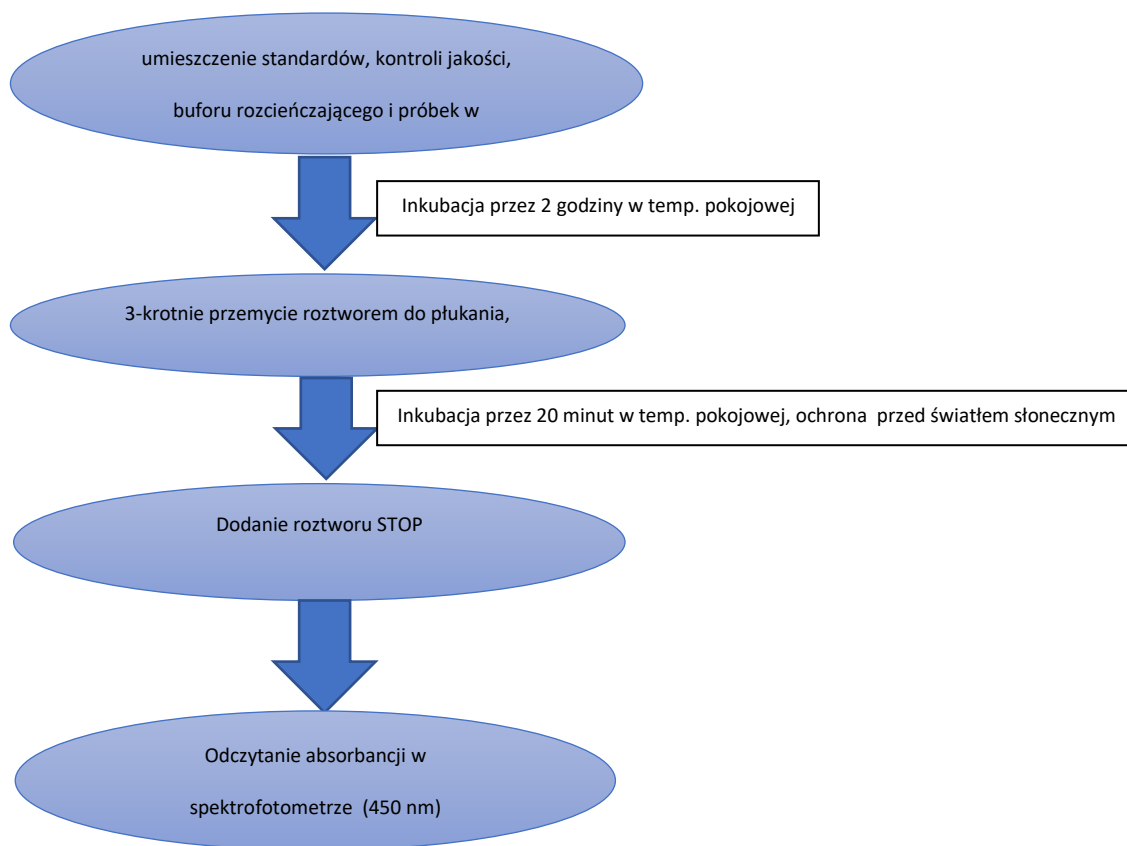
#### **Zasada metody**

Badane próbki oraz kontrole były inkubowane w studzienkach mikroplacytek wstępnie pokrytych rekombinowaną ludzką adiponektyną wraz z poliklonalnym przeciwciałem przeciwko ludzkiej adiponektynie sprzężonym z HRP. Zastosowane antygeny rywalizują o miejsca wiążące w przeciwciałach z cząsteczkami adiponektyny obecnymi w próbce. Uzyskany sygnał zależy więc od proporcji obu rodzajów konkurujących ze sobą cząsteczek i jest tym większy, im mniejsze jest stężenie adiponektyny znajdującej się w badanym materiale. Po etapie mycia, koniugat HRP związany z adiponektyną unieruchomioną w studzienkach był poddawany reakcji z roztworem substratu (TMB). Następnie reakcja ta była zatrzymywana przez dodanie roztworu kwasu siarkowego, po czym mierzona była absorbancja powstałego żółtego produktu przy długości fali 450 nm. Absorbancja była odwrotnie proporcjonalna do stężenia adiponektyny w surowicy.

#### **Przygotowanie odczynników i próby badanej**

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej. Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.





Ryc. 17 Uproszczony schemat oznaczania stężenia adiponektyny metodą ELISA

#### 3.3.2.4. Oznaczenie stężenia leptyny w surowicy

Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując gotowy zestaw bezpośredniego testu immunoenzymatycznego Human Leptin ELISA (Bio Vendor, Brno, Czech Republic). Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 18.

##### Zasada metody

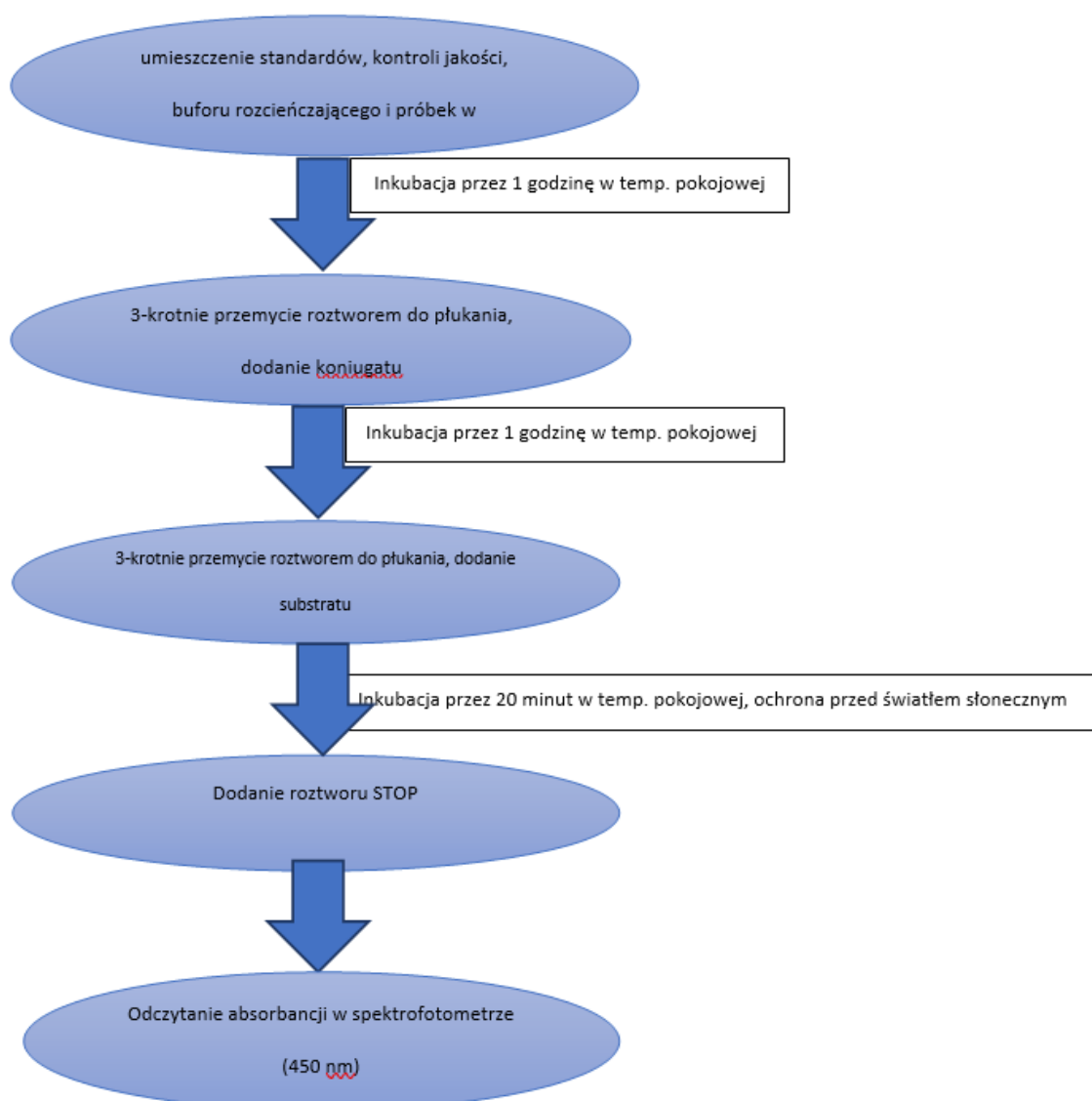
Badane próbki oraz kontrole były inkubowane w studzienkach mikro płytek wstępnie pokrytych poliklonalnym przeciwciałem przeciwko ludzkiej leptynie. Po 60 minutach inkubacji i płukaniu, przeciwciało poliklonalne przeciwko ludzkiej leptynie, sprzężone z HRP było dodawane do dołków i inkubowane przez kolejne 60 minut. Następnie, po etapie płukania, pozostały koniugat HRP był poddawany reakcji z roztworem substratu (TMB). Reakcja ta była

hamowana przez dodanie roztworu kwasu, po czym mierzono absorbancję, przy długości fali 450 nm, powstałego żółtego produktu. Absorbancja była proporcjonalna do stężenia leptyny w surowicy.

### Przygotowanie odczynników i próby badanej

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej.

Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.



Ryc. 18 Uproszczony schemat oznaczania stężenia leptyny metodą ELISA

### **3.3.2.5. Oznaczenie stężenia interleukiny 6 w surowicy**

Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując gotowy zestaw bezpośredniego testu immunoenzymatycznego typu kanapka z użyciem układu biotyna-streptawidyna – IL-6 ELISA, (Diaclone SAS, Waltham, Massachusetts, U.S.) Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 19.

#### **Zasada metody**

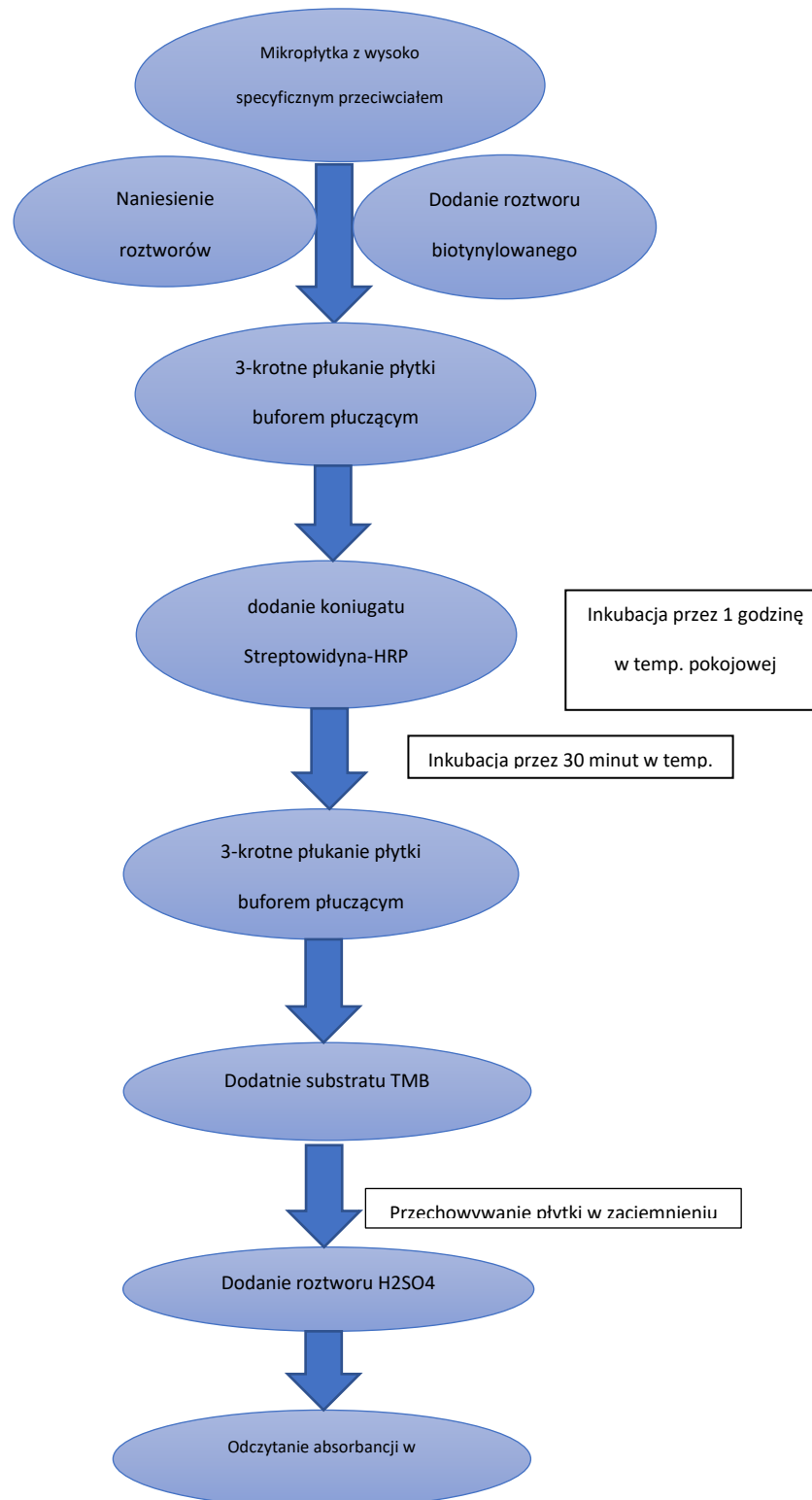
Na mikropłytkę z 96 dołkami, których ściany były opłaszczane wysoce specyficznym przeciwciałem skierowanym przeciwko interleukinie 6 naniesiono uprzednio przygotowane roztwory wzorców, kontroli oraz prób badanych w podwójnych seriach, dodano rozcieńczony roztwór biotynylowanego przeciwciała drugorzędowego anty-IL-6, a następnie płytkę przykryto plastikową nakładką i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę. W kolejnym etapie wykonano 3-krotne płukanie buforem płuczącym. Następnie dodano koniugat streptawidyna-HRP, płytkę przykryto plastikową nakładką i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Ponownie wykonano 3-krotne płukanie płytki, a w dalszym etapie dodano do studzienek substrat chromogeny TMB i przechowywano w zaciemnieniu przez 12-15 minut, co spowodowało progresywne tworzenie błękitnego kompleksu z koniugatem. Reakcja została zatrzymana przez dodanie roztworu kwasu powodującego powstanie żółtego zabarwienia uzyskanego końcowego produktu. Absorbancję mierzono przy długości fali 450 nm, a intensywność zabarwienia powstałego kompleksu była wprost proporcjonalna do stężenia IL-6 obecnego w próbkach.

#### **Przygotowanie odczynników i próby badanej**

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej. Roztwory koniugatów, wzorców, buforów i kontroli wymagały rozcieńczenia.

Należało pamiętać, aby biotynylowane przeciwciała drugorzędowe anty-IL-6 i koniugat streptawidyna-HRP zostały rozcieńczone tuż przed użyciem.

Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.



Ryc. 19 Uproszczony schemat stężenia IL-6 metodą ELISA

### **3.3.2.6. Oznaczenie stężenia oxLDL w surowicy**

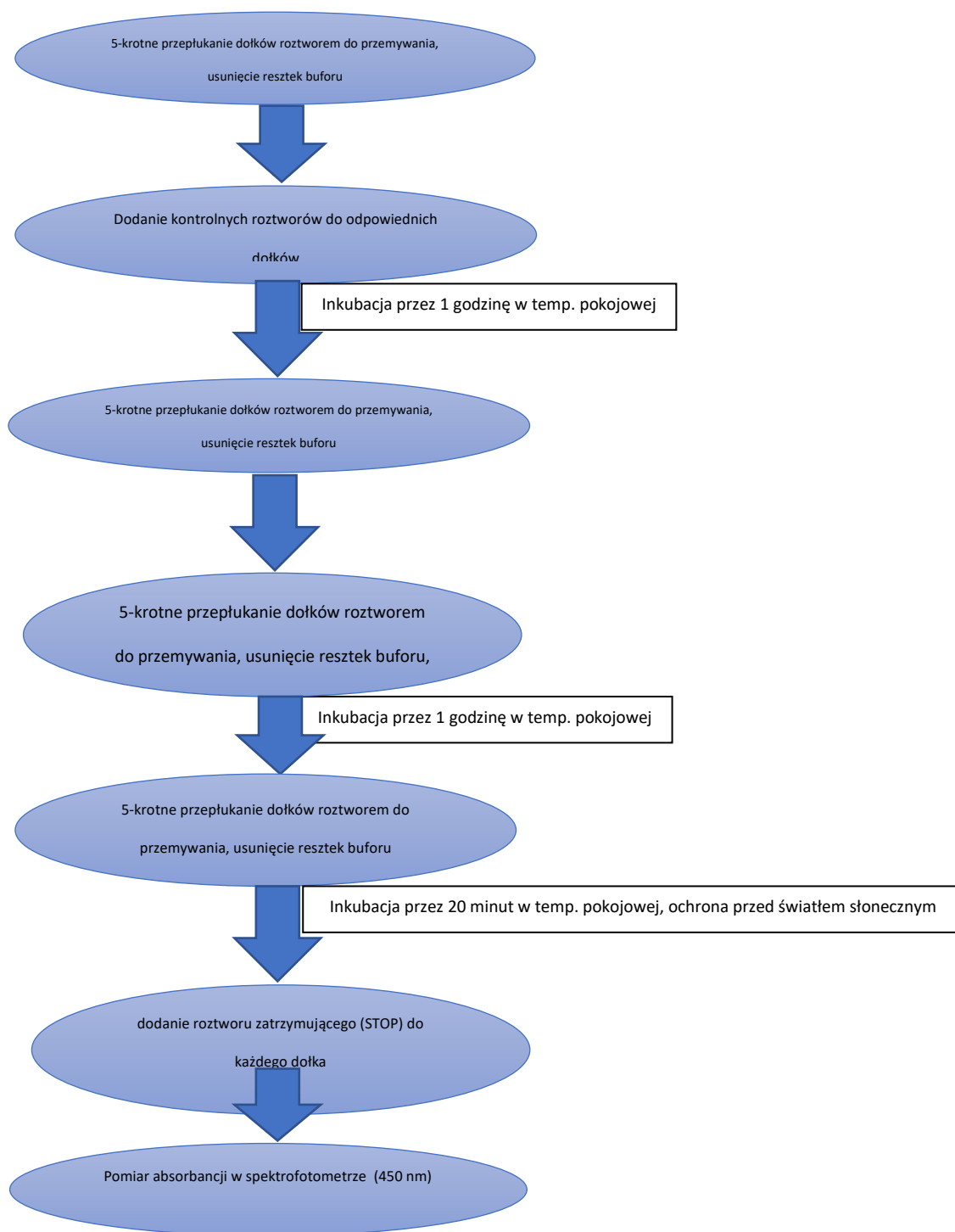
Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując gotowy zestaw bezpośredniego testu immunoenzymatycznego do ilościowego oznaczania adduktów ox-LDL, typu kanapka (ox-LDL/MDA Adduct ELISA, Bensheim, Germany). Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 20.

#### **Zasada metody**

W pierwszym etapie inkubacji, docelowy antygen jest wiązany przez unieruchomione przeciwciała poliklonalne. Wszystkie niezwiązane substancje są usuwane w etapie mycia. W drugim etapie inkubacji dodaje się przeciwciało znakowane peroksydazą, a następnie peroksydazę i substrat peroksydazy - tetrametylobenzydynę (TMB). Reakcja enzymatyczna zostaje zatrzymana przez dodanie kwasu. Powoduje to zmianę koloru z niebieskiego na żółty. Otrzymany związek chromogeny mierzy się fotometrycznie. Intensywność barwy jest wprost proporcjonalna do stężenia mierzonego analitu.

#### **Przygotowanie odczynników i próby badanej**

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej. Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.



Ryc. 20 Uproszczony schemat oznaczania stężenia ox-LDL metodą ELISA

### **3.3.2.7. Oznaczenie stężenia witaminy 25(OH)-D w surowicy**

Stężenie witaminy 25(OH)-D w osoczu zostało wyznaczone za pomocą gotowego zestawu do bezpośredniego testu immunoenzymatycznego - 25(OH)-Vitamin D direct day ELISA (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany). Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 21.

Oznaczana forma witaminy D jest formą nieaktywną, jednak ze względu na wysoką korelację jej stężenia z formą aktywną, długi okres półtrwania i wyższe stężenie we krwi jest najczęściej oznaczaną formą witaminy D.

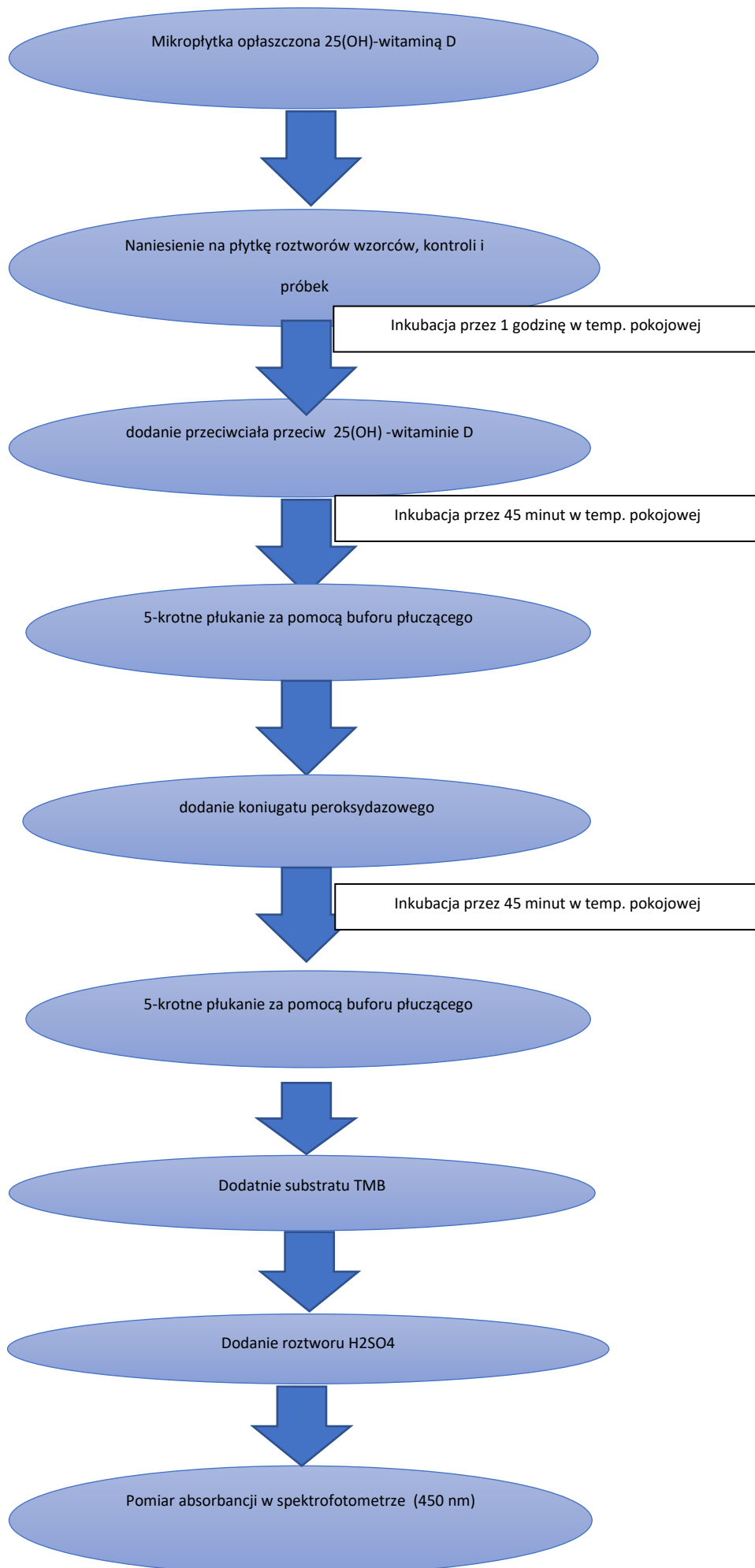
#### **Zasada metody**

Roztwory wstępnie rozcieńczonych wzorców, kontroli i próbek badanych zostały naniesione na mikropłytkę z 96 studzienkami, która następnie została przykryta dołączoną do zestawu nakładką i inkubowana w temperaturze pokojowej przez 60 minut. W kolejnym etapie do każdej studzienki dodano przeciwciała przeciw 25(OH)-witaminie D, płytkę ponownie przykryto i inkubowano przez 45 minut w temperaturze pokojowej. Następnie wykonano 5-krotne płukanie za pomocą buforu płuczącego, dodano koniugat peroksydazowy i wykonano inkubację w temperaturze pokojowej przez 45 minut, podczas której nastąpiło tworzenie się kompleksu 25(OH)-witaminy D z przeciwciałem anty-25(OH)-witaminy D i koniugatem peroksydazowym. Wykonane zostało kolejne 5-krotne płukanie, a w kolejnym etapie użyto tetrametylobenzydyny (TMB), która jest stosowana jako substrat peroksydazy. Płytką została odstawiona w zaciemnienie na 10-15 minut. Na koniec dodany został kwaśny roztwór hamujący, w celu zatrzymania reakcji, w której kolor zmienił się z niebieskiego na żółty. Absorbancja mierzona była przy długości fali 450 nm, a intensywność żółtego zabarwienia była odwrotnie proporcjonalna do stężenia 25(OH)-witaminy D.

## **Przygotowanie odczynników i próby badanej**

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej. Roztwór buforu płuczącego wymagał rozcieńczenia. Wzorce, kontrole i próbki pacjentów były wstępnie rozcieńczane odczynnikiem uwalniającym i przenoszone na mikropłytkę. Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie.





Ryc. 21 Uproszczony schemat oznaczania stężenia witaminy D metodą ELISA

### 3.3.2.8. Oznaczenie stężenia melatoniny w surowicy

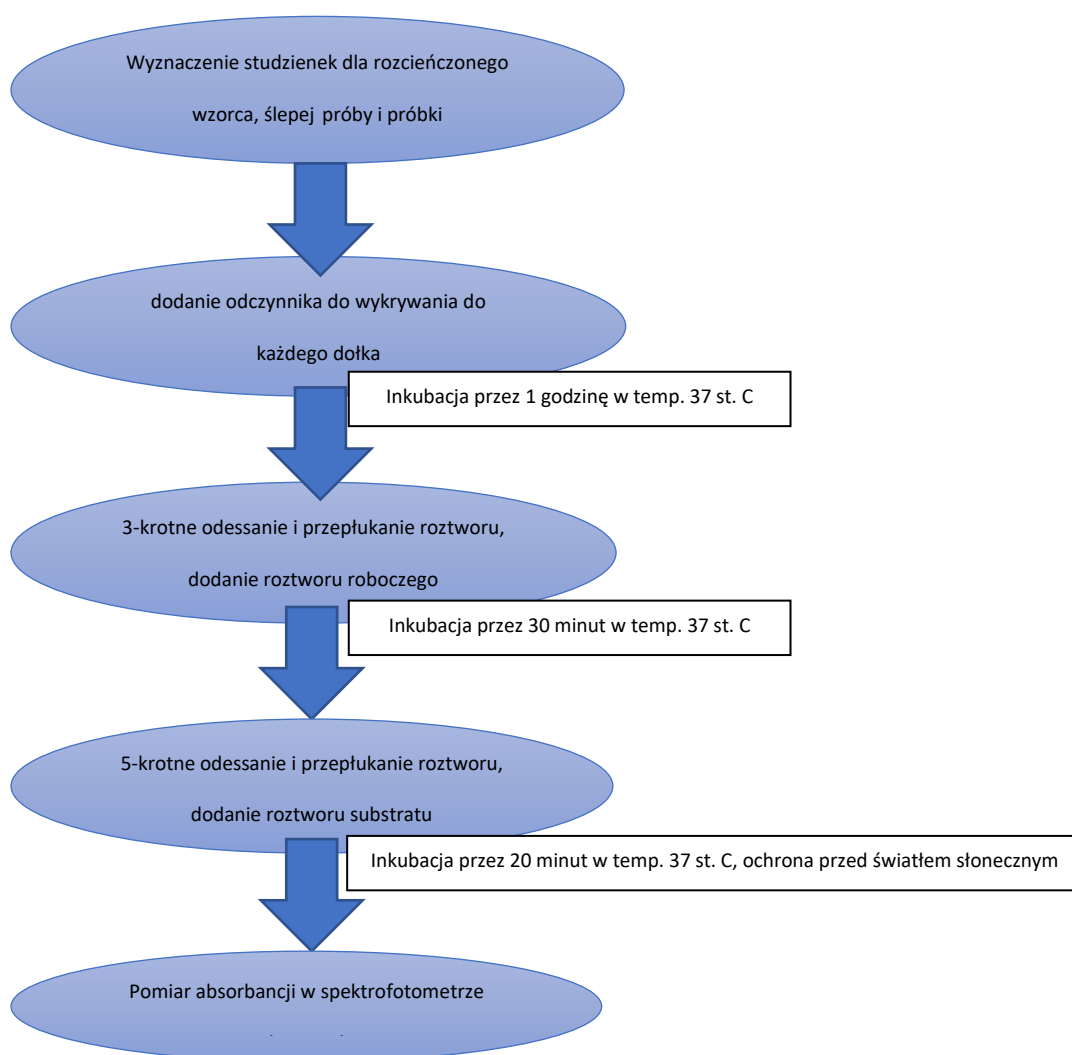
Oznaczenie przeprowadzono wykorzystując gotowy zestaw testu immunoenzymatycznego ELISA Kit for Melatonin (MT), CLOUD-CLONE CORP. (CCC, USA). Zestaw jest techniką kompetycyjnego inhibicyjnego testu immunologicznego do ilościowego pomiaru melatoniny w surowicy, osoczu i innych płynach biologicznych *in vitro*. Schemat oznaczenia przedstawia Ryc. 22.

#### Zasada metody

W oznaczeniu wykorzystano technikę immunologicznego testu kompetycyjnego hamowania. Przeciwciało monoklonalne specyficzne dla melatoniny zostało wstępnie nałożone na mikroplótkę. Między melatoniną znakowaną biotyną a nieznakowaną melatoniną (wzorce lub próbki) zachodziła reakcja inhibicji kompetycyjnej z uprzednio pokrytym przeciwciałem specyficznym dla melatoniny. Zastosowane antygeny rywalizują o miejsca wiążące w przeciwciałach z cząsteczkami melatoniny obecnymi w próbce. Uzyskany sygnał zależy więc od proporcji obu rodzajów konkurujących ze sobą cząsteczek i jest tym większy, im mniejsze jest stężenie melatoniny znajdującej się w badanym materiale. Po inkubacji niezwiązany koniugat był wymywany. Następnie do każdego dołka mikroplótki dodawana była awidyna sprzężona z peroksydazą chrzanową (HRP) i plótkę inkubowano. Ilość związanego koniugatu HRP była odwrotnie proporcjonalna do stężenia melatoniny w próbce. Po dodaniu roztworu substratów mierzono absorbancję przy długości fali 450 nm, a intensywność powstałego koloru żółtego była odwrotnie proporcjonalna do stężenia melatoniny w próbce.

## Przygotowanie odczynników i próby badanej

Każdy odczynnik przed wykonaniem testu został doprowadzony do temperatury pokojowej. Roztwór do płukania, standardowy roztwór do rozcieńczania, odczynniki do wykrywania wymagały rozcieńczenia. Wszystkie procedury testu przeprowadzono zgodnie z instrukcją zawartą w zestawie



Ryc. 22 Uproszczony schemat oznaczania stężenia melatoniny metodą ELISA

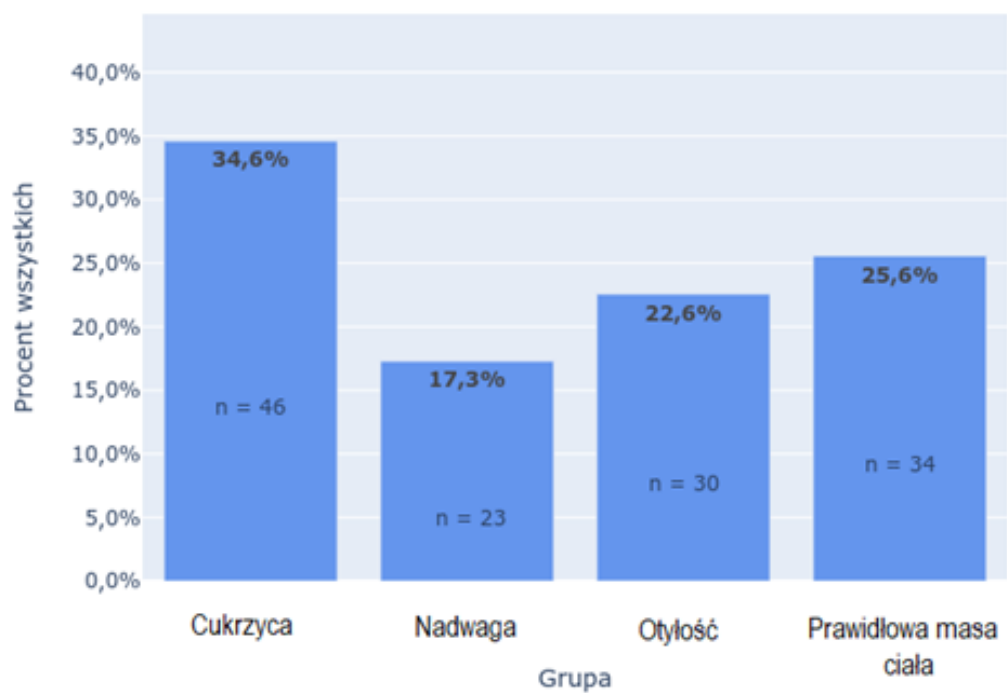
### **3.4. Metody statystyczne**

Analizę statystyczną wykonano przy pomocy środowiska statystycznego R wersja 4.2.1 (Bell Labs, New Jersey, U.S.) oraz przy pomocy języka programowania python, wersja 3.8.10 (open source). Przyjęto poziom istotności równy  $\alpha = 0,05$ . Zmienne kategoryjne scharakteryzowano na wykresach, wskazując procent i liczbę badanych w poszczególnych grupach. Rozkłady zmiennych ilościowych scharakteryzowano w podziale na grupy przy pomocy podstawowych statystyk opisowych, normalność rozkładu sprawdzano testem Shapiro-Wilka. Korelacje między poszczególnymi zmiennymi analizowano współczynnikiem tau-b Kendalla, odpornego na odbieganie rozkładów od rozkładu normalnego i wartości odstające. Poziom zmiennych ilościowych między dwoma grupami porównywano testem t-Studenta lub Wilcoxon dla grup niezależnych, między więcej niż dwoma grupami – testem Kruskalla-Wallisa lub ANOVA (w zależności od spełnienia założeń testów parametrycznych). W przypadku, gdy analizy główne dla więcej niż dwóch grup okazywały się być istotne statystycznie, wykonywano testy post-hoc (porównania każdej pary grup oddzielnie) z poprawką Bonferroniego.

