Katedra i Zakład Immunologii Medycznej
Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny

Autoreferat

Bartosz Słomiński

Genetyczne tło cukrzycy typu 1

Gdańsk, 2019

1. IMIĘ I NAZWISKO

Bartosz Słomiński

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

magistra inżyniera	Politechnika Gdańska; Wydział Chemiczny; Katedra Mikrobiologii; **biotechnologia**; specjalność: biotechnologia leków, biotechnologia molekularna; czerwiec 2001

Tytuł pracy magisterskiej: „Optymalizacja hodowli, ekspresji i oczyszczania prekursora ludzkiej insuliny z metylotroficznych drożdży *Pichia pastoris*".
Promotor: dr inż. Sławomir Dąbrowski.

doktora	Uniwersytet Gdański; Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii; Katedra Biologii Molekularnej; **nauki biologiczne**; specjalność: biologia molekularna; październik 2007

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Dostarczanie helikazy do lambdoidalnego *origin* replikacji".
Promotor: prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn.

2.1. INNE FORMY KSZTAŁCENIA

Dyplom ukończenia studiów podyplomowych w zakresie pedagogiki; Studium Pedagogiczne przy Politechnice Gdańskiej; 2001.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Zakład Immunologii Katedra i Zakład Immunologii Wydział Lekarski Gdański Uniwersytet Medyczny	od 11.02.2011 **asystent** od 03.02.2015 **adiunkt**
Katedra i Zakład Immunologii Medycznej Wydział Lekarski Gdański Uniwersytet Medyczny	od 01.12.2018 **adiunkt**

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311)

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe obejmuje monotematyczny cykl 6 oryginalnych prac, opublikowanych w latach 2015-2019, dotyczących oceny klinicznego znaczenia wariantów polimorficznych genów *ESR1*, *CCR5* i *KLOTHO* u chorych na cukrzycę typu 1. W pracach tych analizowano związek pomiędzy określonymi polimorfizmami wyżej wymienionych genów a ryzykiem wystąpienia i przebiegiem klinicznym choroby oraz wartościami wybranych parametrów biochemicznych.

Współautorzy wszystkich publikacji wyrazili zgodę na ich wykorzystanie w niniejszej rozprawie i określili swój wkład w powstanie poszczególnych prac (Załącznik nr 7).

Sumaryczny Impact Factor: **20.493**

Łączna suma punktów MNiSW: **170**

4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

„Genetyczne tło cukrzycy typu 1"

4.2. WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

		IF	MNiSW
1.	**Słomiński B**, Myśliwska J, Brandt A. 2015. Grade of inflammation in boys with type 1 diabetes depends on the IVS1 -397 T>C estrogen receptor α polymorphism. J Diabetes Complications. 29(6): 801-807.	**2.955**	**25**
2.	**Słomiński B**, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwiec M. 2018. Estrogen receptor α gene polymorphism and vascular complications in girls with type 1 diabetes mellitus. Mol Cell Biochem. 437(1-2): 153-161.	**2.561**	**20**
3.	**Słomiński B**, Ławrynowicz U, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Brandt A. 2017. *CCR5*-Δ32 gene polymorphism is associated with retinopathy in patients with type 1 diabetes. Mol Cell Endocrinol. 439: 256-260.	**3.563**	**35**
4.	**Słomiński B**, Ławrynowicz U, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwska J, Myśliwiec M. 2019. *CCR5*-Δ32 polymorphism is a genetic risk factor associated with dyslipidemia in patients with type 1 diabetes. Cytokine. 114: 81-85.	**3.514**	**25**
5.	**Słomiński B**, Ławrynowicz U, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwiec M, Brandt A. 2017. *CCR5*-Δ32 gene polymorphism is related to celiac disease and autoimmune thyroiditis coincidence in patients with type 1 diabetes. J Diabetes Complications. 31(3): 615-618.	**2.792**	**25**
6.	**Słomiński B**, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwska J, Myśliwiec M. 2018. The KL-VS polymorphism of *KLOTHO* gene is protective against retinopathy incidence in patients with type 1 diabetes. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 1864(3): 758-763.	**5.108**	**40**
	Ogółem	**20.493**	**170**

4.3. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO ww. prac, osiągniętych wyników oraz ich ewentualnego wykorzystania

4.3.1. Wprowadzenie

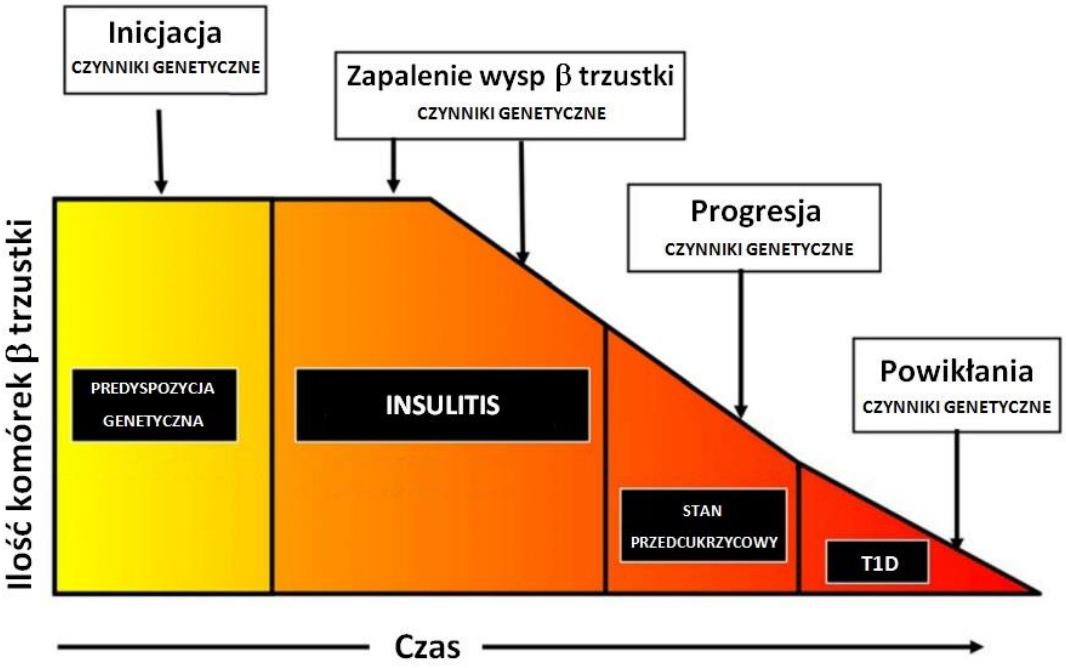
W ostatnim czasie dramatycznie rośnie częstość występowania (od 3 do 5% rocznie) cukrzycy typu 1 (T1D), szczególnie u dzieci młodszych niż 5 lat [1]. International Diabetes Federation szacuje, że na T1D choruje obecnie około 542 000 dzieci poniżej 15 roku życia [2], a według badań EURODIAB Polska jest krajem o najwyższym rocznym wzroście nowych przypadków zachorowań w Europie [1].

Na pierwszy rzut oka wydaje się, że patogeneza cukrzycy typu 1 nie jest zbyt skomplikowana. Jednak im więcej dowiadujemy się o samej chorobie, tym bardziej jest ona tajemnicza. To co na początku wyglądało jedynie na zaburzenie autoimmunizacyjne, w którym dochodzi do destrukcji komórek β wysp trzustki, tak naprawdę wynika ze złożonej interakcji pomiędzy czynnikami środowiskowymi i genetycznymi, układem odpornościowym oraz mikrobiomem i epigenomem, które na dodatek mają różny udział w poszczególnych przypadkach.

Dzięki badaniom asocjacyjnym całego genomu (GWAS) zidentyfikowano ponad 60 różnych regionów związanych z występowaniem polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNPs), które są związane ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na cukrzycę typu 1 [3]. Pomimo oczywistego podłoża genetycznego większość osób ze zdiagnozowaną cukrzycą typu 1 nie ma chorych w najbliższej rodzinie, nie u wszystkich występuje też zwiększone ryzyko związane z obecnością określonych SNP. Chociaż podatność na zachorowanie jest wrodzona, to ostatecznie o wystąpieniu T1D decydują czynniki środowiskowe, które są zdolne do zainicjowania procesu autoagresji. Głównymi winowajcami w tym procesie wydaje się być dieta, zakażenia ciążowe, infekcje wirusowe czy toksyny oraz niektóre związki chemiczne [4]. Czynniki te mogą także indukować zmiany epigenetyczne, które mają udokumentowany wkład w patogenezę T1D [5].

Genetyka cukrzycy typu 1

Uważa się, że podłoże genetyczne odpowiada za ok. 40 do 50% całkowitego ryzyka rozwoju cukrzycy typu 1 [7] (Rycina 1). Istotną rolę w potwierdzeniu kluczowego znaczenia genów w patogenezie T1D odegrały badania zachorowań rodzinnych. Wśród bliźniąt jednojajowych zgodność zachorowań wynosi od 12 do 70%, wśród dwujajowych ok. 8%, podczas gdy ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 1 w populacji ogólnej wynosi 0,4% [8].



Rycina 1. Etapy rozwoju cukrzycy typu 1.
U podstaw patogenezy cukrzycy leżą zjawiska autoimmunologicznej destrukcji komórek β trzustki, co prowadzi do niedoboru insuliny i rozwoju objawów klinicznych choroby. Na każdym z etapów patogenezy T1D dużą rolę odgrywają czynniki genetyczne. (Za Robertson i wsp. [6])

Najsilniejszy związek z występowaniem cukrzycy typu 1 mają geny kodujące HLA klasy II, których alleliczne warianty odpowiadają za ok. 50% całkowitego ryzyka genetycznego T1D [9]. Wiąże się to przede wszystkim z obecnością haplotypów *HLA-DR3-DQ2* i *HLA-DR4-DQ8*, przy czym prawdopodobieństwo zachorowania jest najwyższe przy równoczesnym występowaniu obu tych wariantów. Jedną z dwóch wyżej wymienionych odmian HLA ma 90% chorych na T1D, a obie z nich są obecne u 30 do 40% chorych [10]. Niekorzystny wpływ *DQ* i *DR* regionu HLA może być modyfikowany przez inne geny układu MHC. Na przykład ochronne działanie przed wystąpieniem T1D ma haplotyp *DR15-DQ6.2*, który redukuje ryzyko pojawieniem się choroby ponad 20-krotnie. Jego częstość w populacji ogólnej szacuje się na 20%, ale tylko 1% występuje u dzieci chorych na cukrzycę typu 1 [11]. Z powyższego wynika, że zależność ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 1 od haplotypów HLA jest złożona i wymaga pełnej oceny genotypu.

Z ryzykiem rozwoju T1D najsilniej związany jest region HLA. W badaniach asocjacyjnych całego genomu znaleziono także ponad 60 innych genów niezwiązanych z MHC, które mają istotny wpływ na ryzyko rozwoju T1D (Tabela 1). Wiele z tych genów odgrywa kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej i co się z tym wiąże, jest zaangażowanych w rozwój różnych chorób o podłożu autoimmunizacyjnym [12]. Inne biorą udział np. w modulacji sygnalizacji wewnątrzkomórkowej czy w funkcjonowaniu komórek β trzustki [13]. Co bardzo istotne, niektóre z tych genów stanowią potencjalny cel molekularny terapii [14, 15].

Tabela 1. Wybrane geny, których polimorfizmy są związane z rozwojem cukrzycy typu 1.