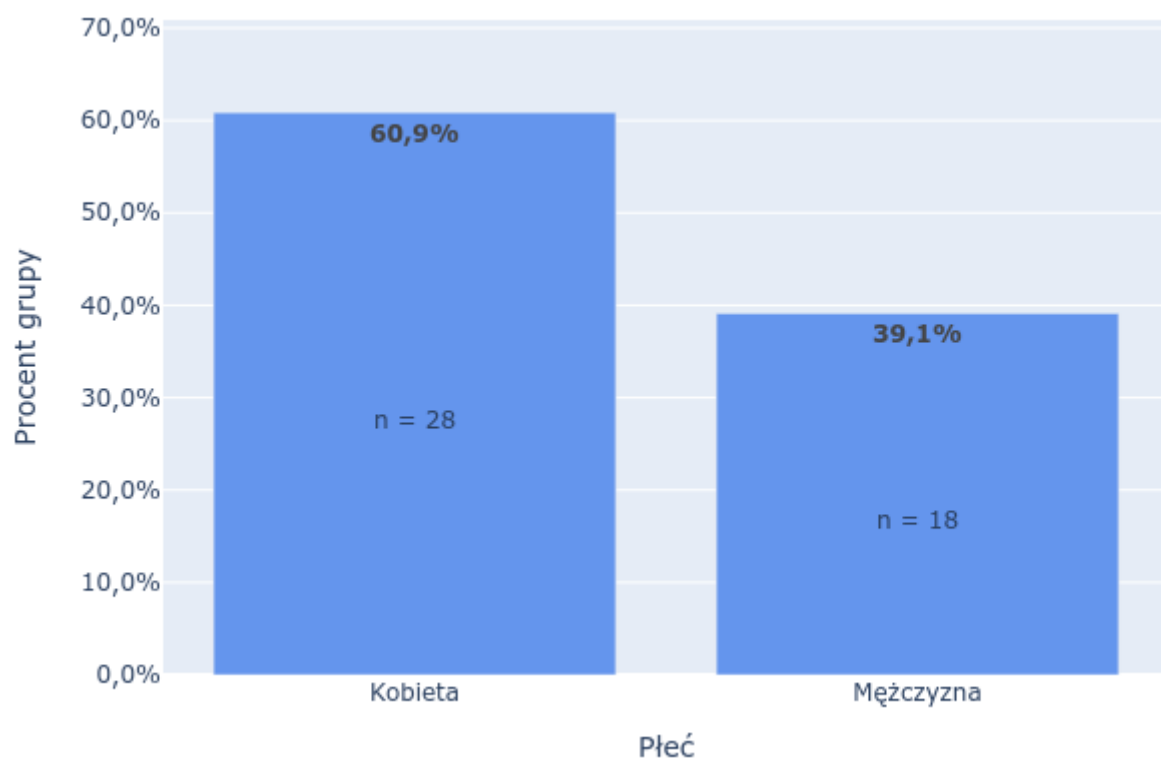
## **4. Wyniki**

### **4.1. Podział badanych grup**

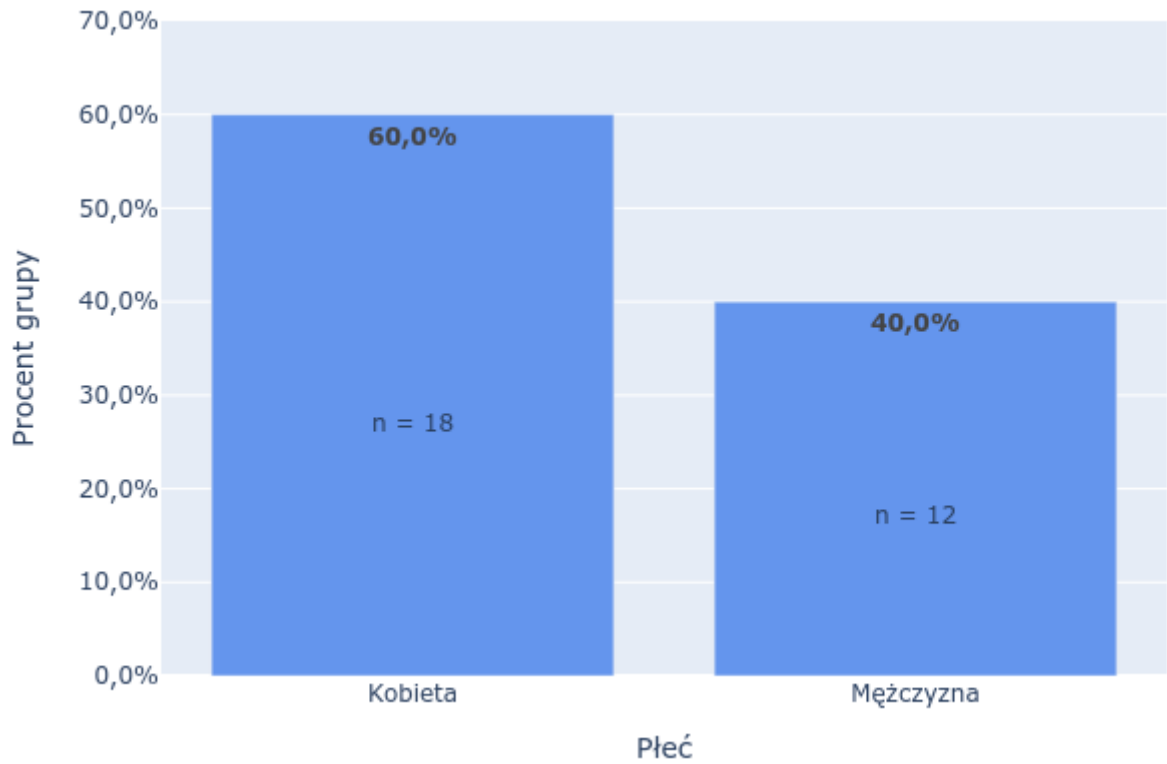
Badaniem objęto łącznie 133 osoby. Grupa chorych na cukrzycę typu 2 liczyła 46 badanych, a grupa kontrolna (osoby z prawidłową masą ciała, bez cukrzycy typu 2) 34 badanych. Ponadto wyróżniono dwie grupy o podwyższonym ryzyku rozwoju cukrzycy typu 2 (osoby otyłe oraz z nadwagą) kolejno: 30 oraz 23 badanych, które uwzględniono w analizie statystycznej (Ryc. 23).



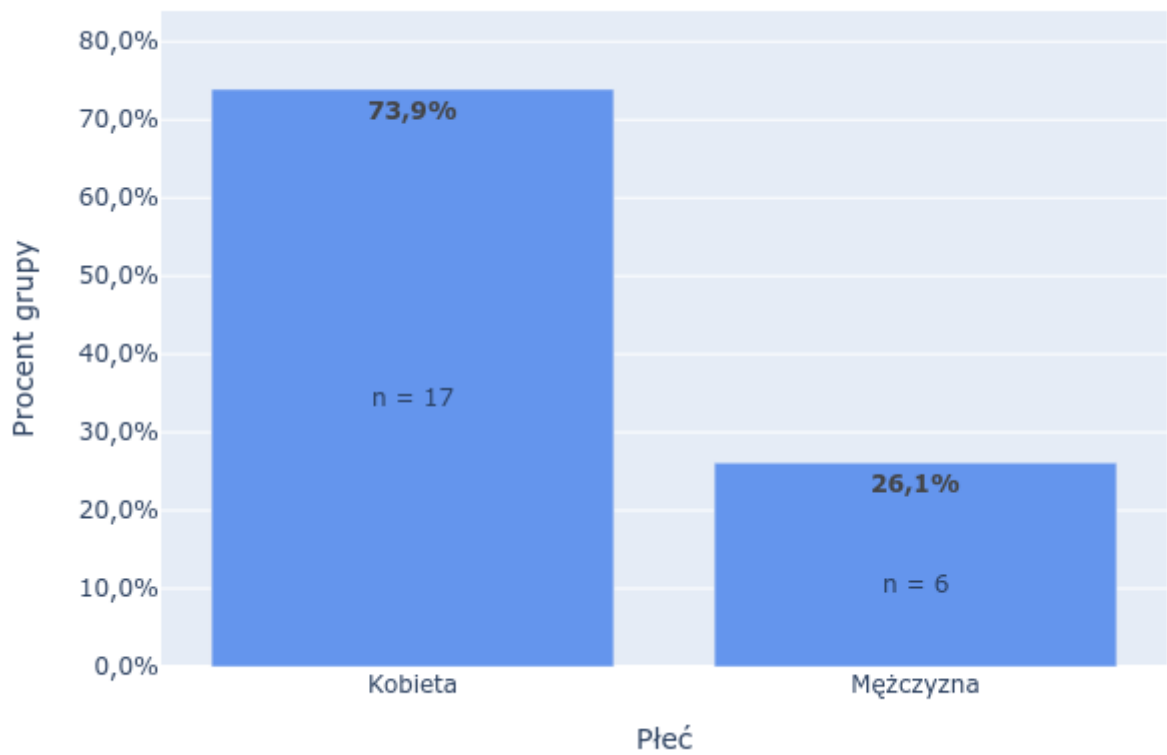
Ryc. 23 Podział badanych na grupy (cukrzyca, otyłość, z nadwagą, z prawidłową masą ciała).



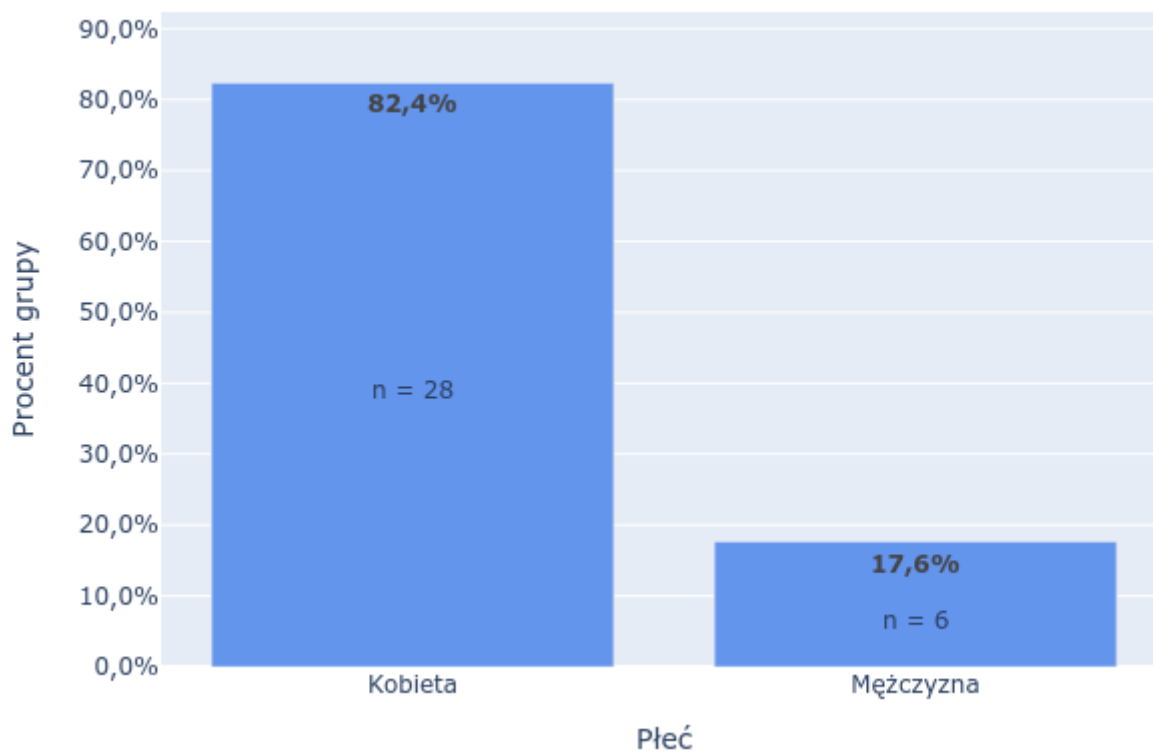
Ryc. 24 Podział badanych z grupy chorych na cukrzycę typu 2 ze względu na płeć.



Ryc. 25 Podział badanych z grupy osób otyłych ze względu na płeć.

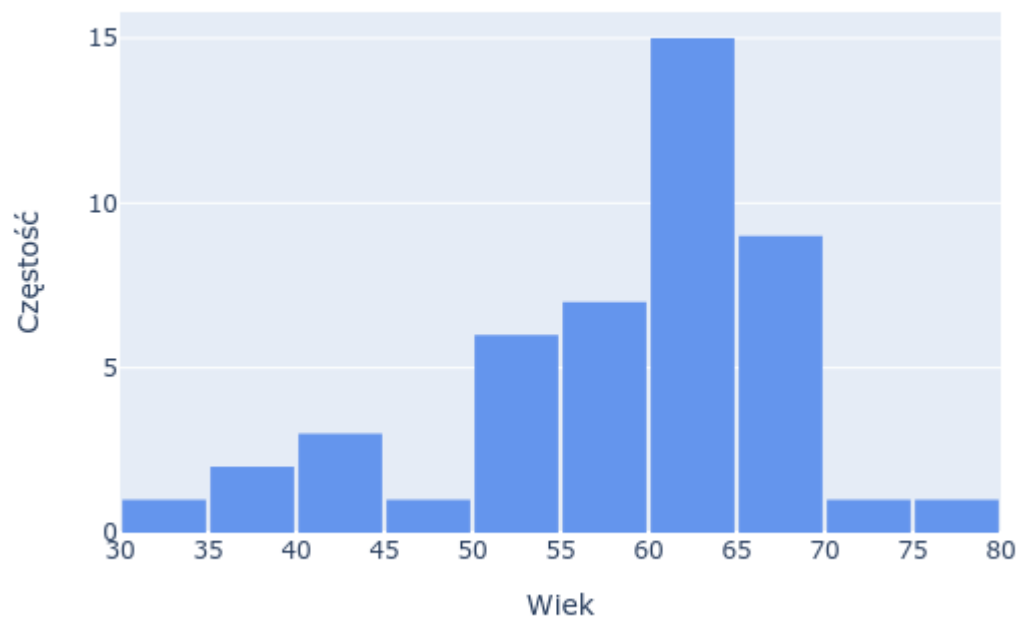


Ryc. 26 Podział badanych z grupy osób z nadwagą ze względu na płeć.

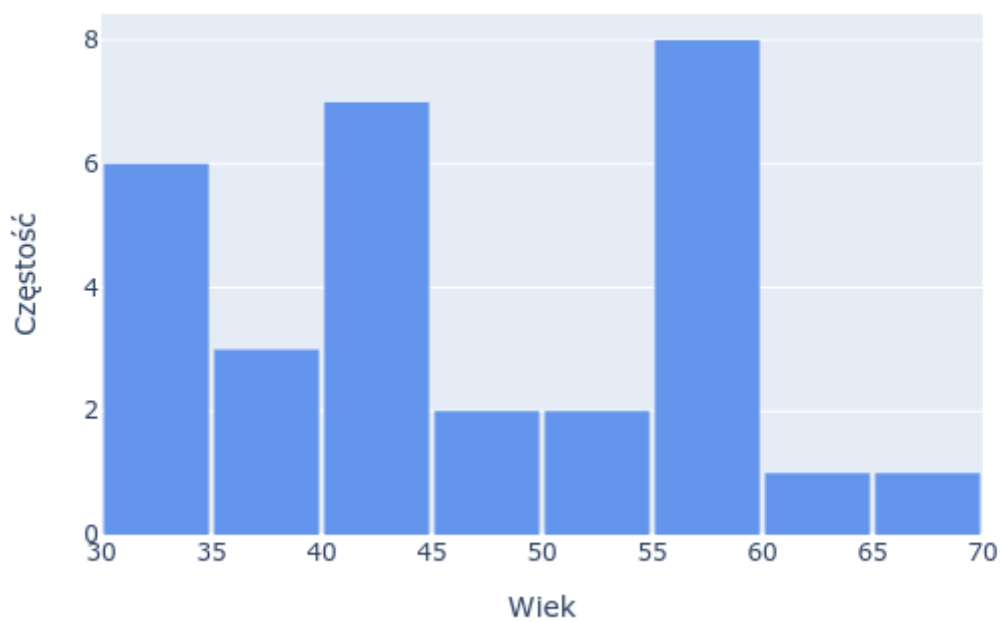


Ryc. 27 Podział badanych z grupy osób z prawidłową masą ciała ze względu na płeć.

Na rycinach od 28 do 31 ukazano histogramy dla wieku w każdej z przebadanych grup. Średnia wieku w grupie cukrzyków wyniosła  $M = 57,70$  lat ( $SD = 9,30$ ), w grupie osób z otyłością –  $M = 46,40$  ( $SD = 10,38$ ), w grupie osób z nadwagą –  $M = 51,74$  ( $SD = 8,49$ ), oraz w grupie osób z prawidłową masą ciała –  $M = 53,12$  ( $SD = 10,52$ ).

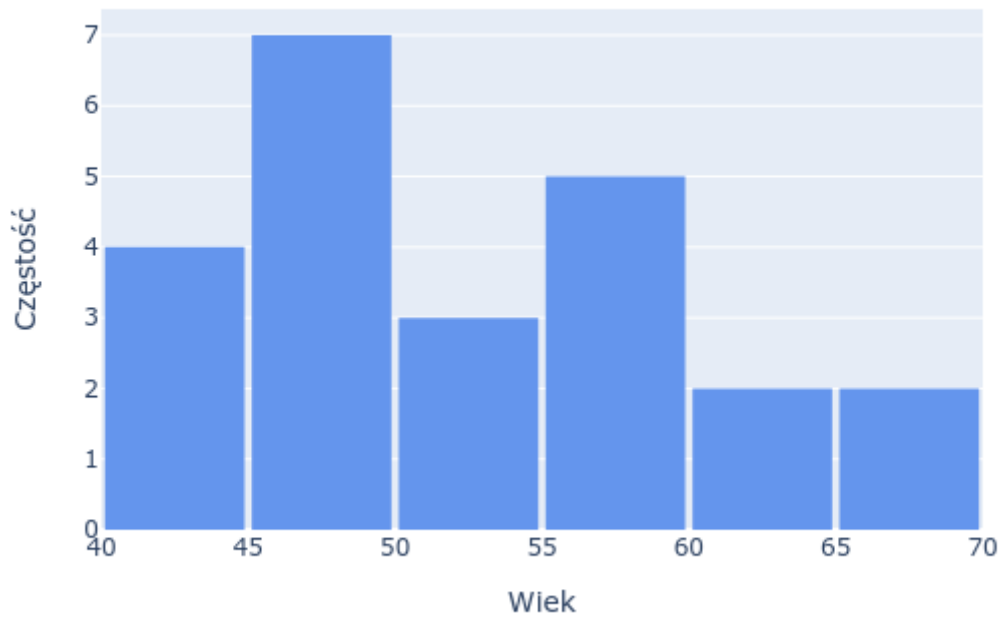


Ryc. 28 Histogram dla wieku (osoby z cukrzycą typu 2).

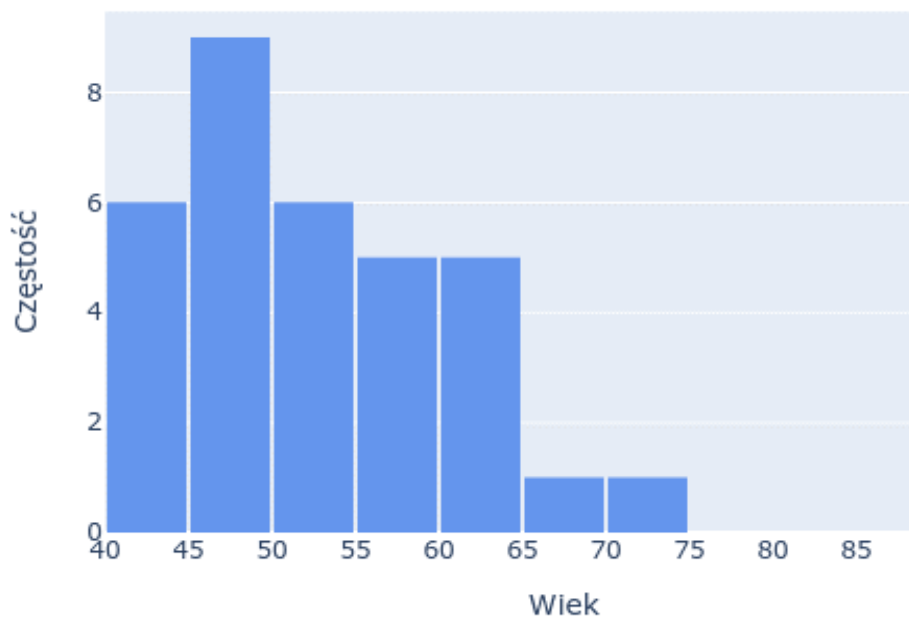


Ryc. 29 Histogram dla wieku (osoby otyłe).





Ryc. 30 Histogram dla wieku (osoby z nadwagą).



Ryc. 31 Histogram dla wieku (osoby z prawidłową masą ciała).

#### 4.2. Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych

W Tabeli 4 scharakteryzowano rozkłady zmiennych analizowanych w badaniu dla grupy osób chorych na cukrzycę typu 2. Test Shapiro-Wilka był nieistotny statystycznie (co sugerowało uznanie rozkładu za rozkład zgodny z normalnym) dla zmiennych: BMI, LDL i Wit. D3. Przy ocenie normalności rozkładu kierowano się jednak również wartością skośności. Te poniżej 1,00 wskazywały na niewielkie odchyły od rozkładu normalnego. Największą skośność (prawostronną) zaobserwowano dla IL-6, wisfatyny, kallistatyny, rezystyny i oxLDL (w przypadku tych zmiennych większość wartości była niższa niż średnie w rozkładach).

Zmienna	M	SD	Me	Min	Max	S	p
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	34,97	5,04	34,95	25,00	48,44	0,40	0,561
Chol.całk. [mg/dl]	183,49	40,14	177,00	119,00	276,00	0,68	0,041
LDL [mg/dl]	103,75	33,02	100,50	40,00	172,00	0,14	0,709
HDL [mg/dl]	41,68	10,65	39,00	26,00	81,00	1,35	0,002
TG [mg/dl]	184,98	89,71	168,00	31,00	373,00	0,75	0,003
Melatonina [pg/ml]	117,49	40,36	116,94	36,17	259,05	0,76	0,035
HbA1c [%]	8,18	2,38	8,10	2,60	15,20	0,62	0,032
IL-6 [pg/ml]	15,31	2,53	14,74	12,94	27,44	2,89	< 0,001
Wit. D3 [nmol/l]	61,12	25,86	58,68	7,71	133,88	0,53	0,384
Leptyna [ng/ml]	78,73	47,69	64,30	18,16	179,90	0,73	0,009
Adiponektyna [μg/ml]	7,76	3,46	7,52	3,20	21,82	2,01	< 0,001
Wisfatyna ng/ml	6,81	2,13	6,50	3,97	16,45	2,30	< 0,001
Kallistatyna [ng/ml]	17278,97	25484,97	9425,95	2369,11	107646,77	3,41	< 0,001
Iryzyna [ug/ml]	10,04	6,99	7,41	2,01	21,03	0,43	0,042
Rezystyna [ng/ml]	18,66	9,89	15,61	6,56	63,14	2,87	< 0,001
oxLDL [ng/ml]	103,54	58,49	84,01	48,32	340,97	2,36	< 0,001

Tab. 4 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych (cukrzycy)

M – średnia, SD – odchylenia standardowe, Me – mediana, Min-max – zakres wyników, S – skośność, p – wartość p dla testu Shapiro-Wilka.

W przypadku osób otyłych test Shapiro-Wilka był nieistotny statystycznie dla: cholesterolu całkowitego, LDL, HDL, trójglicerydów (TG), Wit. D3 oraz rezystyny. Najwyższą skośność zaobserwowano dla wisfatyny, kallistatyny i oxLDL (wartości > 2,00; rozkłady prawoskośne).

W Tabeli 5 przedstawiono charakterystykę rozkładów analizowanych zmiennych dla osób z chorobą otyłościową.

Zmienna	M	SD	Me	Min	Max	S	p
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	37,31	6,13	35,89	30,63	54,66	1,27	0,002
Chol.całk.[mg/dl]	189,32	41,70	178,70	139,50	247,00	0,41	0,914
LDL [mg/dl]	123,95	45,40	127,65	73,50	167,00	-0,21	0,376
HDL [mg/dl]	41,80	10,65	38,60	33,00	57,00	1,46	0,331
TG [mg/dl]	155,14	51,62	149,00	79,30	217,40	-0,51	0,844
Melatonina [pg/ml]	33,83	21,61	31,45	2,99	68,93	0,17	0,034
IL-6 [pg/ml]	4,49	4,82	3,11	0,00	17,11	1,33	< 0,001
Wit. D3 [nmol/l]	97,85	43,67	94,91	32,79	209,02	0,91	0,339
Leptyna [ng/ml]	31,79	16,41	33,60	6,49	54,44	-0,06	0,016
Adiponektyna [µg/ml]	3,65	2,39	2,84	0,84	8,98	0,87	0,010
Wisfatyna ng/ml	1,10	0,92	0,80	0,50	4,35	2,90	< 0,001
Kallistatyna [ng/ml]	13197,47	10254,95	8137,75	4661,65	49719,91	2,06	< 0,001
Iryzyna [ug/ml]	7,34	7,12	5,56	1,02	26,03	1,40	< 0,001
Rezystyna [ng/ml]	5,32	2,18	4,92	2,10	11,84	1,02	0,067
oxLDL [ng/ml]	192,24	99,34	153,87	118,61	528,27	2,11	< 0,001

Tab. 5 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z chorobą otyłościową.

M – średnia, SD – odchylenia standardowe, Me – mediana, Min-max – zakres wyników, S – skośność, p – wartość p dla testu Shapiro-Wilka.

Rozkłady zmiennych scharakteryzowano również dla osób z nadwagą. Dla zmiennej IL-6 wartości zebrane dla wszystkich badanych były poniżej granicy oznaczalności. Test Shapiro-Wilka był nieistotny statystycznie dla cholesterolu całkowitego, LDL, HDL oraz dla adiponektyny. Najwyższą skośność (prawostronną) zaobserwowano dla melatoniny oraz wisfatyny (w przypadku tej zmiennej 5 na 23 wartości były powyżej granicy oznaczalności, co

wyjaśnia skośność równą 3,04). W Tabeli 6 przedstawiono charakterystykę rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z nadwagą.

Zmienna	M	SD	Me	Min	Max	S	p
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	27,27	1,55	27,14	25,06	29,41	0,03	0,026
Chol.całk.[mg/dl]	207,40	46,19	208,00	150,00	287,00	0,38	0,226
LDL [mg/dl]	122,11	33,94	124,50	74,00	170,00	-0,10	0,164
HDL [mg/dl]	59,59	14,22	58,00	39,00	95,97	0,81	0,107
TG [mg/dl]	134,78	90,02	91,00	50,00	341,00	1,45	0,003
Melatonina [pg/ml]	53,25	21,70	47,62	27,41	132,05	2,38	< 0,001
IL-6 [pg/ml]	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38
Leptyna [ng/ml]	14,39	10,16	10,72	2,37	35,78	0,86	0,025
Adiponektyna [μg/ml]	7,24	3,47	6,75	2,60	13,76	0,21	0,107
Wisfatyna [ng/ml]	0,29	0,73	0,02	0,02	2,97	3,04	< 0,001
Rezystyna [ng/ml]	11,23	5,18	9,16	1,30	25,01	0,83	0,108

Tab. 6 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z nadwagą

M – średnia, SD – odchylenia standardowe, Me – mediana, Min-max – zakres wyników, S – skośność, p – wartość p dla testu Shapiro-Wilka.

Pośród osób szczupłych wszystkie wartości dla IL-6 również były poniżej granicy oznaczalności, a dla wisfatyny zaobserwowano 5 na 34 wartości powyżej tej granicy (skośność = 3,99). Test Shapiro-Wilka istotny był dla: BMI, cholesterolu całkowitego, LDL i HDL. Oprócz wisfatyny skośność > 2,00 zaobserwowano również dla TG (s = 2,12). W Tabeli 7 przedstawiono charakterystykę rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z prawidłową masą ciała.

Zmienna	M	SD	Me	Min	Max	S	p
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,22	1,86	22,34	16,96	24,62	-0,66	0,058
Chol.całk.[mg/dl]	229,77	50,23	221,50	142,00	340,00	0,66	0,516
LDL [mg/dl]	147,76	43,59	140,00	80,00	250,00	0,79	0,406
HDL [mg/dl]	58,42	13,15	58,30	40,00	81,00	0,19	0,359
TG [mg/dl]	127,61	79,54	107,50	42,00	361,00	2,12	< 0,001
Melatonina [pg/ml]	53,56	18,47	50,35	31,67	107,34	1,38	0,001
IL-6 [pg/ml]	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38	<0,38
Leptyna [ng/ml]	6,55	8,06	3,29	0,27	32,63	1,84	< 0,001

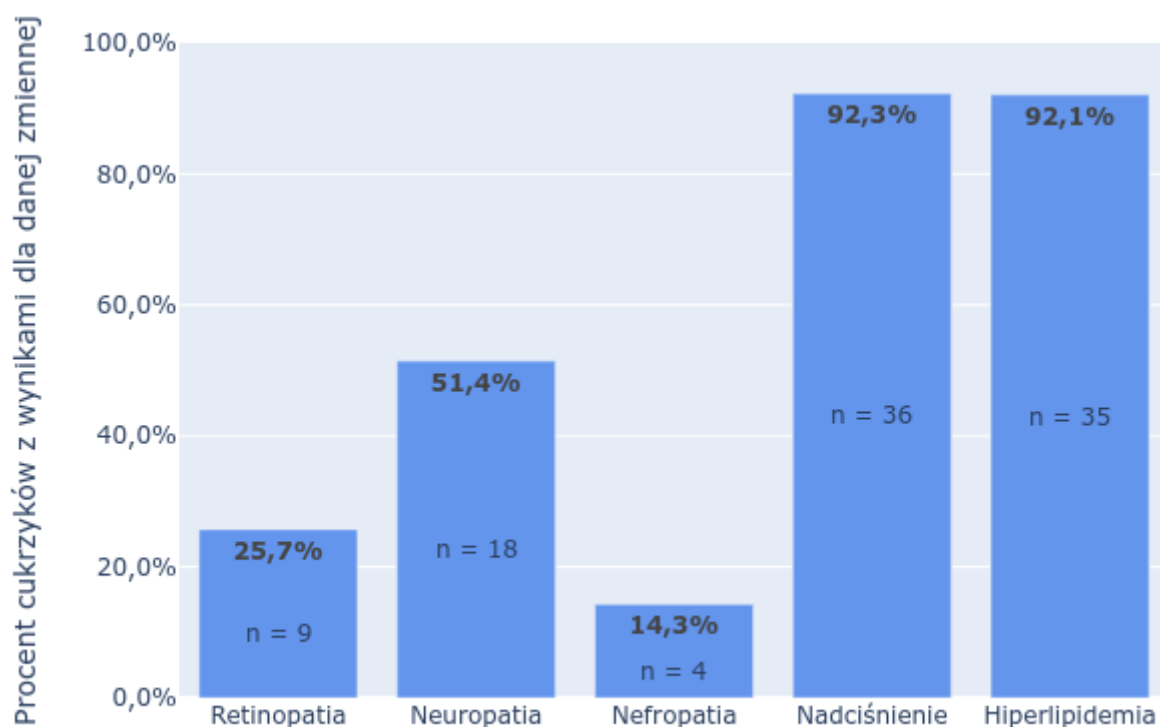
Zmienna	M	SD	Me	Min	Max	S	p
Adiponektyna [ $\mu\text{g/ml}$ ]	7,70	4,37	7,47	2,24	19,95	1,08	0,006
Wisfatyna [ $\text{ng/ml}$ ]	0,09	0,26	0,02	0,02	1,31	3,99	< 0,001
Rezystyna [ $\text{ng/ml}$ ]	10,44	5,52	9,09	3,58	26,65	1,14	0,004

Tab. 7 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z prawidłową masą ciała

M – średnia, SD – odchylenia standardowe, Me – mediana, Min-max – zakres wyników, S – skośność, p – wartość p dla testu Shapiro-Wilka.

#### 4.3. Występowanie przewlekłych powikłań cukrzycy, nadciśnienia tętniczego oraz hiperlipidemii u osób z DM2

W grupie pacjentów z DM2 uwzględniono obecność: retinopatii, neuropatii, nefropatii, nadciśnienia tętniczego i hiperlipidemii. Częstość występowania poszczególnych schorzeń zobrazowano na Rycinie 32.



Ryc. 32 Liczba oraz % badanych z cukrzycą, u których zaobserwowano poszczególne powikłania.

#### 4.4. Analiza korelacji między powszechnie stosowanymi wykładnikami wyrównania glikemii a badanymi parametrami

W kolejnym kroku analiz pod uwagę brano jedynie pacjentów z DM2. Sprawdzono, czy między: melatoniną, witaminą D3, badanymi adipocytokinami oraz wykładnikami stanu zapalnego, a: kryterium wyrównania glikemii, wyrównania stężeń lipidów, nadciśnieniem, BMI oraz powikłaniami cukrzycy występowały istotne zależności.

W pierwszej kolejności skupiono się na korelacjach ze zmienną HbA1c. Z uwagi na wartości odstające w rozkładach niektórych zmiennych posłużono się współczynnikiem tau-b Kendalla. Żadna z analiz nie była istotna statystycznie ( $p > 0,050$ ) – nie wykryto związku między HbA1c a: melatoniną, witaminą D3, badanymi adipocytokinami oraz wykładnikami stanu zapalnego (Tabela 8).

Zmienna	tau-b	P
Melatonina [pg/ml]	0,09	0,396
IL-6 [pg/ml]	0,12	0,278
Wit. D3 [nmol/l]	-0,13	0,225
Leptyna [ng/ml]	-0,16	0,172
Adiponektyna [ $\mu$ g/ml]	-0,07	0,531
Wisfatyna ng/ml	0,09	0,385
Kallistatyna [ng/ml]	-0,19	0,299
Iryzyna [ug/ml]	-0,17	0,342
Rezystyna [ng/ml]	0,18	0,139
OxLDL [ng/ml]	-0,02	0,882

Tab. 8 Analiza korelacji między HbA1c a wybranymi parametrami

tau-b – współczynnik korelacji tau-b Kendalla; p – wartość p dla analizy korelacji.

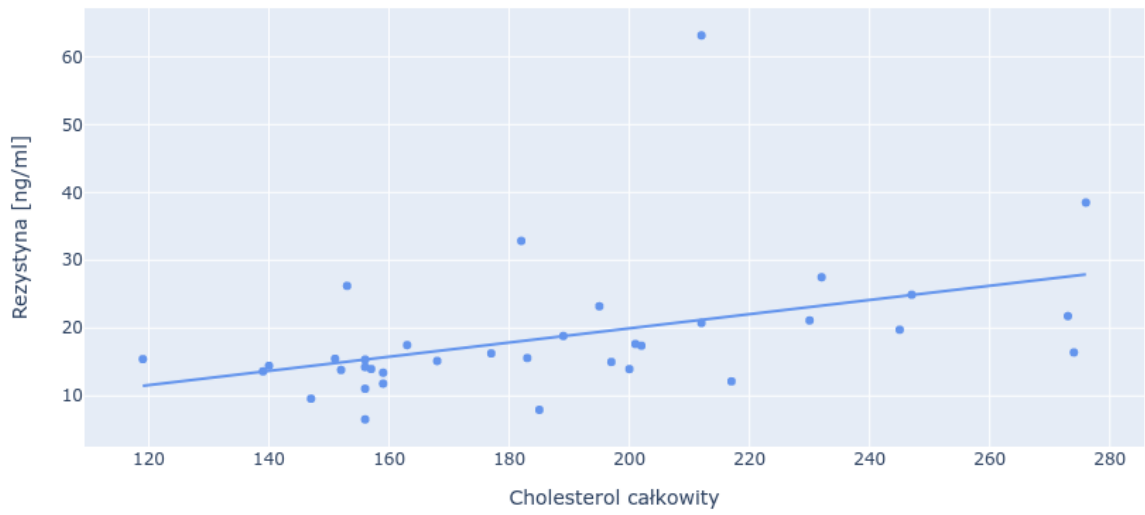
Następnie analizę korelacji wykonano dla wybranych wcześniej parametrów oraz kryteriów wyrównania stężenia frakcji lipidowych. Wykryto cztery istotne korelacje. Im wyższy był poziom cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL, tym wyższy był poziom rezystyny (Ryc.34). Poziomy HDL i adiponektyny również były skorelowane dodatnio (wraz ze wzrostem poziomu jednej zmiennej można było zaobserwować wzrost drugiej zmiennej) (Ryc.35). Podobnie, im wyższy był poziom TG, tym wyższy był poziom leptyny (Ryc.36). W Tabeli 9 przeanalizowano korelacje między kryteriami wyrównania stężeń frakcji lipidowych a wybranymi parametrami. Wartości tau-b < 0,40 oznaczały słabą siłę korelacji, wartości od 0,40 – siłę średnią.