Gen	**Funkcja biologiczna**
BACH2	Transkrypcja
BAD	Apoptoza
CCR5	Sygnalizacja za pośrednictwem chemokin
CD266	Adhezja międzykomórkowa, sygnalizacja limfocytów, cytotoksyczność i wydzielanie limfokin z udziałem limfocytów T cytotoksycznych
CLEC16A	Nieznana
CTLA4	Negatywna regulacja odpowiedzi limfocytów T
CYP27B1	Metabolizm lipidów, lipoprotein, hormonów sterydowych i witaminy D
GPR183	Odpowiedź humoralna
IL10	Hamowanie syntezy wielu cytokin (IFNγ, IL-2, IL-3, TNF, GM-CSF)
IL2/IL21	Proliferacja limfocytów T lub B
IL27	Odpowiedź zapalna, regulacja odpowiedzi przeciwwirusowej
IL2RA	Regulacja tolerancji immunologicznej, proliferacja limfocytów T
IL7R	Cytotoksyczność zależna od limfocytów T, synteza przeciwciał, wiązanie antygenu
INS	Synteza insuliny
PRKCQ	Aktywacja limfocytów T
PTPN2	Supresja aktywacji limfocytów T
PTPN22	Regulacja odpowiedzi wrodzonej, aktywacja limfocytów T, proliferacja komórek NK
STAT4	Różnicowanie limfocytów Th1, ekspresja *IFNG*
TAGAP	Aktywacja limfocytów T
TNFAIP3	Negatywna regulacja aktywacji NF-κB za pośrednictwem LPS lub TNF

Genetyka powikłań cukrzycowych

Powikłania cukrzycy są główną przyczyną zgonów wśród chorych na T1D [16]. Zaliczamy do nich powikłania makronaczyniowe, które dotyczą zmian w dużych i średnich naczyniach krwionośnych i klinicznie manifestują się chorobami układu sercowo-naczyniowego oraz powikłania mikronaczyniowe, które są związane ze zmianami w małych naczyniach krwionośnych i mikrokrążeniu, a jej postaciami klinicznymi jest retinopatia, nefropatia i neuropatia.

Rodzinne występowanie cukrzycowej choroby nerek, retinopatii czy miażdżycy potwierdza silny wpływ genów na powikłania cukrzycowe [17]. Jednak o ich rozwoju decydują także czynniki środowiskowe, jak chociażby ekspozycja na wysokie stężenie glukozy we krwi. Tak naprawdę powikłania te są wypadową oddziaływań genetycznych, epigenetycznych i środowiskowych.

Biorąc jednak pod uwagę różnorodność i wzajemne oddziaływania genów, identyfikacja tych mających decydujący wpływ na rozwój powikłań cukrzycowych okazała się bardzo trudna. Niewielka liczba badań, niewystarczające wielkości prób, interakcje gen-środowisko oraz problemy ze zróżnicowaniem obrazu klinicznego poszczególnych przypadków sprawiły, że do tej pory nie poczyniono właściwie zdecydowanych postępów w określeniu genetycznego podłoża

powikłań u chorych na cukrzycę typu 1 [18, 19]. Póki co znamy niewiele wariantów genetycznych związanych z nefropatią czy retinopatią oraz chorobami układu krążenia u chorych na T1D [17, 20, 21] (Tabela 2).

Tabela 2. Geny, których polimorfizmy są związane z wystąpieniem powikłań cukrzycowych u chorych na T1D.

Mikroangiopatia	Retinopatia	*AKR1B1, AKT3, ALR2, EPO, ICAM1, NOS3, RAGE, VEGFA*
	Nefropatia	*ACE, ADIPOQ, AFF3, APOE, APOL1-3, CNDP1, EPO, ERBB4, FRMD3, eNOS, PKCB, RAGE, SP3, VEGFA*
Makroangiopatia		*ADIPOQ , CDKN2A, ENPP1*

Genetyka chorób autoimminizacyjnych towarzyszących cukrzycy

U chorych na cukrzycę typu 1 bardzo często dochodzi do rozwoju innych schorzeń, u podłoża których leżą procesy autoimmunizacyjne. Do najczęstszych problemów zdrowotnych towarzyszących T1D należą autoimmunologiczne choroby tarczycy, celiakia i autoimmunologiczne zapalenie żołądka, co ma związek ze wspólnym podłożem genetycznym, a także podobną patogenezą na poziomie komórkowym. Należałoby się spodziewać, że warianty genowe, które prowadzą do rozregulowania odpowiedzi immunologicznej będą związane z wieloma rożnymi chorobami o podłożu autoimmunizacyjnym. Dlatego choroby o podobnej immunopatogenezie powinny wykazywać związek także z genami, które są czynnikami ryzyka rozwoju T1D. Badania ostatnich lat tę hipotezę potwierdzają [22, 23].

Najczęstszymi schorzeniami towarzyszącymi T1D jest choroba Hashimoto oraz Graves-Basedowa, które są wspólnie nazywane autoimmunologicznymi chorobami tarczycy (AITD). Od 15 do 30% pacjentów z T1D ma równocześnie AITD, co sugeruje ich wspólne podłoże genetyczne [24]. Najprawdopodobniej zależność między tymi chorobami jest wieloczynnikowa, niemniej jednak kluczowym w obu przypadkach jest obecność haplotypów HLA klasy II: *HLA-DQA1*0301*, *DQB*0301*, and *DQB1*0201*, które są związane z rozwojem nadczynności tarczycy oraz *DQA1*0501* związanego z niedoczynnością tarczycy. Z kolei ochronne działanie na rozwój AITD wykazuje haplotyp *HLA-DQB1*05* [25].

U chorych na T1D częstość występowania celiakii (CD) waha się od 1,6 do 16,4% [26]. Jest to ponad 20-krotnie więcej niż w populacji ogólnej [27]. Rodzinne występowanie zarówno T1D jak i CD dowodzi dużej roli czynników genetycznych, które są zaangażowane w rozwój obu tych chorób. Podobnie jak w przypadku AITD, kluczową rolę w rozwoju CD odgrywają geny leżące w obrębie HLA klasy II, przede wszystkim: *HLA-DQ8 (DQB1*0302-DQA1*0301)* i *DQ2* (*DQB1*0201-DQA1*0501*) [28].

Rola genów głównego układu zgodności tkankowej klasy II w rozwoju zarówno cukrzycy typu 1 jaki i chorób jej współtowarzyszących, takich jak AITD czy CD, jest już dobrze poznana i wydaje się być głównym, ale nie jedynym czynnikiem, który prowadzi do jednoczesnego współwystępowania tych chorób. Ostatnie badania GWAS zidentyfikowały wiele polimorfizmów

genów, które są czynnikami ryzyka AITD i CD, a nie należą do MHC klasy II (Tabela 3). Spora część tych genów jest związana z różnicowaniem, migracją oraz aktywacją limfocytów T [23, 25, 29, 30].

Tabela 3. Geny, których polimorfizmy są związane ze współwystępowaniem T1D i AITD oraz CD.

Autoimmunologiczne choroby tarczycy	*CTLA-4, PTPN22, FOXP3, TG*
Celiakia	*CTLA-4, CCR3, CD28, CD247, FASLG, ICOS, IL1R1, IL18R1, MIC-A, TNFSF18, PTPN2*

Podsumowanie

Nasza znajomość genetycznych podstaw cukrzycy, jej powikłań i chorób współwystępujących dopiero niedawno wykroczyła poza wiedzę o genach głównego układu zgodności tkankowej człowieka. Nowoczesne technologie genomiczne pozwoliły na identyfikację kilkudziesięciu nowych wariantów genetycznych związanych z T1D i wydaje się, że nasze poznanie całkowitego genetycznego ryzyka T1D zbliża się do 90% [6]. Pozostałe 10% nadal czeka na swoich odkrywców, a niniejszy cykl badań przyczynia się do uzupełnienia tej luki.

Jednym z ważniejszych czynników, które mają wpływ na rozwój reakcji autoimmunizacyjnej jest polimorfizm genetyczny. Dlatego też poznanie wariantów genów związanych z różnicami w indywidualnych predyspozycjach rozwoju T1D, jej powikłań czy chorób współtowarzyszących jest bardzo istotne w zrozumieniu mechanizmów leżących u ich podstaw, wczesnej identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka, a także może doprowadzić do rozwoju nowych strategii terapeutycznych. Poza tym daje nam wgląd w nowe szlaki, których nie można powiązać z T1D za pomocą istniejących tradycyjnych modeli. Największym jednak wyzwaniem jest przekształcenie naszych postępów w genetyce cukrzycy w konkretne narzędzia, które będą miały zastosowanie kliniczne.

4.3.2. ***ESR1***

Estrogeny odgrywają bardzo ważną rolę w rozwoju i funkcjonowaniu męskiego i żeńskiego układu rozrodczego. Wywierają również wpływ na układ odpornościowy, sercowo-naczyniowy, nerwowy i kostny oraz biorą udział w metabolizmie lipidów [31, 32]. Dlatego też estrogeny mają bezpośredni związek z wieloma dysfunkcjami, np. z opornością na insulinę, dyslipidemią czy nadciśnieniem [33]. W fizjologicznym działaniu estrogenów pośredniczą odpowiednie receptory: ER-α i ER-β.

Geny kodujące ER-α charakteryzują się występowaniem licznych wariantów polimorficznych. Spośród nich najistotniejszymi z punktu widzenia klinicznego są dwa polimorfizmy typu SNP - PvuII (IVS1 -397T>C, rs2234693) oraz XbaI [34]. Polimorfizm PvuII jest spowodowany tranzycją T>C w intronie 1. Allel C jest związany z obecnością funkcjonalnego miejsca wiążącego

czynnik transkrypcyjny B-myb, który może wzmagać transkrypcję, a także wywierać wpływ na strukturę i stabilność samego transkryptu [35]. Zwiększona transkrypcja *ER-a* prowadzi do jego silniejszej ekspresji, czego skutkiem może być wzrost wiązania estradiolu przez receptor u homozygot CC. A większa dawka związanego estradiolu oznacza silniejszy efekt jego działania.

Nasze wcześniejsze badania wskazywały na związek polimorfizmu PvuII z nasileniem stanu zapalnego u dziewczynek chorych na T1D. Wykazaliśmy, że pacjentki z genotypem CC miały największy odsetek limfocytów T regulatorowych $CD4^{+}Foxp3^{+}$ i najniższe stężenie TNF-α w surowicy. Charakteryzowały się także najwyższym stężeniem 17β-estradiolu [36]. W kolejnej pracy pokazaliśmy, że dziewczynki z genotypem TT charakteryzują się najwyższym stężeniem cytokin prozapalnych w surowicy (IL-6, TNF-α, VEGF), a także zwiększonym odsetkiem komórek Th17 [37]. Badania te wskazują na związek między wariantem TT a zwiększoną odpowiedzią zapalną, co może prowadzić do rozwoju późnych powikłań cukrzycowych u dziewczynek chorych na cukrzycę typu 1.

Słomiński B, Myśliwska J, Brandt A. 2015. **Grade of inflammation in boys with type 1 diabetes depends on the IVS1 -397 T>C estrogen receptor α polymorphism**. J Diabetes Complications. 29(6): 801-807.

Rola polimorfizmu PvuII u chłopców chorych na T1D nie była dotąd znana, dlatego też postanowiliśmy zbadać jego związek z nasileniem stanu zapalnego oraz występowaniem powikłań cukrzycowych u takich pacjentów.