Zmienna	Chol.całk.		LDL		HDL		TG	
	tau-b	p	tau-b	p	tau-b	p	tau-b	P
Melatonina [pg/ml]	0,13	0,200	0,09	0,421	0,03	0,784	-0,03	0,762
IL-6 [pg/ml]	-0,02	0,863	< 0,01	> 0,999	0,04	0,698	-0,09	0,373
Wit. D3 [nmol/l]	-0,06	0,593	0,04	0,744	0,11	0,301	-0,15	0,161
Leptyna [ng/ml]	0,11	0,354	0,04	0,750	0,08	0,493	0,29	<b>0,013</b>
Adiponektyna [µg/ml]	0,19	0,107	0,12	0,378	0,32	<b>0,007</b>	0,02	0,844
Wisfatyna [ng/ml]	-0,08	0,463	-0,15	0,215	0,06	0,598	-0,10	0,323
Kallistatyna [ng/ml]	-0,17	0,398	-0,16	0,441	0,19	0,300	-0,33	0,079
Iryzyna [ug/ml]	-0,06	0,776	-0,06	0,766	0,28	0,117	-0,01	0,967
Rezystyna [ng/ml]	0,40	<b>0,001</b>	0,45	<b>0,001</b>	0,01	0,932	0,21	0,066
OxLDL [ng/ml]	-0,01	0,932	0,02	0,900	-0,10	0,396	0,07	0,551

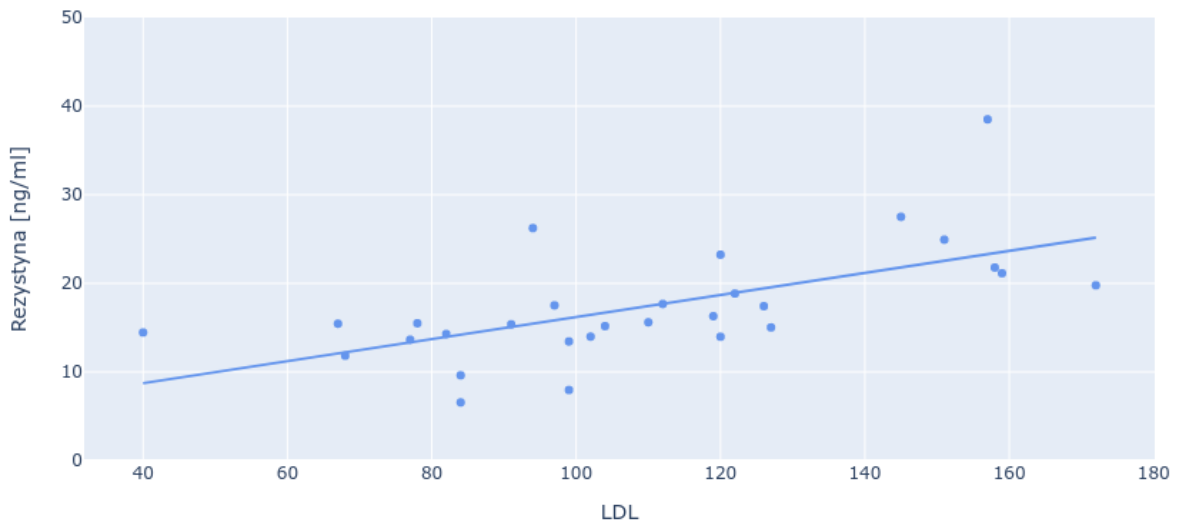
Tab. 9 Analiza korelacji między kryteriami wyrównania stężenia frakcji lipidowych a wybranymi parametrami

tau-b – współczynnik korelacji tau-b Kendalla; p – wartość p dla analizy korelacji.

Na rycinach od 33 do 36 ukazano wykresy punktowe dla istotnych korelacji opisanych w Tabeli 9.

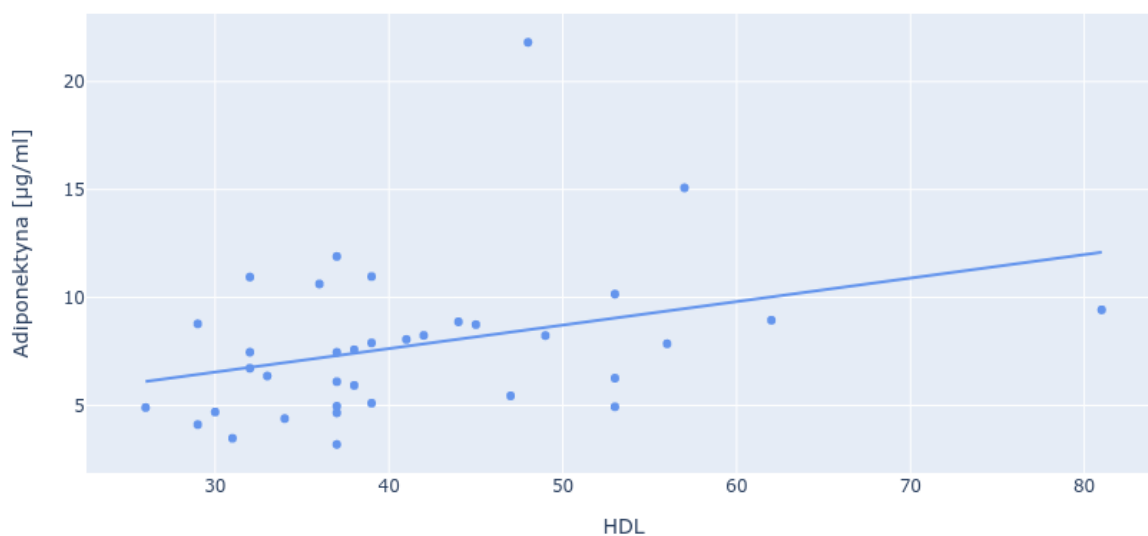


Ryc. 33 Wykres rozrzutu dla rezystyny i cholesterolu całkowitego.

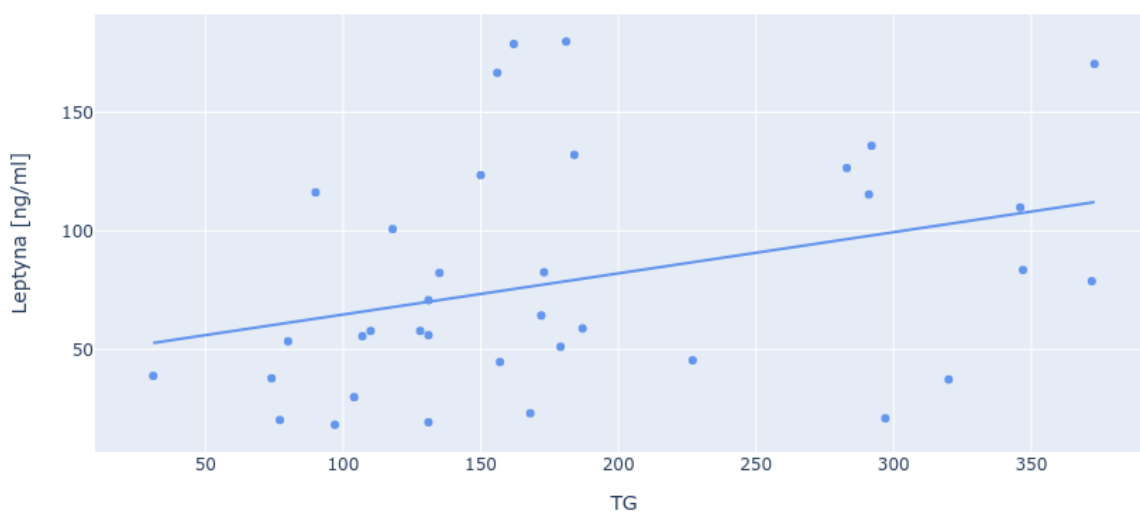


Ryc. 34 Wykres rozrzutu dla rezystyny i LDL.





Ryc. 35 Wykres rozrzutu dla adiponektyny i HDL.



Ryc. 36 Wykres rozrzutu dla leptyny i TG.

Analizę korelacji wykonano również dla wybranych parametrów względem BMI. Wartość p dla wszystkich par zmiennych wyniosła  $> 0,050$  – nie wykryto istotnych związków między BMI a zmiennymi w grupie pacjentów z DM2 (Tabela 10).

Zmienna	tau-b	P
Melatonina [pg/ml]	-0,07	0,485
IL-6 [pg/ml]	-0,06	0,579
Wit. [D3 nmol/l]	-0,06	0,588
Leptyna [ng/ml]	-0,11	0,327
Adiponektyna [µg/ml]	0,12	0,301
Wisfatyna [ng/ml]	0,10	0,337
Kallistatyna [ng/ml]	0,18	0,350
Iryzyna [ug/ml]	-0,29	0,109
Rezystyna [ng/ml]	0,07	0,549
OxLDL [ng/ml]	0,13	0,293

Tab. 10 Analiza korelacji między BMI a wybranymi parametrami

tau-b – współczynnik korelacji tau-b Kendalla; p – wartość p dla analizy korelacji.

Następnie poziom: HbA1c, melatoniny, IL-6, witaminy D3, leptyny, adiponektyny, wisfatyny, kallistatyny, iryzyny, rezystyny oraz oxLDL porównano między pacjentami z DM2 z nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia.

Nie wykryto istotnych różnic między porównywanymi grupami ( $p > 0,050$  dla wszystkich analiz,

Tabela 11).

Zmienna	Nadciśnienie	Brak nadciśnienia	MD (95% CI)	P
	Me (Q1; Q3)			
HbA1c [%]	8,30 (6,35; 9,65)	6,50 (6,25; 10,85)	1,80 (-7,30; 3,60)	0,919
Melatonina [pg/ml]	118,61 (97,58; 141,73)	95,49 (94,82; 115,89)	23,12 (-31,20; 53,07)	0,635
IL-6 [pg/ml]	14,76 (14,06; 16,15)	13,70 (13,43; 15,25)	1,06 (-2,16; 2,92)	0,501
Wit. D3 [nmol/l]	57,28 (42,98; 73,92)	90,81 (49,26; 92,03)	-33,53 (-51,19; 51,35)	0,497
Leptyna [ng/ml]	71,53 (45,20; 118,05)	51,09 (34,62; 67,29)	20,45 (-27,49; 97,18)	0,285
Adiponektyna [µg/ml]	7,47 (4,96; 8,75)	10,63 (9,18; 11,26)	-3,16 (-5,97; 0,32)	0,096
Wisfatyna [ng/ml]	6,50 (5,54; 7,52)	6,71 (6,59; 6,84)	-0,21 (-1,63; 2,11)	0,833
Rezystyna [ng/ml]	16,86 (14,34; 22,14)	16,43 (15,90; 18,10)	0,43 (-4,75; 9,81)	> 0,999
OxLDL [ng/ml]	83,46 (66,38; 118,00)	87,61 (80,36; 159,24)	-4,15 (-155,30; 60,92)	0,467

Tab. 11 Porównanie wybranych zmiennych między pacjentami z DM2 z nadciśnieniem i bez

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3. MD 95% CI – różnica median z 95% przedziałem ufności (nadciśnienie minus brak nadciśnienia); p – wartość p dla testu Wilcozona dla grup niezależnych.

W przypadku badanych z hiperlipidemią i jej brakiem wykryto jedną istotną różnicę – badani z hiperlipidemią charakteryzowali się istotnie niższym poziomem witaminy D3 niż badani bez hiperlipidemii (Tabela 12).

Zmienna	Hiperlipidemia	Brak hiperlipidemii	MD (95% CI)	P
	Me (Q1; Q3)			
HbA1c [%]	8,30 (6,35; 9,75)	6,50 (6,25; 7,65)	1,80 (-0,80; 3,80)	0,405
Melatonina [pg/ml]	118,67 (99,79; 142,99)	95,49 (94,82; 110,76)	23,18 (-22,55; 53,07)	0,436
IL-6 [pg/ml]	14,56 (13,84; 16,18)	13,70 (13,43; 15,99)	0,86 (-3,83; 3,02)	0,654
Wit. D3 [nmol/l]	56,26 (42,37; 74,28)	93,25 (92,03; 108,08)	-36,99 (-71,63; -14,97)	<b>0,004</b>
Leptyna [ng/ml]	82,53 (54,69; 125,03)	45,38 (31,77; 48,23)	37,15 (-0,74; 117,73)	0,0502
Adiponektyna [µg/ml]	7,58 (5,11; 8,78)	7,73 (5,61; 9,82)	-0,16 (-4,44; 4,58)	> 0,999
Wisfatyna [ng/ml]	6,53 (5,50; 7,48)	6,47 (5,70; 6,72)	0,06 (-1,39; 2,55)	0,645
Rezystyna [ng/ml]	16,29 (14,13; 21,46)	17,42 (16,40; 18,60)	-1,13 (-5,49; 9,56)	0,845
OxLDL [ng/ml]	85,70 (67,34; 110,76)	127,16 (100,14; 179,01)	-41,46 (-150,27; 35,72)	0,283

Tab. 12 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z hiperlipidemią i bez

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3. MD 95% CI – różnica median z 95% przedziałem ufności (nefropatia minus brak nefropatii); p – wartość p dla testu Wilcoxon.

#### 4.5. Porównanie wybranych zmiennych między pacjentami z DM2 z przewlekłymi powikłaniami cukrzycy oraz bez powikłań

Wskazane zmienne porównano również między badanymi z i bez retinopatii (Tabela 13). Badani z retinopatią charakteryzowali się istotnie wyższym poziomem HbA1c niż badani bez retinopatii. W przypadku pozostałych badanych parametrów nie stwierdzono różnic w tym zakresie.

Zmienna	Retinopatia	Brak retinopatii	MD (95% CI)	P
	M ± SD/ Me (Q1; Q3)			
HbA1c [%]	9,80 (9,10; 11,80)	6,90 (6,30; 8,80)	2,90 (1,40; 4,40)	<b>0,002</b>
Melatonina [pg/ml]	122,69 ± 26,69	116,20 ± 37,75	6,49 (-17,67; 30,64)	0,581 <sup>1</sup>
IL-6 [pg/ml]	16,29 (13,60; 16,71)	14,63 (14,02; 15,22)	1,66 (-0,84; 2,31)	0,419
Wit. D3 [nmol/l]	52,57 ± 25,92	64,77 ± 27,03	-12,21 (-33,87; 9,46)	0,248 <sup>1</sup>
Leptyna [ng/ml]	57,09 ± 34,82	85,30 ± 49,82	-28,21 (-67,14; 10,72)	0,139 <sup>1</sup>
Adiponektyna [µg/ml]	7,47 (6,10; 9,69)	7,66 (4,98; 8,65)	-0,19 (-1,81; 2,89)	0,636
Wisfatyna [ng/ml]	6,71 (5,99; 7,48)	6,72 (5,72; 7,57)	-0,01 (-1,46; 1,07)	0,763
Iryzyna [ug/ml]	7,79 ± 9,50	10,88 ± 7,19	-3,08 (-23,08; 16,92)	0,643 <sup>1</sup>
Rezystyna [ng/ml]	20,96 (17,52; 25,92)	15,47 (13,98; 19,55)	5,49 (-1,81; 12,02)	0,175
OxLDL [ng/ml]	86,66 (84,02; 90,96)	73,11 (63,45; 127,16)	13,55 (-47,76; 26,34)	0,977

Tab. 13 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z retinopatią i bez

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3; M ± SD – średnia i odchylenia standardowe. MD 95% CI – różnica median/średnich z 95% przedziałem ufności (retinopatia minus brak retinopatii); p – wartość p dla testu Wilcozona lub t-Studenta<sup>1</sup> dla grup niezależnych.

Między badanymi z neuropatią i bez neuropatii wykryto dwie istotne różnice – badani z neuropatią charakteryzowali się istotnie wyższym poziomem HbA1c i niższym poziomem leptyny niż badani bez neuropatii. Innych różnic nie zaobserwowano (Tabela 14).

Zmienna	Neuropatia	Brak neuropatii	MD (95% CI)	P
	M ± SD/ Me (Q1; Q3)			
HbA1c [%]	9,40 (7,60; 11,70)	6,40 (6,20; 8,70)	3,00 (0,80; 3,60)	< <b>0,001</b>
Melatonina [pg/ml]	118,22 (97,89; 146,79)	118,55 (94,15; 128,50)	-0,33 (-16,98; 35,74)	0,525
IL-6 [pg/ml]	14,46 (13,60; 14,86)	14,85 (14,10; 16,29)	-0,39 (-1,66; 0,5)	0,357
Wit. D3 [nmol/l]	59,07 ± 23,04	60,86 ± 27,82	-1,79 (-19,45; 15,87)	0,837 <sup>1</sup>
Leptyna [ng/ml]	61,48 ± 37,83	98,75 ± 50,53	-37,27 (-72,08; -2,46)	<b>0,037<sup>1</sup></b>
Adiponektyna [µg/ml]	7,47 (5,52; 8,76)	7,90 (4,96; 8,95)	-0,43 (-3,02; 1,57)	0,618
Wisfatyna [ng/ml]	6,95 (6,22; 7,74)	6,47 (5,14; 7,02)	0,48 (-0,34; 2,02)	0,133
Kallistatyna [ng/ml]	9623,65 (8284,83; 11072,26)	7911,80 (7258,90; 9881,11)	1711,85 (-9062,97; 4318,45)	0,628
Iryzyna [ug/ml]	3,70 (2,30; 10,42)	8,43 (5,93; 18,97)	-4,73 (-16,43; 5,12)	0,228
Rezystyna [ng/ml]	15,53 (14,63; 20,24)	15,89 (13,57; 20,53)	-0,37 (-5,01; 4,37)	0,839

Zmienna	Neuropatia	Brak neuropatii	MD (95% CI)	P
	M ± SD/ Me (Q1; Q3)			
OxLDL [ng/ml]	85,54 (72,12; 103,11)	79,09 (64,51; 144,78)	6,45 (-58,47; 25,16)	0,940

Tab. 14 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z neuropatią i bez neuropatii

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3; M ± SD – średnia i odchylenia standardowe. MD 95% CI – różnica median/średnich z 95% przedziałem ufności (retinopatia minus brak retinopatii); p – wartość p dla testu Wilcoxon lub t-Studenta<sup>1</sup> dla grup niezależnych.

Kolejne porównania wykonano dla pacjentów DM2 z nefropatią i bez nefropatii. Badani nie różnili się między sobą pod względem poziomu analizowanych zmiennych (p > 0,050 dla wszystkich analiz) (Tabela 15)

Zmienna	Nefropatia	Brak nefropatii	MD (95% CI)	p
	Me (Q1; Q3)			
HbA1c	10,10 (8,15; 12,20)	7,35 (6,30; 9,15)	2,75 (-0,40; 5,50)	0,110
Melatonina pg/ml	112,54 (70,35; 161,22)	115,81 (94,12; 130,45)	-3,27 (-56,30; 69,76)	> 0,999
IL-6 pg/ml	15,80 (14,92; 16,62)	14,46 (13,65; 15,67)	1,34 (-0,28; 2,48)	0,128
Wit. D3 nmol/l	57,95 (38,21; 74,74)	57,66 (41,67; 80,41)	0,29 (-40,89; 27,90)	0,681
Leptyna [ng/ml]	58,82 (40,92; 68,80)	83,01 (48,02; 127,91)	-24,19 (-103,51; 27,68)	0,309
Adiponektyna [µg/ml]	5,68 (5,07; 6,89)	7,73 (5,44; 8,95)	-2,05 (-4,36; 1,31)	0,496
Wisfatyna ng/ml	6,70 (6,42; 7,09)	6,59 (5,13; 7,13)	0,11 (-1,10; 1,80)	0,670
Rezystyna [ng/ml]	20,78 (19,14; 24,14)	15,27 (13,94; 19,08)	5,50 (-3,63; 12,81)	0,115
OxLDL [ng/ml]	108,83 (106,01; 121,43)	80,63 (66,65; 105,34)	28,20 (-54,92; 60,92)	0,166

Tab. 15 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z nefropatią i bez nefropatii

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3. MD 95% CI – różnica median z 95% przedziałem ufności (nefropatia minus brak nefropatii); p – wartość p dla testu Wilcoxon.

#### **4.6. Porównanie grupy badanej, kontrolnej oraz badanych osób o podwyższonym ryzyku rozwoju DM2 pod względem zmiennych analizowanych w badaniu.**

W kolejnym kroku analizy porównano ze sobą cztery grupy (pacjenci z DM2, osoby otyłe, z nadwagą i prawidłową masą ciała) pod względem wybranych zmiennych analizowanych w badaniu. Dla istotnych analiz głównych wykonano testy post-hoc, w celu sprawdzenia, które konkretnie grupy różniły się między sobą. Otrzymano następujące rezultaty (Tabela 16):

- dla cholesterolu całkowitego: badani z prawidłową masą ciała charakteryzowali się wyższym poziomem tej zmiennej niż cukrzycy ( $p = 0,005$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla LDL: badani z prawidłową masą ciała charakteryzowali się wyższym poziomem tej zmiennej niż cukrzycy ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla HDL: badani z nadwagą i z prawidłową masą ciała mieli wyższy poziom HDL niż cukrzycy ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla TG: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom TG niż osoby z prawidłową masą ciała ( $p = 0,008$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla melatoniny: badani z cukrzycą charakteryzowali się wyższym poziomem tej zmiennej niż wszystkie pozostałe grupy, badani z nadwagą i z prawidłową masą ciała mieli wyższy poziom melatoniny niż badani otyli ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla leptyny: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom leptyny niż wszystkie pozostałe grupy, badani otyli mieli wyższy poziom leptyny niż ci z nadwagą i z prawidłową masą ciała, badani z nadwagą mieli wyższy niż badani z prawidłową masą ciała poziom leptyny ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);

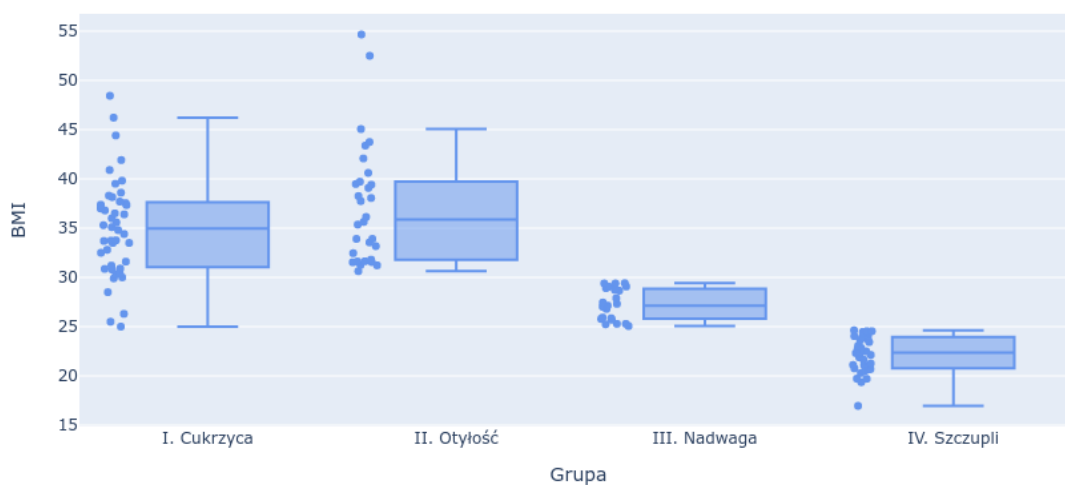
- dla adiponektyny: badani z cukrzycą, nadwagą i prawidłową masą ciała mieli wyższy poziom adiponektyny niż badani otyli ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla wisfatyny: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom tej zmiennej niż wszystkie pozostałe grupy, badani otyli mieli wyższy poziom tej zmiennej niż badani z nadwagą i z prawidłową masą ciała ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc);
- dla rezystyny: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom tej zmiennej niż wszystkie pozostałe grupy, badani z nadwagą i z prawidłową masą ciała mieli wyższy poziom tej zmiennej niż badani otyli ( $p < 0,001$  dla analizy głównej;  $p < 0,050$  dla testów post-hoc).

Zmienna	Cukrzycy	Otyli	Z nadwagą	Z prawidłową masą ciała	p
	M ± SD/ Me (Q1; Q3)				
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	34,95 (31,13; 37,58) <sup>3</sup>	35,89 (31,97; 39,66) <sup>4</sup>	27,14 (25,82; 28,82) <sup>2</sup>	22,34 (20,84; 23,89) <sup>1</sup>	< 0,001
Chol.całk.[mg/dl]	177,00 (156,00; 202,00) <sup>1</sup>	178,70 (168,00; 213,40)	208,00 (162,90; 237,00)	221,50 (200,00; 251,20) <sup>2</sup>	0,005
LDL [mg/dl]	103,75 ± 33,02 <sup>1</sup>	123,95 ± 45,40	122,11 ± 33,94	147,76 ± 43,59 <sup>2</sup>	< 0,001 <sup>A</sup>
HDL [mg/dl]	39,00 (35,50; 47,25) <sup>1</sup>	38,60 (35,40; 45,00)	58,00 (52,25; 66,55) <sup>2</sup>	58,30 (45,75; 66,75) <sup>2</sup>	< 0,001
TG mg/dl]	168,00 (128,00; 227,00) <sup>2</sup>	149,00 (145,00; 185,00)	91,00 (81,00; 163,50)	107,50 (86,00; 134,75) <sup>1</sup>	0,008
Melatonina [pg/ml]	116,94 (94,48; 135,46) <sup>3</sup>	31,45 (14,98; 51,00) <sup>1</sup>	47,62 (41,01; 57,31) <sup>2</sup>	50,35 (40,48; 59,94) <sup>2</sup>	< 0,001
Leptyna [ng/ml]	64,30 (44,64; 115,34) <sup>4</sup>	33,60 (15,37; 49,03) <sup>3</sup>	10,72 (7,34; 20,38) <sup>2</sup>	3,29 (1,47; 6,95) <sup>1</sup>	< 0,001
Adiponektyna [µg/ml]	7,52 (5,19; 8,85) <sup>2</sup>	2,84 (1,92; 5,24) <sup>1</sup>	6,75 (3,53; 9,81) <sup>2</sup>	7,47 (3,90; 9,94) <sup>2</sup>	< 0,001
Wisfatyna [ng/ml]	6,50 (5,59; 7,48) <sup>3</sup>	0,80 (0,63; 1,03) <sup>2</sup>	0,02 (0,02; 0,02) <sup>1</sup>	0,02 (0,02; 0,02) <sup>1</sup>	< 0,001
Rezystyna [ng/ml]	15,61 (13,98; 20,78) <sup>3</sup>	4,92 (3,81; 6,40) <sup>1</sup>	9,16 (8,38; 14,17) <sup>2</sup>	9,09 (6,80; 13,78) <sup>2</sup>	< 0,001

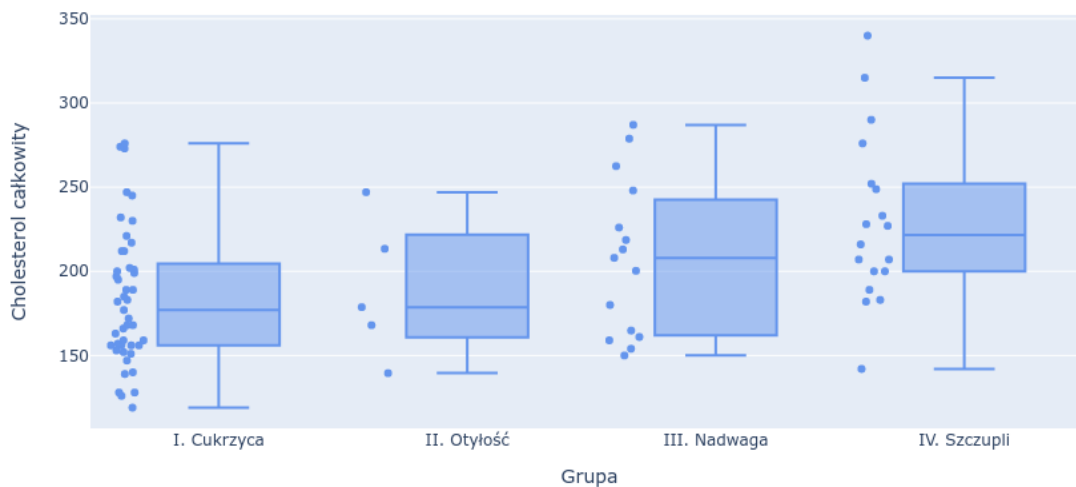
Tab. 16 Porównanie czterech przebadanych grup

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3;  $M \pm SD$  – średnia i odchylenia standardowe.  $p$  – wartość  $p$  dla analizy głównej testem Kruskala-Wallis lub ANOVA<sup>A</sup>/ dla testu t-Studenta<sup>t</sup> lub Wilcoxona<sup>W</sup> dla dwóch grup niezależnych. Indeksy 1, 2, 3 i 4 przyporządkowano według poziomu wartości poszczególnych grup:  $1 < 2 < 3 < 4$ .

Na rycinach od 37 do 46 ukazano wykresy skrzynkowe dla istotnych porównań międzygrupowych opisanych w Tabeli 16.

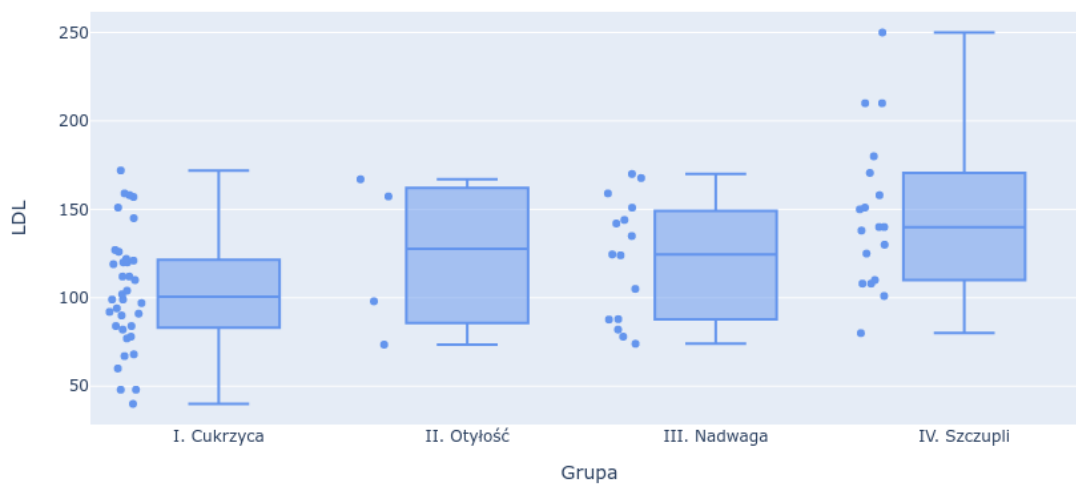


Ryc. 37 Wykresy skrzynkowe dla BMI w podziale na grupy.

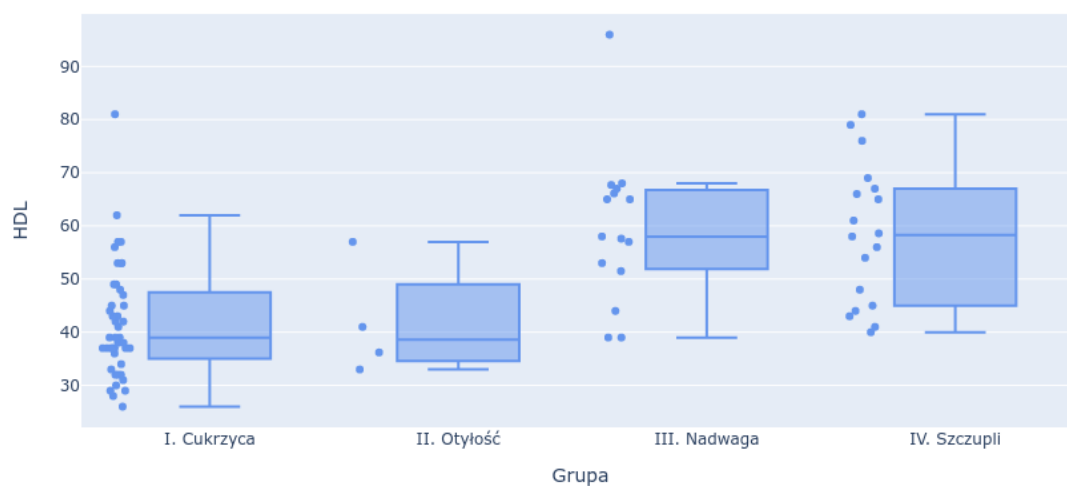


Ryc. 38 Wykresy skrzynkowe dla cholesterolu całkowitego w podziale na grupy.

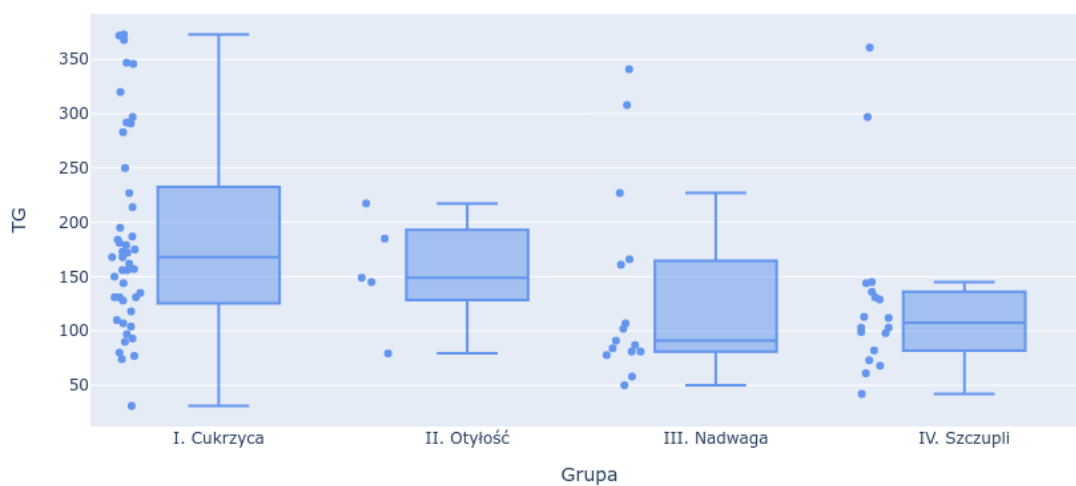




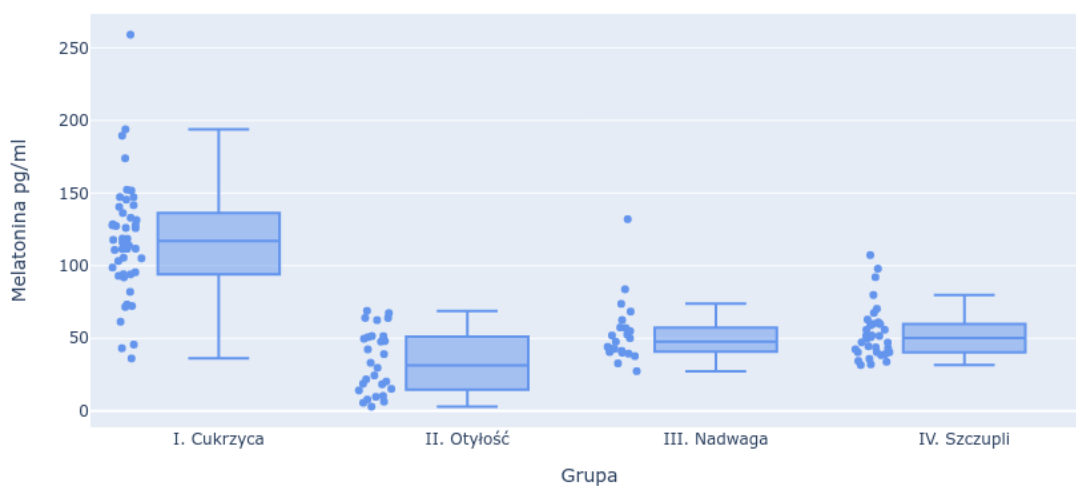
Ryc. 39 Wykresy skrzynkowe dla LDL w podziale na grupy.