Nie wykazaliśmy związku między częstością występowania polimorfizmu PvuII u chorych chłopców na cukrzycę typu 1 i u zdrowej grupy kontrolnej. Jednak z naszych badań wynika, że cierpiący na T1D chłopcy z genotypem CC mają najniższe ciśnienie krwi oraz najniższe stężenie prozapalnej IL-6 i białka CRP w surowicy. Podobne związki występują w grupie chorych z powikłaniami mikronaczyniowymi – ciśnienie krwi oraz stężenie IL-6, ale nie CRP, nadal są najniższe u pacjentów z genotypem CC. Badaną grupę zanalizowaliśmy także pod kątem występowania powikłań – nadciśnienia jako powikłania makronaczyniowego oraz retino- i nefropatii jako powikłań mikronaczyniowych. Nie zaobserwowaliśmy znaczącej różnicy w częstości występowania polimorfizmu PvuII u chorych z powikłaniami i bez nich.

W prezentowanej pracy wykazaliśmy, że genotyp TT wiąże się ze wzmożoną odpowiedzią zapalną. Herrington i współpracownicy [38, 39] pokazali, że nosiciele wariantu TT mogą wiązać estrogen znacznie słabiej niż posiadacze genotypu CC, a to może znosić antyzapalne działanie estrogenów. Poza tym, z innych badań wynika, że niższe stężenie estrogenów jest związane ze zwiększoną produkcją cytokin o charakterze prozapalnym [40, 41].

Kolejną ważną obserwacją wynikającą z naszych badań jest fakt, że nosiciele genotypu CC mają najniższe ciśnienie krwi. W obecności allelu T transkrypcja genu *ER-a* jest obniżona, a to może wpływać na ciśnienie krwi, ponieważ ER-α jest receptorem, który bierze udział w procesie wazodylatacji stymulowanej przez estrogeny [42, 43].

Podsumowując, nasze badania u chłopców chorych na T1D sugerują, że obecność allelu T polimorfizmu PvuII *ER-a* może wskazywać na zwiększone ryzyko rozwoju makro- i mikronaczyniowych powikłań cukrzycowych, które są związane z nasileniem stanu zapalnego u takich pacjentów.

Słomiński B, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwiec M. 2018. **Estrogen receptor α gene polymorphism and vascular complications in girls with type 1 diabetes mellitus**. Mol Cell Biochem. 437(1-2): 153-161.

Ponieważ nasze wcześniejsze badania wskazywały na ochronną rolę genotypu CC polimorfizmu PvuII *ER-a* u dziewczynek chorych na cukrzycę typu 1, postanowiliśmy poszerzyć naszą wiedzę o jego wpływie na ryzyko rozwoju powikłań cukrzycowych. W tym celu zbadaliśmy stężenie markerów zapalnych (CRP, IL-6, TNF-α), czynników proangiogennych (VEGF, angiogenina) oraz odsetek dwóch subpopulacji monocytów krwi obwodowej: $CD14^{++}CD16^{+}$ i $CD14^{+}CD16^{-}$.

W prezentowanej pracy, podobnie jak w poprzednich [36, 37], wykazaliśmy, że obecność genotypu CC wiąże się z mniej nasiloną odpowiedzią zapalną. Dziewczynki z genotypem CC charakteryzowały się najniższym stężeniem wszystkich badanych markerów stanu zapalnego. Co ciekawe, zaobserwowaliśmy też, że dziewczynki z genotypem CC mają najniższe stężenie czynników proangiogennych, takich jak VEGF czy angiogenina, których związek z rozwojem mikronaczyniowych powikłań cukrzycowych jest dobrze udokumentowany [44, 45].

Wykazaliśmy także, że nosicielki genotypu CC miały najniższy odsetek nieklasycznych, prozapalnych monocytów $CD14^{++}CD16^{+}$. Komórki te biorą udział w różnych chorobach zakaźnych i zapalnych oraz w patogenezie zaburzeń autoimmunologicznych [46]. Poza tym są głównymi producentami TNF-α preferencyjnie uwalnianego w śródbłonku [47]. Estrogeny mogą modulować ekspresję CD16 za pomocą mechanizmów, które wykorzystują ER-α, a to prowadzi do zmiany profilu wydzielanych cytokin [48]. Na podstawie naszych badań i literatury [49, 50, 51] jest wysoce prawdopodobne, że monocyty $CD16^{+}$ odgrywają bardzo ważną rolę w promowaniu odpowiedzi zapalnej w T1D.

Inną ważną obserwacją wynikającą z naszych badań jest fakt, że dziewczynki z genotypem CC miały najwyższe stężenie cholesterolu całkowitego (TC), trójglicerydów (TG) a także cholesterolu o małej gęstości (LDL). Wiele badań wskazuje na bezpośredni związek podwyższonych wartości TC, TG i LDL z rozwojem powikłań cukrzycowych [52]. Estrogeny wpływają na ekspresję genów zaangażowanych w metabolizm lipoprotein, a to moduluje ich ostateczne stężenie w surowicy krwi [53].

W prezentowanej pracy wykazaliśmy także, że dziewczynki z genotypem CC mają najwyższe ciśnienie krwi. Jest to zupełne odwrócenie relacji, jaką obserwowaliśmy u chłopców, gdzie nosiciele genotypu CC mieli najniższe ciśnienie krwi. Ta obserwacja jest dosyć istotna, ponieważ wyższe ciśnienie krwi ma bezpośredni związek z szybszą progresją powikłań cukrzycowych [54].

Podsumowując, nasze badania pokazały, że wariant CC polimorfizmu PvuII genu *ER-a* wywiera plejotropowy efekt u dziewczynek chorych na T1D. Z jednej strony nosicielki genotypu CC wykazują mniejszą aktywność zapalną i proangiogenną, ale z drugiej strony mają też mniej korzystne cechy, które wiążą się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Być może właśnie dlatego nie obserwujemy znaczących różnic w częstości występowania polimorfizmu PvuII *ER-a* w grupie chorych z powikłaniami i bez nich.

4.3.3. ***CCR5***

CCR5 (receptor C-C chemokin typu 5) jest receptorem dla ok. 10 małych białek chemotaktycznych [55], które są indukowane w stanach zapalnych gdzie odgrywają kluczową rolę w rekrutacji leukocytów. Dlatego też podstawową funkcją CCR5 jest umożliwienie migracji leukocytów do tkanek objętych stanem zapalnym [56]. CCR5 znajduje się przede wszystkim na powierzchni aktywowanych limfocytów Th1, monocytów, makrofagów, komórek NK i dendrytycznych. Poza tym znajduje się także na komórkach: mięśni gładkich naczyń, śródbłonka, gwiaździstych wątroby, neuronach czy na komórkach glejowych [57]. Ze względu na tak szerokie spektrum występowania tego receptora odgrywa on znaczącą rolę nie tylko w biologii leukocytów, ale także w patogenezie wielu chorób oraz w autoimmunizacji [58]. CCR5 jest także koreceptorem dla wirusa HIV-1 i ma kluczowe znaczenie w jego transmisji [59].

O receptorze CCR5 jako czynniku mającym znaczący wpływ na odpowiedź immunologiczną stało się głośno po odkryciu, że jego alleliczna wersja Δ32, w której dochodzi do delecji 32 par zasad, nadaje jej homozygotycznym nosicielom oporność na zakażenie wirusem HIV [60]. Delecja ta prowadzi do zmniejszenia ilości receptora na komórkach u heterozygot (o ok. 20 do 30%), a u homozygot powoduje całkowity jego brak [61]. Stąd też budzi duże zainteresowanie jako czynnik mogący wpływać na rozwój wielu chorób – od autoimmunizacyjnych po nowotworowe (stwardnienie rozsiane, astma, choroba Behçeta, cukrzyca typu 1 i 2, reumatoidalne zapalenie stawów, rak piersi, rak jelita grubego) [62]. W chorobach tych Δ32 może pełnić różną funkcję, od ochronnej po czynnik ryzyka. W odniesieniu do cukrzycy typu 1, to allel ten wydaje się zapobiegać jej rozwojowi [63].

Słomiński B, Ławrynowicz U, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Brandt A. 2017. ***CCR5*-Δ32 gene polymorphism is associated with retinopathy in patients with type 1 diabetes**. Mol Cell Endocrinol. 439: 256-260.

Dane literaturowe wskazują na potencjalny związek polimorfizmu *CCR5*-Δ32 z nefropatią cukrzycową [64], ale wpływ allelu Δ32 na retinopatię (DR) jest kontrowersyjny i ciągle nieznany [65, 66]. Dlatego też postanowiliśmy określić ryzyko rozwoju DR w zależności od posiadanego wariantu genu *CCR5* u pacjentów z T1D.

W grupie badanej oznaczyliśmy polimorfizm *CCR5*-Δ32 oraz stężenie cytokin prozapalnych (CRP, TNF-α), cząsteczek adhezyjnych (VCAM, ICAM-1, ICAM-3) oraz jednego z ligandów receptora CCR5 (MCP-1).

W omawianej pracy wykazaliśmy związek między częstością występowania allelu Δ32 u chorych na T1D i u osób zdrowych – jego odsetek w grupie chorych jest ponad dwukrotnie niższy. Świadczy to o ochronnym wpływie allelu Δ32 na ryzyko wystąpienia T1D, co jest też zgodne z wynikami ostatniej metaanalizy [63]. Jedną z możliwych przyczyn takiego stanu rzeczy jest fakt, że upośledzona ekspresja receptora CCR5 u nosicieli allelu Δ32 może osłabiać destrukcję komórek β trzustki dzięki ograniczonej, zależnej od CCR5, możliwości rekrutacji aktywowanych limfocytów T.

Zaobserwowaliśmy, że allel Δ32 występuje znacznie częściej u chorych na T1D z retinopatią, niż w grupie pacjentów bez DR. Oszacowane ryzyko możliwości wystąpienia retinopatii u nosicieli allelu Δ32 było ponad czterokrotnie wyższe w porównaniu do pacjentów z allelem typu dzikiego. Wiadomo, że rozwój i progresja retionopatii koreluje bezpośrednio ze stopniem glikemii oraz czasem ekspozycji komórek śródbłonka w siatkówce oka na podwyższone stężenie glukozy. Mnożąc dwie wartości określające te czynniki (stężenie HbA1c i czas trwania cukrzycy) uzyskujemy wskaźnik miary rozwoju retinopatii, który jest wprost proporcjonalny do ryzyka jej wystąpienia [67]. Zaobserwowaliśmy, że parametr ten był najwyższy u nosicieli allelu Δ32, u których nie doszło jeszcze do rozwoju DR. Tacy pacjenci mieli także najwyższe stężenie HbA1c.

Kontynuując i rozszerzając te obserwacje zmierzyliśmy w surowicy krwi stężenie cytokin prozapalnych (CRP, TNF-α), cząsteczek adhezyjnych (VCAM, ICAM-1, ICAM-3) oraz jednego z ligandów receptora CCR5 (MCP-1), które wiadomo, że biorą udział w rozwoju powikłań mikronaczyniowych. Okazało się, że wartości wszystkich tych związków były najwyższe u nosicieli allelu Δ32, co świadczy o jego wpływie na stopień nasilenia odpowiedzi zapalnej. Należałoby się spodziewać, że upośledzona ekspresja receptora CCR5 u nosicieli alllelu Δ32 będzie miała korzystny wpływ i powinna hamować rozwój stanu zapalnego, także ten toczący się w obrębie naczyń krwionośnych, który leży u podstaw angiopatii [68]. Z drugiej jednak strony istnieją poparte obserwacjami wskazówki sugerujące antyzapalną rolę receptora CCR5 [69] i prozapalną rolę jego polimorfizmu *CCR5*-Δ32 [70]. Warto też zauważyć, że zwiększona odpowiedź zapalna, którą obserwujemy u nosicieli allelu Δ32 może wynikać z faktu, że upośledzona ekspresja receptora CCR5 osłabia immunosupresyjne działanie limfocytów T regulatorowych, które są zależne od CCR5.