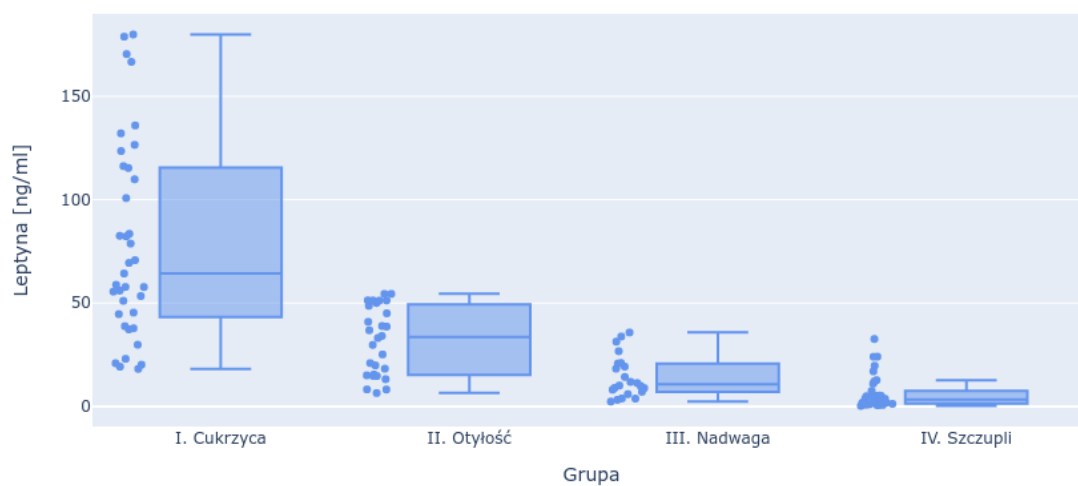
Ryc. 40 Wykresy skrzynkowe dla HDL w podziale na grupy.



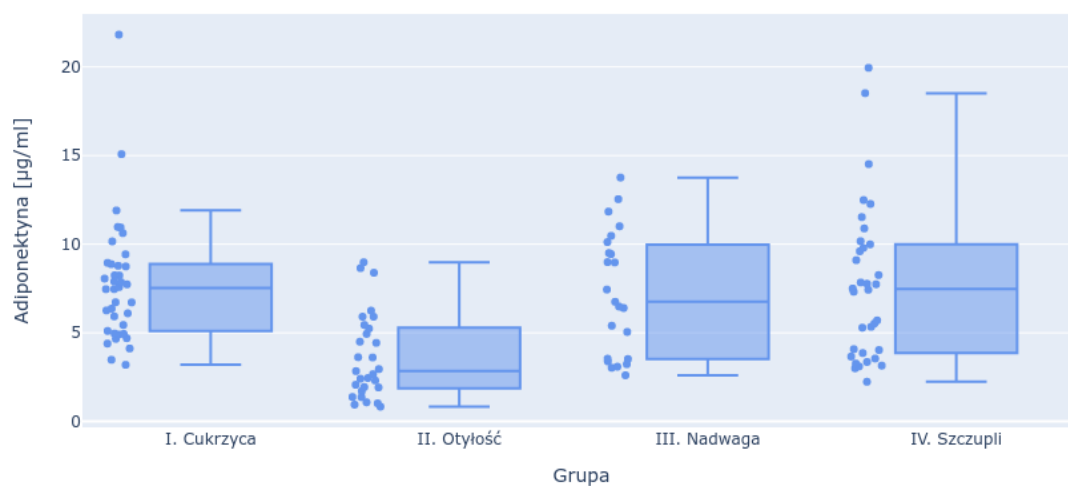
Ryc. 41 Wykresy skrzynkowe dla TG w podziale na grupy.



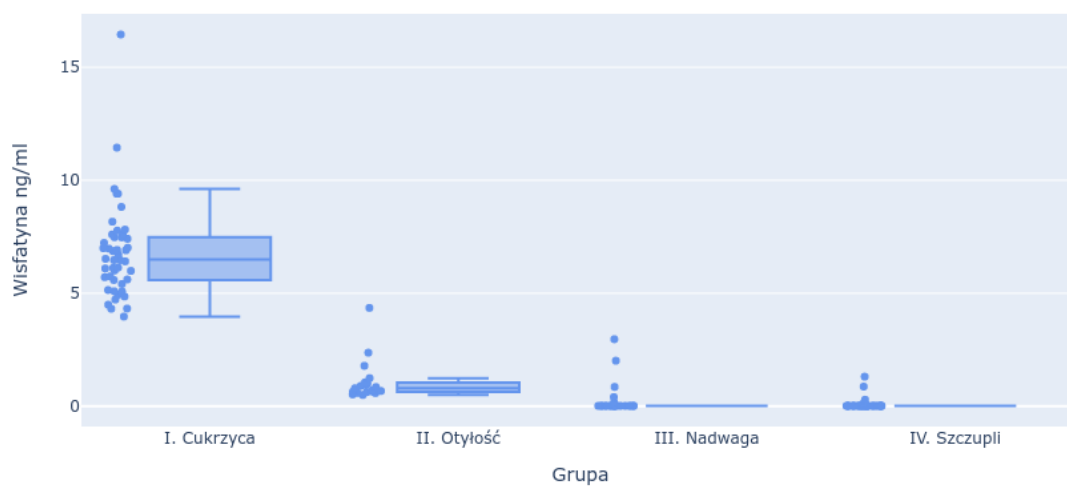
Ryc. 42 Wykresy skrzynkowe dla melatoniny w podziale na grupy.



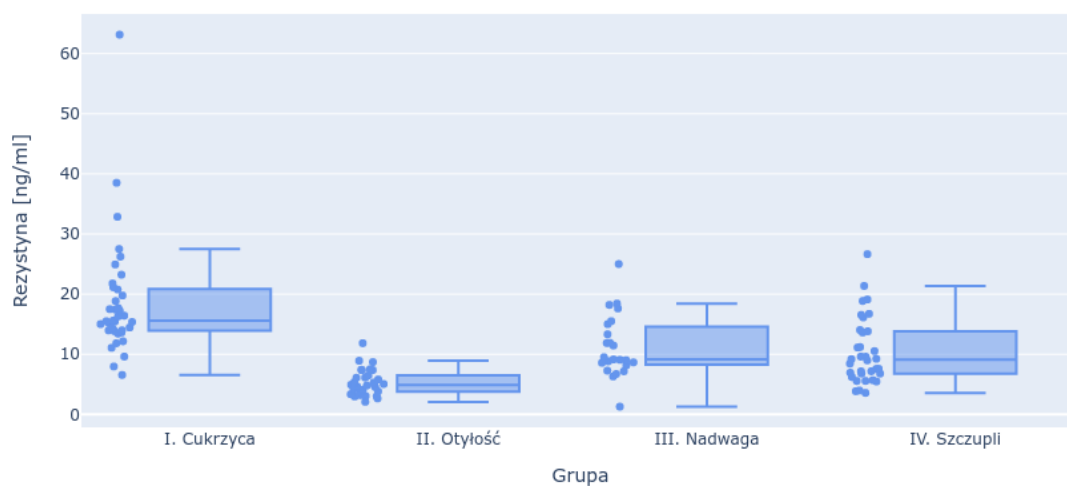
Ryc. 43 Wykresy skrzynkowe dla leptyny w podziale na grupy.



Ryc. 44 Wykresy skrzynkowe dla adiponektyny w podziale na grupy.



Ryc. 45 Wykresy skrzynkowe dla wisfatyny w podziale na grupy



Ryc. 46 Wykresy skrzynkowe dla rezystyny w podziale na grupy.

#### 4.7. Porównanie grupy badanej oraz badanych osób otyłych bez DM2 pod względem zmiennych analizowanych w badaniu.

W kolejnym kroku analizy porównano ze sobą dwie grupy (pacjenci z DM2 i osoby otyłe) pod względem wybranych zmiennych analizowanych w badaniu. Dla istotnych analiz głównych wykonano testy post-hoc, w celu sprawdzenia, które konkretnie grupy różniły się między sobą. Otrzymano następujące rezultaty (Tabela 17):

- dla IL-6: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom tej zmiennej niż badani otyli ( $p < 0,001$ ).
- Wartości stężeń IL-6 dla osób z nadwagą oraz prawidłową masą ciała mieściły się poniżej zakresu oznaczalności ( $<0,38$  pg/ml) dlatego nie ujęto ich w tabeli;
- dla witaminy D: badani z cukrzycą mieli istotnie niższy poziom tej witaminy niż badani otyli ( $p = 0,003$ );
  - dla kallistatyny: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom tej zmiennej niż badani otyli ( $p > 0,999$ )
  - dla iryzyny: badani z cukrzycą mieli wyższy poziom tej zmiennej niż badani otyli ( $p < 0,001$ );
  - dla oxLDL: badani z cukrzycą mieli istotnie niższy poziom tej zmiennej niż badani otyli ( $p < 0,001$ ).

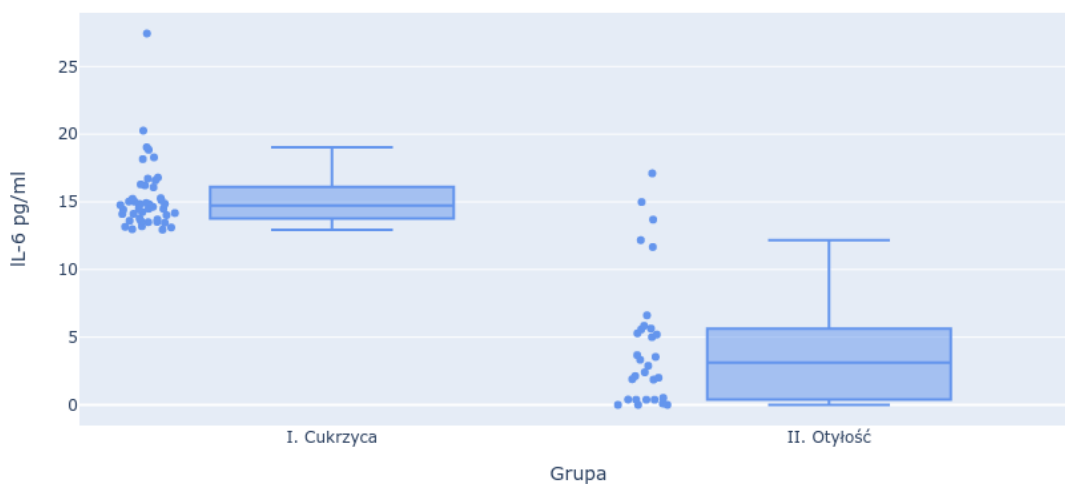
Zmienna	Cukrzycy	Otyli	p
	M ± SD/ Me (Q1; Q3)		
IL-6 [pg/ml]	14,74 (13,78; 16,08)	3,11 (0,43; 5,62)	<b>&lt; 0,001<sup>w</sup></b>
Wit. D3 [nmol/l]	61,12 ± 25,86	97,85 ± 43,67	<b>0,003<sup>t</sup></b>
Kallistatyna [ng/ml]	9425,95 (7804,80; 12008,87)	8137,75 (6295,56; 16237,16)	<b>&gt; 0,999<sup>w</sup></b>

Iryzyna [ug/ml]	7,41 (3,68; 15,39)	5,56 (1,28; 10,56)	<b>&lt; 0,001<sup>W</sup></b>
oxLDL [ng/ml]	84,01 (67,08; 116,30)	153,87 (130,03; 196,36)	<b>&lt; 0,001<sup>W</sup></b>

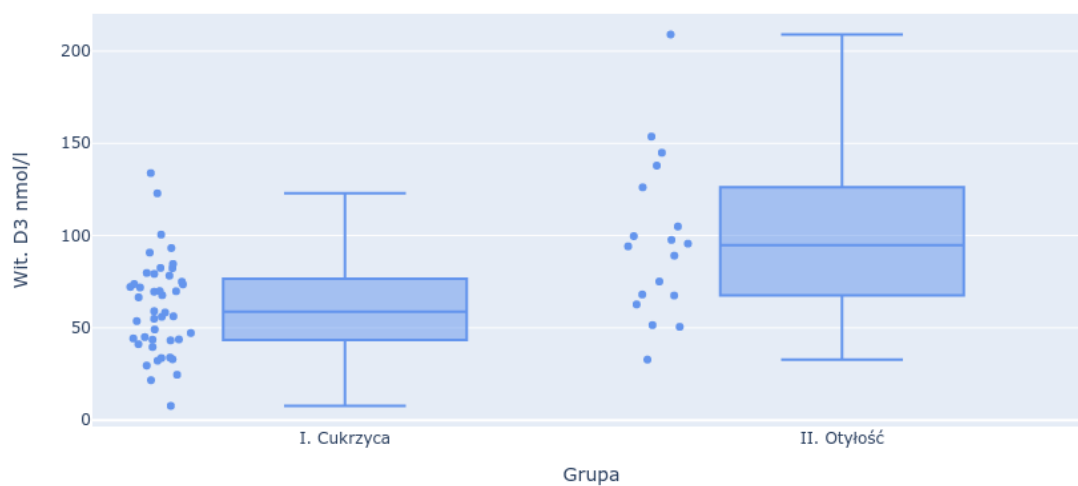
Tab. 17 Porównanie dwóch przebadanych grup

Me (Q1; Q3) – mediana z kwartylem 1 i 3;  $M \pm SD$  – średnia i odchylenia standardowe.  $p$  – wartość  $p$  dla analizy głównej testem Kruskala-Wallis lub ANOVA<sup>A</sup>/ dla testu t-Studenta<sup>t</sup> lub Wilcoxon<sup>W</sup> dla dwóch grup niezależnych.

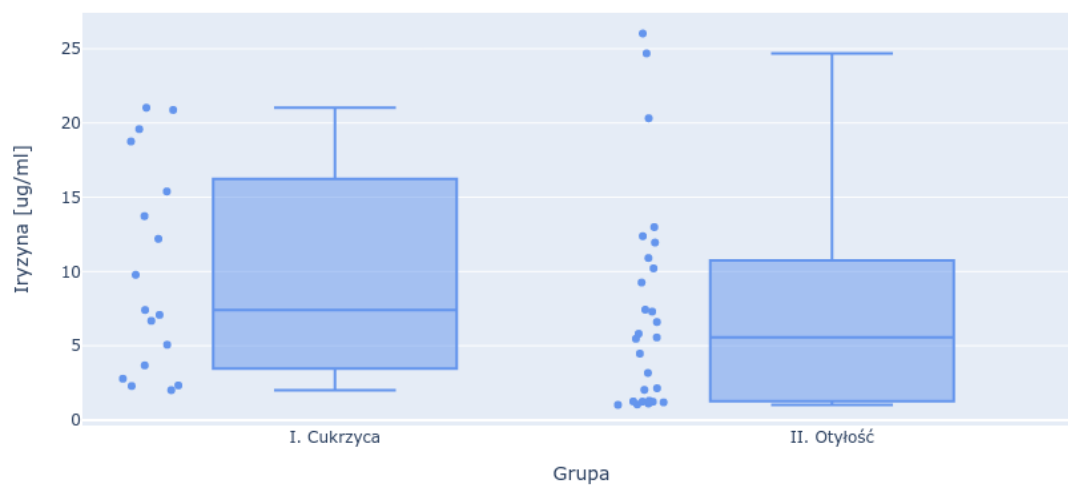
Na rycinach od 47 do 50 ukazano wykresy skrzynkowe dla istotnych porównań międzygrupowych opisanych w Tabeli 17.



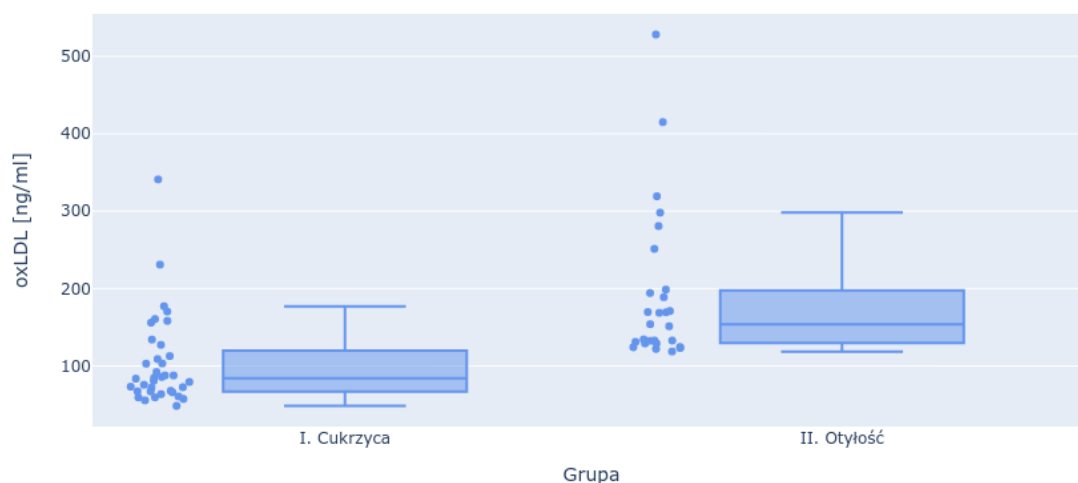
Ryc. 47 Wykresy skrzynkowe dla IL-6 w podziale na grupy.



Ryc. 48 Wykresy skrzynkowe dla witaminy D w podziale na grupy.



Ryc. 49 Wykresy skrzynkowe dla iryzyny w podziale na grupy.



Ryc. 50 Wykresy skrzynkowe dla oxLDL w podziale na grupy.

#### 4.8. Analiza korelacji między badanymi zmiennymi u osób z DM2

Następnie w grupie pacjentów z DM2 przeprowadzono analizę korelacji między następującymi zmiennymi: melatonina, witamina D3, leptyna, adiponektyna, wisfatyna, kallistatyna, iryzyna i rezystyna. Jedyna istotna korelacja, jaką wykryto to korelacja między melatoniną i adiponektyną – wraz ze wzrostem poziomu jednej zmiennej można było zaobserwować spadek poziomu drugiej zmiennej ( $\tau\text{-}b = -0,23$ ;  $p = 0,040$  – korelacja negatywna o słabej sile zależności) (Tabela 18).



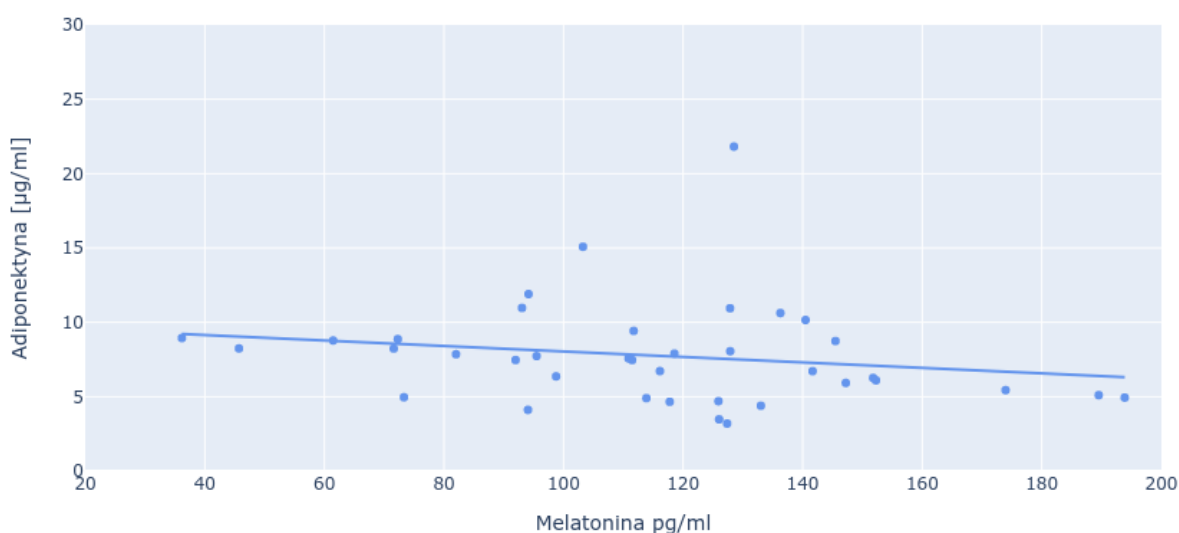
Zmienne	Melatonina pg/ml		Wit. D3 nmol/l		Leptyna [ng/ml]		Adiponektyna [µg/ml]		Wisfatyna ng/ml		Kallistatyna [ng/ml]		Iryzyna [ug/ml]	
	tab	up	tab	up	tab	up	tau	up	tab	up	tab	up	tab	up
Wit. D3 [nmol/l]	0,07	0,517												
Leptyna [ng/ml]	-0,13	0,272	-0,23	0,055										
Adiponektyna [µg/ml]	-0,23	<b>0,040</b>	0,02	0,892	<0,01	0,988								
Wisfatyna [ng/ml]	0,10	0,320	-0,04	0,716	-0,06	0,592	0,04	0,744						
Kallistatyna [ng/ml]	0,13	0,506	0,07	0,770	-0,33	0,129	0,19	0,388	0,28	0,139				
Iryzyna [ug/ml]	-0,18	0,349	-0,18	0,350	0,21	0,367	0,01	>0,999	-0,01	0,968	0,03	0,894		

Rezystyna a [ng/ml]	- 0, 07	0,5 65	- 0, 07	0,5 41	- 0, 06	0,6 19	0,1 2	0,32 1	0, 02	0,8 65	0, 03	0,9 52	< 0, 01	> 0,9 99
------------------------	---------------	-----------	---------------	-----------	---------------	-----------	----------	-----------	----------	-----------	----------	-----------	---------------	----------------

Tab. 18 Analiza korelacji między następującymi zmiennymi: melatonina, witamina D3, leptyna, adiponektyna, wisfatyna, kallistatyna, iryzyna i rezystyna

tau-b – współczynnik korelacji tau-b Kendalla; p – wartość p dla analizy korelacji.

Na Rycinie 51 ukazano wykres rozrzutu punktowego dla zależności między melatoniną i adiponektyną.



Ryc. 51 Wykres rozrzutu dla adiponektyny i melatoniny.

## 5. Dyskusja

W ciągu zaledwie ostatnich trzech dekad liczba chorych na cukrzycę typu 2 wzrosła 3,5 krotnie [286]. WHO prognozuje, że do 2030 roku cukrzyca będzie siódmą z najczęstszych przyczyn zgonów na świecie [287]. Cukrzyca stała się globalnym problemem zdrowotnym dotykającym obecnie 1 na 11 osób dorosłych populacji światowej [288], w tym 90% chorych stanowią pacjenci z typem 2 cukrzycy [289]. Sugeruje się, że istotnym czynnikiem leżącym u podłoża cukrzycy tego typu jest stan zapalny, który z kolei związany jest z rozwojem insulinooporności,

otyłości i zespołu metabolicznego oraz stanowi ogniwo między wyżej wymienionymi jednostkami chorobowymi a cukrzycą typu 2 [290].

### **5.1. Stężenie wybranych adipokin w przebiegu cukrzycy typu 2**

Leptyna to hormon wydzielany głównie przez tkankę tłuszczową, proporcjonalnie do masy ciała i stanu odżywienia [291]. Działa poprzez swoje receptory w podwzgórzu powodując zmniejszenie apetytu [292]. Poziom leptyny w surowicy zmniejsza się podczas głodu, aktywując procesy zwiększające pobór pokarmu [293]. Stężenie tej adipocytokiny zwiększa się natomiast w okresie sytości, działając anoreksygenicznie [293]. Zidentyfikowanie leptyny w 1994 roku [294] wzbudziło nadzieję na jej zastosowanie w terapii choroby otyłościowej [295]. Nadzieje te okazały się złudne, gdyż wdrażane terapie leptyną były nieskuteczne, co wiązano z leptynoopornością [295]. Inną istotną adipocytokiną jest adiponektyna. Adiponektyna wpływa na szereg procesów metabolicznych, bierze udział w regulacji gospodarki lipidowej i glukozowej oraz poprawia wrażliwość na insulinę [296]. Wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwmiażdżycowe i zwiększające insulinowrażliwość. Dane literaturowe dotyczące związku leptyny i adiponektyny z rozwojem i wyrównaniem metabolicznym cukrzycy typu 2 prezentują nieco zróżnicowane, aczkolwiek spójne wyniki. n Bidulescu i wsp. [297] w swoim badaniu ocenili związek leptyny i adiponektyny z występowaniem cukrzycy typu 2. Badaniu temu poddano 2779 osób bez cukrzycy i 584 osoby z cukrzycą typu 2, średnia długość obserwacji badanych wynosiła 7 lat. Potwierdzono związek leptyny z rozwojem DM2, którą poprzedzał rozwój insulinooporności. Taką zależność udowodniono tylko wśród mężczyzn oraz badanych bez choroby otyłościowej. Różnice między płciami w powyższym badaniu przypisywano innemu składowi tkanki tłuszczowej: wyższy procent tkanki tłuszczowej jest charakterystyczny dla kobiet, a tym samym występują u nich wyższe poziomy leptyny niż u mężczyzn. Brak

istotnej korelacji poziomu leptyny z DM2 u osób z otyłością przypisywano zjawisku leptynooporności. W badaniu tym wykazano również, że poziom adiponektyny był ujemnie skorelowany z rozwojem cukrzycy typu 2 u wszystkich badanych osób. W innym badaniu przeprowadzonym przez Sitar-Tăut i wsp. [298] analizowano związek leptyny z otyłością i cukrzycą typu 2. Ocenie poddano 60 pacjentów (średni wiek  $61,88 \pm 10,08$  lat). Stwierdzono, że pacjenci z otyłością mieli wyższe wartości leptyny niż osoby z nadwagą i prawidłową masą ciała ( $p = 0,0020$  u kobiet,  $p = 0,0055$  u mężczyzn). Otyłość i cukrzyca wiążą się ze zmianami nie tylko całkowitej ilości, ale także poziomu adipokin w przeliczeniu na wskaźnik BMI ( $\text{kg}$  masy ciała/ $\text{m}^2$ ). We wspomnianym badaniu dowiedziono, że wzrost stężenia leptyny pojawia się już u osób z nadwagą, co według autorów daje podstawy do wczesnej interwencji u pacjentów z cukrzycą i otyłością. W badaniu Zhao i wsp. [299] analizowano profil metaboliczny pacjentów z cukrzycą z lub bez zespołu metabolicznego i porównano te dwie grupy ze zdrowymi osobami, stanowiącymi grupę kontrolną. Wysznięto wnioski, że pacjenci z cukrzycą, będący jednocześnie otyli, mają wyższe poziomy cholesterolu, trójglicerydów, insuliny i leptyny w porównaniu do pacjentów z prawidłową masą ciała z cukrzycą i bez cukrzycy. Zaproponowano hipotezę, że skoro poziom leptyny wykazuje pozytywną korelację z poziomem insuliny, to można wnioskować, że podwyższony poziom leptyny może przewidywać stopień insulinooporności u pacjentów z cukrzycą.

Wyniki badań niniejszej pracy potwierdziły korelację podwyższonego stężenia leptyny u osób z otyłością oraz cukrzycą typu 2. Zaobserwowano ponadto istotny statystycznie prawie dwukrotny wzrost poziomu leptyny u osób z DM2 ( $64,30$  ng/ml) w porównaniu z osobami z otyłością ( $33,60$  ng/ml). Może wskazywać to na udział tej adipokiny w rozwoju cukrzycy typu 2. Wysoki poziom leptyny u osób z otyłością i cukrzycą typu 2 potwierdza leptynooporność występującą u tych osób. Przyczyną sprzecznych doniesień dotyczących stężenia leptyny u

osób z cukrzycą typu 2 mogą być kryteria doboru pacjentów, przewlekłe podwyższone stężenie insuliny w osoczu oraz insulinooporność, czy też leczenie przeciwcukrzycowe [300]. Innymi czynnikami mogą być różnice w wieku, stopień otyłości, płeć, pochodzenie etniczne lub stosowana farmakoterapia [301]. Terapia przeciwcukrzycowa (insulinoterapia) zwiększa stężenie leptyny we krwi [302]. Również insulinooporność jest podstawowym mechanizmem w rozwoju cukrzycy typu 2. Stąd, przy oporności na insulinę i przewlekłej hiperinsulinemii, u chorych na DM2 należy spodziewać się wystąpienia hiperleptynemii [300].

Na negatywny udział leptyny w patomechanizmie DM2 wskazuje również dodatnia korelacja między stężeniem tej adipokiny a poziomem trójglicerydów w osoczu krwi potwierdzona w wynikach niniejszego badania. Związek hiperleptynemii z hipertrójglicerydemią może być wyjaśniony dwoma różnymi mechanizmami. Po pierwsze, korelacja ta może wynikać z sukcesywnego przyrostu masy tkanki tłuszczowej, a co za tym idzie rozwoju zespołu metabolicznego i wzrostu stężenia trójglicerydów oraz niezależnego wzrostu stężenia leptyny, związanego z hiperplazją i hipertrofią adipocytów wytwarzających tę adipokinę [303]. Po drugie postuluje się, że leptyna reguluje metabolizm lipidów powodując wzrost stężenia trójglicerydów [304]. Kavazarakis i wsp. [305] analizowali powyższą zależność w swoim badaniu. Wykazali, że wartości trójglicerydów były pozytywnie skorelowane z poziomami leptyny ( $p < 0,001$ ), podczas gdy poziomy frakcji HDL cholesterolu były odwrotnie proporcjonalne do wartości leptyny ( $p=0,05$ ). Hiperlipidemia wiąże się z podwyższonym stężeniem glukozy we krwi, dlatego wymaga szybkiej interwencji w celu zapobiegania rozwojowi cukrzycy, jak również jej leczenia u pacjentów z dyslipidemią [306].

W niniejszym badaniu wykazano również wyższe wartości adiponektyny u chorych na cukrzycę typu 2 bez nadciśnienia niż z nadciśnieniem tętniczym, jednakże bez istotności statystycznej.

Może to wskazywać na ochronny wpływ tej adipokiny, co łączy się z zaobserwowaną dodatnią korelacją między adiponektyną a poziomem frakcji HDL cholesterolu, która to odpowiada za odwrotny transport cholesterolu do wątroby [307]. HDL jest nazywany „dobrym cholesterolem” ze względu na swoje korzystne właściwości [308]. Cholesterol frakcji HDL działając przeciwzapalnie, antyoksydacyjnie, profibrynolitycznie i przeciwzakrzepowo zmniejsza ryzyko sercowo-naczyniowe [309]. Powyższe zależności między stężeniem cholesterolu i występowaniem nadciśnienia tętniczego a stężeniem adiponektyny należałoby zweryfikować w dalszych badaniach. Wiele dowodów wskazuje na to, że adiponektyna może przeciwdziałać rozwojowi DM2 poprzez obniżenie stężenia glukozy we krwi dzięki poprawie wrażliwości na insulinę, a jej poziom jest ujemnie skorelowany z rozwojem cukrzycy typu 2 [310]. W 5,5-letnim badaniu kontrolnym obejmującym 629 kobiet rasy kaukaskiej stwierdzono, że niskie stężenie adiponektyny w surowicy było niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla DM2 [311]. W niniejszym badaniu nie udowodniono niższego stężenia adiponektyny u chorych na cukrzycę typu 2. Potencjalnym ograniczeniem naszego badania mogą być czynniki zakłócające, w tym demograficzne i związane ze stylem życia. Różnice między badaniami mogą wynikać również z innych kryteriów doboru pacjentów, leczenia przeciwcukrzycowego, innego wieku pacjentów, stopnia otyłości, płci lub pochodzenia etnicznego. Inną kwestią jest zagadnienie, czy adiponektyna ma przyczynowy wpływ na rozwój cukrzycy, czy jest tylko markerem dla innych czynników ryzyka DM2; tę wątpliwość należałoby zweryfikować w dalszych badaniach.

Kolejnym hormonem wydzielanym przez adipocyty jest wisfatyna zidentyfikowana i opisana w 2004 roku. Adipocytokina ta jest skorelowana dodatnio z poziomem tkanki tłuszczowej, ma działanie prozapalne i insulinomimetyczne. Dane literaturowe dotyczące właściwości wisfatyny dostarczają nieprecyzyjnych informacji, a wyniki badań są w znacznej mierze

zróznicowane: w badaniu opublikowanym w 2020 roku [312] oceniono potencjalną rolę tej adipokiny w patogenezie cukrzycy typu 2, sprawdzając jej stężenie we krwi w stanie cukrzycy. Wyniki tego badania wskazują, że pacjenci z DM2 mają wyższy poziom wisfatyny w surowicy niż osoby zdrowe. Co więcej, wyższe poziomy wisfatyny obserwowano przy złej kontroli glikemii i rosnących wskaźnikach otyłości. W powyższej publikacji poziom wisfatyny w surowicy wynosił 7,01 ng/ml u osób z T2DM i 4,02 ng/ml u osób zdrowych ( $p=0,046$ ). Wskaźniki składu ciała nie wykazały istotnych statystycznie różnic pomiędzy dwoma grupami. Ponadto, poziom wisfatyny w surowicy był ponad dwukrotnie wyższy u osób z DM2 i gorszą kontrolą glikemii ( $HbA1c >7,5\%$ ) niż u chorych na cukrzycę typu 2 z lepszą kontrolą glikemii ( $HbA1c <7,5\%$ ) ( $p=0,001$ ). Wisfatyna dodatnio korelowała z BMI. Muzaffar Mir i wsp. [313] zaobserwowali wyższe poziomy wisfatyny u pacjentów z DM2, niezależnie od stopnia otyłości. Stężenie wisfatyny było dodatnio skorelowane z BMI. Wyniki niniejszej pracy stanowią potwierdzenie dla przeprowadzonych wcześniej badań nad oceną stężenia wisfatyny zarówno u osób otyłych, jak i chorych na cukrzycę typu 2. W niniejszej pracy stężenie wisfatyny u osób z DM2 było ponad 8-krotnie wyższe niż u osób otyłych i aż 325 razy wyższe niż u osób z prawidłową masą ciała i z nadwagą. U osób z otyłością poziom wisfatyny był 40-krotnie wyższy niż w przypadku prawidłowej masy ciała i nadwagi. Wyniki te jednoznacznie wskazują na udział wisfatyny w procesach związanych z rozwojem DM2, a także na istotną rolę otyłości jako czynnika ryzyka dla DM2.

Rezystyna to kolejny przykład adipocytokiny o działaniu prozapalnym, która ma duże znaczenie w patogenezie insulinooporności i powikłań sercowo-naczyniowych [314]. Siddiqui i wsp. [315] w swoim badaniu udowodnili, że stężenie rezystyny jest wprost proporcjonalne do nasilenia insulinooporności i stopnia otyłości. Stwierdzono, że poziom rezystyny w grupach osób z nieprawidłową glikemią na czczo i cukrzycą typu 2 był wyższy w porównaniu z grupą

kontrolną. Ponadto zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem rezystyny w surowicy z insulinoopornością ( $p=0,02$ ), markerami stanu zapalnego: TNF- $\alpha$  ( $p<0,001$ ) i IL-6 ( $p=0,007$ ) oraz markerem dysfunkcji śródbłonna: VCAM-1 ( $p=0,02$ ) w grupie T2D. W grupie osób z nieprawidłową glikemią na czczo rezystyna wykazywała istotną dodatnią korelację z IL-6 ( $p=0,03$ ). Obserwacje te potwierdzają prozapalną rolę rezystyny w przebiegu cukrzycy. Zbieżne doniesienie przedstawili Su i wsp. [316] w metaanalizie, która potwierdziła, że poziom rezystyny jest dodatnio skorelowany z nasileniem insulinooporności u pacjentów otyłych z DM2. W niniejszym badaniu stężenie rezystyny u diabetyków było o 70% wyższe niż u osób z grupy kontrolnej z prawidłową masą ciała, co potwierdza wcześniejsze doniesienia. Ponadto stężenie rezystyny korelowało dodatnio z osoczym stężeniem cholesterolu całkowitego i jego frakcją LDL, co wskazuje na możliwy udział tej adipokiny w procesach promiażdżycowych.