Podsumowując, wyniki naszych badań sugerują, że polimorfizm *CCR5*-Δ32 jest związany z cukrzycą typu 1 w ten sposób, że allel Δ32 chroni osoby zdrowe przed jej rozwojem, ale równocześnie jest też czynnikiem ryzyka wystąpienia retinopatii cukrzycowej u osób już chorych na T1D.

Słomiński B, Ławrynowicz U, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwska J, Myśliwiec M. 2019. ***CCR5*-Δ32 polymorphism is a genetic risk factor associated with elevated plasma lipid levels and dyslipidemia in patients with type 1 diabetes**. Cytokine. 114: 81-85.

Badania dotyczące związku między upośledzeniem funkcji receptora CCR5 a stężeniem lipidów są rozbieżne, ale jednoznacznie wskazują na istotny udział polimorfizmu *CCR5*-Δ32 w ich metabolizmie [71, 72]. Wpływ tego wariantu genetycznego na stężenie lipidów u chorych na cukrzycę typu 1 nie był dotąd znany. Kontynuując i rozszerzając nasze badania postanowiliśmy sprawdzić związek polimorfizmu *CCR5*-Δ32 u chorych na T1D z gospodarką lipidową, której zaburzenia prowadzą do rozwoju powikłań cukrzycowych.

Badaną grupę podzieliliśmy na pacjentów z dyslipidemią i bez dyslipidemii. U wszystkich oznaczyliśmy polimorfizm *CCR5*-Δ32 oraz profil lipidowy.

Największy wpływ na stężenie lipidów u pacjentów z T1D mają 4 czynniki: wiek, płeć, BMI i HbA1c [73]. Dyslipidemia jako stan zaburzenia gospodarki lipidowej wynika ze złożonej interakcji pomiędzy czynnikami środowiskowymi i genetycznymi. Dane literaturowe wskazują, że od 40 do 60% tych nieprawidłowości ma podłoże genetyczne [74]. W omawianej pracy pokazaliśmy, że istnieje związek między polimorfizmem *CCR5*-Δ32 a profilem lipidowym u chorych na cukrzycę typu 1. Co prawda nie obserwowaliśmy zależności w odniesieniu do całkowitego stężenia cholesterolu (TC), natomiast nosiciele allelu Δ32 mieli najwyższy poziom trójglicerydów (TG) i cholesterolu o małej gęstości (LDL) oraz najniższy cholesterolu o dużej gęstości (HDL). Podwyższone stężenie LDL w okresie dojrzewania przyczynia się do powstania pasm tłuszczowych, które są najwcześniejszą postacią zmian miażdżycowych. I nawet u dorosłych z T1D, którzy mają korzystniejszy profil lipidowy niż osoby zdrowe, wyższe stężenie LDL i TG oraz niższe HDL nadal znacząco koreluje z ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, dlatego też poziom lipidów u takich pacjentów jest ważnym celem terapii [75].

Zaobserwowaliśmy, że allel Δ32 występuje znacznie częściej u pacjentów z dyslipidemią w porównaniu z grupą chorych bez dyslipidemii. Analiza regresji logistycznej uwzględniająca w modelu wiek, czas trwania cukrzycy, BMI, HbA1c i stężenie glukozy we krwi wskazuje na ponad dwuipółkrotnie większe ryzyko wystąpienia dyslipidemii u nosicieli allelu Δ32. Wiadomo, że dyslipidemia jest jednym z najważniejszych czynników będących przyczyną rozwoju powikłań makronaczyniowych u chorych na T1D [76]. Tacy pacjenci wykazują 10-krotnie zwiększone ryzyko rozwoju chorób sercowo-naczyniowych (CVD) w porównaniu z populacją ogólną, a ciężkie zdarzenia sercowo-naczyniowe są główną przyczyną śmiertelności w tej grupie [77]. Co prawda powikłania makronaczyniowe cukrzycy dosyć rzadko manifestują się przed okresem dojrzewania, ale uznaje się, że zmiany miażdżycowe mają swój początek w dzieciństwie i właśnie dyslipidemia jest podstawowym stanem patologicznym ich rozwoju [78].

W poprzedniej pracy wykazaliśmy, że obecność allelu Δ32 u chorych na T1D jest związana ze zwiększonym nasileniem stanu zapalnego [79], a wiadomo, że jego mediatory są jednym z kluczowych regulatorów metabolizmu lipidów [80]. Dlatego też u nosicieli allelu Δ32 może dochodzić do zaburzeń w gospodarce lipidowej.

Dyslipidemia prowadzi do uszkodzenia śródbłonka naczyniowego. Ten stan, a także zwiększona ekspresja cząsteczek adhezyjnych, którą obserwujemy u nosicieli allelu Δ32 prowadzi do kumulacji czynników patologicznych związanych z rozwojem powikłań cukrzycowych. W blaszkach miażdżycowych wykazano obecność jednego z ligandów receptora CCR5 – RANTES [81], a to prowadzi do uwięzienia tam CCR5 zależnych limfocytów T i monocytów, które mogą wzmagać efekt patologiczny. Tak więc w obecności dysfunkcyjnego receptora CCR5 proces ten powinien przebiegać łagodniej, co zdają się potwierdzać badania, w których wykazano ochronny potencjał allelu Δ32 na rozwój CVD [61]. Ale z drugiej strony wiemy też, że upośledzona ekspresja receptora CCR5 osłabia immunosupresyjne działanie CCR5 zależnych limfocytów T regulatorowych, które biorą udział w procesie aterogenezy [82].

Podsumowując, wyniki naszych badań sugerują, że polimorfizm *CCR5*-Δ32 jest związany z niekorzystnymi zmianami profilu lipidowego chorych na T1D, a obecność allelu Δ32 zwiększa ponad dwuipółkrotnie ryzyko dyslipidemii u takich pacjentów. Zrozumienie powiązań tego wariantu genetycznego z dyslipidemią u dzieci i młodzieży może mieć istotne następstwa w kontroli rozwoju CVD w wieku dorosłym.

Słomiński B, Ławrynowicz U, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwiec M, Brandt A. 2017. ***CCR5*-Δ32 gene polymorphism is related to celiac disease and autoimmune thyroiditis coincidence in patients with type 1 diabetes**. J Diabetes Complications. 31(3): 615-618.

Osoby chore na cukrzycę typu 1 są znacznie bardziej narażone na rozwój innych zaburzeń autoimmunizacyjnych, z których najczęstszymi są autoimmunologiczne choroby tarczycy (AITD) oraz celiakia (CD). Na rozwój autoimmunizacji, a także na przebieg samej choroby i jej nasilenie bardzo duży wpływ mają polimorfizmy genetyczne. Dlatego też postanowiliśmy zbadać możliwe korelacje między polimorfizmem *CCR5*-Δ32 a częstością występowania oraz ryzykiem rozwoju AITD i CD u pacjentów z cukrzycą typu 1.

Zaobserwowaliśmy, że allel Δ32 występuje dużo częściej u pacjentów chorych na T1D i celiakię, niż w grupie pacjentów bez CD. Oszacowane ryzyko wystąpienia CD u nosicieli allelu Δ32 było ponad trzykrotnie wyższe niż w przypadku pacjentów z allelem typu dzikiego. Podobne wyniki uzyskaliśmy dla AITD. Częstość występowania allelu Δ32 była znacząco wyższa w grupie pacjentów z tą chorobą w porównaniu do grupy kontrolnej. Ryzyko rozwoju AITD u chorych na cukrzycę nosicieli allelu Δ32 było również ponad trzykrotnie wyższe w porównaniu z nosicielami allelu typu dzikiego.

Obecnie nie ma żadnych danych literaturowych na temat możliwych związków polimorfizmu *CCR5*-Δ32 z rozwojem autoimmunologicznych chorób tarczycy u pacjentów z cukrzycą typu 1. Nasze doniesienie jest pierwszym, które wskazuje na to, że allel Δ32 jest czynnikiem ryzyka wystąpienia AITD u pacjentów z T1D. Znane jest nam jedno doniesienie, której autorzy wskazują na ochronną rolę allelu Δ32 w rozwoju cukrzycy oraz celiakii [83]. Nasze wyniki są sprzeczne z tą obserwacją. Głównym powodem tej rozbieżności może być tu jednak fakt, że tę

zależność obserwowaliśmy u chorych zarówno na cukrzycę jak i celiakię, a nie oddzielnie u chorych tylko na T1D i u chorych tylko na CD, co było przedmiotem badań w cytowanej publikacji.

Ten na pozór paradoksalny wpływ allelu Δ32 na procesy autoimmunizacyjne, który z jednej strony chroni przed rozwojem cukrzycy, ale jednocześnie jest czynnikiem ryzyka AITD i CD u takich pacjentów, można próbować częściowo wytłumaczyć modulacją stanu zapalnego. Niedobór CCR5 u nosicieli allelu Δ32 może łagodzić zapalenie [68], ale też sugeruje się antyzapalną rolę receptora CCR5 [69] i prozapalną rolę jego polimorfizmu *CCR5*-Δ32 [70], co może mieć różne znaczenie w poszczególnych przypadkach.

Podsumowując, w tej pracy wskazaliśmy na allel Δ32 genu *CCR5* jako możliwy czynnik ryzyka rozwoju współtowarzyszących cukrzycy typu 1 innych chorób autoimmunizacyjnych – celiakii oraz zapalnych chorób tarczycy.

4.3.4. ***KLOTHO***

KLOTHO jest genem supresorowym starzenia, który skutkuje wydłużeniem czasu życia gdy jest nadeksprymowany, natomiast utrata jego funkcji prowadzi do przyspieszonego starzenia i przedwczesnej śmierci [84]. Białko KLOTHO występuje w dwóch formach - transbłonowej oraz sekrecyjnej, którym przypisuje się odmienne funkcje. Najwyższą ekspresję transbłonowej formy KLOTHO obserwuje się w nerkach i mózgu [85], nieco mniejszą także w: przysadce, trzustce, przytarczycach [86] i, co istotne, w naczyniach krwionośnych [87]. Forma ta, funkcjonuje jako koreceptor dla czynnika wzrostu fibroblastów 23 (FGF23) i uczestniczy w homeostazie fosforanów oraz w regulacji metabolizmu witaminy D [88]. Sekrecyjna postać białka, której obecność wykazano w osoczu, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w moczu, funkcjonuje jako czynnik humoralny, który wywiera działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne i antyapoptotyczne [89]. Niedobór białka KLOTHO jest przyczyną m.in. stanu zapalnego [90], dysfunkcji śródbłonka [91] oraz zwapnienia naczyń [92].

Najczęściej badanym polimorfizmem genu *KLOTHO* jest specyficzny haplotyp sześciu SNP, będących w nierównowadze sprzężeń, nazywany KL-VS. Wariant ten posiada dwie mutacje w regionie kodującym, które prowadzą do zmiany aminokwasów w powstającym białku. Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że KL-VS zwiększa wydzielanie KLOTHO i może zmieniać jego aktywność katalityczną [93]. Posiadanie jednej kopii KL-VS wiąże się z wydłużonym czasem życia, lepszą kondycją układu sercowo-naczyniowego, [93], lepszą funkcją nerek [94] i lepszym funkcjonowaniem poznawczym zdrowych osób w podeszłym wieku [95]. Z drugiej jednak strony, polimorfizm KL-VS wykazuje związek z kilkoma chorobami, np. zwiększonym ryzykiem raka piersi i jajnika u nosicieli mutacji w genie *BRCA1* [96] czy chorobą wieńcową [97].