Iryzyna jest hormonopodobnym polipeptydem, który poprawia wrażliwość receptora insulinowego w mięśniach szkieletowych i sercu oraz usprawnia wątrobowy metabolizm glukozy i lipidów [317]. Iryzyna wywiera pozytywny wpływ na hiperglikemię i hiperlipidemię spowodowaną zespołem metabolicznym i otyłością [318]. Istnieje odwrotna zależność między stężeniem iryzyny a występowaniem cukrzycy typu 2, co wykazali Song i wsp. [319] w badaniu, w którym odnotowali obniżone stężenie iryzyny u pacjentów z cukrzycą typu 2 w porównaniu z kontrolą, niezależnie od wieku, płci czy BMI. Zgodnie z tym w innym badaniu na grupie 32 pacjentów z cukrzycą typu 2 zaobserwowano istotnie zmniejszone stężenie iryzyny u dorosłych z DM2 [320]. Nowsze doniesienia prezentują przeciwne wyniki. W badaniu Yildiz Kopuza i wsp. [321] analizowano stężenie iryzyny u 38 pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 2 oraz u 38 zdrowych osób z grupy kontrolnej, ponadto wzięto pod uwagę jakość odżywiania, uwzględniając tak zwany wskaźnik zdrowego odżywiania 2015 (HEI, ang. *Healthy Eating Index*). Stwierdzono, że poziomy iryzyny były wyższe w grupie diabetyków w



porównaniu ze zdrową grupą kontrolną (odpowiednio  $2,57 \pm 0,44$  ng/mL i  $2,15 \pm 0,44$  ng/mL;  $p < 0,001$ ). W obu grupach poziom iryzyny nie był związany z ogólnym HEI 2015, jednak był pozytywnie skorelowany z całkowitym spożyciem owoców i spożyciem całych owoców w grupie z DM2 ( $p < 0,05$ ). Podobnie, w niniejszym badaniu zaobserwowane stężenie iryzyny u osób z cukrzycą typu 2 o 33% wyższe niż u osób otyłych bez cukrzycy. Rozbieżności w badaniach dotyczących poziomu iryzyny w przebiegu cukrzycy typu 2 mogą wynikać z różnic w stosowanej diecie (szczególnie w zakresie spożywania owoców), różnego poziomu aktywności fizycznej, która w istotnym stopniu zwiększa poziom iryzyny [322], a także z różnego czasu trwania DM2 oraz stosowanego leczenia. U chorych na cukrzycę powikłania naczyniowe wynikające z dysfunkcji śródbłonna są główną przyczyną zgonów [323]. Stwierdzono, że w cukrzycy typu 2 iryzyna może łagodzić dysfunkcję śródbłonna częściowo poprzez redukcję stresu oksydacyjnego [324]. To sugeruje, że iryzyna może być potencjalnym środkiem w leczeniu powikłań cukrzycy i wskazuje, iż niezależnie od powyższych rozważań należałoby dążyć do uzyskania wyższych wartości tego parametru. Z pewnością niezbędne są dalsze badania, które pozwoliłyby zweryfikować niespójne wyniki dotyczące tej adipomiokiny.

## **5.2. Stężenie wybranych markerów stanu zapalnego w przebiegu cukrzycy typu 2**

Proces zapalny jest szeroko opisywany w literaturze jako potencjalny czynnik biorący udział w patomechanizmie otyłości i cukrzycy typu 2, między innymi poprzez jego udział w rozwoju insulinooporności i niszczeniu komórek beta trzustki [325]. IL-6 dzięki jej właściwościom immunomodulującym i prozapalnym jest uważana za jedną z cytokin przyczyniających się do rozwoju cukrzycy typu 2, a także występowania jej powikłań. Bowker i wsp. [326] przeprowadzili metaanalizę 15 badań prospektywnych, dotyczących stężenia IL-6 u chorych na DM2, w celu oceny wpływu chronicznego stanu zapalnego na wystąpienie tego

typu cukrzycy. Badanie obejmowało 5 421 osób z DM2 i 31 562 osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną. Wyższe poziomy IL-6 były związane z większą częstością występowania cukrzycy typu 2 ( $p < 0,01$ ), przy czym uczestnicy w górnym decylnym poziomie IL-6 mieli około 2-krotnie wyższe zagrożenie w porównaniu z dolnym decylem ( $p = 0,009$ ). Dostarczono tym samym dowodów na to, że przewlekły proces zapalny mediowany przez IL-6 jest zaangażowany w etiologię DM2. Podobny rezultat uzyskali Martínez-Ramírez i wsp. [327] w swoim badaniu, w którym analizowali związek parametrów zapalnych, w tym IL-6, z cukrzycą typu 2 w populacji meksykańskiej. Badaniu poddano 199 osób chorych na cukrzycę typu 2 oraz 213 osób z grupy kontrolnej, bez DM2. Wysznięto wniosek, że przewlekłe zapalenie o niskim stopniu nasilenia jest silnie związane z etiologią cukrzycy typu 2. Otrzymane w niniejszej pracy wyniki stężenia IL-6 wśród chorych na cukrzycę typu 2 potwierdziły wcześniejsze badania wskazujące na podwyższony poziom interleukiny 6 w przebiegu cukrzycy typu 2 i sugerujące istotny czynnik przewlekłego stanu zapalnego w patomechanizmie tej choroby. W grupie chorych na cukrzycę, która obejmowała 46 osób, stężenie IL-6 wyniosło 14,74 pg/ml, natomiast w grupie kontrolnej, liczącej 34 osoby, jej wartość była poniżej zakresu oznaczalności ( $< 0,38$  pg/ml) ( $p < 0,001$ ). Ponadto wykazane zostało podwyższone stężenie IL-6 w grupie 30 osób otyłych bez DM2 (3,11 pg/ml) w stosunku do grupy kontrolnej, co wskazuje, że IL-6 może być czynnikiem uczestniczącym w rozwoju otyłości oraz jej powikłań, a ponadto pozwala zaproponować oznaczanie stężenia IL-6 jako uzupełniającego markera w ocenie ryzyka cukrzycy typu 2 u osób z otyłością. Podobne wyniki uzyskano w badaniu poziomu IL-6 w odniesieniu do wskaźników masy ciała i profilu lipidowego u dorosłych Egipcjan z nadwagą i otyłością [328]. To badanie przekrojowe obejmowało 15 osób dorosłych z nadwagą, 45 z otyłością (15 osób – otyłość stopnia I, 15 - stopnia II i 15 - stopnia III) oraz 25 osób z grupy kontrolnej z prawidłową masą ciała. Zmierzono u nich poziom krążącej IL-6 i profil lipidowy. Krążące poziomy IL-6 były istotnie

wyższe u osób z nadwagą i otyłością. Stwierdzono statystycznie istotne dodatnie korelacje pomiędzy krążącym poziomem IL6 a BMI u osób z III stopniem otyłości oraz ujemne korelacje z frakcją HDL cholesterolu w surowicy u osób z II stopniem otyłości. Na tej podstawie autorzy badania wysunęli wniosek, że wysoki poziom IL-6 może odzwierciedlać nasilenie przewlekłego stanu zapalnego, który rozwija się przy dużym stopniu otyłości, co może przyczyniać się do rozwoju jej powikłań, zarówno bezpośrednio, jak i poprzez obniżenie poziomu frakcji HDL cholesterolu.

Kallistatyna jest glikoproteiną należącą do nadrodziny inhibitorów proteinaz serynowych (SERPIN). Ten specyficzny inhibitor kallikrein tkankowych wykazuje plejotropowe działanie w rozszerzaniu naczyń krwionośnych, hamowaniu zapalenia, procesu angiogenezy, włóknienia, apoptozy, stresu oksydacyjnego i progresji nowotworów [329]. W badaniu Yanga i wsp. [330] zaobserwowano, że poziom kallistatyny w surowicy był znacząco zwiększony u pacjentów z nefropatią cukrzycą w porównaniu z pacjentami z cukrzycą bez nefropatii oraz osób zdrowych z grupy kontrolnej i pozytywnie skorelowany z wydalaniem albuminy z moczem. Ponadto, poziom kallistatyny był znacząco podwyższony w mysich modelach z cukrzycą typu 1 i typu 2 [331]. W doświadczeniu na myszach stwierdzono również, że nadekspresja kallistatyny nasilała albuminurię, włóknienie nerek, zapalenie i stres oksydacyjny w cukrzycy [332]. Autorzy badania wysunęli wniosek, że wysokie poziomy kallistatyny nasilają rozwój nefropatii cukrzycowej, sugerując jego potencjalną rolę jako biomarkera dla prognozy tego powikłania cukrzycy. W innym badaniu Zhu i wsp. [333] wykazali odwrotną korelację stężenia kallistatyny z otyłością w grupie 318 afroamerykańskich nastolatków w wieku 14-19 lat. Natomiast Gateva i wsp. [334] nie stwierdzili korelacji pomiędzy poziomem kallistatyny a BMI u otyłych pacjentów bez zaburzeń glikemii oraz w grupie otyłych pacjentów ze stanem przedcukrzycowym. Z kolei Frühbeck i wsp. [335] ocenili stężenie kallistatyny i jej związek z

otyłością u osób zdrowych oraz w grupie pacjentów z otyłością. Zaobserwowali, że poziom krążącej kallistatyny był istotnie obniżony w grupie otyłych w porównaniu z grupą osób z prawidłową masą ciała. Ponadto zaobserwowali negatywną zależność pomiędzy poziomem krążącej kallistatyny a parametrami antropometrycznymi związanymi z otyłością. W niniejszym badaniu nie stwierdzono różnic w wydzielaniu kallistatyny między pacjentami z DM2 i osobami z chorobą otyłościową. Biorąc pod uwagę możliwy związek pomiędzy poziomem kallistatyny a parametrami antropometrycznymi związanymi z otyłością, konieczne są dalsze badania na większej grupie, aby określić te zależności, uwzględniając zmienne, takie jak przyjmowane przez pacjenta leki.

Utlenione lipoproteiny o niskiej gęstości są cząsteczkami prozapalnymi, które odgrywają ważną rolę w rozwoju otyłości, zespołu metabolicznego i chorób sercowo-naczyniowych [336]. Otyłość jest czynnikiem ryzyka cukrzycy typu 2 i miażdżycy [337]. Rozwój tych patologii wiąże się z dysregulacją wydzielania adipocytokin, co ma związek z obserwowanym w otyłości przewlekłym zapaleniem o niskim stopniu nasilenia [337]. Poziom frakcji LDL cholesterolu jest ważnym czynnikiem ryzyka miażdżycy, a każde obniżenie frakcji LDL-C o 38,7 mg/dl powoduje 20% redukcję zdarzeń sercowo-naczyniowych [338]. Istnieje wiele doniesień literaturowych na temat oxLDL ujętych w różnych kontekstach klinicznych. Rentería-Mexía i wsp. [339] badali wpływ interwencji dotyczącej stylu życia, której celem była poprawa odżywiania i zwiększenie aktywności fizycznej, na markery ryzyka kardiometabolicznego i utlenione lipoproteiny wśród 35 otyłych nastolatków ze stanem przedcukrzycowym. Udział w interwencji spowodował istotne zmniejszenie masy ciała (-1,2%,  $p=0,042$ ), BMI (-2,0%,  $p=0,001$ ), stężenia trójglicerydów (-11,8%,  $p=0,032$ ) i cholesterolu całkowitego (-5,0%,  $p=0,002$ ). Poziom oxLDL również uległ istotnemu obniżeniu (51,0 U/l vs 48,7 U/l,  $p=0,022$ ). Dane te potwierdzają zasadność interwencji w zakresie stylu życia oraz redukcji masy ciała w minimalizowaniu

ryzyka sercowo-naczyniowego i rozwoju cukrzycy typu 2 oraz korelację stężenia oxLDL z pozostałymi markerami proaterogennymi. W badaniu Banerjee'a i wsp. [340] przeprowadzonym na 79 osobach z cukrzycą typu 2 i tak samo licznej grupie kontrolnej, dowiedziono, że stężenie oxLDL było istotnie wyższe w cukrzycy typu 2 niż w grupie kontrolnej ( $p < 0,001$ ), ponadto korelowało dodatnio z wartością glikemii na czczo i insulinoopornością. Podkreślono, że należy zwrócić większą uwagę na poziom oxLDL w celu kontroli profilu lipidowego i progresji cukrzycy, jak również zmniejszenia ryzyka sercowego u pacjentów z cukrzycą typu 2. Z kolei, w badaniu obserwacyjnym Xu i wsp. [341] odnotowano, że metformina zmniejsza stężenie LDL u pacjentów z DM2 o około 11,85 mg/dl ( $P < 0,05$ ).

W niniejszym badaniu poziom oxLDL był najwyższy u osób z otyłością, co przemawia za największym ryzykiem sercowo-naczyniowym, rozwoju miażdżycy i cukrzycy typu 2 w tej grupie osób. OxLDL mógłby posłużyć jako marker tego ryzyka i ukierunkować na wczesną interwencję terapeutyczną. Zgodnie z powyższym doniesieniem, również w niniejszym badaniu stężenie oxLDL u osób z cukrzycą typu 2, którzy byli już poddani farmakoterapii, było o 45% niższe niż u osób z chorobą otyłościową bez DM2, co potwierdzić może pozytywny wpływ metforminy na ten parametr.

### **5.3. Stężenie witaminy D w przebiegu cukrzycy typu 2**

Kolejnym czynnikiem badanym w niniejszej pracy, którego potencjalny wpływ na rozwój cukrzycy typu 2 jest przedmiotem ostatnich badań nad otyłością i cukrzycą, jest stężenie witaminy D. Hipowitaminoza D definiowana jest jako wartości  $\leq 30$  ng/ml (czyli  $\leq 75$  nmol/l) [342]. Choć dowody epidemiologiczne są nieprecyzyjne, istnieją publikacje zawierające interesujące rezultaty badań nad oceną wpływu niedoboru witaminy D na powstanie cukrzycy typu 2 [343]. Zgodnie z doniesieniami, oporność na insulinę i dysfunkcja komórek beta trzustki

mogą być związane z niedoborem witaminy D [343]. Ponadto ustalono związek zespołu metabolicznego z niedoborem witaminy D, co z kolei może prowadzić do nasilenia insulinooporności [344]. Nasr i wsp. [345] badali rozpowszechnienie niedoboru witaminy D wśród pacjentów z cukrzycą typu 2 i osób bez cukrzycy w Arabii Saudyjskiej. Badanie prowadzono od listopada 2017 do maja 2018 roku. Do badania zrekrutowano 64 mężczyzn (zarówno grupa z DM2, jak i grupa bez cukrzycy liczyły po 32 osoby), przy czym średni wiek pacjentów z DM2 wynosił 48,6 lat, natomiast osób bez cukrzycy 42,4 lata. Stwierdzono, że poziom witaminy D był wyższy u osób bez cukrzycy niż u chorych na cukrzycę, potwierdzając istotny statystycznie związek pomiędzy niedoborem witaminy D a rozwojem cukrzycy typu 2 ( $p=0,001$ ). Ponadto, czas trwania cukrzycy był jedynym czynnikiem, który okazał się być dodatnio skorelowany z niedoborem witaminy D u pacjentów z DM2.

Dane literaturowe sugerują, że suplementacja witaminą D może przyczynić się do poprawy wydzielania insuliny i kontroli glikemii u pacjentów z DM2 z towarzyszącym niedoborem witaminy D [346]. W metaanalizie obejmującej łącznie 2164 osoby poddane interwencji i 2149 osób otrzymujących placebo, zbadano wpływ suplementacji witaminą D na kontrolę glikemii u osób z cukrzycą typu 2 [347]. Zaobserwowano statystycznie istotną różnicę w poziomie HbA1c między grupą interwencyjną a kontrolną ( $p < 0,001$ ), wskazującą na odwrotną korelację wpływu suplementacji witaminy D na wartość HbA1c.

Z kolei Khudayar i wsp. [348] badali związek pomiędzy niedoborem witaminy D a cukrzycą typu 2. Do badania włączono 525 pacjentów chorych na cukrzycę typu 2, w wieku od 30 do 60 lat, niezależnie od płci. Grupę kontrolną stanowiło 525 osób bez DM2. Średni czas trwania cukrzycy u pacjentów wynosił  $6,8 \pm 2,4$  roku. Średni poziom 25-hydroksy-witaminy D w surowicy wynosił  $22,3 \pm 10,4$  ng/ml. W grupie pacjentów z DM2 większość chorych (54,1%)

miała niedobór witaminy D, podczas gdy tylko u 25,9% osób z grupy kontrolnej wykazano hipowitaminozę. Niedobór witaminy D był istotnie skorelowany z występowaniem cukrzycy typu 2 ( $p < 0,0001$ ). Ponieważ wiele badań wskazuje, że u pacjentów z cukrzycą typu 2 częściej występuje niedobór witaminy D, wydaje się istotnym, by chorym z DM2 ze współtowarzyszącym niedoborem witaminy D zalecać suplementację tym związkami. Taka terapia wspierająca może mieć znaczenie dla poprawy kontroli glikemii u tych pacjentów.

W niniejszym badaniu również stwierdzono niedobór witaminy D u pacjentów z cukrzycą typu 2, jej poziom był niższy o 37,5% u osób chorych na DM2 w porównaniu do osób otyłych bez cukrzycy ( $p = 0,003$ ). Potwierdza to hipotezę, że witamina D może uczestniczyć w progresji cukrzycy typu 2, sugerując, że wyrównanie jej niedoboru może przyczynić się do obniżenia poziomu HbA1c i lepszego wyrównania metabolicznego cukrzycy. Dodatkowo przemawia za tym zaobserwowane w niniejszym badaniu niższe stężenie witaminy D u pacjentów z DM2 z hiperlipidemią, która jest jedną ze składowych zespołu metabolicznego, predysponującą do progresji dysfunkcji metabolicznych i rozwoju DM2. U diabetyków z hiperlipidemią stwierdzono poziom witaminy D niższy o 39,7% niż u pacjentów z DM2 bez hiperlipidemii ( $p = 0,004$ ).

Inne badania potwierdzają te wyniki. W badaniu z 2016 roku, w którym analizowano polską kohortę pacjentów, stwierdzono odwrotną zależność między poziomem witaminy D a stężeniem cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu oraz trójglicerydów [349]. W badaniu analizującym poziom witaminy D i różnych frakcji lipidowych u ponad 20 000 osób wykazano istotną statystycznie korelację między niedoborem witaminy D a aterogennym profilem lipidowym pacjentów [350]. W metaanalizie oceniającej wpływ suplementacji witaminy D na stężenie cholesterolu całkowitego, jego frakcji LDL i HDL oraz trójglicerydów,

stwierdzono odwrotną i statystycznie istotną zależność pomiędzy suplementacją witaminą D a stężeniem trójglicerydów, cholesterolu całkowitego i LDL [351]. Natomiast w przypadku frakcji HDL cholesterolu zaobserwowano, że suplementacja witaminą D skutkowała wzrostem stężenia tego parametru. Pomimo tego, że cukrzyca typu 1 nie była istotą niniejszej pracy, na uwagę zasługuje fakt, że u dzieci suplementacja witaminą D w celu utrzymania jej stężenia w surowicy w optymalnym zakresie wartości referencyjnych wiązała się z mniejszym ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 1, a także była korzystnym czynnikiem wspierającym kontrolowanie tej choroby [352].

Istnieją również doniesienia wykazujące związek między niższą śmiertelnością ze wszystkich przyczyn a optymalnym poziomem witaminy D u osób z cukrzycą typu 2. W badaniu Wan i wsp. [353] stwierdzono, że prawidłowe stężenie witaminy D w osoczu było istotnie skorelowane z niższą śmiertelnością ogólną wśród osób z DM2. Podobne wnioski postawiono w badaniu Lu i wsp. [354], w którym wykazano, że wśród 15 195 dorosłych tylko 23% miało wystarczający poziom witaminy D, a u pacjentów z poziomem witaminy D poniżej 30 nmol/l stwierdzono istotnie wyższą śmiertelność z powodu wszystkich przyczyn ( $p < 0,001$ ).

Podsumowując, obecne ustalenia i istniejące dowody sugerują, że witamina D może pomóc w zapobieganiu lub opóźnieniu wystąpienia cukrzycy typu 2. Niniejsze badanie było ograniczone przez stosunkowo niewielką liczebność grupy badanej. Uzasadnione byłyby dalsze, zakrojone na szeroką skalę analizy, aby zrozumieć niewątpliwie wielokierunkowe zależności między witaminą D a rozwojem DM2 i jej powikłań. Niewątpliwie jednak, uwzględniając dotychczasowe badania, należałoby sugerować wyrównanie niedoborów witaminy D populacji jako cel terapeutyczny, który może przyczynić się do obniżenia ryzyka rozwoju



cukrzycy typu 2, skuteczniejszego leczenia i wyrównania metabolicznego, a nawet zmniejszenia śmiertelności ogólnej w tej grupie pacjentów.

#### **5.4. Stężenie melatoniny w przebiegu cukrzycy typu 2**

Na podstawie istniejących badań stwierdzono, że rozchwianie rytmów okołodobowych i zła jakość snu mogą zwiększać ryzyko chorób metabolicznych, w tym cukrzycy typu 2 [355]. Dotychczasowe doniesienia sugerują, że melatonina wykazuje działanie ochronne na gospodarkę hormonalną oraz reguluje rytmy okołodobowe [356]. Melatonina ma znaczenie w regulacji wydzielania hormonów, takich jak leptyna i grelina, które są kluczowymi mediatorami w homeostazie metabolicznej [357]. Badania wskazują, że melatonina odgrywa korzystną rolę w leczeniu cukrzycy typu 2, choć nadal nie jest rozstrzygnięte, czy leczenie melatoniną u chorych może wywołać działania niepożądane [358]. Liczne badania wykazały, że u podstaw etiopatogenezy DM2 leżą stres oksydacyjny, dysfunkcja mitochondriów, insulinooporność i przewlekły stan zapalny [359]. Melatonina wydaje się spełniać kryteria związku o znaczeniu ochronnym w przypadku każdego z wyżej wymienionych czynników, m.in. poprzez ukierunkowanie szlaków metabolicznych regulowanych przez insulinę w mózgu [357].

W swoim badaniu Wan i wsp. [360] oceniali stężenie melatoniny w osoczu u pacjentów z retinopatią cukrzycową wtórną do cukrzycy typu 2. Stwierdzono, że stężenie melatoniny w osoczu wynosiło: 72,83, 60,38, 44,48 pg/ml odpowiednio w zdrowej kontroli, u diabetyków bez retinopatii, u diabetyków z retinopatią cukrzycową. Dane uzyskane w tym badaniu wykazały, że stężenie melatoniny w osoczu było obniżone w przypadkach retinopatii cukrzycowej i może być wykorzystane jako czuły i specyficzny marker w jej diagnostyce ( $p < 0,001$ ). W badaniu Kalere'a i wsp. [361] oznaczano stężenie melatoniny i oceniano jakość snu u pacjentów z cukrzycą typu 2 i otyłością. W badaniu wzięło udział 38 uczestników: 26 chorych

na cukrzycę typu 2 oraz 12 osób bez cukrzycy w grupie kontrolnej. Dwudziestu z 38 uczestników badania było otyłych (19 z nich miało również DM2). Wśród pacjentów było 20 kobiet i 18 mężczyzn w wieku od 26 do 86 lat. Każdy z uczestników wypełnił kwestionariusz oceny jakości snu u osób dorosłych PSQI (ang. *Pittsburgh Sleep Quality Index*). Wyniki badania wykazały, że pacjenci z DM2 i otyłością mają niższe stężenie melatoniny. Stężenie melatoniny u uczestników z prawidłową masą ciała było istotnie wyższe niż u uczestników z chorobą otyłościową: 13,2 pg/ml vs. 5,9 pg/ml ( $p = 0,035$ ). W odniesieniu do stężenia melatoniny u diabetyków i uczestników bez DM2, w grupie chorych również zaobserwowano istotnie niższe stężenie: 6,1 pg/ml vs 17,8 pg/ml ( $p = 0,003$ ). W badaniu tym wykazano tendencję do ujemnej korelacji wyniku PSQI ze stężeniem melatoniny:  $r = -0,219$ ,  $p = 0,187$ . Nie stwierdzono natomiast istotnej statystycznie korelacji pomiędzy wartością hemoglobiny glikowanej a stężeniem melatoniny w grupie badanej ( $p = 0,577$ ). Ponadto, pacjenci z DM2 o czasie trwania < 10 lat mieli wyższe stężenie melatoniny niż pacjenci z cukrzycą trwającą dłużej (8,6 pg/ml vs 5,6 pg/ml,  $p = 0,307$ ). Chorzy na DM2 z powikłaniami mikronaczyniowymi mieli nieistotnie statystycznie niższe stężenie melatoniny niż chorzy bez tych powikłań. Konieczne są dalsze badania, aby w pełni ocenić związek między różnymi podgrupami pacjentów z cukrzycą typu 2 a poziomem melatoniny i jakością snu, a także możliwością zastosowania melatoniny w celu poprawy tych parametrów.

W badaniu Abooda i wsp. [362] badano efekt terapeutyczny metforminy u kobiet z zespołem metabolicznym po wdrożeniu do leczenia preparatem melatoniny. Pacjenci (35 kobiet) zostali losowo przydzieleni do dwóch grup. Grupa A (zakres wieku: 36-66 lat) była leczona przez trzy miesiące metforminą (500 mg dwa razy dziennie), a dodatkowo otrzymywała preparat placebo zawierający laktozę w postaci kapsułek. Grupa B (przedział wiekowy: 27-55 lat) również była leczona przez trzy miesiące metforminą (500 mg dwa razy dziennie), a dodatkowo

otrzymywała preparat melatoniny (10 mg w formie dawki w kapsułkach) raz dziennie w porze snu. Analizując wyniki stwierdzono, że melatonina poprawia pozytywny wpływ metforminy na kilka składowych zespołu metabolicznego, takich jak glikemia na czczo, profil lipidowy, BMI, insulinooporność i hiperinsulinemia. Suplementacja melatoniną może wywoływać efekt addytywny do metforminy, gdy są one stosowane długoterminowo u pacjentów z zespołem metabolicznym, co prowadzić może do zmniejszenia dawki metforminy, a następnie redukcji jej działań niepożądanych.

W niniejszym badaniu stężenie melatoniny u osób z otyłością było o 37% niższe niż u osób z prawidłową masą ciała. Obniżenie poziomu melatoniny u osób z otyłością potwierdza udział niedoboru tego hormonu w patogenezie tej choroby metabolicznej oraz jej powikłań. Zaskakująco, u osób z cukrzycą typu 2 poziom melatoniny był wyższy niż w pozostałych grupach badanych. Istotnie wyższy poziom melatoniny u osób z DM2 może wskazywać na pozytywny wpływ stosowanej farmakoterapii (insulina/metformina) na wydzielanie tego hormonu. Dotychczas nie opublikowano doniesień na potwierdzających wzrost melatoniny w tym mechanizmie, dlatego hipoteza ta wymaga dalszych analiz.

### **5.5. Analiza stężenia badanych parametrów w powikłaniach cukrzycy typu II**

Metaboliczne skutki działania przewlekłego, podwyższonego stężenia glukozy dotyczą przede wszystkim układu naczyniowego [363]. Można je podzielić na makroangiopatie i mikroangiopatie [364]. Choroba niedokrwienna serca, zawał serca, choroby tętnic obwodowych, a także choroby naczyniowe mózgu to szeroki zakres schorzeń, które reprezentują makroangiopatie [364]. Mikroangiopatie natomiast to zmiany czynnościowe i morfologiczne naczyń włosowatych, do których zaliczyć można retinopatię, nefropatię i neuropatię [365]. Setareh i wsp. [366] badali, czy poziom HbA1c może prognozować

retinopatię cukrzycową wśród pacjentów z cukrzycą typu 2. Do badania włączono 168 pacjentów. Częstość występowania retinopatii cukrzycowej wynosiła u nich 29,8%. Na podstawie wyników określono punkt odcięcia dla zmiennej HbA1c, który oddziela pacjentów z retinopatią od tych bez retinopatii, był nim poziom HbA1c równy 8,15%. Na podstawie otrzymanych danych sformułowano wniosek, że wartość ta mogłaby być stosowana do wstępnej identyfikacji osób o największym zagrożeniu wystąpienia retinopatii cukrzycowej i ich dalszego leczenia. Na podstawie metaanalizy obejmującej 18 prac badawczych wysokiej jakości, Zhang i wsp. [366] potwierdzili, że wartość HbA1c koreluje dodatnio z wystąpieniem retinopatii cukrzycowej i określili tę zależność jako metodę do wstępnego diagnozowania retinopatii. W kolejnym badaniu wykazano, że w przypadku pacjentów z cukrzycą typu 2 obniżenie poziomu HbA1c o 1% pozwala zmniejszyć ryzyko wystąpienia retinopatii o około 21% [367]. W niniejszym badaniu, podobnie jak we wcześniejszych doniesieniach, również potwierdzono korelację między występowaniem retinopatii a poziomem HbA1c, co wskazuje na zasadniczy udział braku metabolicznego wyrównania cukrzycy i związanej z tym przewlekłej hiperglikemii w rozwoju tego powikłania. U pacjentów bez retinopatii poziom HbA1c wynosił 6,9%, wskazując na prawidłową regulację poziomu glukozy, a w przypadku obecności retinopatii wartość ta wynosiła aż 9,8%.

Przyjęte obecnie postępowanie w innym powikłaniu cukrzycy – neuropatii - koncentruje się na poprawie kontroli glikemii, modyfikacji stylu życia oraz leczeniu objawowym bólu neuropatycznego. Dowiedziono jednak, że kontrola glikemii z celem HbA1c < 6% zwiększa śmiertelność u pacjentów z DM2 i ma niewielki wpływ na neuropatię cukrzycową, dlatego nie jest zalecana [368]. Optymalnym wyborem jest raczej dobra kontrola glikemii jako część holistycznego podejścia do leczenia DM2. Nozawa i wsp. [369] badali związek pomiędzy poziomem HbA1c a neuropatią cukrzycową. Przeanalizowano parametry 1632 pacjentów.

Średnie poziomy HbA1c w 3-letnim okresie obserwacji wynosiły  $7,2 \pm 1,0\%$  w grupie diabetyków z neuropatią cukrzycową i  $6,9 \pm 1,1\%$  w grupie kontrolnej. Rozwój lub progresja neuropatii obwodowej u pacjentów z cukrzycą typu 2 był związany z poziomem HbA1c. Nie określono punktu odcięcia dla konkretnej wartości hemoglobiny glikowanej, potrzebne są dalsze badania w celu potwierdzenia wstępnych ustaleń, jednak zdefiniowano docelowy poziom HbA1c wynoszący 6,5-7,0%, który może być korzystny dla pacjentów z DM2 w celu zapobiegania rozwojowi lub progresji neuropatii. W niniejszym badaniu występowanie neuropatii u pacjentów korelowało dodatnio z poziomem HbA1c. U cukrzyków bez neuropatii poziom hemoglobiny glikowanej wynosił średnio 6,4%, natomiast u diabetyków z neuropatią był znacznie powyższej wartości referencyjnej i wynosił 9,4%. Uzyskane wyniki potwierdzają udział przewlekłej hiperglikemii w rozwoju neuropatii cukrzycowej. Należy zaznaczyć, że z licznymi objawami neurologicznymi i neurokognitywnymi, w tym neuropatią obwodową i autonomiczną, połączonym podostrym zwyrodnieniem rdzenia kręgowego, delirium, demencją i demielinizacją aksonalną wiąże się niedobór witaminy B12 [370]. Przewlekłe stosowanie metforminy, będące pierwszym rzutem leczenia cukrzycy typu 2, może powodować niedobór tej witaminy [370]. Częstość występowania niedoboru witaminy B12 u pacjentów przyjmujących metforminę waha się od 5 do 50% w różnych populacjach [371]. Powyższe objawy neurologiczne mogą być błędnie interpretowane jako objawy neuropatii cukrzycowej u diabetyków i prowadzić do postawienia takiego rozpoznania. W badaniu przekrojowym na 162 pacjentach, Alvarez i wsp. [372] ocenili niedobór witaminy B12 i neuropatii cukrzycowej u pacjentów przyjmujących metforminę. W przypadku osób z neuropatią cukrzycową niedobór witaminy B12 występował u 64% pacjentów w porównaniu z 17% chorych bez neuropatii cukrzycowej. Osoby przyjmujące większą dawkę metforminy miały niższe poziomy witaminy B12. W toku diagnostyki różnicowej objawów neurologicznych

u diabetyków należy mieć na uwadze powyższe doniesienie. Oznaczanie witaminy B12 wydaje się być interesującym uzupełnieniem przyszłych badań nad powikłaniami cukrzycy typu 2.

Song i wsp. [373] oceniali rozbieżności w zakresie czynników ryzyka progresji nefropatii cukrzycowej u chorych na cukrzycę typu 2. Do badania tego włączonych było 604 diabetyków, których poddano 3-letniej ocenie retrospektywnej. Dowiedziono, że średnia glikemia wyrażona poprzez poziom HbA1c była istotnie związana z wystąpieniem i progresją nefropatii cukrzycowej. W badaniu United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) [374] również wykazano silny związek między kontrolą glikemii a ryzykiem rozwoju cukrzycowych powikłań mikronaczyniowych bez wyraźnego progu HbA1c. W innym badaniu Nakanishi i wsp. [375] oceniali związek między wystąpieniem nefropatii cukrzycowej, poziomem hemoglobiny glikowanej i wskaźnikiem masy ciała u japońskich pacjentów z cukrzycą typu 2. To badanie również potwierdziło znaczenie utrzymania HbA1c poniżej 7,0% i BMI poniżej 25 kg/m<sup>2</sup> dla zapobiegania cukrzycowej chorobie nerek u pacjentów z cukrzycą typu 2. Każdy z tych czynników wydawał się przyczyniać w równoważny sposób do zapobiegania nefropatii. Jednocześnie jednak w badaniu dowiedziono, że większe znaczenie ma utrzymanie HbA1c na poziomie niższym niż 7,0% w porównaniu z osiągnięciem BMI na poziomie niższym niż 25 kg/m<sup>2</sup>. Wyniki te sugerują znaczenie połączenia kontroli masy ciała i kontroli glikemii w prewencji nefropatii. W niniejszym badaniu również zaobserwowano wyższe poziomy hemoglobiny glikowanej w przypadku występowania cukrzycowej choroby nerek. Średni poziom HbA1c u diabetyków z nefropatią wynosił 10,10%, natomiast u diabetyków bez nefropatii 7,35%. Nie stwierdzono jednak istotności statystycznej ( $p=0,110$ ). Główną przyczyną braku istotności wydaje się być nieliczna grupa chorych z nefropatią. Należy wskazać, że średnia wieku pacjentów włączonych do niniejszego badania wynosiła 57,7 lat. Wskaźnik filtracji kłębuszkowej (GFR, ang. *glomerular filtration rate*) zmniejsza się o

1 ml/min/m<sup>2</sup> na rok poczynając od 30 roku życia [376] co również należy uwzględnić przy szacowaniu ryzyka nefropatii. Ze względu na ryzyko tego powikłania, w farmakoterapii cukrzycy typu 2 należy uwzględniać leki o działaniu nefroprotekcijnym, jakimi są inhibitory kontransportera sodowo-glukozowego typu 2 (SGLT2, ang. *sodium-glucose co-transporter-2*) powszechnie nazywane flozynami oraz analogi glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1, ang. *glucagon-like peptide-1*) [377] i uwzględniając całokształt obrazu klinicznego pacjenta oraz aktualne rekomendacje, wdrożyć je do leczenia.

Liczne dane literaturowe stanowią silną przesłankę, że wśród wielu czynników uczestniczących w rozwoju cukrzycy typu 2 istotną rolę pełnią zaburzenia czynności endokrynej tkanki tłuszczowej związane z nadmierną masą ciała, przewlekły stan zapalny i nasilony stres oksydacyjny. Postuluje się również udział niedoborów witaminy D i melatoniny, które są powszechne we współczesnych wysokorozwiniętych społeczeństwach. Te nieprawidłowości mają też związek z powikłaniami charakterystycznymi dla tej choroby, szczególnie w przypadku braku wyrównania metabolicznego u pacjenta. W niniejszej pracy wykazano szereg zaburzeń w zakresie stężenia w osoczu krwi wybranych adipokin, parametrów związanych ze stanem zapalnym, a także witaminy D i melatoniny zarówno u pacjentów z otyłością, jak i cukrzycą typu 2. Badania dotyczyły ponadto potencjalnych zależności między tymi parametrami a takimi powikłaniami DM2, jak hiperlipidemia, nefropatia, neuropatia, retinopatia i nadciśnienie tętnicze. Uzyskane wyniki mogą wskazywać obiecujące kierunki dalszych badań dotyczących możliwości wspierania terapii otyłości i cukrzycy typu 2, wyrównania metabolicznego choroby, a także zapobiegania powikłaniom.

## 6. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. Znamienny wzrost poziomu leptyny u osób z DM2 w porównaniu z osobami z otyłością wskazuje na udział tej adipokiny w rozwoju cukrzycy i na możliwość zastosowania tego parametru do oceny ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2 i jej wczesnej profilaktyki.
2. Wysoki poziom leptyny u osób z otyłością i cukrzycą typu 2 potwierdza leptynooporność w przebiegu obu schorzeń. Na negatywny udział leptyny w patomechanizmie DM2 wskazuje również dodatnia korelacja między tą adipokiną a poziomem trójglicerydów w osoczu krwi.
3. Potwierdzono udział wisfatyny w procesach związanych z rozwojem DM2, a ponadto wykazano, że w progresji tej choroby uczestniczą również rezystyna i iryzyna. Dodatkowo zaobserwowano, że wysokie poziomy rezystyny korelują dodatnio z osoczym stężeniem cholesterolu całkowitego i frakcji LDL, co wskazuje na możliwy udział tej adipokiny w procesach promiażdżycowych.
4. Wykazano wyższe wartości adiponektyny u chorych na DM2 bez nadciśnienia, jednakże bez istotności statystycznej. Może to wskazywać na ochronny wpływ tej adipokiny, co łączy się z zaobserwowaną dodatnią korelacją między adiponektyną a poziomem frakcji HDL cholesterolu. Te zależności należałoby zweryfikować w dalszych badaniach.
5. Nie stwierdzono różnic w wydzielaniu kallistatyny między pacjentami z DM2 i osobami z otyłością.
6. Obniżenie poziomu melatoniny u osób z otyłością potwierdza udział niedoboru tego hormonu w patogenezie otyłości i jej powikłań.



7. Istotnie wyższy poziom melatoniny u osób z DM2 może wskazywać na pozytywny wpływ stosowanej farmakoterapii (insulina/metformina) na wydzielanie tego hormonu.
8. Niższy poziom witaminy D u osób chorych na DM2, szczególnie w przypadku pacjentów z towarzyszącą hiperlipidemią potwierdza, że może ona uczestniczyć w progresji tej choroby metabolicznej.
9. Wysoki poziom IL-6 u pacjentów z cukrzycą typu 2 i u osób otyłych potwierdza znaczne nasilenie stanu zapalnego w przebiegu otyłości i DM2, co wskazuje na możliwą rolę tej prozapalnej cytokiny w rozwoju powikłań związanych z nadmierną masą ciała, a ponadto pozwala zaproponować oznaczanie stężenia IL-6 jako markera w diagnostyce cukrzycy typu 2.
10. Poziom oxLDL jest najwyższy u osób z otyłością, co świadczyć może o największym ryzyku rozwoju miażdżycy w tej grupie osób.
11. Występowanie retinopatii i neuropatii korelowało dodatnio z poziomem HbA1c, co wskazuje na zasadniczy udział przewlekłej hiperglikemii w rozwoju w tych powikłań cukrzycy.
12. Nie zaobserwowano korelacji między poziomem HbA1c a stężeniem melatoniny, witaminy D, badanych adipocytokin oraz wykładników stanu zapalnego, co wskazuje, że badane parametry nie spełniają kryterium wskaźników wyrównania metabolicznego cukrzycy typu 2.

## 7. Streszczenie

**Doktorant:** Anna Piórkowska

**Tytuł rozprawy:** Ocena zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, wybranych adipocytokin i wykładników stanu zapalnego a poziomem metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2.

**Promotor:** dr hab. N.med. Karolina Szewczyk-Golec, prof. UMK

W ostatnich dekadach cukrzyca typu 2 oraz jej powikłania urosły do rangi globalnego problemu współczesnego świata, stawiając tę chorobę w czołówce najczęstszych przyczyn śmierci na świecie. Za istotne w patogenezie cukrzycy typu 2 uważa się m.in. otyłość, zespół metaboliczny i przewlekły stan zapalny. Badane w niniejszej pracy parametry biochemiczne, tj. melatonina, witamina D, leptyna, adiponektyna, wisfatyna, interleukina 6, kallistatyna, iryzyna i rezystyna, stanowią przedmiot zainteresowania jako czynniki biorące udział w rozwoju cukrzycy typu 2 oraz potencjalne biomarkery metabolicznego wyrównania tej choroby. Badaniem objęto łącznie 133 osoby. Grupa chorych na cukrzycę typu 2 liczyła 46 badanych, a grupa kontrolna (osoby z prawidłową masą ciała, bez cukrzycy typu 2) 34 badanych. Ponadto wyróżniono dwie grupy o podwyższonym ryzyku rozwoju cukrzycy typu 2 (osoby otyłe oraz z nadwagą) kolejno: 30 oraz 23 badanych. Oznaczenia parametrów w surowicy krwi zostały wykonane za pomocą gotowych testów immunoenzymatycznych, przeprowadzono analizę statystyczną, a wyniki porównano z danymi literaturowymi. W niniejszej pracy wykazano szereg zaburzeń w zakresie stężenia w osoczu krwi wybranych adipokin, parametrów związanych ze stanem zapalnym, a także witaminy D i melatoniny zarówno u pacjentów z otyłością, jak i cukrzycą typu 2. Badania dotyczyły ponadto potencjalnych zależności między tymi parametrami a takimi powikłaniami DM2, jak

hiperlipidemia, nefropatia, neuropatia i retinopatia. Uzyskane wyniki mogą wskazywać obiecujące kierunki dalszych badań dotyczących możliwości wspierania terapii otyłości i cukrzycy typu 2, wyrównania metabolicznego choroby, a także zapobiegania powikłaniom.

Słowa kluczowe: adipocytokiny, cukrzyca typu 2, melatonina, otyłość, stan zapalny, witamina D, wyrównanie metaboliczne cukrzycy

## 8. Abstract

**PhD candidate:** Anna Piórkowska

**Title of the dissertation:** Assessment of the relationship between melatonin, vitamin D, selected adipocytokines and inflammatory factors and the level of metabolic compensation of type 2 diabetes.

**Supervisor:** Karolina Szewczyk-Golec, PhD, NCU Prof.

In recent decades, type 2 diabetes and its complications have grown into a global problem of the modern world, placing the disease among the most common causes of death worldwide. Obesity, metabolic syndrome and chronic inflammation, among other things, are considered important factors in the pathogenesis of type 2 diabetes. The biochemical parameters studied in the present study, i.e. melatonin, vitamin D, leptin, adiponectin, visfatin, interleukin-6, callistatin, irisin and resistin, are of interest as factors involved in the course of type 2 diabetes and potential biomarkers of metabolic compensation of this disease. 133 people were included in the study. The group with type 2 diabetes included 46 subjects, and the control group (normal weight subjects without type 2 diabetes) included 34 subjects. In addition, two groups with an increased risk of developing type 2 diabetes (obese and overweight subjects) were distinguished, respectively: 30 and 23 subjects. Serum parameters were determined using off-the-shelf immunoenzymatic assays, statistical analysis was performed, and the results were compared with literature data. The present study demonstrated a number of abnormalities in plasma levels of selected adipokines, inflammation-related parameters, as well as vitamin D and melatonin in both obese and type 2 diabetic patients. The study further investigated potential relationships between these parameters and such DM2 complications as hyperlipidemia, nephropathy, neuropathy and

retinopathy. The results may indicate promising avenues for further research on how to support the treatment of obesity and type 2 diabetes, the metabolic compensation of the disease, and the prevention of complications.

Keywords: adipocytokines, inflammatory state, melatonin, metabolic control of diabetes, obesity, type 2 diabetes, vitamin D

## 9. Piśmiennictwo

- [1] I. Nishimori *et al.*, 'Influence of Steroid Therapy on the Course of Diabetes Mellitus in Patients with Autoimmune Pancreatitis', *Pancreas*, vol. 32, no. 3, pp. 244–248, Apr. 2006, doi: 10.1097/01.mpa.0000202950.02988.07.
- [2] C. D. Mathers and D. Loncar, 'Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030', *PLoS Med*, vol. 3, no. 11, p. e442, Nov. 2006, doi: 10.1371/journal.pmed.0030442.
- [3] P Ghalioungui, 'The Ebers papyrus: A new English translation, commentaries and glossaries', 1987.
- [4] JJ Peumery, 'Histoire illustrée du diabète: de l'antiquité à nos jours', 1987.
- [5] MD Grmek, 'Le legs de Claude Bernard', 1997.
- [6] D von Engelhardt, 'Diabetes, Its Medical and Cultural History: Outlines, Texts, Bibliography', 1989.
- [7] L. Rydén and J. Lindsten, 'The history of the Nobel prize for the discovery of insulin', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 175, p. 108819, May 2021, doi: 10.1016/j.diabres.2021.108819.
- [8] 'Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus', *Diabetes Care*, vol. 36, no. Supplement\_1, pp. S67–S74, Jan. 2013, doi: 10.2337/dc13-S067.
- [9] Mi. Mouri and M. Badireddy, *Hyperglycemia*. 2022.
- [10] B. P. Sapra A, 'Diabetes Mellitus', *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023, 2022.*

- [11] Y. Liu *et al.*, 'Evidence From a Systematic Review and Meta-Analysis: Classical Impaired Glucose Tolerance Should Be Divided Into Subgroups of Isolated Impaired Glucose Tolerance and Impaired Glucose Tolerance Combined With Impaired Fasting Glucose, According to the Risk of Progression to Diabetes', *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 13, Feb. 2022, doi: 10.3389/fendo.2022.835460.
- [12] '2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—2021*', *Diabetes Care*, vol. 44, no. Supplement\_1, pp. S15–S33, Jan. 2021, doi: 10.2337/dc21-S002.
- [13] '*Standards of Medical Care in Diabetes—2022* Abridged for Primary Care Providers', *Clinical Diabetes*, vol. 40, no. 1, pp. 10–38, Jan. 2022, doi: 10.2337/cd22-as01.
- [14] '*Standards of Medical Care in Diabetes—2022* Abridged for Primary Care Providers', *Clinical Diabetes*, vol. 40, no. 1, pp. 10–38, Jan. 2022, doi: 10.2337/cd22-as01.
- [15] T. Nakamura *et al.*, 'Poorly controlled type 2 diabetes with no progression of diabetes-related complications and low levels of advanced glycation end products', *Medicine*, vol. 98, no. 30, p. e16573, Jul. 2019, doi: 10.1097/MD.00000000000016573.
- [16] S. B. Zaghlool *et al.*, 'Metabolic and proteomic signatures of type 2 diabetes subtypes in an Arab population', *Nat Commun*, vol. 13, no. 1, p. 7121, Nov. 2022, doi: 10.1038/s41467-022-34754-z.
- [17] L. C. G. E. U. Ketan Dhatariya, 'Management of Diabetes and Hyperglycemia in Hospitalized Patients', 2020.
- [18] Emily Eyth; Roopa Naik., 'Hemoglobin A1C', 2022.

- [19] P. Saeedi *et al.*, 'Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 157, p. 107843, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.diabres.2019.107843.
- [20] A. K. Verma *et al.*, 'A Compendium of Perspectives on Diabetes: A Challenge for Sustainable Health in the Modern Era', *Diabetes Metab Syndr Obes*, vol. Volume 14, pp. 2775–2787, Jun. 2021, doi: 10.2147/DMSO.S304751.
- [21] D. J. M. S. K. L. P. P. R. P. S. H. S. Edward J Boyko, 'IDF Diabetes Atlas 10th Edition', 2021.
- [22] W. Yang *et al.*, 'Prevalence of Diabetes among Men and Women in China', *New England Journal of Medicine*, vol. 362, no. 12, pp. 1090–1101, Mar. 2010, doi: 10.1056/NEJMoa0908292.
- [23] B. Abuyassin and I. Laher, 'Diabetes epidemic sweeping the Arab world', *World J Diabetes*, vol. 7, no. 8, p. 165, 2016, doi: 10.4239/wjd.v7.i8.165.
- [24] P. Saeedi *et al.*, 'Mortality attributable to diabetes in 20–79 years old adults, 2019 estimates: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 162, p. 108086, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.diabres.2020.108086.
- [25] N. H. Cho *et al.*, 'IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 138, pp. 271–281, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
- [26] The Emerging Risk Factors Collaboration, 'Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102



- prospective studies', *The Lancet*, vol. 375, no. 9733, pp. 2215–2222, Jun. 2010, doi: 10.1016/S0140-6736(10)60484-9.
- [27] S. Megyesiöva and V. Lieskovska, 'Analysis of the Sustainable Development Indicators in the OECD Countries', *Sustainability*, vol. 10, no. 12, p. 4554, Dec. 2018, doi: 10.3390/su10124554.
- [28] NFZ o zdrowiu, 'Centrala Narodowego Funduszu Zdrowia. Departament Analiz i Strategii', Nov. 2019.
- [29] M. W. K. M. I. L. M. R. W. W. K. S. P. R. M. W.-C. E. F. Iwona Towpik, 'Epidemiology of diabetes in Poland in 2014–2017', *Clinical Diabetology*, 2020.
- [30] A. S. , A.-A. M. A. , K. M. Z. Al-Goblan, 'Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy', pp. 587–587, 2014.
- [31] U. Galicia-Garcia *et al.*, 'Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus', *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 17, p. 6275, Aug. 2020, doi: 10.3390/ijms21176275.
- [32] Y. Zheng, S. H. Ley, and F. B. Hu, 'Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications', *Nat Rev Endocrinol*, vol. 14, no. 2, pp. 88–98, Feb. 2018, doi: 10.1038/nrendo.2017.151.
- [33] M. Wolosowicz, S. Prokopiuk, and T. W. Kaminski, 'Recent Advances in the Treatment of Insulin Resistance Targeting Molecular and Metabolic Pathways: Fighting a Losing Battle?', *Medicina (B Aires)*, vol. 58, no. 4, p. 472, Mar. 2022, doi: 10.3390/medicina58040472.
- [34] T. Pearson, J. A. D. Wattis, J. R. King, I. A. MacDonald, and D. J. Mazzatti, 'The Effects of Insulin Resistance on Individual Tissues: An Application of a Mathematical Model of

- Metabolism in Humans', *Bull Math Biol*, vol. 78, no. 6, pp. 1189–1217, Jun. 2016, doi: 10.1007/s11538-016-0181-1.
- [35] C. P. Hawkes and A. Grimberg, 'Insulin-Like Growth Factor-I is a Marker for the Nutritional State.', *Pediatr Endocrinol Rev*, vol. 13, no. 2, pp. 499–511, Dec. 2015.
- [36] T. Kuo, A. McQueen, T.-C. Chen, and J.-C. Wang, 'Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids', 2015, pp. 99–126. doi: 10.1007/978-1-4939-2895-8\_5.
- [37] K. E. Merz and D. C. Thurmond, 'Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake', in *Comprehensive Physiology*, Wiley, 2020, pp. 785–809. doi: 10.1002/cphy.c190029.
- [38] A. Feraco, S. Gorini, A. Armani, E. Camajani, M. Rizzo, and M. Caprio, 'Exploring the Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance: Lessons from Cultured Cells to Animal Models', *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 17, p. 9327, Aug. 2021, doi: 10.3390/ijms22179327.
- [39] G. D. Cartee, 'Mechanisms for greater insulin-stimulated glucose uptake in normal and insulin-resistant skeletal muscle after acute exercise', *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 309, no. 12, pp. E949–E959, Dec. 2015, doi: 10.1152/ajpendo.00416.2015.
- [40] E. Vargas, V. Podder, and M. A. Carrillo Sepulveda, *Physiology, Glucose Transporter Type 4*. 2022.
- [41] A. L. Olson, 'Regulation of GLUT4 and Insulin-Dependent Glucose Flux', *ISRN Mol Biol*, vol. 2012, pp. 1–12, Oct. 2012, doi: 10.5402/2012/856987.

- [42] J. Boucher, A. Kleinridders, and C. R. Kahn, 'Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States', *Cold Spring Harb Perspect Biol*, vol. 6, no. 1, pp. a009191–a009191, Jan. 2014, doi: 10.1101/cshperspect.a009191.
- [43] F. Zatterale *et al.*, 'Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes', *Front Physiol*, vol. 10, Jan. 2020, doi: 10.3389/fphys.2019.01607.
- [44] A. Chait and L. J. den Hartigh, 'Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease', *Front Cardiovasc Med*, vol. 7, Feb. 2020, doi: 10.3389/fcvm.2020.00022.
- [45] J. Zhao, Y. Wu, X. Rong, C. Zheng, and J. Guo, 'Anti-Lipolysis Induced by Insulin in Diverse Pathophysiologic Conditions of Adipose Tissue', *Diabetes Metab Syndr Obes*, vol. Volume 13, pp. 1575–1585, May 2020, doi: 10.2147/DMSO.S250699.
- [46] M. P. Czech, 'Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes', *Mol Metab*, vol. 34, pp. 27–42, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.molmet.2019.12.014.
- [47] M. M. Ali *et al.*, 'Adipose Tissue Hypoxia Correlates with Adipokine Hypomethylation and Vascular Dysfunction', *Biomedicines*, vol. 9, no. 8, p. 1034, Aug. 2021, doi: 10.3390/biomedicines9081034.
- [48] O. López-Ortega *et al.*, 'The Immune Response in Adipocytes and Their Susceptibility to Infection: A Possible Relationship with Infection Obesity', *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 11, p. 6154, May 2022, doi: 10.3390/ijms23116154.

- [49] S. Tsalamandris *et al.*, 'The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives', *European Cardiology Review*, vol. 14, no. 1, pp. 50–59, Apr. 2019, doi: 10.15420/ecr.2018.33.1.
- [50] P. M. Titchenell, M. A. Lazar, and M. J. Birnbaum, 'Unraveling the Regulation of Hepatic Metabolism by Insulin', *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 28, no. 7, pp. 497–505, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.tem.2017.03.003.
- [51] M. Hatting, C. D. J. Tavares, K. Sharabi, A. K. Rines, and P. Puigserver, 'Insulin regulation of gluconeogenesis', *Ann N Y Acad Sci*, vol. 1411, no. 1, pp. 21–35, Jan. 2018, doi: 10.1111/nyas.13435.
- [52] M. Li, X. Chi, Y. Wang, S. Setrerrahmane, W. Xie, and H. Xu, 'Trends in insulin resistance: insights into mechanisms and therapeutic strategy', *Signal Transduct Target Ther*, vol. 7, no. 1, p. 216, Jul. 2022, doi: 10.1038/s41392-022-01073-0.
- [53] J. H. M. Yung and A. Giacca, 'Role of c-Jun N-terminal Kinase (JNK) in Obesity and Type 2 Diabetes', *Cells*, vol. 9, no. 3, p. 706, Mar. 2020, doi: 10.3390/cells9030706.
- [54] E. P.-J. Jacek Sieradzki, 'Przewlekłe powikłania cukrzycy', 2022.
- [55] E. P.-J. Jacek Sieradzki, 'Retinopatia cukrzycowa', 2022.
- [56] Leszek Czupryniak, 'Current Topics in Diabetes', 2022.
- [57] P. Ansari *et al.*, 'Diabetic Retinopathy: An Overview on Mechanisms, Pathophysiology and Pharmacotherapy', *Diabetology*, vol. 3, no. 1, pp. 159–175, Feb. 2022, doi: 10.3390/diabetology3010011.
- [58] F. K. Edward Franek, 'Cukrzycowa choroba nerek', 2022.

- [59] Aldukhayel A., 'Prevalence of diabetic nephropathy among Type 2 diabetic patients in some of the Arab countries. *Int J Health Sci (Qassim)*', 2017.
- [60] M. L. Caramori and P. Rossing, *Diabetic Kidney Disease*. 2000.
- [61] Y. Lytvyn, P. Bjornstad, D. H. van Raalte, H. L. Heerspink, and D. Z. I. Cherney, 'The New Biology of Diabetic Kidney Disease—Mechanisms and Therapeutic Implications', *Endocr Rev*, vol. 41, no. 2, pp. 202–231, Apr. 2020, doi: 10.1210/edrev/bnz010.
- [62] M. K. Sagoo and L. Gnudi, 'Diabetic Nephropathy: An Overview', 2020, pp. 3–7. doi: 10.1007/978-1-4939-9841-8\_1.
- [63] R. Mallik and T. A. Chowdhury, 'Pharmacotherapy to delay the progression of diabetic kidney disease in people with type 2 diabetes: past, present and future', *Ther Adv Endocrinol Metab*, vol. 13, p. 204201882210816, Jan. 2022, doi: 10.1177/20420188221081601.
- [64] E. P.-J. Jacek Sieradzki, 'Neuropatia cukrzycowa', 2022.
- [65] E. L. Feldman *et al.*, 'Diabetic neuropathy', *Nat Rev Dis Primers*, vol. 5, no. 1, p. 41, Jun. 2019, doi: 10.1038/s41572-019-0092-1.
- [66] D. Ziegler *et al.*, 'Current concepts in the management of diabetic polyneuropathy', *J Diabetes Investig*, vol. 12, no. 4, pp. 464–475, Apr. 2021, doi: 10.1111/jdi.13401.
- [67] D. Dabelea *et al.*, 'Diabetes in Navajo Youth', *Diabetes Care*, vol. 32, no. Supplement\_2, pp. S141–S147, Mar. 2009, doi: 10.2337/dc09-S206.
- [68] A. J. Karter *et al.*, 'Elevated Rates of Diabetes in Pacific Islanders and Asian Subgroups', *Diabetes Care*, vol. 36, no. 3, pp. 574–579, Mar. 2013, doi: 10.2337/dc12-0722.

- [69] L. Haines, K. C. Wan, R. Lynn, T. G. Barrett, and J. P. H. Shield, 'Rising Incidence of Type 2 Diabetes in Children in the U.K.', *Diabetes Care*, vol. 30, no. 5, pp. 1097–1101, May 2007, doi: 10.2337/dc06-1813.
- [70] E. S. Schellenberg, D. M. Dryden, B. Vandermeer, C. Ha, and C. Korownyk, 'Lifestyle Interventions for Patients With and at Risk for Type 2 Diabetes', *Ann Intern Med*, vol. 159, no. 8, p. 543, Oct. 2013, doi: 10.7326/0003-4819-159-8-201310150-00007.
- [71] V. Bellou, L. Belbasis, I. Tzoulaki, and E. Evangelou, 'Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses', *PLoS One*, vol. 13, no. 3, p. e0194127, Mar. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0194127.
- [72] R. Sinha *et al.*, 'Assessment of Skeletal Muscle Triglyceride Content by <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Lean and Obese Adolescents', *Diabetes*, vol. 51, no. 4, pp. 1022–1027, Apr. 2002, doi: 10.2337/diabetes.51.4.1022.
- [73] A. R. Weinstein, 'Relationship of Physical Activity vs Body Mass Index With Type 2 Diabetes in Women', *JAMA*, vol. 292, no. 10, p. 1188, Sep. 2004, doi: 10.1001/jama.292.10.1188.
- [74] S. O. Song, Y.-C. Hwang, S. E. Kahn, D. L. Leonetti, W. Y. Fujimoto, and E. J. Boyko, 'Intra-Abdominal Fat and High Density Lipoprotein Cholesterol Are Associated in a Non-Linear Pattern in Japanese-Americans', *Diabetes Metab J*, vol. 44, no. 2, p. 277, 2020, doi: 10.4093/dmj.2019.0008.
- [75] J. P. Thyfault and A. Bergouignan, 'Exercise and metabolic health: beyond skeletal muscle', *Diabetologia*, vol. 63, no. 8, pp. 1464–1474, Aug. 2020, doi: 10.1007/s00125-020-05177-6.

- [76] C. Vassalle and M. Gaggini, 'Type 2 Diabetes and Oxidative Stress and Inflammation: Pathophysiological Mechanisms and Possible Therapeutic Options', *Antioxidants*, vol. 11, no. 5, p. 953, May 2022, doi: 10.3390/antiox11050953.
- [77] N. Esser, S. Legrand-Poels, J. Piette, A. J. Scheen, and N. Paquot, 'Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 105, no. 2, pp. 141–150, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.diabres.2014.04.006.
- [78] P. E. Bunney, A. N. Zink, A. A. Holm, C. J. Billington, and C. M. Kotz, 'Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet', *Physiol Behav*, vol. 176, pp. 139–148, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.physbeh.2017.03.040.
- [79] B. Strasser, 'Physical activity in obesity and metabolic syndrome', *Ann N Y Acad Sci*, vol. 1281, no. 1, pp. 141–159, Apr. 2013, doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06785.x.
- [80] B. Vandanmagsar *et al.*, 'The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance', *Nat Med*, vol. 17, no. 2, pp. 179–188, Feb. 2011, doi: 10.1038/nm.2279.
- [81] '3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—2019*', *Diabetes Care*, vol. 42, no. Supplement\_1, pp. S29–S33, Jan. 2019, doi: 10.2337/dc19-S003.
- [82] A. S. M. Shamsuzzaman *et al.*, 'Independent Association Between Plasma Leptin and C-Reactive Protein in Healthy Humans', *Circulation*, vol. 109, no. 18, pp. 2181–2185, May 2004, doi: 10.1161/01.CIR.0000127960.28627.75.

- [83] T. Kawamura and I. Muraoka, 'Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint', *Antioxidants*, vol. 7, no. 9, p. 119, Sep. 2018, doi: 10.3390/antiox7090119.
- [84] K. K. Panuganti, M. Nguyen, and R. K. Kshirsagar, *Obesity*. 2022.
- [85] I. Romieu *et al.*, 'Energy balance and obesity: what are the main drivers?', *Cancer Causes Control*, vol. 28, no. 3, pp. 247–258, Mar. 2017, doi: 10.1007/s10552-017-0869-z.
- [86] I. Kyrou, H. S. Randeva, C. Tsigos, G. Kaltsas, and M. O. Weickert, *Clinical Problems Caused by Obesity*. 2000.
- [87] M. da Silva, E. Weiderpass, I. Licaj, L. Lissner, and C. Rylander, 'Excess body weight, weight gain and obesity-related cancer risk in women in Norway: the Norwegian Women and Cancer study.', *Br J Cancer*, vol. 119, no. 5, pp. 646–656, Aug. 2018, doi: 10.1038/s41416-018-0240-5.
- [88] F. Q. Nuttall, 'Body mass index: Obesity, BMI, and health: A critical review', *Nutrition Today*. 2015. doi: 10.1097/NT.0000000000000092.
- [89] F. Q. Nuttall, 'Body mass index: Obesity, BMI, and health: A critical review', *Nutrition Today*. 2015. doi: 10.1097/NT.0000000000000092.
- [90] H. Wu and C. M. Ballantyne, 'Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity.', *Circ Res*, vol. 126, no. 11, pp. 1549–1564, May 2020, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315896.
- [91] S. S. Choe, J. Y. Huh, I. J. Hwang, J. I. Kim, and J. B. Kim, 'Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders', *Frontiers in Endocrinology*. 2016. doi: 10.3389/fendo.2016.00030.



- [92] P. Kotzbeck *et al.*, 'Brown adipose tissue whitening leads to brown adipocyte death and adipose tissue inflammation.', *J Lipid Res*, vol. 59, no. 5, pp. 784–794, May 2018, doi: 10.1194/jlr.M079665.
- [93] M. Ahmadian, R. E. Duncan, K. Jaworski, E. Sarkadi-Nagy, and H. S. Sul, 'Triacylglycerol metabolism in adipose tissue.', *Future Lipidol*, vol. 2, no. 2, pp. 229–237, Apr. 2007, doi: 10.2217/17460875.2.2.229.
- [94] P.-C. Chan and P.-S. Hsieh, 'The Role and Regulatory Mechanism of Brown Adipose Tissue Activation in Diet-Induced Thermogenesis in Health and Diseases', *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 16, p. 9448, Aug. 2022, doi: 10.3390/ijms23169448.
- [95] I. Kojta, M. Chacińska, and A. Błachnio-Zabielska, 'Obesity, bioactive lipids, and adipose tissue inflammation in insulin resistance', *Nutrients*. 2020. doi: 10.3390/nu12051305.
- [96] A. Chait and L. J. den Hartigh, 'Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease', *Front Cardiovasc Med*, 2020, doi: 10.3389/fcvm.2020.00022.
- [97] E. Toussiot, 'Mini-Review: The Contribution of Adipokines to Joint Inflammation in Inflammatory Rheumatic Diseases', *Frontiers in Endocrinology*. 2020. doi: 10.3389/fendo.2020.606560.
- [98] Y. Zhang, R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, and J. M. Friedman, 'Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue', *Nature*, vol. 372, no. 6505, pp. 425–432, Dec. 1994, doi: 10.1038/372425a0.

- [99] N. Abate, A. Garg, R. M. Peshock, J. Stray-Gundersen, and S. M. Grundy, 'Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men.', *Journal of Clinical Investigation*, vol. 96, no. 1, pp. 88–98, Jul. 1995, doi: 10.1172/JCI118083.
- [100] M. Obradovic *et al.*, 'Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication', *Frontiers in Endocrinology*. 2021. doi: 10.3389/fendo.2021.585887.
- [101] O. M. Farr, A. Gavrieli, and C. S. Mantzoros, 'Leptin applications in 2015', *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, vol. 22, no. 5, pp. 353–359, Oct. 2015, doi: 10.1097/MED.000000000000184.
- [102] H. Varkaneh Kord *et al.*, 'The influence of fasting and energy-restricted diets on leptin and adiponectin levels in humans: A systematic review and meta-analysis', *Clinical Nutrition*, vol. 40, no. 4, pp. 1811–1821, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.clnu.2020.10.034.
- [103] M. Obradovic *et al.*, 'Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication', *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 12, May 2021, doi: 10.3389/fendo.2021.585887.
- [104] A. E. Papathanasiou, E. Nolen-Doerr, O. M. Farr, and C. S. Mantzoros, 'GEOFFREY HARRIS PRIZE LECTURE 2018: Novel pathways regulating neuroendocrine function, energy homeostasis and metabolism in humans', *Eur J Endocrinol*, vol. 180, no. 2, pp. R59–R71, Feb. 2019, doi: 10.1530/EJE-18-0847.
- [105] D. Pretz, C. le Foll, M. Z. Rizwan, T. A. Lutz, and A. Tups, 'Hyperleptinemia as a contributing factor for the impairment of glucose intolerance in obesity', *The FASEB Journal*, vol. 35, no. 2, Feb. 2021, doi: 10.1096/fj.202001147R.
- [106] R. H. Lustig and I. Fennoy, 'The History of Obesity Research', *Horm Res Paediatr*, vol. 95, no. 6, pp. 638–648, 2022, doi: 10.1159/000526520.

- [107] William A. Banks, 'Leptin Transport Across the Blood-Brain Barrier: Implications for the Cause and Treatment of Obesity', *Curr Pharm Des*, vol. 7, no. 2, pp. 125–133, Jan. 2001, doi: 10.2174/1381612013398310.
- [108] A. Hinney, A. Körner, and P. Fischer-Posovszky, 'The promise of new anti-obesity therapies arising from knowledge of genetic obesity traits', *Nat Rev Endocrinol*, vol. 18, no. 10, pp. 623–637, Oct. 2022, doi: 10.1038/s41574-022-00716-0.
- [109] A. Deb, B. Deshmukh, P. Ramteke, F. K. Bhati, and M. K. Bhat, 'Resistin: A journey from metabolism to cancer', *Transl Oncol*, vol. 14, no. 10, p. 101178, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.tranon.2021.101178.
- [110] Y. Li *et al.*, 'Resistin, a Novel Host Defense Peptide of Innate Immunity', *Front Immunol*, vol. 12, Jun. 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.699807.
- [111] C. M. Steppan *et al.*, 'A family of tissue-specific resistin-like molecules', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 98, no. 2, pp. 502–506, Jan. 2001, doi: 10.1073/pnas.98.2.502.
- [112] L. Dilworth, A. Facey, and F. Omoruyi, 'Diabetes mellitus and its metabolic complications: The role of adipose tissues', *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. doi: 10.3390/ijms22147644.
- [113] A. S. Berghoff *et al.*, 'Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with extent of brain edema and overall survival time in patients with brain metastases', *Oncoimmunology*, vol. 5, no. 1, p. e1057388, Jan. 2016, doi: 10.1080/2162402X.2015.1057388.

- [114] F. Hernández, J. Merchán-Rubira, L. Vallés-Saiz, A. Rodríguez-Matellán, and J. Avila, 'Differences Between Human and Murine Tau at the N-terminal End', *Front Aging Neurosci*, vol. 12, Jan. 2020, doi: 10.3389/fnagi.2020.00011.
- [115] P. Malvi *et al.*, 'Elevated circulatory levels of leptin and resistin impair therapeutic efficacy of dacarbazine in melanoma under obese state', *Cancer Metab*, vol. 6, no. 1, p. 2, Dec. 2018, doi: 10.1186/s40170-018-0176-5.
- [116] A. Fukuhara *et al.*, 'Visfatin: A Protein Secreted by Visceral Fat That Mimics the Effects of Insulin', *Science (1979)*, vol. 307, no. 5708, pp. 426–430, Jan. 2005, doi: 10.1126/science.1097243.
- [117] J. K. Sethi and A. Vidal-Puig, 'Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes?', *Trends Mol Med*, vol. 11, no. 8, pp. 344–347, Aug. 2005, doi: 10.1016/j.molmed.2005.06.010.
- [118] L. Frydelund-Larsen, T. Akerstrom, S. Nielsen, P. Keller, C. Keller, and B. K. Pedersen, 'Visfatin mRNA expression in human subcutaneous adipose tissue is regulated by exercise', *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 292, no. 1, pp. E24–E31, Jan. 2007, doi: 10.1152/ajpendo.00113.2006.
- [119] S. R. Costford *et al.*, 'Skeletal muscle NAMPT is induced by exercise in humans', *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 298, no. 1, pp. E117–E126, Jan. 2010, doi: 10.1152/ajpendo.00318.2009.
- [120] M. Kukla *et al.*, 'Liver visfatin expression in morbidly obese patients with nonalcoholic fatty liver disease undergoing bariatric surgery.', *Pol J Pathol*, vol. 61, no. 3, pp. 147–53, 2010.

- [121] R. YANG *et al.*, 'MAPK pathway mediates the induction of visfatin in neonatal SD rat cardiomyocytes pretreated with glucose', *Biomed Rep*, vol. 2, no. 2, pp. 282–286, Mar. 2014, doi: 10.3892/br.2014.221.
- [122] Y. S. Kang *et al.*, 'Chronic Administration of Visfatin Ameliorated Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetic Mice', *Kidney Blood Press Res*, vol. 41, no. 3, pp. 311–324, 2016, doi: 10.1159/000443433.
- [123] K. Sawicka, M. Michalska-Jakubus, E. Potembska, M. Kowal, A. Pietrzak, and D. Krasowska, 'Visfatin and chemerin levels correspond with inflammation and might reflect the bridge between metabolism, inflammation and fibrosis in patients with systemic sclerosis', *Advances in Dermatology and Allergology*, vol. 36, no. 5, pp. 551–565, 2019, doi: 10.5114/ada.2018.79104.
- [124] M. Laudes *et al.*, 'Visfatin/PBEF/Nampt and Resistin Expressions in Circulating Blood Monocytes are Differentially Related to Obesity and Type 2 Diabetes in Humans', *Hormone and Metabolic Research*, vol. 42, no. 04, pp. 268–273, Apr. 2010, doi: 10.1055/s-0029-1243638.
- [125] T. Romacho *et al.*, 'Visfatin/eNampt induces endothelial dysfunction in vivo: a role for Toll-Like Receptor 4 and NLRP3 inflammasome', *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, p. 5386, Mar. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-62190-w.
- [126] E. Hu, P. Liang, and B. M. Spiegelman, 'AdipoQ Is a Novel Adipose-specific Gene Dysregulated in Obesity', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 271, no. 18, pp. 10697–10703, May 1996, doi: 10.1074/jbc.271.18.10697.