Słomiński B, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Myśliwska J, Myśliwiec M. 2018. **The KL-VS polymorphism of *KLOTHO* gene is protective against retinopathy incidence in patients with type 1 diabetes**. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 1864(3): 758-763.

Biorąc pod uwagę rolę KLOTHO jaką odgrywa on w szlakach sygnałowych insuliny [98], homeostazie śródbłonka i zapaleniu, postanowiliśmy sprawdzić czy istnieje związek między polimorfizmem KL-VS a ryzykiem wystąpienia retinopatii u pacjentów chorych na cukrzycę typu 1.

W grupie badanej określiliśmy polimorfizm KL-VS oraz stężenie cytokin prozapalnych (CRP, TNF-α), antyzapalnych (IL-10), czynników pro- i antyangiogennych (angiogenina, IP-10) oraz cząsteczek adhezyjnych (ICAM-1, ICAM-3).

W omawianej pracy nie wykazaliśmy związku między częstością występowania alleli KL-VS u chorych na T1D i u osób zdrowych. Wydaje się, że ten polimorfizm nie jest bezpośrednio związany z ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 1, ale do potwierdzenia tej śmiałej hipotezy niezbędne są badania na większej grupie, chociaż Freathy i współpracownicy [99] doszli do podobnego wniosku w przypadku cukrzycy typu 2. Zaobserwowaliśmy także, że allele polimorfizmu KL-VS występują dużo rzadziej u chorych na T1D z retinopatią niż w grupie pacjentów bez DR. Oszacowane ryzyko wystąpienia retinopatii u nosicieli KL-VS było ponad czterokrotnie niższe w porównaniu z pacjentami z haplotypem typu dzikiego. Poza tym wskaźnik miary rozwoju retinopatii był najniższy w grupie pacjentów z allelami KL-VS.

Istnieje co najmniej kilka powodów, dla których KLOTHO wydaje się być nowym i ważnym graczem w kontekście rozwoju patologicznych zmian w siatkówce oka [100, 101]. Niedobór tego białka skutkuje bowiem szeregiem fenotypów naczyniowych: dysfunkcją śródbłonka, upośledzeniem tworzenia się nowych naczyń czy zmniejszoną produkcją tlenku azotu [102]. Poza tym forma sekrecyjna KLOTHO działa antyapoptotycznie na komórki śródbłonka naczyniowego i chroni przed jego dysfunkcją [103].

Rola stanu zapalnego w patogenezie DR jest dobrze znana, a KLOTHO może działać ochronnie na układ naczyniowy, ponieważ ma właściwości przeciwzapalne [104, 105]. Czynniki, które w kontekście zapalenia są często badane to m.in. CRP, TNF-α i cząsteczki adhezyjne [106]. Zaobserwowaliśmy, że nosiciele KL-VS mieli najniższe stężenie badanych markerów stanu zapalnego (CRP, TNF-α) i cząsteczek adhezyjnych (ICAM-1, ICAM-3) oraz najwyższe stężenie antyzapalnej IL-10. Wynika z tego, że haplotyp KL-VS jest związany z mniejszym nasileniem stanu zapalnego u chorych na T1D.

Bardzo ważną rolę w patogenezie retinopatii cukrzycowej odgrywa angiogeneza [107], którą kontrolują odpowiednie czynniki stymulujące i hamujące powstawanie nowych naczyń. Zaobserwowaliśmy, że nosiciele alleli KL-VS mieli najniższe stężenie cząsteczki proangiogennej – angiogeniny i najwyższe stężenie antyangiogennej – IP-10, a więc chorzy nosiciele tego wariantu *KLOTHO* są w zdecydowanie uprzywilejowanej pozycji w stosunku do posiadaczy allelu typu dzikiego.

Podsumowując, wyniki naszych badań wskazują na ochronny wpływ haplotypu KL-VS na rozwój retionopatii u chorych na cukrzycę typu 1.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

5.1. ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA dorobku naukowego

Sumaryczny **Impact Factor** całego dorobku naukowego: **49.525** (po uzyskaniu stopnia doktora: **45.960**)
⇨ osiągnięcia habilitacyjnego: **20.493**
⇨ pozostały dorobek: **29.032**

Łączna suma **punktów MNiSW** całego dorobku naukowego: **451** (po uzyskaniu stopnia doktora: **420**)
⇨ osiągnięcia habilitacyjnego: **170**
⇨ pozostały dorobek: **281**

Liczba cytowań według Web of Science: **31**
Index Hirscha według Web of Science: **3**

Szczegółowe dane bibliograficzne publikacji wraz z opisem mojego udziału w ich powstaniu ujęto w Załączniku nr 4.

5.2. LISTA PUBLIKACJI NIE WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

		IF	MNiSW
1.	Skrzypkowska M, **Słomiński B**, Ryba-Stanisławowska M, Ławrynowicz U, Gutknecht P, Siebert J. 2019. New mechanisms of *CCR5*-Δ32 carriers' advantage – impact on progenitor cells and renal function. Int J Biochem Cell Biol. 108: 92-97.	**3.247**	**35**
2.	Skrzypkowska MW, Gutknecht PG, Ryba-Stanisławowska ME, **Słomiński B**, Siebert J, Myśliwska JM. 2018. CD34+ and CD34+VEGFR2+ cells in poorly controlled hypertensive patients. J Hum Hypertens. [Epub ahead of print]. doi: 10.1038/s41371-018-0145-z.	**2.433**	**25**
3.	Skrzypkowska M, **Słomiński B**, Ryba-Stanisławowska M, Gutknecht P, Siebert J. 2018. Circulating CD34+ and CD34+VEGFR2+ progenitor cells are associated with *KLOTHO* KL-VS polymorphism. Microvasc Res. 119: 1-6.	**2.465**	**25**

4.	**Słomiński B**, Skrzypkowska M, Ryba-Stanisławowska M, Brandt A. 2018. Sex-related association of serum uric acid with inflammation, kidney function and blood pressure in type 1 diabetic patients. Pediatr Diabetes. 19(5): 1014-1019.	**3.161**	**35**
5.	Skrzypkowska MW, Ryba-Stanisławowska ME, **Słomiński B**, Gutknecht PG, Siebert J, Myśliwska JM. 2017. Association of circulating progenitor cells with angiotensin II in newly diagnosed hypertensive patients. J Hum Hypertens. 32(1): 46-53.	**2.433**	**25**
6.	Małkiewicz A, Skrzypkowska M, **Słomiński B**, Siebert J, Gutknecht P, Myśliwska J. 2016. The GG genotype of the -152 G/A vascular endothelial growth factor (*VEGF*) polymorphism predisposes to hypertension-related chronic kidney disease. Mol Biol Rep. 43(9): 967-975.	**1.828**	**15**
7.	Małkiewicz A, Myśliwska J, Skrzypkowska M, **Słomiński B**, Siebert J, Gutknecht P. 2016. Vascular endothelial growth factor polymorphism (-460 T/C) is related to hypertension-associated chronic kidney disease. Clin Exp Hypertens. 38(5): 469-475.	**1.162**	**15**
8.	Małkiewicz A, **Słomiński B**, Skrzypkowska M, Siebert J, Gutknecht P, Myśliwska J. 2016. The GA genotype of the -1154 G/A (rs1570360) vascular endothelial growth factor (*VEGF*) is protective against hypertension-related chronic kidney disease incidence. Mol Cell Biochem. 418(1-2): 159-165.	**2.669**	**20**
9.	Skrzypkowska M, Myśliwska J, **Słomiński B**, Siebert J, Gutknecht P, Ryba-Stanisławowska M. 2015. Quantitative and functional characteristics of endothelial progenitor cells in newly diagnosed hypertensive patients. J Hum Hypertens. 29(5): 324-330.	**2.833**	**25**
10.	Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Smardzewski M, **Słomiński B**, Myśliwiec M, Siebert J. 2014. Enhanced apoptosis of monocytes from complication-free juvenile-onset diabetes mellitus type 1 may be ameliorated by TNF-α inhibitors. Mediators Inflamm. 2014: 946209.	**3.236**	**30**
11.	**Słomiński B**, Całkiewicz J, Golec P, Wegrzyn G, Wróbel B. 2007. Plasmids derived from Gifsy-1/Gifsy-2, lambdoid prophages contributing to the virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: implications for the evolution of replication initiation proteins of lambdoid phages and enterobacteria. Microbiology. 153(Pt 6): 1884-96.	**3.110**	**24**
12.	Wróbel B, **Słomiński B**, Wegrzyn G. 2003. The optimal eukaryotic signal for translation initiation from non-AUG codons, present upstream of bacteriophage lambda P cistron, is inactive in *Escherichia coli*. Cell Mol Biol Lett. 8(2): 305-310.	**0.455**	**7**
Ogółem		**29.032**	**281**

6. UDZIAŁ W PROJEKTACH BADAWCZYCH

1. Tytuł projektu: „Rola stanu zapalnego w patogenezie chorób cywilizacyjnych XXI wieku".
   Okres realizacji: od 2016.
   Nazwa organu przyznającego fundusze: Gdański Uniwersytet Medyczny.
   Nr projektu: ST-23.
   Charakter udziału w projekcie: **wykonawca**.

2. Tytuł projektu: „Znaczenie monocytów, komórek dendrytycznych, komórek NK i komórek T regulatorowych w regulacji nieswoistej odpowiedzi immunologicznej w cukrzycy typu 1".
   Okres realizacji: 2014-2016.
   Nazwa organu przyznającego fundusze: Gdański Uniwersytet Medyczny.
   Nr projektu: ST-23.
   Charakter udziału w projekcie: **wykonawca**.

3. Tytuł projektu: „Ograniczenie funkcji monocytów jako sposób prewencji późnych powikłań cukrzycowych".
   Okres realizacji: 2012-2014.
   Nazwa organu przyznającego fundusze: Gdański Uniwersytet Medyczny.
   Nr projektu: ST-23.
   Charakter udziału w projekcie: **wykonawca**.

4. Tytuł projektu: „Aktywność progenitorowych komórek śródbłonka u osób z nadciśnieniem tętniczym".
   Okres realizacji: 2011-2014.
   Nazwa organu przyznającego fundusze: Narodowe Centrum Nauki.
   Nr projektu: 2011/01/B/NZ5/00345.
   Charakter udziału w projekcie: **wykonawca**.

5. Tytuł projektu: „Dostarczanie helikazy do lambdoidalnego *origin* replikacji".
   Okres realizacji: 2004-2006.
   Nazwa organu przyznającego fundusze: Komitet Badań Naukowych.
   Nr projektu: 2011/01/B/NZ5/00345.
   Charakter udziału w projekcie: **główny wykonawca**.

7. UCZESTNICTWO W PROGRAMACH EUROPEJSKICH

1. Program stypendiów Europejskiego Funduszu Społecznego dla doktorantów Uniwersytetu Gdańskiego zajmujących się badaniami nad rozwojem gospodarki innowacyjnej Pomorza.
   Tytuł projektu: „Dostarczanie helikazy do lambdoidalnego *origin* replikacji".
   Okres realizacji: 2005-2006.
   Nr projektu: Z/2.22/II/2.6/002/05.
   Charakter udziału w projekcie: **główny wykonawca**.

8. AKTYWNY UDZIAŁ W KONFERENCJACH NAUKOWYCH

Łączna liczba doniesień zjazdowych: **41** (po uzyskaniu stopnia doktora: **36**)
⇨ międzynarodowych: **4**
⇨ krajowych: **37**

Szczegółowe dane bibliograficzne streszczeń zjazdowych ujęto w Załączniku nr 4.

9. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA ZA DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWĄ

1. Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania regulacji procesów zapalnych w cukrzycy typu 1. Gdańsk, 2018.
2. Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad rolą czynników genetycznych i immunologicznych w przebiegu chorób cywilizacyjnych – nadciśnieniu tętniczym i cukrzycy. Gdańsk, 2017.
3. Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania zjawisk immunologicznych leżących u podłoża chorób cywilizacyjnych. Gdańsk, 2016.
4. Nagroda Naukowa Zespołowa I-go Stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad mechanizmami immunologicznymi regulującymi odpowiedź zapalną w cukrzycy typu 1. Gdańsk, 2015.
5. Zbiorowa Nagroda Polskiego Towarzystwa Genetycznego za najważniejsze osiągnięcia badawcze z zakresu genetyki w latach 2007-2010. Warszawa, 2011.
6. Zbiorowa Nagroda Polskiego Towarzystwa Genetycznego za najlepszy cykl prac opublikowany w latach 2001-2004. Warszawa, 2004.
7. Wyróżnienie rozprawy doktorskiej przez Radę Wydziału Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego. Gdańsk, 2007.

10. CZŁONKOSTWO W ORGANIZACJACH I STOWARZYSZENIACH NAUKOWYCH

1. **Członek** (od 2011) Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej.
2. **Członek-założyciel** (od 2013) i **członek zarządu** (od 2017) Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej.

11. WSPÓŁPRACA NAUKOWA

1. Katedra i Klinika Pediatrii, Diabetologii i Endokrynologii; Gdański Uniwersytet Medyczny.
2. Katedra Medycyny Rodzinnej; Gdański Uniwersytet Medyczny.
3. Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej; Gdański Uniwersytet Medyczny.
4. Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii; Gdański Uniwersytet Medyczny.
5. Klinika Chirurgii Ogólnej, Endokrynologicznej i Transplantacyjnej; Gdański Uniwersytet Medyczny.
6. Klinika Chirurgii Plastycznej; Gdański Uniwersytet Medyczny.
7. Pracownia Biologii Molekularnej Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN; Gdańsk.
8. Zakład Bakteriologii Klinicznej; Wojewódzki Szpital Specjalistyczny; Gdańsk.
9. Max Planck Institute for Molecular Genetics; Berlin.

12. KURSY I SZKOLENIA

1. XII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Immunotoksykologii i Immunomodulacji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej; Jurata, 2017.
2. XI Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Immunotoksykologii i Immunomodulacji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej; Zakopane-Kościelisko; 2016.
3. Konferencja szkoleniowa – „XIX Sympozjum Diabetologiczne"; Zakopane 2015.
4. X Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Immunotoksykologii i Immunomodulacji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej; Jurata; 2015.
5. "Analiza DNA – praktyka"; Poznań, 2014.
6. Konferencja szkoleniowa – XVII Sympozjum Diabetologiczne; Zakopane, 2013.
7. Konferencja szkoleniowa – VII konferencja „Nowości w cukrzycy"; Warszawa 2013.
8. Warsztaty „New acoustic technology in flow cytometry"; Gdańsk, 2011.

13. RECENZOWANIE PUBLIKACJI W CZASOPISMACH MIĘDZYNARODOWYCH I KRAJOWYCH

1. Central European Journal of Immunology (IF = 1.787).
2. Wydawnictwo Naukowe *TYGIEL*.
3. Acta Biochimica Polonica (IF = 1.239).
4. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders.
5. Journal of Diabetes and Its Complications (IF = 2.792).
6. Cellular Physiology and Biochemistry (IF = 5.500).

14. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

14.1 NAUCZYCIEL AKADEMICKI

Zajęcia dydaktyczne prowadzę od 2002 r., najpierw w ramach studiów doktoranckich w Katedrze Biologii Molekularnej Uniwersytetu Gdańskiego, a od 2011 r. do dzisiaj jako asystent, później adiunkt w Zakładzie Immunologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Prowadzę/prowadziłem zajęcia z następujących przedmiotów:

⇨ „Podstawy immunologii" (seminaria) dla studentów kierunku lekarskiego.
⇨ „Immunologia" (seminaria) dla studentów kierunku lekarsko-dentystycznego.
⇨ „Immunologia" (wykłady, ćwiczenia) dla studentów kierunku analityka medyczna.
⇨ „Podstawy immunologii medycznej" (ćwiczenia) dla studentów biotechnologii.
⇨ „Immunologia kliniczna z immunoterapią" (ćwiczenia) dla studentów biotechnologii.
⇨ „Wirus HIV a układ odpornościowy człowieka" (zajęcia fakultatywne) dla studentów kierunku lekarskiego.
⇨ „Mechanizmy immunologiczne wobec zagrożeń cywilizacyjnych" (zajęcia fakultatywne) dla studentów kierunku lekarskiego.
⇨ „Markery immunologiczne chorób" (zajęcia fakultatywne) dla studentów kierunku analityka medyczna.
⇨ „Metody oceny aktywności układu immunologicznego" (zajęcia fakultatywne) dla studentów kierunku analityka medyczna.
⇨ „Wpływ leków na odpowiedź immunologiczną" (zajęcia fakultatywne) dla studentów kierunku analityka medyczna.
⇨ „Biologia molekularna" (ćwiczenia) dla studentów biologii.

14.2. OPIEKA NAUKOWA NAD STUDENTAMI I DOKTORANTAMI

1. **Opiekun pracy doktorskiej**; Urszula Ławrynowicz – „Czy polimorfizm genu *CCR5*-Δ32 ma wpływ na regulację odpowiedzi zapalnej i rozwój późnych powikłań w cukrzycy typu 1?"; Studia Doktoranckie Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; od 2016 r.
2. **Opiekun pracy magisterskiej**; Patryk Rosa – „Polimorfizm KL-VS genu *KLOTHO* u kobiet chorych na raka piersi"; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; 2016-2018.
3. **Opiekun pracy magisterskiej**; Urszula Ławrynowicz – „Polimorfizm Δ32 receptora CCR5 u chorych na cukrzycę typu 1"; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; 2014-2016.
4. **Opiekun Studenckiego Koła Naukowego** przy Zakładzie Immunologii; Wydział Lekarski Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; od 2014.
5. **Opiekun pracy magisterskiej**; Klaudia Tamowska – „Czy w stanie zdrowia istnieje związek między wartościami wskaźnika masy ciała a liczebnością komórek macierzystych śródbłonka?"; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; 2012-2014.
6. **Opiekun pracy magisterskiej**; Ulana Juhas – „Polimorfizm genu kodującego *VEGF* (-460C>T) w cukrzycy typu 1"; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; 2011-2013.
7. **Opiekun pracy magisterskiej**; Adrian Błażejewski – „Polimorfizm receptora estrogenowego α a ryzyko mikroangiopatii u dzieci z cukrzycą typu 1"; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; 2011-2012.
8. **Opiekun pracy magisterskiej**; Małgorzata Antonowicz – „Polimorfizm receptora estrogenowego α a ryzyko makroangiopatii u dzieci z cukrzycą typu 1"; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; 2011-2012.
9. **Opiekun pracy magisterskiej**; Marcelina Króll – „Klonowanie genów *z6090* i *z2396* z *Escherichia coli* O157:H7 EDL933 i oczyszczanie ich produktów – homologów białka DnaC z *Escherichia coli* K12"; Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego; 2004-2005.
10. **Opiekun Sekcji Biologii Molekularnej Studenckiego Koła Naukowego Biologów**; Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego; 2003-2005.
11. **Opiekun pracy magisterskiej**; Piotr Golec – „Replikacja lambdoidalnego profaga Gifsy-1 *in vivo*"; Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego; 2003-2004.

15. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA I POPULARYZATORSKA

15.1. UDZIAŁ W KOMITETACH ORGANIZACYJNYCH KONFERENCJI NAUKOWYCH

1. I Polski Kongres Genetyki; Gdańsk 2004; **członek komitetu organizacyjnego**.

15.2. OSIĄGNIĘCIA W ZAKRESIE POPULARYZACJI NAUKI

1. **Opiekun naukowy** wydarzenia „Szczepienie dziś, zdrowie jutro"; „Nauka dla Zdrowia – Dzień Otwarty GUMed"; Gdańsk, 2018.
2. **Opiekun naukowy** wydarzenia „Szczepienia dają supermoc"; Medyczny Dzień Nauki; Gdańsk, 2017.
3. **Opiekun naukowy** wydarzenia „Ze szczepieniami za pan brat"; Medyczny Dzień Nauki; Gdańsk, 2016.
4. **Opiekun naukowy** wydarzenia „Zaszczepiamy chęć szczepienia"; Medyczny Dzień Nauki; Gdańsk, 2015.
5. **Artykuł popularnonaukowy** pt. „Nie zjadaj bliźniego swego. Kontrowersje wokół GMO"; Biuletyn Zaborskiego Towarzystwa Naukowego, 2008 (str. 37-40; ISSN 1899-4008).
6. **Artykuł popularnonaukowy** pt. „Najdroższa kaczka świata, czyli jak zarabiać miliony sprzedając NIC. Słów kilka o homeopatii"; Biuletyn Zaborskiego Towarzystwa Naukowego, 2009 (str. 43-49; ISSN 1899-4008).

16. LITERATURA

[1]. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G, EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. Lancet 2009; 373(9680): 2027-2033.

[2]. International Diabetes Federation. IDF Diabetes atlas. 7th edition. International Diabetes Federation 2015.

[3]. Morahan G. Insights into type 1 diabetes provided by genetic analyses. Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. 2012; 19: 263-270.

[4]. Rewers M, Ludvigsson J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. Lancet 2016; 387(10035): 2340-2348.

[5]. Stefan M, Zhang W, Concepcion E, Yi Z, Tomer Y. DNA methylation profiles in type 1 diabetes twins point to strong epigenetic effects on etiology. .J Autoimmun. 2014; 50: 33-37.

[6]. Robertson CC, Rich SS. Genetics of type 1 diabetes. Curr. Opin. Genet. Dev. 2018; 50: 7-16.

[7]. Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, Eisenbarth GS, Orban T. Concordance for islet autoimmunity among monozygotic twins. N. Engl. J. Med. 2008; 359: 2849-2850.

[8]. Cernea S, Dobreanu M, Raz I. Prevention of type 1 diabetes: today and tomorrow. Diabetes Metab. Res. Rev. 2010; 26(8): 602-605.

[9]. Cudworth AG, Woodrow JC. Letter: HL-A antigens and diabetes mellitus. Lancet 1974; 2:1153.

[10]. Noble JA, Valdes AM. Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes. Curr. Diab. Rep. 2011; 11: 533-542.

[11]. Noble JA. Immunogenetics of type 1 diabetes: a comprehensive review. J. Autoimmun. 2015; 64: 101-112.

[12]. Pociot F, Akolkar B, Concannon P, Erlich HA, Julier C, Morahan G, Nierras CR, Todd JA, Rich SS, Nerup J. Genetics of type 1 diabetes. what's next? Diabetes 2010; 59: 1561-1571.

[13]. Planas R, Pujol-Borrell R, Vives-Pi M. Global gene expression changes in type 1 diabetes: insights into autoimmune response in the target organ and in the periphery. Immunol. Lett. 2010; 133: 55-61.

[14]. Ram R, Mehta M, Nguyen QT, Larma I, Boehm BO, Pociot F, Concannon P, Morahan G. Systematic evaluation of genes and genetic variants associated with type 1 diabetes susceptibility. J. Immunol. 2016; 196: 3043-3053.

[15]. Jia X, Yu H, Zhang H, Si Y, Tian D, Zhao X, Luan J, Jia H. Integrated analysis of different microarray studies to identify candidate genes in type 1 diabetes. J. Diabetes 2017; 9: 149-157.