- [127] H. S. Berner *et al.*, 'Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells', *Bone*, vol. 35, no. 4, pp. 842–849, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.bone.2004.06.008.
- [128] T. Yamauchi *et al.*, 'Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects', *Nature*, vol. 423, no. 6941, pp. 762–769, Jun. 2003, doi: 10.1038/nature01705.
- [129] H. Yanai and H. Yoshida, 'Beneficial Effects of Adiponectin on Glucose and Lipid Metabolism and Atherosclerotic Progression: Mechanisms and Perspectives', *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 5, p. 1190, Mar. 2019, doi: 10.3390/ijms20051190.
- [130] W. Liu *et al.*, 'Serum leptin, resistin, and adiponectin levels in obese and non-obese patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus', *Medicine*, vol. 99, no. 6, p. e19052, Feb. 2020, doi: 10.1097/MD.00000000000019052.
- [131] S. C. Shabalala *et al.*, 'The effect of adiponectin in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the potential role of polyphenols in the modulation of adiponectin signaling', *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2020. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110785.
- [132] S. Rose-John, 'Interleukin-6 signalling in health and disease', *F1000Res*, vol. 9, p. 1013, Aug. 2020, doi: 10.12688/f1000research.26058.1.
- [133] T. M. Kistner, B. K. Pedersen, and D. E. Lieberman, 'Interleukin 6 as an energy allocator in muscle tissue', *Nat Metab*, vol. 4, no. 2, pp. 170–179, Feb. 2022, doi: 10.1038/s42255-022-00538-4.

- [134] K. Siewko *et al.*, 'Interleukin-6 and Interleukin-15 as Possible Biomarkers of the Risk of Autoimmune Diabetes Development', *Biomed Res Int*, vol. 2019, pp. 1–7, Oct. 2019, doi: 10.1155/2019/4734063.
- [135] H. Bashir *et al.*, 'Role of inflammatory mediators (TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP), biochemical and hematological parameters in type 2 diabetes mellitus patients of Kashmir, India.', *Med J Islam Repub Iran*, vol. 34, p. 5, 2020, doi: 10.34171/mjiri.34.5.
- [136] K. Kiernan and N. J. MacIver, 'The Role of the Adipokine Leptin in Immune Cell Function in Health and Disease', *Front Immunol*, vol. 11, Jan. 2021, doi: 10.3389/fimmu.2020.622468.
- [137] M. S. Han *et al.*, 'Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 117, no. 6, pp. 2751–2760, Feb. 2020, doi: 10.1073/pnas.1920004117.
- [138] Y. T. Wondmkun, 'Obesity, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes: Associations and Therapeutic Implications', *Diabetes Metab Syndr Obes*, vol. Volume 13, pp. 3611–3616, Oct. 2020, doi: 10.2147/DMSO.S275898.
- [139] F. Zatterale *et al.*, 'Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes', *Front Physiol*, vol. 10, Jan. 2020, doi: 10.3389/fphys.2019.01607.
- [140] D. PROSSER and G. JONES, 'Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D', *Trends Biochem Sci*, vol. 29, no. 12, pp. 664–673, Dec. 2004, doi: 10.1016/j.tibs.2004.10.005.

- [141] M. F. Holick, 'Vitamin D Deficiency', *New England Journal of Medicine*, vol. 357, no. 3, pp. 266–281, Jul. 2007, doi: 10.1056/NEJMra070553.
- [142] A. R. Webb, 'Who, what, where and when—influences on cutaneous vitamin D synthesis', *Prog Biophys Mol Biol*, vol. 92, no. 1, pp. 17–25, Sep. 2006, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.004.
- [143] W. Z. Mostafa and R. A. Hegazy, 'Vitamin D and the skin: Focus on a complex relationship: A review', *J Adv Res*, vol. 6, no. 6, pp. 793–804, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.jare.2014.01.011.
- [144] F. Saponaro, A. Saba, and R. Zucchi, 'An Update on Vitamin D Metabolism', *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 18, p. 6573, Sep. 2020, doi: 10.3390/ijms21186573.
- [145] M. Courbebaisse and E. Cavalier, 'Vitamin D in 2020: An Old Pro-Hormone with Potential Effects beyond Mineral Metabolism', *Nutrients*, vol. 12, no. 11, p. 3378, Nov. 2020, doi: 10.3390/nu12113378.
- [146] M. Cutolo, S. Paolino, A. Sulli, V. Smith, C. Pizzorni, and B. Seriolo, 'Vitamin D, steroid hormones, and autoimmunity', *Ann N Y Acad Sci*, vol. 1317, no. 1, pp. 39–46, May 2014, doi: 10.1111/nyas.12432.
- [147] J. F. P. Medeiros *et al.*, 'The impact of vitamin D supplementation on VDR gene expression and body composition in monozygotic twins: randomized controlled trial', *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, p. 11943, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-69128-2.
- [148] R. Bouillon *et al.*, 'Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice', *Endocr Rev*, vol. 29, no. 6, pp. 726–776, Oct. 2008, doi: 10.1210/er.2008-0004.



- [149] M. A. Zmijewski, 'Vitamin D and Human Health', *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 1, p. 145, Jan. 2019, doi: 10.3390/ijms20010145.
- [150] Y.-H. Lai and T.-C. Fang, 'The Pleiotropic Effect of Vitamin D', *ISRN Nephrol*, vol. 2013, pp. 1–6, Sep. 2013, doi: 10.5402/2013/898125.
- [151] K. Rasheed, P. Sethi, and E. Bixby, 'Severe vitamin D deficiency induced myopathy associated with rhabdomyolysis', *N Am J Med Sci*, vol. 5, no. 5, p. 334, 2013, doi: 10.4103/1947-2714.112491.
- [152] T. Jin *et al.*, 'Vitamin D inhibits the proliferation of Oral Squamous Cell Carcinoma by suppressing lncRNA LUCAT1 through the MAPK pathway', *J Cancer*, vol. 11, no. 20, pp. 5971–5981, 2020, doi: 10.7150/jca.45389.
- [153] D. Egierska, P. Pietruszka, P. Burzyńska, I. Chruścicka, and J. Buchta, 'Pleiotropic effects of vitamin D3', *Journal of Education, Health and Sport*, vol. 11, no. 7, pp. 143–155, Jul. 2021, doi: 10.12775/JEHS.2021.11.07.013.
- [154] C. J. McMullan, L. Borgi, G. C. Curhan, N. Fisher, and J. P. Forman, 'The effect of vitamin D on renin–angiotensin system activation and blood pressure', *J Hypertens*, vol. 35, no. 4, pp. 822–829, Apr. 2017, doi: 10.1097/HJH.0000000000001220.
- [155] M. F. Holick, 'Vitamin D Deficiency', *New England Journal of Medicine*, vol. 357, no. 3, pp. 266–281, Jul. 2007, doi: 10.1056/NEJMra070553.
- [156] M. Fiscaletti, P. Stewart, and C. Munns, 'The importance of vitamin D in maternal and child health: a global perspective', *Public Health Rev*, vol. 38, no. 1, p. 19, Dec. 2017, doi: 10.1186/s40985-017-0066-3.

- [157] S. Christakos, 'Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> regulation of intestinal calcium absorption', *Arch Biochem Biophys*, vol. 523, no. 1, pp. 73–76, Jul. 2012, doi: 10.1016/j.abb.2011.12.020.
- [158] M. F. Holick, 'Resurrection of vitamin D deficiency and rickets', *Journal of Clinical Investigation*, vol. 116, no. 8, pp. 2062–2072, Aug. 2006, doi: 10.1172/JCI29449.
- [159] C. S. Ritter, H. J. Armbrecht, E. Slatopolsky, and A. J. Brown, '25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses PTH synthesis and secretion by bovine parathyroid cells', *Kidney Int*, vol. 70, no. 4, pp. 654–659, Aug. 2006, doi: 10.1038/sj.ki.5000394.
- [160] J. J. Lofrese, H. Basit, and S. L. Lappin, *Physiology, Parathyroid*. 2022.
- [161] M. F. Holick, 'Resurrection of vitamin D deficiency and rickets', *Journal of Clinical Investigation*, vol. 116, no. 8, pp. 2062–2072, Aug. 2006, doi: 10.1172/JCI29449.
- [162] M. F. Holick, 'Vitamin D and Health: Evolution, Biologic Functions, and Recommended Dietary Intakes for Vitamin D', *Clin Rev Bone Miner Metab*, vol. 7, no. 1, pp. 2–19, Mar. 2009, doi: 10.1007/s12018-009-9026-x.
- [163] E. Laird, M. Ward, E. McSorley, J. J. Strain, and J. Wallace, 'Vitamin D and Bone Health; Potential Mechanisms', *Nutrients*, vol. 2, no. 7, pp. 693–724, Jul. 2010, doi: 10.3390/nu2070693.
- [164] C. Gentile and F. Chiarelli, 'Rickets in Children: An Update', *Biomedicines*, vol. 9, no. 7, p. 738, Jun. 2021, doi: 10.3390/biomedicines9070738.
- [165] M. Sahay and R. Sahay, 'Rickets-vitamin D deficiency and dependency', *Indian J Endocrinol Metab*, vol. 16, no. 2, p. 164, 2012, doi: 10.4103/2230-8210.93732.

- [166] M. Priemel *et al.*, 'Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: Histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients', *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 25, no. 2, pp. 305–312, Feb. 2010, doi: 10.1359/jbmr.090728.
- [167] M. F. Holick, 'Optimal Vitamin D Status for the Prevention and Treatment of Osteoporosis', *Drugs Aging*, vol. 24, no. 12, pp. 1017–1029, 2007, doi: 10.2165/00002512-200724120-00005.
- [168] M. de Martinis *et al.*, 'Vitamin D Deficiency, Osteoporosis and Effect on Autoimmune Diseases and Hematopoiesis: A Review', *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 16, p. 8855, Aug. 2021, doi: 10.3390/ijms22168855.
- [169] E. A. Greco, A. Lenzi, and S. Migliaccio, 'Role of Hypovitaminosis D in the Pathogenesis of Obesity-Induced Insulin Resistance', *Nutrients*, vol. 11, no. 7, p. 1506, Jul. 2019, doi: 10.3390/nu11071506.
- [170] V. Contreras-Bolívar, B. García-Fontana, C. García-Fontana, and M. Muñoz-Torres, 'Mechanisms Involved in the Relationship between Vitamin D and Insulin Resistance: Impact on Clinical Practice', *Nutrients*, vol. 13, no. 10, p. 3491, Oct. 2021, doi: 10.3390/nu13103491.
- [171] S. Migliaccio, A. di Nisio, C. Mele, L. Scappaticcio, S. Savastano, and A. Colao, 'Obesity and hypovitaminosis D: causality or casualty?', *Int J Obes Suppl*, vol. 9, no. 1, pp. 20–31, Apr. 2019, doi: 10.1038/s41367-019-0010-8.

- [172] B. Abiri, F. Hosseinpanah, S. Banihashem, S. A. Madinehzad, and M. Valizadeh, 'Mental health and quality of life in different obesity phenotypes: a systematic review', *Health Qual Life Outcomes*, vol. 20, no. 1, p. 63, Dec. 2022, doi: 10.1186/s12955-022-01974-2.
- [173] B. D. Piccolo, L. M. Hall, C. B. Stephensen, E. R. Gertz, and M. D. van Loan, 'Circulating 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Overweight and Obese Adults Are Explained by Sun Exposure, Skin Reflectance, and Body Composition', *Curr Dev Nutr*, vol. 3, no. 7, Jul. 2019, doi: 10.1093/cdn/nzz065.
- [174] I. Bennour, N. Haroun, F. Sicard, L. Mounien, and J.-F. Landrier, 'Vitamin D and Obesity/Adiposity—A Brief Overview of Recent Studies', *Nutrients*, vol. 14, no. 10, p. 2049, May 2022, doi: 10.3390/nu14102049.
- [175] O. Ozougwu, 'The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus', *Journal of Physiology and Pathophysiology*, vol. 4, no. 4, pp. 46–57, Sep. 2013, doi: 10.5897/JPAP2013.0001.
- [176] A. J. Gomes Castro *et al.*, 'Betulinic acid and 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> share intracellular signal transduction in glucose homeostasis in soleus muscle', *Int J Biochem Cell Biol*, vol. 48, pp. 18–27, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.biocel.2013.11.020.
- [177] J. Kendrick, G. Targher, G. Smits, and M. Chonchol, '25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey', *Atherosclerosis*, vol. 205, no. 1, pp. 255–260, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.033.

- [178] L. Vranić, I. Mikolašević, and S. Milić, 'Vitamin D Deficiency: Consequence or Cause of Obesity?', *Medicina (B Aires)*, vol. 55, no. 9, p. 541, Aug. 2019, doi: 10.3390/medicina55090541.
- [179] H. Kauser *et al.*, 'Factors Showing the Growing Relation Between Vitamin D, Metabolic Syndrome, and Obesity in the Adult Population: A Systematic Review', *Cureus*, Jul. 2022, doi: 10.7759/cureus.27335.
- [180] H. Yanai and H. Yoshida, 'Beneficial Effects of Adiponectin on Glucose and Lipid Metabolism and Atherosclerotic Progression: Mechanisms and Perspectives', *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 5, p. 1190, Mar. 2019, doi: 10.3390/ijms20051190.
- [181] E. A. Greco, A. Lenzi, and S. Migliaccio, 'Role of Hypovitaminosis D in the Pathogenesis of Obesity-Induced Insulin Resistance', *Nutrients*, vol. 11, no. 7, p. 1506, Jul. 2019, doi: 10.3390/nu11071506.
- [182] J. Checa and J. M. Aran, 'Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes', *J Inflamm Res*, vol. Volume 13, pp. 1057–1073, Dec. 2020, doi: 10.2147/JIR.S275595.
- [183] A. K. Aranda-Rivera, A. Cruz-Gregorio, Y. L. Arancibia-Hernández, E. Y. Hernández-Cruz, and J. Pedraza-Chaverri, 'RONS and Oxidative Stress: An Overview of Basic Concepts', *Oxygen*, vol. 2, no. 4, pp. 437–478, Oct. 2022, doi: 10.3390/oxygen2040030.
- [184] E. Masselli *et al.*, 'ROS in Platelet Biology: Functional Aspects and Methodological Insights', *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 14, p. 4866, Jul. 2020, doi: 10.3390/ijms21144866.

- [185] M. Sharifi-Rad *et al.*, 'Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases', *Front Physiol*, vol. 11, Jul. 2020, doi: 10.3389/fphys.2020.00694.
- [186] P. Zandi and E. Schnug, 'Reactive Oxygen Species, Antioxidant Responses and Implications from a Microbial Modulation Perspective', *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 2, p. 155, Jan. 2022, doi: 10.3390/biology11020155.
- [187] M. Sharifi-Rad *et al.*, 'Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases', *Front Physiol*, vol. 11, Jul. 2020, doi: 10.3389/fphys.2020.00694.
- [188] G. Pizzino *et al.*, 'Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2017, pp. 1–13, 2017, doi: 10.1155/2017/8416763.
- [189] E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum, and O. Kalayci, 'Oxidative Stress and Antioxidant Defense', *World Allergy Organization Journal*, vol. 5, no. 1, pp. 9–19, 2012, doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
- [190] Grzegorz Bartosz, 'Druga twarz tlenu. Wyd. 2. Warszawa', *Wydawnictwo Naukowe PWN*, 2008.
- [191] Y. Zhou, H. Li, and N. Xia, 'The Interplay Between Adipose Tissue and Vasculature: Role of Oxidative Stress in Obesity', *Front Cardiovasc Med*, vol. 8, Mar. 2021, doi: 10.3389/fcvm.2021.650214.
- [192] P. Manna and S. K. Jain, 'Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies', *Metab Syndr Relat Disord*, vol. 13, no. 10, pp. 423–444, Dec. 2015, doi: 10.1089/met.2015.0095.

- [193] S. Parida, S. Siddharth, and D. Sharma, 'Adiponectin, Obesity, and Cancer: Clash of the Bigwigs in Health and Disease', *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 10, p. 2519, May 2019, doi: 10.3390/ijms20102519.
- [194] P. Singh *et al.*, 'Differential effects of leptin on adiponectin expression with weight gain versus obesity', *Int J Obes*, vol. 40, no. 2, pp. 266–274, Feb. 2016, doi: 10.1038/ijo.2015.181.
- [195] Y. T. Wondmkun, 'Obesity, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes: Associations and Therapeutic Implications', *Diabetes Metab Syndr Obes*, vol. Volume 13, pp. 3611–3616, Oct. 2020, doi: 10.2147/DMSO.S275898.
- [196] C. A. Juan, J. M. Pérez de la Lastra, F. J. Plou, and E. Pérez-Lebeña, 'The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies', *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 9, p. 4642, Apr. 2021, doi: 10.3390/ijms22094642.
- [197] S. Grimm, A. Hoehn, K. J. Davies, and T. Grune, 'Protein oxidative modifications in the ageing brain: Consequence for the onset of neurodegenerative disease', *Free Radic Res*, vol. 45, no. 1, pp. 73–88, Jan. 2011, doi: 10.3109/10715762.2010.512040.
- [198] A. L. Santos and A. B. Lindner, 'Protein Posttranslational Modifications: Roles in Aging and Age-Related Disease', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2017, pp. 1–19, 2017, doi: 10.1155/2017/5716409.
- [199] R. Kehm, T. Baldensperger, J. Raupbach, and A. Höhn, 'Protein oxidation - Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases', *Redox Biol*, vol. 42, p. 101901, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.redox.2021.101901.

- [200] I. Marrocco, F. Altieri, and I. Peluso, 'Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2017, pp. 1–32, 2017, doi: 10.1155/2017/6501046.
- [201] S. Reeg and T. Grune, 'Protein Oxidation in Aging: Does It Play a Role in Aging Progression?', *Antioxid Redox Signal*, vol. 23, no. 3, pp. 239–255, Jul. 2015, doi: 10.1089/ars.2014.6062.
- [202] C. L. Hawkins and M. J. Davies, 'Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 294, no. 51, pp. 19683–19708, Dec. 2019, doi: 10.1074/jbc.REV119.006217.
- [203] U. S. Srinivas, B. W. Q. Tan, B. A. Vellayappan, and A. D. Jeyasekharan, 'ROS and the DNA damage response in cancer', *Redox Biol*, vol. 25, p. 101084, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.redox.2018.101084.
- [204] V. Cecarini *et al.*, 'Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, vol. 1773, no. 2, pp. 93–104, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.08.039.
- [205] J. Cadet and J. R. Wagner, 'DNA Base Damage by Reactive Oxygen Species, Oxidizing Agents, and UV Radiation', *Cold Spring Harb Perspect Biol*, vol. 5, no. 2, pp. a012559–a012559, Feb. 2013, doi: 10.1101/cshperspect.a012559.
- [206] A. D. Bui, R. Sharma, R. Henkel, and A. Agarwal, 'Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility', *Andrologia*, vol. 50, no. 8, p. e13012, Oct. 2018, doi: 10.1111/and.13012.



- [207] C. Lawless, L. Greaves, A. K. Reeve, D. M. Turnbull, and A. E. Vincent, 'The rise and rise of mitochondrial DNA mutations', *Open Biol*, vol. 10, no. 5, May 2020, doi: 10.1098/rsob.200061.
- [208] C. A. Juan, J. M. Pérez de la Lastra, F. J. Plou, and E. Pérez-Lebeña, 'The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies', *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 9, p. 4642, Apr. 2021, doi: 10.3390/ijms22094642.
- [209] M. M. Gaschler and B. R. Stockwell, 'Lipid peroxidation in cell death', *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 482, no. 3, pp. 419–425, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
- [210] H. S. EL-BELTAGI and H. I. MOHAMED, 'Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism', *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*, vol. 41, no. 1, p. 44, May 2013, doi: 10.15835/nbha4118929.
- [211] A. Ayala, M. F. Muñoz, and S. Argüelles, 'Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2014, pp. 1–31, 2014, doi: 10.1155/2014/360438.
- [212] A. Ayala, M. F. Muñoz, and S. Argüelles, 'Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2014, pp. 1–31, 2014, doi: 10.1155/2014/360438.
- [213] L.-J. Su *et al.*, 'Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2019, pp. 1–13, Oct. 2019, doi: 10.1155/2019/5080843.

- [214] G. Barrera, 'Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy', *ISRN Oncol*, vol. 2012, pp. 1–21, Oct. 2012, doi: 10.5402/2012/137289.
- [215] A. v. Poznyak *et al.*, 'Overview of OxLDL and Its Impact on Cardiovascular Health: Focus on Atherosclerosis', *Front Pharmacol*, vol. 11, Jan. 2021, doi: 10.3389/fphar.2020.613780.
- [216] A. Pirillo, G. D. Norata, and A. L. Catapano, 'LOX-1, OxLDL, and Atherosclerosis', *Mediators Inflamm*, vol. 2013, pp. 1–12, 2013, doi: 10.1155/2013/152786.
- [217] V. Guerrini and M. L. Gennaro, 'Foam Cells: One Size Doesn't Fit All', *Trends Immunol*, vol. 40, no. 12, pp. 1163–1179, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.it.2019.10.002.
- [218] Y. Gui, H. Zheng, and R. Y. Cao, 'Foam Cells in Atherosclerosis: Novel Insights Into Its Origins, Consequences, and Molecular Mechanisms', *Front Cardiovasc Med*, vol. 9, Apr. 2022, doi: 10.3389/fcvm.2022.845942.
- [219] B. Chellan, E. Rojas, C. Zhang, and M. A. Hofmann Bowman, 'Enzyme-modified non-oxidized LDL (ELDL) induces human coronary artery smooth muscle cell transformation to a migratory and osteoblast-like phenotype', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 11954, Aug. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-30073-w.
- [220] D. A. Chistiakov, D. A. Kashirskikh, V. A. Khotina, A. v. Grechko, and A. N. Orekhov, 'Immune-Inflammatory Responses in Atherosclerosis: The Role of Myeloid Cells', *J Clin Med*, vol. 8, no. 11, p. 1798, Oct. 2019, doi: 10.3390/jcm8111798.
- [221] K. Lechner *et al.*, 'High-Risk Atherosclerosis and Metabolic Phenotype: The Roles of Ectopic Adiposity, Atherogenic Dyslipidemia, and Inflammation', *Metab Syndr Relat Disord*, vol. 18, no. 4, pp. 176–185, May 2020, doi: 10.1089/met.2019.0115.

- [222] M. Sharifi-Rad *et al.*, 'Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases', *Front Physiol*, vol. 11, Jul. 2020, doi: 10.3389/fphys.2020.00694.
- [223] O. M. Ighodaro and O. A. Akinloye, 'First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid', *Alexandria Journal of Medicine*, vol. 54, no. 4, pp. 287–293, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001.
- [224] Z. Yu *et al.*, 'Reactive Oxygen Species-Related Nanoparticle Toxicity in the Biomedical Field', *Nanoscale Res Lett*, vol. 15, no. 1, p. 115, Dec. 2020, doi: 10.1186/s11671-020-03344-7.
- [225] V. I. Lushchak, T. v. Bagnyukova, V. v. Husak, L. I. Luzhna, O. v. Lushchak, and K. B. Storey, 'Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues', *Int J Biochem Cell Biol*, vol. 37, no. 8, pp. 1670–1680, Aug. 2005, doi: 10.1016/j.biocel.2005.02.024.
- [226] E. B. Kurutas, 'The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state', *Nutr J*, vol. 15, no. 1, p. 71, Dec. 2015, doi: 10.1186/s12937-016-0186-5.
- [227] G. Martemucci, C. Costagliola, M. Mariano, L. D'andrea, P. Napolitano, and A. G. D'Alessandro, 'Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health', *Oxygen*, vol. 2, no. 2, pp. 48–78, Apr. 2022, doi: 10.3390/oxygen2020006.

- [228] Y. Miyamoto *et al.*, 'Oxidative Stress Caused by Inactivation of Glutathione Peroxidase and Adaptive Responses', *Biol Chem*, vol. 384, no. 4, Jan. 2003, doi: 10.1515/BC.2003.064.
- [229] J. G. Scandalios, 'Oxygen Stress and Superoxide Dismutases', *Plant Physiol*, vol. 101, no. 1, pp. 7–12, Jan. 1993, doi: 10.1104/pp.101.1.7.
- [230] O. M. Ighodaro and O. A. Akinloye, 'First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid', *Alexandria Journal of Medicine*, vol. 54, no. 4, pp. 287–293, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001.
- [231] I. Batinić-Haberle, J. S. Rebouças, and I. Spasojević, 'Superoxide Dismutase Mimics: Chemistry, Pharmacology, and Therapeutic Potential', *Antioxid Redox Signal*, vol. 13, no. 6, pp. 877–918, Sep. 2010, doi: 10.1089/ars.2009.2876.
- [232] P. Mondola, S. Damiano, A. Sasso, and M. Santillo, 'The Cu, Zn Superoxide Dismutase: Not Only a Dismutase Enzyme', *Front Physiol*, vol. 7, Nov. 2016, doi: 10.3389/fphys.2016.00594.
- [233] B. J. Wójcicka G., 'Stres oksydacyjny w zapaleniu kłębuszków nerkowych. Postępy Hig. Med. Dośw', 2001.
- [234] M. L. Corvo *et al.*, 'Subcutaneous administration of superoxide dismutase entrapped in long circulating liposomes: in vivo fate and therapeutic activity in an inflammation model', *Pharm Res*, vol. 17, no. 5, pp. 600–606, 2000, doi: 10.1023/A:1007577101964.

- [235] S. Olusi, 'Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans', *Int J Obes*, vol. 26, no. 9, pp. 1159–1164, Sep. 2002, doi: 10.1038/sj.ijo.0802066.
- [236] E. Cecerska-Heryć *et al.*, 'Activity of erythrocyte antioxidant enzymes in healthy women depends on age, BMI, physical activity, and diet', *J Health Popul Nutr*, vol. 41, no. 1, p. 35, Aug. 2022, doi: 10.1186/s41043-022-00311-z.
- [237] A. and M. A. and S. M. Marjani, 'Plasma lipid peroxidation zinc and erythrocyte cu-zn superoxide dismutase enzyme activity in patients with type 2 diabetes mellitus in Gorgan City (South East of the Caspian Sea)', 2007.
- [238] H. N. Kirkman and G. F. Gaetani, 'Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 81, no. 14, pp. 4343–4347, Jul. 1984, doi: 10.1073/pnas.81.14.4343.
- [239] A. Nandi, L.-J. Yan, C. K. Jana, and N. Das, 'Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases', *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2019, pp. 1–19, Nov. 2019, doi: 10.1155/2019/9613090.
- [240] C. H. ] Ścibor D., 'Katalaza – budowa, właściwości, funkcje. Postępy Hig. Med. Dośw', 2006.
- [241] P. Jones, 'Roles of Water in Heme Peroxidase and Catalase Mechanisms', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 276, no. 17, pp. 13791–13796, Apr. 2001, doi: 10.1074/jbc.M011413200.
- [242] S. E. Espinoza *et al.*, 'Glutathione Peroxidase Enzyme Activity in Aging', *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, vol. 63, no. 5, pp. 505–509, May 2008, doi: 10.1093/gerona/63.5.505.

- [243] K. Bela, R. Riyazuddin, and J. Csiszár, 'Plant Glutathione Peroxidases: Non-Heme Peroxidases with Large Functional Flexibility as a Core Component of ROS-Processing Mechanisms and Signalling', *Antioxidants*, vol. 11, no. 8, p. 1624, Aug. 2022, doi: 10.3390/antiox11081624.
- [244] P. Zandi and E. Schnug, 'Reactive Oxygen Species, Antioxidant Responses and Implications from a Microbial Modulation Perspective', *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 2, p. 155, Jan. 2022, doi: 10.3390/biology11020155.
- [245] L. A. Pham-Huy, H. He, and C. Pham-Huy, 'Free radicals, antioxidants in disease and health.', *Int J Biomed Sci*, vol. 4, no. 2, pp. 89–96, Jun. 2008.
- [246] I. Mirończuk-Chodakowska, A. M. Witkowska, and M. E. Zujko, 'Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body', *Adv Med Sci*, vol. 63, no. 1, pp. 68–78, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.advms.2017.05.005.
- [247] H. J. Forman, H. Zhang, and A. Rinna, 'Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis', *Mol Aspects Med*, vol. 30, no. 1–2, pp. 1–12, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006.
- [248] S. P. Baba and A. Bhatnagar, 'Role of thiols in oxidative stress', *Curr Opin Toxicol*, vol. 7, pp. 133–139, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.cotox.2018.03.005.
- [249] D. Matuz-Mares, H. Riveros-Rosas, M. M. Vilchis-Landeros, and H. Vázquez-Meza, 'Glutathione Participation in the Prevention of Cardiovascular Diseases', *Antioxidants*, vol. 10, no. 8, p. 1220, Jul. 2021, doi: 10.3390/antiox10081220.

- [250] A. Gęgotek and E. Skrzydlewska, 'Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid', *Antioxidants*, vol. 11, no. 10, p. 1993, Oct. 2022, doi: 10.3390/antiox11101993.
- [251] S. Padayatty and M. Levine, 'Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks', *Oral Dis*, vol. 22, no. 6, pp. 463–493, Sep. 2016, doi: 10.1111/odi.12446.
- [252] J. Du, J. J. Cullen, and G. R. Buettner, 'Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, vol. 1826, no. 2, pp. 443–457, Dec. 2012, doi: 10.1016/j.bbcan.2012.06.003.
- [253] F. Gamna and S. Spriano, 'Vitamin E: A Review of Its Application and Methods of Detection When Combined with Implant Biomaterials', *Materials*, vol. 14, no. 13, p. 3691, Jul. 2021, doi: 10.3390/ma14133691.
- [254] E. Niki, 'Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence', *Free Radic Biol Med*, vol. 66, pp. 3–12, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022.
- [255] K. TRAN, J. T. WONG, E. LEE, A. C. CHAN, and P. C. CHOY, 'Vitamin E potentiates arachidonate release and phospholipase A2 activity in rat heart myoblastic cells', *Biochemical Journal*, vol. 319, no. 2, pp. 385–391, Oct. 1996, doi: 10.1042/bj3190385.
- [256] D. Malicka, D. Markowska, J. Nuskiewicz, and K. Szewczyk-Golec, 'The impact of melatonin on antioxidant defense mechanisms in Alzheimer's disease', *Postepy Hig Med Dosw*, vol. 72, pp. 1114–1122, Dec. 2018, doi: 10.5604/01.3001.0012.8252.

- [257] S. Rizvi, S. T. Raza, F. Ahmed, A. Ahmad, S. Abbas, and F. Mahdi, 'The role of vitamin e in human health and some diseases.', *Sultan Qaboos Univ Med J*, vol. 14, no. 2, pp. e157-65, May 2014.
- [258] S. A. Tanumihardjo *et al.*, 'Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—Vitamin A Review', *J Nutr*, vol. 146, no. 9, pp. 1816S-1848S, Sep. 2016, doi: 10.3945/jn.115.229708.
- [259] D. Bellovino, T. Morimoto, F. Tosetti, and S. Gaetani, 'Retinol Binding Protein and Transthyretin Are Secreted as a Complex Formed in the Endoplasmic Reticulum in HepG2 Human Hepatocarcinoma Cells', *Exp Cell Res*, vol. 222, no. 1, pp. 77–83, Jan. 1996, doi: 10.1006/excr.1996.0010.
- [260] D. S. Metibemu and I. V. Ogungbe, 'Carotenoids in Drug Discovery and Medicine: Pathways and Molecular Targets Implicated in Human Diseases', *Molecules*, vol. 27, no. 18, p. 6005, Sep. 2022, doi: 10.3390/molecules27186005.
- [261] <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminA-HealthProfessional/#en24>, 'National Institutes of Health Office of Dietary Supplements: Vitamin A Fact Sheet for Health Professionals', 2018.
- [262] M. Zhong, R. Kawaguchi, M. Kassai, and H. Sun, 'Retina, Retinol, Retinal and the Natural History of Vitamin A as a Light Sensor', *Nutrients*, vol. 4, no. 12, pp. 2069–2096, Dec. 2012, doi: 10.3390/nu4122069.
- [263] S. K. Frey and S. Vogel, 'Vitamin A Metabolism and Adipose Tissue Biology', *Nutrients*, vol. 3, no. 1, pp. 27–39, Jan. 2011, doi: 10.3390/nu3010027.



- [264] R. Edge and T. Truscott, 'Singlet Oxygen and Free Radical Reactions of Retinoids and Carotenoids—A Review', *Antioxidants*, vol. 7, no. 1, p. 5, Jan. 2018, doi: 10.3390/antiox7010005.
- [265] R. C. Mordi, O. T. Ademosun, C. O. Ajanaku, I. O. Olanrewaju, and J. C. Walton, 'Free Radical Mediated Oxidative Degradation of Carotenes and Xanthophylls', *Molecules*, vol. 25, no. 5, p. 1038, Feb. 2020, doi: 10.3390/molecules25051038.
- [266] A. B. Lerner, J. D. Case, Y. Takahashi, T. H. Lee, and W. Mori, 'ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES <sup>1</sup>', *J Am Chem Soc*, vol. 80, no. 10, pp. 2587–2587, May 1958, doi: 10.1021/ja01543a060.
- [267] P. Frçp. F. F. D. h c and A. A. M. P. Josephine Arendt, 'Physiology of the Pineal Gland and Melatonin', 2022.
- [268] S. Tordjman *et al.*, 'Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits', *Curr Neuropharmacol*, vol. 15, no. 3, pp. 434–443, Feb. 2017, doi: 10.2174/1570159X14666161228122115.
- [269] G. A. Bubenik, 'Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance.', *Dig Dis Sci*, vol. 47, no. 10, pp. 2336–48, Oct. 2002, doi: 10.1023/a:1020107915919.
- [270] A. Carrillo-Vico, P. Lardone, N. Álvarez-Sánchez, A. Rodríguez-Rodríguez, and J. Guerrero, 'Melatonin: Buffering the Immune System', *Int J Mol Sci*, vol. 14, no. 4, pp. 8638–8683, Apr. 2013, doi: 10.3390/ijms14048638.

- [271] M. Samec *et al.*, 'Metabolic Anti-Cancer Effects of Melatonin: Clinically Relevant Prospects', *Cancers (Basel)*, vol. 13, no. 12, p. 3018, Jun. 2021, doi: 10.3390/cancers13123018.
- [272] J. Cipolla-Neto, F. G. Amaral, S. C. Afeche, D. X. Tan, and R. J. Reiter, 'Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review', *J Pineal Res*, vol. 56, no. 4, pp. 371–381, May 2014, doi: 10.1111/jpi.12137.
- [273] A. M. Seithikurippu R, 'Melatonin, the Hormone of Darkness: From Sleep Promotion to Ebola Treatment', *Brain Disord Ther*, vol. 04, no. 01, 2015, doi: 10.4172/2168-975X.1000151.
- [274] A. A. Arendt J, 'Physiology of the Pineal Gland and Melatonin.', 2022.
- [275] M. Karasek and K. Winczyk, 'Melatonin in humans.', *J Physiol Pharmacol*, vol. 57 Suppl 5, pp. 19–39, Nov. 2006.
- [276] A. Hacısevki and B. Baba, 'An Overview of Melatonin as an Antioxidant Molecule: A Biochemical Approach', in *Melatonin - Molecular Biology, Clinical and Pharmaceutical Approaches*, IntechOpen, 2018. doi: 10.5772/intechopen.79421.
- [277] G. Mannino, C. Pernici, G. Serio, C. Gentile, and C. M. Berteà, 'Melatonin and Phytomelatonin: Chemistry, Biosynthesis, Metabolism, Distribution and Bioactivity in Plants and Animals—An Overview', *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 18, p. 9996, Sep. 2021, doi: 10.3390/ijms22189996.
- [278] D.-X. Tan *et al.*, 'Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation', *Free Radic Biol Med*, vol. 29, no. 11, pp. 1177–1185, Dec. 2000, doi: 10.1016/S0891-5849(00)00435-4.

- [279] R. J. Reiter, D. Tan, C. Osuna, and E. Gitto, 'Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress', *J Biomed Sci*, vol. 7, no. 6, pp. 444–458, Nov. 2000, doi: 10.1007/BF02253360.
- [280] A. Galano, D.-X. Tan, and R. Reiter, 'Melatonin: A Versatile Protector against Oxidative DNA Damage', *Molecules*, vol. 23, no. 3, p. 530, Feb. 2018, doi: 10.3390/molecules23030530.
- [281] J. Vázquez, B. González, V. Sempere, A. Mas, M. J. Torija, and G. Beltran, 'Melatonin Reduces Oxidative Stress Damage Induced by Hydrogen Peroxide in *Saccharomyces cerevisiae*', *Front Microbiol*, vol. 8, Jun. 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.01066.
- [282] R. Patel, N. Parmar, S. Pramanik Palit, N. Rathwa, A. V. Ramachandran, and R. Begum, 'Diabetes mellitus and melatonin: Where are we?', *Biochimie*, vol. 202, pp. 2–14, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.biochi.2022.01.001.
- [283] A. Farid, P. Moussa, M. Youssef, M. Haytham, A. Shamy, and G. Safwat, 'Melatonin relieves diabetic complications and regenerates pancreatic beta cells by the reduction in NF-kB expression in streptozotocin induced diabetic rats', *Saudi J Biol Sci*, vol. 29, no. 7, p. 103313, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.sjbs.2022.103313.
- [284] Gibson RS, 'Principles of Nutritional Assessment. 2 wyd. Nowy Jork, NY: Oxford University Press; 2005. <https://global.oup.com/academic/product/principles-of-nutritional-assessment9780195171693?cc=pl&lang=en>', 2018.
- [285] 'Centers for Disease Control and Prevention. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): Anthropometry procedures manual. CDC: 2007;3–15. [https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_07\\_08/manual\\_an.pdf](https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/manual_an.pdf)', 2018.

- [286] R. Pradeepa and V. Mohan, 'Epidemiology of type 2 diabetes in India', *Indian J Ophthalmol*, vol. 69, no. 11, p. 2932, 2021, doi: 10.4103/ijo.IJO\_1627\_21.
- [287] W. R. Rowley, C. Bezold, Y. Arikan, E. Byrne, and S. Krohe, 'Diabetes 2030: Insights from Yesterday, Today, and Future Trends', *Popul Health Manag*, vol. 20, no. 1, pp. 6–12, Feb. 2017, doi: 10.1089/pop.2015.0181.
- [288] M. A. B. Khan, M. J. Hashim, J. K. King, R. D. Govender, H. Mustafa, and J. Al Kaabi, 'Epidemiology of Type 2 Diabetes – Global Burden of Disease and Forecasted Trends', *J Epidemiol Glob Health*, vol. 10, no. 1, p. 107, 2019, doi: 10.2991/jegh.k.191028.001.
- [289] J. I. Goyal R, 'Diabetes Mellitus Type 2.', 2022.
- [290] U. Galicia-Garcia *et al.*, 'Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus', *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 17, p. 6275, Aug. 2020, doi: 10.3390/ijms21176275.
- [291] N. Perakakis, O. M. Farr, and C. S. Mantzoros, 'Leptin in Leanness and Obesity', *J Am Coll Cardiol*, vol. 77, no. 6, pp. 745–760, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.jacc.2020.11.069.
- [292] H. Akeel Al-hussaniy, A. Hikmate Alburghaif, and M. Akeel Naji, 'Leptin hormone and its effectiveness in reproduction, metabolism, immunity, diabetes, hopes and ambitions', *J Med Life*, vol. 14, no. 5, pp. 600–605, Jan. 2021, doi: 10.25122/jml-2021-0153.
- [293] K. Mendoza-Herrera *et al.*, 'The Leptin System and Diet: A Mini Review of the Current Evidence', *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 12, Nov. 2021, doi: 10.3389/fendo.2021.749050.
- [294] J. M. Gonnet, '[Caesarean section. Anatomical review].', *Soins Gynecol Obstet Pueric Pediatr*, no. 85–86, p. 4, 1988.

- [295] H. Akeel Al-hussaniy, A. Hikmate Alburghaif, and M. Akeel Naji, 'Leptin hormone and its effectiveness in reproduction, metabolism, immunity, diabetes, hopes and ambitions', *J Med Life*, vol. 14, no. 5, pp. 600–605, Jan. 2021, doi: 10.25122/jml-2021-0153.
- [296] T. Diep Nguyen, 'Adiponectin: Role in physiology and pathophysiology', *Int J Prev Med*, vol. 11, no. 1, p. 136, 2020, doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM\_193\_20.
- [297] A. Bidulescu *et al.*, 'Associations of leptin and adiponectin with incident type 2 diabetes and interactions among African Americans: the Jackson heart study', *BMC Endocr Disord*, vol. 20, no. 1, p. 31, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12902-020-0511-z.
- [298] A.-V. Sitar-Tăut *et al.*, 'New Insights on the Relationship between Leptin, Ghrelin, and Leptin/Ghrelin Ratio Enforced by Body Mass Index in Obesity and Diabetes', *Biomedicines*, vol. 9, no. 11, p. 1657, Nov. 2021, doi: 10.3390/biomedicines9111657.
- [299] Y. Zhao and H. Li, 'Association of serum leptin and insulin levels among type 2 diabetes mellitus patients: A case–control study', *Medicine*, vol. 101, no. 41, p. e31006, Oct. 2022, doi: 10.1097/MD.00000000000031006.
- [300] L. R. Rafique N, 'Serum leptin levels in type 2 diabetes mellitus Pakistani subjects and its correlation with fasting blood glucose.', *Saudi J Health Sci.*
- [301] 'Study of serum leptin levels in patients with type 2 diabetes mellitus at a tertiary care centre of central India.', *Intern J Med Res Rev.* 2016.
- [302] N. Katsiki, D. P. Mikhailidis, A. Gotzamani-Psarrakou, J. G. Yovos, and D. Karamitsos, 'Effect of various treatments on leptin, adiponectin, ghrelin and neuropeptide Y in patients with type 2 diabetes mellitus', *Expert Opin Ther Targets*, vol. 15, no. 4, pp. 401–420, Apr. 2011, doi: 10.1517/14728222.2011.553609.

- [303] G. Biondi *et al.*, 'Adipose Tissue Secretion Pattern Influences  $\beta$ -Cell Wellness in the Transition from Obesity to Type 2 Diabetes', *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 10, p. 5522, May 2022, doi: 10.3390/ijms23105522.
- [304] J. Iqbal, E. Mascareno, S. Chua, and M. M. Hussain, 'Leptin-mediated differential regulation of microsomal triglyceride transfer protein in the intestine and liver affects plasma lipids', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 295, no. 13, pp. 4101–4113, Mar. 2020, doi: 10.1074/jbc.RA119.011881.
- [305] E. Kavazarakis *et al.*, 'Relation of serum leptin levels to lipid profile in healthy children', *Metabolism*, vol. 50, no. 9, pp. 1091–1094, Sep. 2001, doi: 10.1053/meta.2001.25606.
- [306] J.-G. Fan, 'Prevalence of and Risk Factors for Type 2 Diabetes Mellitus in Hyperlipidemia in China', *Medical Science Monitor*, vol. 21, pp. 2476–2484, 2015, doi: 10.12659/MSM.894246.
- [307] Adrian Bailey; Shamim S. Mohiuddin., 'Biochemistry, High Density Lipoprotein', 2022.
- [308] E. W. Kjeldsen, L. T. Nordestgaard, and R. Frikke-Schmidt, 'HDL Cholesterol and Non-Cardiovascular Disease: A Narrative Review', *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 9, p. 4547, Apr. 2021, doi: 10.3390/ijms22094547.
- [309] M. T. Soria-Flrido, H. Schröder, M. Grau, M. Fitó, and C. Lassale, 'High density lipoprotein functionality and cardiovascular events and mortality: A systematic review and meta-analysis', *Atherosclerosis*, vol. 302, pp. 36–42, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.015.

- [310] Y. Wang *et al.*, 'Plasma adiponectin levels and type 2 diabetes risk: a nested case-control study in a Chinese population and an updated meta-analysis', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 406, Jan. 2018, doi: 10.1038/s41598-017-18709-9.
- [311] B. Fagerberg, D. Kellis, G. Bergström, and C. J. Behre, 'Adiponectin in relation to insulin sensitivity and insulin secretion in the development of type 2 diabetes: a prospective study in 64-year-old women', *J Intern Med*, vol. 269, no. 6, pp. 636–643, Jun. 2011, doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02336.x.
- [312] 'SERUM VISFATIN RELATIONSHIP WITH GLYCEMIC CONTROL AND ADIPOSITY INDICES IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS', *Vol. 12 No. 4 (2020): KMUJ 2020; VOL 12; ISSUE 4 - OCT - DEC.*
- [313] M. M. Mir *et al.*, 'Differential Association of Selected Adipocytokines, Adiponectin, Leptin, Resistin, Visfatin and Chemerin, with the Pathogenesis and Progression of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in the Asir Region of Saudi Arabia: A Case Control Study', *J Pers Med*, vol. 12, no. 5, p. 735, May 2022, doi: 10.3390/jpm12050735.
- [314] S. Feijóo-Bandín *et al.*, 'Adipokines and Inflammation: Focus on Cardiovascular Diseases', *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 20, p. 7711, Oct. 2020, doi: 10.3390/ijms21207711.
- [315] K. Siddiqui, S. Scaria Joy, and T. P. George, 'Circulating resistin levels in relation with insulin resistance, inflammatory and endothelial dysfunction markers in patients with type 2 diabetes and impaired fasting glucose', *Endocrine and Metabolic Science*, vol. 1, no. 3–4, p. 100059, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.endmts.2020.100059.

- [316] K. Su *et al.*, 'Relation of Circulating Resistin to Insulin Resistance in Type 2 Diabetes and Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis', *Front Physiol*, vol. 10, Nov. 2019, doi: 10.3389/fphys.2019.01399.
- [317] R. Waseem *et al.*, 'FNDC5/Irisin: Physiology and Pathophysiology', *Molecules*, vol. 27, no. 3, p. 1118, Feb. 2022, doi: 10.3390/molecules27031118.
- [318] N. Chen, Q. Li, J. Liu, and S. Jia, 'Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review', *Diabetes Metab Res Rev*, vol. 32, no. 1, pp. 51–59, Jan. 2016, doi: 10.1002/dmrr.2660.
- [319] R. Song, X. Zhao, D. Zhang, R. Wang, and Y. Feng, 'Lower levels of irisin in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 175, p. 108788, May 2021, doi: 10.1016/j.diabres.2021.108788.
- [320] Q. Wang *et al.*, 'Effect of Sitagliptin on Serum Irisin Levels in Patients with Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus', *Diabetes Therapy*, vol. 12, no. 4, pp. 1029–1039, Apr. 2021, doi: 10.1007/s13300-021-01023-z.
- [321] T. N. Yildiz Kopuz, M. Dagdeviren, and M. Fisunoglu, 'Serum irisin levels in newly diagnosed type-II diabetic patients: No association with the overall diet quality but strong association with fruit intake', *Clin Nutr ESPEN*, vol. 49, pp. 357–364, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.clnesp.2022.03.022.
- [322] T. Jandova *et al.*, 'Long-Term Effect of Exercise on Irisin Blood Levels—Systematic Review and Meta-Analysis', *Healthcare*, vol. 9, no. 11, p. 1438, Oct. 2021, doi: 10.3390/healthcare9111438.



- [323] M. Wang, Y. Li, S. Li, and J. Lv, 'Endothelial Dysfunction and Diabetic Cardiomyopathy', *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 13, Apr. 2022, doi: 10.3389/fendo.2022.851941.
- [324] D. Zhu *et al.*, 'Irisin improves endothelial function in type 2 diabetes through reducing oxidative/nitrative stresses', *J Mol Cell Cardiol*, vol. 87, pp. 138–147, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.07.015.
- [325] S. Tsalamandris *et al.*, 'The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives', *European Cardiology Review*, vol. 14, no. 1, pp. 50–59, Apr. 2019, doi: 10.15420/ecr.2018.33.1.
- [326] N. Bowker *et al.*, 'Meta-analysis investigating the role of interleukin-6 mediated inflammation in type 2 diabetes', *EBioMedicine*, vol. 61, p. 103062, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103062.
- [327] O. C. Martínez-Ramírez *et al.*, 'Association of NFκβ, TNFα, IL-6, IL-1β, and LPL Polymorphisms with Type 2 Diabetes Mellitus and Biochemical Parameters in a Mexican Population', *Biochem Genet*, vol. 59, no. 4, pp. 940–965, Aug. 2021, doi: 10.1007/s10528-021-10047-w.
- [328] D. M. E. El-Mikkawy, M. A. EL-Sadek, M. A. EL-Badawy, and D. Samaha, 'Circulating level of interleukin-6 in relation to body mass indices and lipid profile in Egyptian adults with overweight and obesity', *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*, vol. 47, no. 1, p. 7, Dec. 2020, doi: 10.1186/s43166-020-00003-8.
- [329] J. Chao *et al.*, 'Tissue kallikrein-binding protein is a serpin. I. Purification, characterization, and distribution in normotensive and spontaneously hypertensive rats.', *J Biol Chem*, vol. 265, no. 27, pp. 16394–401, Sep. 1990.

- [330] Y. Yang *et al.*, 'Diabetes-induced upregulation of kallistatin levels exacerbates diabetic nephropathy via RAS activation', *The FASEB Journal*, vol. 34, no. 6, pp. 8428–8441, Jun. 2020, doi: 10.1096/fj.201903149R.
- [331] C. P. D. Kottaisamy, D. S. Raj, V. Prasanth Kumar, and U. Sankaran, 'Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review', *Lab Anim Res*, vol. 37, no. 1, p. 23, Aug. 2021, doi: 10.1186/s42826-021-00101-4.
- [332] Y. Yang *et al.*, 'Diabetes-induced upregulation of kallistatin levels exacerbates diabetic nephropathy via RAS activation', *The FASEB Journal*, vol. 34, no. 6, pp. 8428–8441, Jun. 2020, doi: 10.1096/fj.201903149R.
- [333] H. Zhu *et al.*, 'Plasma kallistatin is associated with adiposity and cardiometabolic risk in apparently healthy African American adolescents', *Metabolism*, vol. 62, no. 5, pp. 642–646, May 2013, doi: 10.1016/j.metabol.2012.10.012.
- [334] A. Gateva, Y. Assyov, T. Velikova, and Z. Kamenov, 'Increased kallistatin levels in patients with obesity and prediabetes compared to normal glucose tolerance', *Endocr Res*, vol. 42, no. 2, pp. 163–168, Apr. 2017, doi: 10.1080/07435800.2017.1286671.
- [335] G. Frühbeck *et al.*, 'Novel protective role of kallistatin in obesity by limiting adipose tissue low grade inflammation and oxidative stress', *Metabolism*, vol. 87, pp. 123–135, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.metabol.2018.04.004.
- [336] E. Čolak and D. Pap, 'The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders', *J Med Biochem*, vol. 40, no. 1, pp. 1–9, 2021, doi: 10.5937/jomb0-24652.

- [337] L. La Sala and A. E. Pontiroli, 'Prevention of Diabetes and Cardiovascular Disease in Obesity', *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 21, p. 8178, Oct. 2020, doi: 10.3390/ijms21218178.
- [338] 'The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials', *The Lancet*, vol. 380, no. 9841, pp. 581–590, Aug. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)60367-5.
- [339] A. Rentería-Mexía *et al.*, 'Effects of a lifestyle intervention on markers of cardiometabolic risk and oxidized lipoproteins among obese adolescents with prediabetes', *Public Health Nutr*, vol. 22, no. 4, pp. 706–713, Mar. 2019, doi: 10.1017/S1368980018003476.
- [340] J. Banerjee, N. Mishra, G. Damle, and Y. Dhas, 'Beyond LDL-c: The importance of serum oxidized LDL in predicting risk for type 2 diabetes in the middle-aged Asian Indians', *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, vol. 13, no. 1, pp. 206–213, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.dsx.2018.08.036.
- [341] T. Xu *et al.*, 'Effects of Metformin on Metabolite Profiles and LDL Cholesterol in Patients With Type 2 Diabetes', *Diabetes Care*, vol. 38, no. 10, pp. 1858–1867, Oct. 2015, doi: 10.2337/dc15-0658.
- [342] K. S. G. A. et al. Sizar O, 'Vitamin D Deficiency', 2023.
- [343] J. Said, D. Lagat, A. Kimaina, and C. Oduor, 'Beta cell function, insulin resistance and vitamin D status among type 2 diabetes patients in Western Kenya', *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, p. 4084, Feb. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-83302-0.

- [344] S. Bonakdaran and A.-R. Varasteh, 'Correlation between serum 25 hydroxy vitamin D3 and laboratory risk markers of cardiovascular diseases in type 2 diabetic patients.', *Saudi Med J*, vol. 30, no. 4, pp. 509–14, Apr. 2009.
- [345] M. H. Nasr *et al.*, 'Prevalence of Vitamin D Deficiency Between Type 2 Diabetes Mellitus Patients and Non-Diabetics in the Arab Gulf', *Diabetes Metab Syndr Obes*, vol. Volume 15, pp. 647–657, Feb. 2022, doi: 10.2147/DMSO.S350626.
- [346] M. H. Bhat, M. Mohd, I. H. Dar, and J. A. Bhat, 'Role of vitamin D deficiency in type 2 diabetes: Association or coincidence?', *Clinical Diabetology*, May 2021, doi: 10.5603/DK.a2021.0029.
- [347] M. A. Farahmand *et al.*, 'What is the impact of vitamin D supplementation on glycemic control in people with type-2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trails', *BMC Endocr Disord*, vol. 23, no. 1, p. 15, Jan. 2023, doi: 10.1186/s12902-022-01209-x.
- [348] M. Khudayar *et al.*, 'The Association Between Deficiency of Vitamin D and Diabetes Mellitus Type 2 (DMT2)', *Cureus*, Feb. 2022, doi: 10.7759/cureus.22221.
- [349] E. A. Dziedzic, S. Przychodzeń, and M. Dąbrowski, 'The effects of vitamin D on severity of coronary artery atherosclerosis and lipid profile of cardiac patients', *Archives of Medical Science*, vol. 6, pp. 1199–1206, 2016, doi: 10.5114/aoms.2016.60640.
- [350] J. R. Lupton *et al.*, 'Deficient serum 25-hydroxyvitamin D is associated with an atherogenic lipid profile: The Very Large Database of Lipids (VLDL-3) study', *J Clin Lipidol*, vol. 10, no. 1, pp. 72-81.e1, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.jacl.2015.09.006.

- [351] N. Mirhosseini, J. Rainsbury, and S. M. Kimball, 'Vitamin D Supplementation, Serum 25(OH)D Concentrations and Cardiovascular Disease Risk Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis', *Front Cardiovasc Med*, vol. 5, Jul. 2018, doi: 10.3389/fcvm.2018.00087.
- [352] N. Charoenngam and M. F. Holick, 'Immunologic Effects of Vitamin D on Human Health and Disease', *Nutrients*, vol. 12, no. 7, p. 2097, Jul. 2020, doi: 10.3390/nu12072097.
- [353] Z. Wan, J. Guo, A. Pan, C. Chen, L. Liu, and G. Liu, 'Association of Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations With All-Cause and Cause-Specific Mortality Among Individuals With Diabetes', *Diabetes Care*, vol. 44, no. 2, pp. 350–357, Feb. 2021, doi: 10.2337/dc20-1485.
- [354] Q. Lu, Z. Wan, J. Guo, L. Liu, A. Pan, and G. Liu, 'Association Between Serum 25-hydroxyvitamin D Concentrations and Mortality Among Adults With Prediabetes', *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 106, no. 10, pp. e4039–e4048, Sep. 2021, doi: 10.1210/clinem/dgab402.
- [355] G. Parameswaran and D. W. Ray, 'Sleep, circadian rhythms, and type 2 diabetes mellitus', *Clin Endocrinol (Oxf)*, vol. 96, no. 1, pp. 12–20, Jan. 2022, doi: 10.1111/cen.14607.
- [356] V. Brazão *et al.*, 'Melatonin down-regulates steroidal hormones, thymocyte apoptosis and inflammatory cytokines in middle-aged *T. cruzi* infected rats', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, vol. 1866, no. 11, p. 165914, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165914.

- [357] S. Shen *et al.*, 'The role of melatonin in the treatment of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease', *Int J Biol Sci*, vol. 18, no. 3, pp. 983–994, 2022, doi: 10.7150/ijbs.66871.
- [358] A. Das, M. Prithviraj, and P. S. Mohanraj, 'Role of Melatonin in the Management of Substance Addiction: A Systematic Review', *Cureus*, Jul. 2022, doi: 10.7759/cureus.26764.
- [359] O. O. Oguntibeju, 'Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links.', *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, vol. 11, no. 3, pp. 45–63, 2019.
- [360] W.-C. Wan, Y. Long, W.-W. Wan, H.-Z. Liu, H.-H. Zhang, and W. Zhu, 'Plasma melatonin levels in patients with diabetic retinopathy secondary to type 2 diabetes', *World J Diabetes*, vol. 12, no. 2, pp. 138–148, Feb. 2021, doi: 10.4239/wjd.v12.i2.138.
- [361] I. Kalere *et al.*, 'Melatonin Concentrations and Sleep Quality in Patients with Type 2 Diabetes and Obesity', *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences.*, vol. 73, no. 2, pp. 152–157, May 2019, doi: 10.2478/prolas-2019-0024.
- [362] S. J. Abood, W. K. Abdulsahib, S. A. Hussain, and S. H. Ismail, 'Melatonin Potentiates the Therapeutic Effects of Metformin in Women with Metabolic Syndrome', *Sci Pharm*, vol. 88, no. 2, p. 28, Jun. 2020, doi: 10.3390/scipharm88020028.
- [363] W. R. A. F. Nakrani MN, 'Physiology, Glucose Metabolism', 2022.
- [364] Y. Hashimoto, M. Hamaguchi, A. Kaji, R. Sakai, N. Kitagawa, and M. Fukui, 'Serum levels of mac-2 binding protein are associated with diabetic microangiopathy and

- macroangiopathy in people with type 2 diabetes', *BMJ Open Diabetes Res Care*, vol. 8, no. 1, p. e001189, Aug. 2020, doi: 10.1136/bmjdr-2020-001189.
- [365] S. K. Shami and S. J. Chittenden, 'Microangiopathy in diabetes mellitus: II. Features, complications and investigation.', *Diabetes Res*, vol. 17, no. 4, pp. 157–68, Aug. 1991.
- [366] J. Setareh *et al.*, 'Can the level of HbA1C predict diabetic retinopathy among type II diabetic patients?', *BMC Ophthalmol*, vol. 22, no. 1, p. 415, Oct. 2022, doi: 10.1186/s12886-022-02608-3.
- [367] I. M. Stratton, C. A. Cull, A. I. Adler, D. R. Matthews, H. A. W. Neil, and R. R. Holman, 'Additive effects of glycaemia and blood pressure exposure on risk of complications in type 2 diabetes: a prospective observational study (UKPDS 75)', *Diabetologia*, vol. 49, no. 8, pp. 1761–1769, Aug. 2006, doi: 10.1007/s00125-006-0297-1.
- [368] 'Effects of Intensive Glucose Lowering in Type 2 Diabetes', *New England Journal of Medicine*, vol. 358, no. 24, pp. 2545–2559, Jun. 2008, doi: 10.1056/NEJMoa0802743.
- [369] K. Nozawa, M. Ikeda, and S. Kikuchi, 'Association Between HbA1c Levels and Diabetic Peripheral Neuropathy: A Case–Control Study of Patients with Type 2 Diabetes Using Claims Data', *Drugs Real World Outcomes*, vol. 9, no. 3, pp. 403–414, Sep. 2022, doi: 10.1007/s40801-022-00309-3.
- [370] M. Infante, M. Leoni, M. Caprio, and A. Fabbri, 'Long-term metformin therapy and vitamin B12 deficiency: an association to bear in mind', *World J Diabetes*, vol. 12, no. 7, pp. 916–931, Jul. 2021, doi: 10.4239/wjd.v12.i7.916.

- [371] A. Khan, I. Shafiq, and M. Hassan Shah, 'Prevalence of Vitamin B12 Deficiency in Patients with Type II Diabetes Mellitus on Metformin: A Study from Khyber Pakhtunkhwa', *Cureus*, Aug. 2017, doi: 10.7759/cureus.1577.
- [372] M. Alvarez, O. R. Sierra, G. Saavedra, and S. Moreno, 'Vitamin B12 deficiency and diabetic neuropathy in patients taking metformin: a cross-sectional study', *Endocr Connect*, vol. 8, no. 10, pp. 1324–1329, Oct. 2019, doi: 10.1530/EC-19-0382.
- [373] K. Song *et al.*, 'Discordance in risk factors for the progression of diabetic retinopathy and diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus', *J Diabetes Investig*, vol. 10, no. 3, pp. 745–752, May 2019, doi: 10.1111/jdi.12953.
- [374] I. M. Stratton, 'Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study', *BMJ*, vol. 321, no. 7258, pp. 405–412, Aug. 2000, doi: 10.1136/bmj.321.7258.405.
- [375] S. Nakanishi *et al.*, 'Comparison of HbA1c levels and body mass index for prevention of diabetic kidney disease: A retrospective longitudinal study using outpatient clinical data in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus', *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 155, p. 107807, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.diabres.2019.107807.
- [376] T. Waas *et al.*, 'Distribution of estimated glomerular filtration rate and determinants of its age dependent loss in a German population-based study', *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, p. 10165, May 2021, doi: 10.1038/s41598-021-89442-7.
- [377] 'Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych z cukrzycą 2021', 2021.



## 10. Spis tabel

Tab. 1 Występowanie cukrzycy wśród osób dorosłych w Polsce (na podstawie danych o udzielonych świadczeniach) (na podstawie [28]).....	21
Tab. 2 Zachorowalność i współczynnik zapadalność na cukrzycę wśród dorosłych. Opracowanie własne, na podstawie [28]. .....	25
Tab. 3 Klasyfikacja masy ciała u osób dorosłych na podstawie wskaźnika BMI (wg kryteriów WHO) [88].....	66
Tab. 4 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych (cukrzycy) .....	90
Tab. 5 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z chorobą otyłościową.....	91
Tab. 6 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z nadwagą ....	92
Tab. 7 Charakterystyka rozkładów analizowanych zmiennych dla grupy osób z prawidłową masą ciała .....	93
Tab. 8 Analiza korelacji między HbA1c a wybranymi parametrami .....	94
Tab. 9 Analiza korelacji między kryteriami wyrównania stężenia frakcji lipidowych a wybranymi parametrami.....	95
Tab. 10 Analiza korelacji między BMI a wybranymi parametrami .....	98
Tab. 11 Porównanie wybranych zmiennych między pacjentami z DM2 z nadciśnieniem i bez .....	98
Tab. 12 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z hiperlipidemią i bez.....	99
Tab. 13 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z retinopatią i bez .....	100
Tab. 14 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z neuropatią i bez neuropatii .....	101

Tab. 15 Porównanie wybranych zmiennych między cukrzykami z nefropatią i bez nefropatii .....	101
Tab. 16 Porównanie czterech przebadanych grup .....	103
Tab. 17 Porównanie dwóch przebadanych grup .....	110
Tab. 18 Analiza korelacji między następującymi zmiennymi: melatonina, witamina D3, leptyna, adiponektyna, wisfatyna, kallistatyna, iryzyna i rezystyna .....	114

## 11. Spis rycin

Ryc. 1 Rozpowszechnienie cukrzycy według wieku i grupy dochodowej (%), 2021 (opracowanie własne, na podstawie [21]) .....	17
Ryc. 2 Liczba chorych na cukrzycę w wieku 20-79 lat z podziałem na państwa (opracowanie własne, na podstawie [21]) .....	18
Ryc. 3 Państwa z największą liczbą osób chorych na cukrzycę w 2021 roku (opracowanie własne, na podstawie [21]) .....	18
Ryc. 4 Odsetek osób (%), które zmarły z powodu cukrzycy przed 60 rokiem życia w 2021 roku (opracowanie własne, za [21]). .....	19
Ryc. 5 Liczba dorosłych osób chorych na cukrzycę wg płci i grup wiekowych (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28] .....	22
Ryc. 6a Odsetek dorosłych mężczyzn chorych na cukrzycę wg grup wiekowych (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28]. .....	23
Ryc. 6b Odsetek dorosłych kobiet chorych na cukrzycę wg grup wiekowych (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28]. .....	23
Ryc. 7 Surowy współczynnik chorobowości dla cukrzycy wg województwa zamieszkania pacjenta (2018 r.) Opracowanie własne, na podstawie [28]. .....	24
Ryc. 8 Standaryzowany względem ogólnopolskiej struktury wieku i płci w roku 2018 współczynnik chorobowości dla cukrzycy wg województwa zamieszkania pacjenta (2018 r.). Opracowanie własne, na podstawie [28]. .....	24
Ryc. 9 Wzór chemiczny witaminy D <sub>3</sub> (cholekalcyferolu) [142] .....	42
Ryc. 10 Przemiany witaminy D (za [142]). .....	43
Ryc. 11 Proces wolnorodnikowego utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych, w wyniku którego powstają nadtlutki (za [209]). .....	52

Ryc. 12 Etapy peroksydacji lipidów L-cząsteczka wielonienasyconego kwasu tłuszczowego, L•-wolny rodnik alkilowy, LOO•- wolny rodnik nadtlenkowy. Opracowanie własne, wg [213]...	53
Ryc. 13 Melatonina- struktura chemiczna [273] .....	61
Ryc. 14 Zmiany stężenia melatoniny w rytmie dobowym (obszar zacieniony to okres ciemności), za [268]).....	61
Ryc. 15 Uproszczony schemat oznaczania stężenia wisfatyny metodą ELISA.....	69
Ryc. 16 Uproszczony schemat oznaczania stężenia rezystyny metodą ELISA.....	71
Ryc. 17 Uproszczony schemat oznaczania stężenia adiponektyny metodą ELISA .....	73
Ryc. 18 Uproszczony schemat oznaczania stężenia leptyny metodą ELISA .....	74
Ryc. 19 Uproszczony schemat stężenia Il-6 metodą ELISA.....	76
Ryc. 20 Uproszczony schemat oznaczania stężenia ox-LDL metodą ELISA .....	78
Ryc. 21 Uproszczony schemat oznaczania stężenia witaminy D metodą ELISA.....	81
Ryc. 22 Uproszczony schemat oznaczania stężenia melatoniny metodą ELISA .....	83
Ryc. 23 Podział badanych na grupy (cukrzycy, otyli, z nadwagą, z prawidłową masą ciała)...	85
Ryc. 24 Podział badanych z grupy chorych na cukrzycę typu 2 ze względu na płeć. ....	85
Ryc. 25 Podział badanych z grupy osób otyłych ze względu na płeć.....	86
Ryc. 26 Podział badanych z grupy osób z nadwagą ze względu na płeć. ....	86
Ryc. 27 Podział badanych z grupy osób z prawidłową masą ciała ze względu na płeć. ....	87
Ryc. 28 Histogram dla wieku (osoby z cukrzycą typu 2).....	88
Ryc. 29 Histogram dla wieku (osoby otyłe). ....	88
Ryc. 30 Histogram dla wieku (osoby z nadwagą). ....	89
Ryc. 31 Histogram dla wieku (osoby z prawidłową masą ciała). ....	89
Ryc. 32 Liczba oraz % badanych z cukrzycą, u których zaobserwowano poszczególne powikłania.....	93

Ryc. 33 Wykres rozrzutu dla rezystyny i cholesterolu całkowitego. ....	96
Ryc. 34 Wykres rozrzutu dla rezystyny i LDL. ....	96
Ryc. 35 Wykres rozrzutu dla adiponektyny i HDL. ....	97
Ryc. 36 Wykres rozrzutu dla leptyny i TG. ....	97
Ryc. 37 Wykresy skrzynkowe dla BMI w podziale na grupy. ....	104
Ryc. 38 Wykresy skrzynkowe dla cholesterolu całkowitego w podziale na grupy. ....	104
Ryc. 39 Wykresy skrzynkowe dla LDL w podziale na grupy. ....	105
Ryc. 40 Wykresy skrzynkowe dla HDL w podziale na grupy. ....	105
Ryc. 41 Wykresy skrzynkowe dla TG w podziale na grupy. ....	106
Ryc. 42 Wykresy skrzynkowe dla melatoniny w podziale na grupy. ....	106
Ryc. 43 Wykresy skrzynkowe dla leptyny w podziale na grupy. ....	107
Ryc. 44 Wykresy skrzynkowe dla adiponektyny w podziale na grupy. ....	107
Ryc. 45 Wykresy skrzynkowe dla wisfatyny w podziale na grupy. ....	108
Ryc. 46 Wykresy skrzynkowe dla rezystyny w podziale na grupy. ....	108
Ryc. 47 Wykresy skrzynkowe dla IL-6 w podziale na grupy. ....	110
Ryc. 48 Wykresy skrzynkowe dla witaminy D w podziale na grupy. ....	111
Ryc. 49 Wykresy skrzynkowe dla iryzyny w podziale na grupy. ....	111
Ryc. 50 Wykresy skrzynkowe dla oxLDL w podziale na grupy. ....	112
Ryc. 51 Wykres rozrzutu dla adiponektyny i melatoniny. ....	114

## 12. Kserokopia zgody Komisji Bioetycznej

**Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**  
**Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy**  
**KOMISJA BIOETYCZNA**

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63, fax.(052) 585-38-11

**KB 452/2022**

Bydgoszcz, 23.08.2022 r.

Działając na podstawie art. 29 ustawy z dnia 5.12.1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152 (wraz z późniejszymi zmianami), rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11.05.1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U. Nr 47 poz.480) oraz Zarządzenia Nr 21 Rektora UMK z dnia 4.03.2009 r. z późn. zm. w sprawie powołania oraz zasad działania Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy oraz zgodnie z zasadami zawartymi w DH i GCP

**Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy**

(skład podano w załączeniu), na posiedzeniu w dniu **23.08.2022 r.** przeanalizowała wniosek, który złożyła kierownik badania:

**dr hab. Karolina Szewczyk-Golec, prof. UMK**  
**Katedra Biologii i Biochemii Medycznej**  
**Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu**

z zespołem w składzie:

**prof. dr hab. Alina Woźniak, dr hab. Karolina Szewczyk-Golec, prof. UMK, lek. Anna Piórkowska, dr n. med. Anna Kamińska**

w sprawie badania:

**„Ocena zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, wybranych adipocytokin i wykładników stanu zapalnego, a poziomem metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2.”**

Po zapoznaniu się ze złożonym wnioskiem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania Komisja podjęła:

**Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu wniosku**

w sprawie przeprowadzenia badań w zakresie określonym we wniosku pod warunkiem posiadania zgody osób badanych na wykorzystanie materiału biologicznego do celów naukowych oraz zachowania tajemnicy wszystkich danych, w tym danych osobowych uczestników badania, umożliwiających ich identyfikację w ewentualnych publikacjach;

**Zgoda obowiązuje od daty podjęcia uchwały (23.08.2022 r.) do końca 2023 r.**


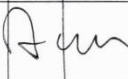


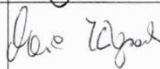
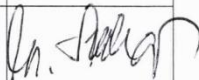

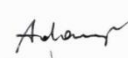
*Wydana opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku z uwzględnieniem przedstawionego projektu; każda zmiana i modyfikacja wymaga uzyskania odrębnej opinii.*

Prof. dr hab. med. Karol Śliwka

Przewodniczący Komisji Bioetycznej

Otrzymuje:  
dr hab. Karolina Szewczyk-Golec, prof. UMK  
Katedra Biologii i Biochemii Medycznej  
Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu

**Lista obecności**  
**na posiedzeniu Komisji Bioetycznej**  
**w dniu 23.08.2022 r.**

Lp.	Imię i nazwisko	Funkcja/ Specjalizacja	Podpis
1.	Prof. dr hab. n. med. Karol Śliwka	medycyna sądowa przewodniczący	
2.	Mgr prawa Joanna Poletk-Żygas	prawniczka zastępca przewodniczącego	
3.	Prof. dr hab. n. med. Mieczysława Czerwionka-Szaflarska	pediatra, alergologia i gastroenterologia dziecięca	
4.	Prof. dr hab. n. med. Marek Grabiec	położnictwo, ginekologia onkologiczna	
5.	Prof. dr hab. n. med. Maria Kłopotka	choroby wewnętrzne, gastroenterologia	
6.	Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Włodarczyk	chirurgia ogólna, transplantologia kliniczna	
7.	Dr hab. n. med. Maciej Słupski, prof. UMK	chirurgia ogólna, transplantologia kliniczna	
8.	Dr hab. n. med. Katarzyna Sierakowska, prof. UMK	anestezjologia i intensywna terapia	
9.	Ks. dr hab. Wojciech Szukalski, prof. UAM	duchowny	
10.	Dr n. med. Radosława Staszak-Kowalska	pediatria, choroby płuc	
11.	Mgr prawa Patrycja Brzezicka	prawniczka	
12.	Mgr farm. Aleksandra Adamczyk	farmaceutka	
13.	Mgr Lidia Iwińska-Tarczykowska	pielęgniarka	