[16]. Groop PH, Thomas MC, Moran JL, Wadèn J, Thorn LM, Mäkinen VP, Rosengård-Bärlund M, Saraheimo M, Hietala K, Heikkilä O, Forsblom C, FinnDiane Study Group. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. Diabetes 2009; 58(7): 1651-1658.

[17]. Alkayyali S, Lyssenko V. Genetics of diabetes complications. Mamm. Genome 2014; 25(9-10): 384-400.

[18]. Pociot F, Lernmark Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. Lancet 2016; 387: 2331-2339.

[19]. Forbes JM, Fotheringham AK. Vascular complications in diabetes: old messages, new thoughts. Diabetologia 2017; 60: 2129-2138.

[20]. Dahlström E, Sandholm N. Progress in Defining the Genetic Basis of Diabetic Complications. Curr. Diab. Rep. 2017; 17(9): 80.

[21]. Xie F, Chan JC, Ma RC. Precision medicine in diabetes prevention, classification and management. J. Diabetes Investig. 2018; 9(5): 998-1015.

[22]. Cotsapas C, Voight BF, Rossin E, Lage K, Neale BM, Wallace C, Abecasis GR, Barrett JC, Behrens T, Cho J, De Jager PL, Elder JT, Graham RR, Gregersen P, Klareskog L, Siminovitch KA, van Heel DA, Wijmenga C, Worthington J, Todd JA, Hafler DA, Rich SS, Daly MJ; FOCiS Network of Consortia. Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease. PLoS Genet. 2011; 7:e1002254.

[23]. Richard-Miceli C, Criswell LA. Emerging patterns of genetic overlap across autoimmune disorders. Genome Med. 2012; 4(1): 6.

[24]. Kahaly GJ, Hansen MP. Type 1 diabetes associated autoimmunity. Autoimmun. Rev. 2016; 15(7): 644-648.

[25]. Barker JM. Clinical review: type 1 diabetes-associated autoimmunity: natural history, genetic associations, and screening. J Clin. Endocrinol. Metab. 2006; 91(4): 1210-1217.

[26]. Pham-Short A, Donaghue KC, Ambler G, Phelan H, Twigg S, Craig ME. Screening for celiac disease in type 1 diabetes: A systematic review. Pediatrics 2015; 136(1): e170-e176.

[27]. Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, Bazzigaluppi E, Calori G, Meschi F, Bianchi C, Chiumello G. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study. Pediatrics 2002; 109(5): 833-838.

[28]. Bratanic N, Smigoc Schweiger D, Mendez A, Bratina N, Battelino T, Vidan-Jeras B. An influence of HLA-A, B, DR, DQ, and MICA on the occurrence of celiac disease in patients with type 1 diabetes. Tissue Antigens 2010; 76(3): 208-215.

[29]. Kaur N, Bhadada SK, Minz RW, Dayal D, Kochhar R. Interplay between Type 1 Diabetes Mellitus and Celiac Disease: Implications in Treatment. Dig. Dis. 2018; 36(6): 399-408.

[30]. Huber A, Menconi F, Corathers S, Jacobson EM, Tomer Y. Joint genetic susceptibility to type 1 diabetes and autoimmune thyroiditis: from epidemiology to mechanisms. Endocr. Rev. 2008; 29(6): 697-725.

[31]. Cutolo M, Capellino S, Sulli A, Serioli B, Secchi ME, Villaggio B, Straub RH. Estrogens and autoimmune diseases. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2006; 1089: 538-547.

[32]. Corbo RM, Ulizzi L, Positano L, Scacchi R. Association of CYP19 and ESR1 pleiotropic genes with human longevity. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2011; 66(1): 51-55.

[33]. Lindsay RS, Howard BV. Cardiovascular risk associated with the metabolic syndrome. Curr. Diab. Rep. 2004; 4(1): 63-68.

[34]. Figtree GA, Noonan JE, Hindi R, Collins P. Estrogen receptor polimorphisms: significance to human physiology, disease and therapy. Recent Pat. DNA Gene Seq. 2009; 3(3): 164-171 .

[35]. Arau´jo KL, de Rezende LCD, Souza LS, Daltoe´ RD, Madeira KP, Paes MF, Herkenhoff FL, Rangel LBA, Silv IV. Prevalence of estrogen receptor alpha PvuII (c454-397T/C) and XbaI (c454A/G) polymorphisms in a population of Brazilian women. Braz. Arch. Biol. Technol. 2011; 54: 1151-1157.

[36]. Ryba M, Malinowska E, Rybarczyk-Kapturska K, Brandt A, Myśliwiec M, Myśliwska J. The association of the IVS1 -397T/C estrogen receptor a polymorphism with the regulatory conditions in longstanding type 1 diabetic girls. Mol. Immunol. 2011; 49(1-2): 324-328.

[37]. Ryba-Stanisławowska M, Rybarczyk-Kapturska K, Brandt A, Myśliwiec M, Myśliwska J. IVS1 -397T/C estrogen receptor α polymorphism is associated with low-grade systemic inflammatory response in type 1 diabetic girls. Mediators Inflamm. 2014; 2014:839585.

[38]. Herrington DM, Howard TD, Brosnihan KB, McDonnell DP, Li X, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Meyers DA, Bleecker ER. Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein. Circulation 2002; 105(16): 1879-1882.

[39]. Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Brosnihan KB, Meyers DA, Bleecker ER. Estrogen-receptor polymorphism and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. N. Engl. J. Med. 2002; 346(13): 967-974.

[40]. Sukovich DA, Kauser K, Shirley FD, DelVecchio V, Halks-Miller M, Rubanyi GM. Expression of interleukin-6 in atherosclerotic lesions of male ApoE-knockout mice: Inhibition by 17beta-estradiol. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1998; 18(9): 1498-1505.

[41]. Rachoń D, Suchecka-Rachoń K, Hak Ł, Myśliwska J. Effects of intranasal 17beta-estradiol administration on serum bioactive interleukin-6 and C-reactive protein levels in healthy postmenopausal women. Menopause 2006; 13(5): 840-845.

[42]. Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW. Estrogen receptor α mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. J C.lin. Invest. 1999; 103(3): 401-4066.

[43]. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. N. Engl. J. Med. 1999; 340(23): 1801-1811.

[44]. Wirostko B, Wong TY, Simó R. Vascular endothelial growth factor and diabetic complications. Prog. Retin. Eye Res. 2008; 27(6): 608-621.

[45]. Neubauer-Geryk J, Kozera GM, Wolnik B, Szczyrba S, Nyka WM, Bieniaszewski L. Angiogenin in middle-aged type 1 diabetes patients. Microvasc. Res. 2012; 84(3): 387-389.

[46]. Cros J, Cagnard N, Woollard K, Patey N, Zhang SY, Senechal B, Puel A, Biswas SK, Moshous D, Picard C, Jais JP, D' Cruz D, Casanova JL, Trouillet C, Geissmann F. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. Immunity 2010; 33(3): 375-386.

[47]. Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, Espevik T, Ziegler-Heitbrock L. The proinflammatory CD14+-CD16+DR+ monocytes are a major source of TNF. J. Immunol. 2002; 168(7): 3536-3542.

[48]. Kramer PR, Winger V, Kramer SF. 17beta-Estradiol utilizes the estrogen receptor to regulate CD16 expression in monocytes. Mol. Cell. Endocrinol. 2007; 279(1-2): 16-25.

[49]. Myśliwska J, Smardzewski M, Marek-Trzonkowska N, Myśliwiec M, Raczyńska K. Expansion of CD14CD16 monocytes producing TNF-a in complication-free diabetes type 1 juvenile onset patients. Cytokine 2012; 60(1): 309-317.

[50]. Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Smardzewski M, Słomiński B, Myśliwiec M, Siebert J. Enhanced apoptosis of monocytes from complication-free juvenile-onset diabetes mellitus type 1 may be ameliorated by TNF-a inhibitors. Mediators Inflamm. 2014; 2014: 946209 .

[51]. Ryba-Stanisławowska M, Myśliwska J, Juhas U, Myśliwiec M. Elevated levels of peripheral blood CD14(bright)CD16+ and CD14(dim)CD16+ monocytes may contribute to the development of retinopathy in patients with juvenile onset type 1 diabetes. APMIS 2015; 123(9): 793-799.

[52]. Bardini G, Rotella CM, Giannini S. Dyslipidemia and diabetes: reciprocal impact of impaired lipid metabolism and beta-cell dysfunction on micro- and macrovascular complications. Rev. Diabet. Stud. 2012; 9(2-3): 82-93.

[53]. Molvarec A, Nagy B, Kovács M, Walentin S, Imreh E, Rigó J Jr, Szalay J, Füst G, Prohászka Z, Karádi I. Lipid, haemostatic and inflammatory variables in relation to the estrogen receptor a (ESR1) PvuII and XbaI gene polymorphisms. Clin. Chim. Acta 2007; 380(1-2): 157-164.

[54]. Araszkiewicz A, Zozulińska DA, Trepińska MM, Wierusz-Wysocka B. Inflammatory markers as risk factors for microangiopathy in type 1 diabetic patients on functional intensive insulin therapy from the onset of the disease. Diabetes Res. Clin. Pract.2006; 74(2): S34-S40.

[55]. Griffith JW, Sokol CL, Luster AD. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. Annu. Rev. Immunol. 2014; 32: 659-702.

[56]. Oppermann M. Chemokine receptor CCR5: insights into structure, function, and regulation. Cell Signal. 2004; 16(11): 1201-1210.

[57]. Brelot A, Chakrabarti LA. CCR5 Revisited: How Mechanisms of HIV Entry Govern AIDS Pathogenesis. J. Mol. Biol. 2018; 430(17): 2557-2589.

[58]. Marques RE, Guabiraba R, Russo RC, Teixeira MM. Targeting CCL5 in inflammation. Expert Opin. Ther. Targets 2013; 17(12): 1439-1460.

[59]. Richardson MW, Jadlowsky J, Didigu CA, Doms RW, Riley JL. Kruppel-like factor 2 modulates CCR5 expression and susceptibility to HIV-1 infection. J. Immunol. 2012; 189(8): 3815-3821.

[60]. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, Saragosti S, Lapoumeroulie C, Cognaux J, Forceille C, Muyldermans G, Verhofstede C, Burtonboy G, Georges M, Imai T, Rana S, Yi Y, Smyth RJ, Collman RG, Doms RW, Vassart G, Parmentier M.. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. Nature; 1996;382(6593): 722-725.

[61]. Hyde CL, Macinnes A, Sanders FA, Thompson JF, Mazzarella RA, Faergeman O, van Wijk DF, Wood L, Lira M, Paciga SA. Genetic association of the CCR5 region with lipid levels in at-risk cardiovascular patients. Circ. Cardiovasc. Genet 2010; 3(2): 162-168.

[62]. Ghorban K, Dadmanesh M, Hassanshahi G, Momeni M, Zare-Bidaki M, Arababadi MK, Kennedy D. Is the CCR5 Δ32 mutation associated with immune system-related diseases? Inflammation 2013; 36(3): 633-642.

[63]. Song GG, Kim JH, Lee YH. The chemokine receptor 5 delta32 polymorphism and type 1 diabetes, Behcet's disease, and asthma: A meta-analysis. Immunol. Invest. 2014; 43(2): 123-136.

[64]. Nazir N, Siddiqui K, Al-Qasim S, Al-Naqeb D. Meta-analysis of diabetic nephropathy associated genetic variants in inflammation and angiogenesis involved in different biochemical pathways. BMC Med. Genet. 2014; 15:103.

[65]. Kalev I, Oselin K, Pärlist P, Zilmer M, Rajasalu T, Podar T, Mikelsaar AV. CC-chemokine receptor CCR5-del32 mutation as a modifying pathogenetic factor in type I diabetes. J. Diabetes Complications 2003; 17(6): 387-391.

[66]. Yang B, Houlberg K, Millward A, Demaine A. Polymorphisms of chemokine and chemokine receptor genes in Type 1 diabetes mellitus and its complications. Cytokine 2004; 26(3): 114-121.

[67]. Tatoń, J. Pathophysiological background for "shared" diabetological and opthalmological care - what opthalmologist may expect from diabetologist? Med. Metab. 2007, 3.

[68]. Muntinghe FL, Verduijn M, Zuurman MW, Grootendorst DC, Carrero JJ, Qureshi AR, Luttropp K, Nordfors L, Lindholm B, Brandenburg V, Schalling M, Stenvinkel P, Boeschoten EW, Krediet RT, Navis G, Dekker FW. CCR5 deletion protects against inflammation-associated mortality in dialysis patients. J. Am. Soc. Nephrol. 2009; 20(7): 1641-1649.

[69]. Anders HJ, Frink M, Linde Y, Banas B, Wörnle M, Cohen CD, Vielhauer V, Nelson PJ, Gröne HJ, Schlöndorff D. CC chemokine ligand 5/RANTES chemokine antagonists aggravate glomerulonephritis despite reduction of glomerular leukocyte infiltration. J. Immunol. 2003; 170(11): 5658-5666.

[70]. Atzeni F, Boiardi L, Casali B, Farnetti E, Nicoli D, Sarzi-Puttini P, Pipitone N, Olivieri I, Cantini F, Salvi F, La Corte R, Triolo G, Filippini D, Paolazzi G, Salvarani C. CC chemokine receptor 5 polymorphism in Italian patients with Behcet's disease. Rheumatology 2012; 51(12): 2141-2145.

[71]. González P, Alvarez R, Batalla A, Reguero JR, Alvarez V, Astudillo A, Cubero GI, Cortina A, Coto E. Genetic variation at the chemokine receptors CCR5/CCR2 in myocardial infarction. Genes Immun. 2001; 2(4): 191-195 .

[72]. MacInnes A, Lazzarin A, Di Perri G, Sierra-Madero JG, Aberg J, Heera J, Rajicic N, Goodrich J, Mayer H, Valdez H. Maraviroc can improve lipid profiles in dyslipidemic patients with HIV: results from the MERIT trial. HIV Clin. Trials 2011; 12(1): 24-36.

[73]. Schwab KO, Doerfer J, Marg W, Schober E, Holl RW, DPV Science Initiative and the Competence Network Diabetes mellitus. Characterization of 33 488 children and adolescents with type 1 diabetes based on the gender-specific increase of cardiovascular risk factors. Pediatr. Diabetes 2010; 11(5): 357-363 .

[74]. Heller DA, de Faire U, Pedersen NL, Dahlén G, McClearn GE. Genetic and environmental influences on serum lipid levels in twins. N. Engl. J. Med. 1993; 328(16): 1150-1156 .

[75]. Snell-Bergeon JK, Nadeau K. Cardiovascular disease risk in young people with type 1 diabetes. J. Cardiovasc. Transl. Res. 2012; 5(4): 446-462.

[76]. Margeirsdottir HD, Larsen JR, Brunborg C, Overby NC, Dahl-Jørgensen K, Norwegian Study Group for Childhood Diabetes. High prevalence of cardiovascular risk factors in children and adolescents with type 1 diabetes: a population-based study. Diabetologia 2008; 51(4): 554-561.

[77]. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR, Gatling W, Bingley PJ, Patterson CC. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. Diabetologia 2003; 46(6): 760-765.

[78]. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, Tracy RE, Newman WP 3rd, Herderick EE, Cornhill JF. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in YouthStudy. JAMA 1999; 281(8): 727-735.

[79]. Słomiński B, Ławrynowicz U, Myśliwska J, Ryba-Stanisławowska M, Skrzypkowska M, Brandt A. CCR5-Δ32 gene polymorphism is associated with retinopathy in patients with type 1 diabetes. Mol. Cell. Endocrinol. 2017; 439: 256-260.

[80]. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. J. Lipid. Res. 2004; 45(7): 1169-1196.

[81]. Jones KL, Maguire JJ, Davenport AP. Chemokine receptor CCR5: from AIDS to atherosclerosis. Br. J. Pharmacol. 2011; 162(7): 1453-1469.

[82]. Guasti L, Maresca AM, Schembri L, Rasini E, Dentali F, Squizzato A, Klersy C, Robustelli Test L, Mongiardi C, Campiotti L, Ageno W, Grandi AM, Cosentino M, Marino F. Relationship between regulatory T cells subsets and lipid profile in dyslipidemic patients: a longitudinal study during atorvastatin treatment. BMC Cardiovasc. Disord. 2016; 16: 26.

[83]. Smyth DJ, Plagnol V, Walker NM, Cooper JD, Downes K, Yang JH, Howson JM, Stevens H, McManus R, Wijmenga C, Heap GA, Dubois PC, Clayton DG, Hunt KA, van Heel DA, Todd JA. Shared and distinct genetic variants in type 1 diabetes and celiac disease. N. Engl. J. Med. 2008; 359(26): 2767-2777.

[84]. Akimoto T, Yoshizawa H, Watanabe Y, Numata A, Yamazaki T, Takeshima E, Iwazu K, Komada T, Otani N, Morishita Y, Ito C, Shiizaki K, Ando Y, Muto S, Kuro-o M, Kusano E. Characteristics of urinary and serum soluble Klotho protein in patients with different degrees of chronic kidney disease. BMC Nephrol. 2012; ;13: 155.

[85]. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI. Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature 1997; 390(6655): 45-51.

[86]. Kim SS, Song SH, Kim IJ, Lee EY, Lee SM, Chung CH Kwak IS, Lee EK, Kim YK. Decreased plasma α-klotho predict progression of nephropathy with type 2 diabetic patients. J. Diabetes Complications 2016; 30(5): 887-892.

[87]. Donate-Correa J, Mora-Fernández C, Martínez-Sanz R, Muros-de-Fuentes M, Pérez H, Meneses-Pérez B, Cazaña-Pérez V, Navarro-González JF. Expression ofFGF23/KLOTHO system in human vascular tissue. Int. J. Cardiol. 2013; 165(1): 179-183.

[88]. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Baum MG, Schiavi S, Hu MC, Moe OW, Kuro-o M. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by Klotho. J. Biol. Chem. 2006; 281(10): 6120-6123.

[89]. Kuro-o M. Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence. Biol. Chem. 2008; 389(3): 233-241.

[90]. Zhao Y, Banerjee S, Dey N, LeJeune WS, Sarkar PS, Brobey R, Rosenblatt KP, Tilton RG, Choudhary S. Klotho depletion contributes to increased inflammation in kidney of the db/db mouse model of diabetes via RelA (serine) 536 phosphorylation. Diabetes 2011; 60(7): 1907-1916.

[91]. Nagai R, Saito Y, Ohyama Y, Aizawa H, Suga T, Nakamura T, Kurabayashi M, Kuroo M. Endothelial dysfunction in the klotho mouse and downregulation of klotho gene expression in various animal models of vascular and metabolic diseases. Cell Mol. Life Sci. 2000; 57(5): 738-746.

[92]. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, Moe OW. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. J. Am. Soc. Nephrol. 2011;22(1): 124-136.

[93]. Arking DE, Krebsova A, Macek M Sr, Macek M Jr, Arking A, Mian IS, Fried L, Hamosh A, Dey S, McIntosh I, Dietz HC. Association of human aging with a functional variant of klotho. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99(2): 856-861.

[94]. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. The emerging role of Klotho in clinical nephrology. Nephrol. Dial. Transplant. 2012; ;27(7): 2650-2657.

[95]. Dubal DB, Yokoyama JS, Zhu L, Broestl L, Worden K, Wang D, Sturm VE, Kim D, Klein E, Yu GQ, Ho K, Eilertson KE, Yu L, Kuro-o M, De Jager PL, Coppola G, Small GW, Bennett DA, Kramer JH, Abraham CR, Miller BL, Mucke L .Life extension factor klotho enhances cognition. Cell Rep. 2014; 7(4): 1065-1076.

[96]. Wolf I, Laitman Y, Rubinek T, Abramovitz L, Novikov I, Beeri R, Kuro-O M, Koeffler HP, Catane R, Freedman LS, Levy-Lahad E, Karlan BY, Friedman E, Kaufman B. Functional variant of KLOTHO: a breast cancer risk modifier among BRCA1 mutation carriers of Ashkenazi origin. Oncogene 2010; 29(1): 26-33.

[97]. Arking DE, Becker DM, Yanek LR, Fallin D, Judge DP, Moy TF, Becker LC, Dietz HC. Klotho allele status and the risk of early-onset occult coronary artery disease. Am. J. Hum. Genet. 2003; 72(5): 1154-1161.

[98]. Kitagawa M, Sugiyama H, Morinaga H, Inoue T, Takiue K, Ogawa A, Yamanari T, Kikumoto Y, Uchida HA, Kitamura S, Maeshima Y, Nakamura K, Ito H, Makino H. A decreased level of serum soluble Klotho is an independent biomarker associated with arterial stiffness in patients with chronic kidney disease. PLoS One 2013; 8(2): e56695.

[99]. Freathy RM, Weedon MN, Melzer D, Shields B, Hitman GA, Walker M, McCarthy MI, Hattersley AT, Frayling TM. The functional "KL-VS" variant of KLOTHO is not associated with type 2 diabetes in 5028 UK Caucasians. BMC Med. Genet. 2006; 7: 51.

[100]. Reish NJ, Maltare A, McKeown AS, Laszczyk AM, Kraft TW, Gross AK, King GD. The age-regulating protein klotho is vital to sustain retinal function. Invest. Ophthalmol. Vis Sci. 2013; 54(10): 6675-6685.

[101]. Farinelli P, Arango-Gonzalez B, Völkl J, Alesutan I, Lang F, Zrenner E, Paquet-Durand F, Ekström PA. Retinitis Pigmentosa: over-expression of anti-ageing protein Klotho in degenerating photoreceptors. J. Neurochem. 2013; 127(6): 868-879.

[102]. Mencke R, Hillebrands JL; NIGRAM consortium. The role of the anti-ageing protein Klotho in vascular physiology and pathophysiology. Ageing Re.s Rev. 2017; 35: 124-146.

[103]. Maltese G, Karalliedde J. The putative role of the antiageing protein Klotho in cardiovascular and renal disease. Int. J. Hypertens. 2012; 2012: 757469 .

[104]. Martín-Núñez E, Donate-Correa J, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. Implications of Klotho in vascular health and disease. World J. Cardiol. 2014; 6(12): 1262-1269 .

[105]. Maekawa Y, Ishikawa K, Yasuda O, Oguro R, Hanasaki H, Kida I, Takemura Y, Ohishi M, Katsuya T, Rakugi H. Klotho suppresses TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in the endothelium and attenuates NF-kappaB activation. Endocrine 2009; 35(3): 341-346.

[106]. Semeraro F, Cancarini A, dell'Omo R, Rezzola S, Romano MR, Costagliola C. Diabetic retinopathy: vascular and inflammatory disease. J. Diabetes Res. 2015; 2015: 582060.

[107]. J Reverter JL, Nadal J, Fernández-Novell JM, Ballester J, Ramió-Lluch L, Rivera MM, Elizalde J, Abengoechea S, Guinovart JJ, Rodríguez-Gil JE. Tyrosine phosphorylation of vitreous inflammatory and angiogenic peptides and proteins in diabetic retinopathy. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009; 50(3): 1378-1382.