

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Dziedzina: nauki medyczne i nauki o zdrowiu

Dyscyplina: nauki medyczne



ROZPRAWA DOKTORSKA

**Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym
u pacjentów z cukrzycą typu 1**

lek. Małgorzata Kiluk

Promotor : dr hab. Anna Tankiewicz-Kwedło

Promotor pomocniczy: dr n. med. Janina Lewkowicz

**Klinika Chorób Wewnętrznych i Chorób Metabolicznych
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Irina Kowalska

Rozprawa doktorska została zrealizowana w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej UMB

Białystok, 2024

*Pragnę serdecznie podziękować **Pani Promotor** niniejszej pracy **dr hab. Annie Tankiewicz-Kwedlo** oraz **Promotor Pomocniczej dr n. med. Janinie Lewkowicz** za wsparcie podczas przygotowywania niniejszej rozprawy, a także za przekazaną wiedzę.*

*Dziękuję również **Pani Profesor Irinie Kowalskiej** za jej pomoc, wyrozumiałość oraz chęć dzielenia się swoim doświadczeniem.*

*Dziękuję również wszystkim **Koleżankom i Kolegom** z Kliniki Chorób Wewnętrznych i Chorób Metabolicznych za wsparcie i życzliwość, jakie otrzymałam w trakcie realizacji pracy.*

***Rodzinie i Przyjaciółom** dziękuję za obecność, wielkie wsparcie oraz okazaną mi cierpliwość.*

Spis treści

1. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską.....	4
1.1. Praca oryginalna	4
1.2. Praca przeglądowa	4
2. Zestawienie publikacji	5
3. Wykaz stosowanych skrótów	6
4. Wstęp.....	8
4.1. Cukrzyca typu 1	8
4.2. Szlak kinureninowy	9
4.3. Szlak kinureninowy a zaburzenia metabolizmu węglowodanów	11
5. Cele rozprawy doktorskiej	13
6. Omówienie pracy przeglądowej pt.: „Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk - review”	14
7. Omówienie pracy oryginalnej pt.: „Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes”	16
7.1. Grupa badana i metody	16
7.2. Wyniki	19
8. Nieopublikowane dane włączone do rozprawy doktorskiej	23
9. Wnioski.....	28
10. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej	29
10.1. Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes	30
10.2. Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk - review.....	37
11. Streszczenie w języku polskim	57
12. Streszczenie w języku angielskim	59
13. Piśmiennictwo	61
14. Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach	64
15. Zgoda Komisji Bioetycznej.....	74

1. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską

1.1. Praca oryginalna

Kiluk M, Lewkowicz J, Kowalska I, Pawlak D, Łagoda K, Tankiewicz-Kwedlo A. Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes. Pol Arch Intern Med. 2023;133(11):16581. doi:10.20452/pamw.16581

IF – 3,8; MNiSW – 200 pkt.

1.2. Praca przeglądowa

Kiluk M, Lewkowicz J, Pawlak D, Tankiewicz-Kwedlo A. Crosstalk between Tryptophan Metabolism via Kynurenine Pathway and Carbohydrate Metabolism in the Context of Cardio-Metabolic Risk-Review. J Clin Med. 2021;10(11):2484. doi:10.3390/jcm10112484

IF – 4,964; MNiSW – 140 pkt.

2. Zestawienie publikacji

Rodzaj publikacji	Liczba	Impact Factor	Punktacja MNiSW
Prace włączone do rozprawy doktorskiej	2	8,764	340
Streszczenia zjazdowe	7	-	-
Razem	9	8,764	340

3. Wykaz stosowanych skrótów

AA	– kwas antranilowy (<i>ang. anthranilic acid</i>)
ACR	– wskaźnik albumina/kreatynina (<i>ang. albumin/creatinine ratio</i>)
BMI	– wskaźnik masy ciała (<i>ang. body mass index</i>)
CRP	– białko C-reaktywne (<i>ang. C-reactive protein</i>)
DBP	– rozkurczowe ciśnienie tętnicze (<i>ang. diastolic blood pressure</i>)
GFR	– filtracja kłębuszkowa (<i>ang. glomerular filtration rate</i>)
IDO	– 2,3-dioksygenaza indolowa (<i>ang. indoleamine 2,3-dioxygenase</i>)
IL	– interleukina
IFN- γ	– interferon gamma
HbA1c	– hemoglobina glikowana
HDL	– lipoproteina o wysokiej gęstości (<i>ang. high density lipoprotein</i>)
HPLC	– wysokosprawną chromatografię cieczową (<i>ang. high-performance liquid chromatography</i>)
HR	– czynność serca (<i>ang. heart rate</i>)
KYN	– kinurenina
KYNA	– kwas kinureninowy (<i>ang. kynurenic acid</i>)
KP	– szlak kinureninowy (<i>ang. kynurenine pathway</i>)
LDL	– lipoproteina o niskiej gęstości (<i>ang. low-density lipoprotein</i>)
MDI	– intensywne insulino-terapia w schemacie wielokrotnych wstrzyknięć (<i>ang. multiple daily injections</i>)
NAD ⁺	– dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (<i>ang. nicotinamide adenine dinucleotide</i>)
OPI	– osobista pompa insulinowa
QA	– kwas chinolinowy (<i>ang. quinolinic acid</i>)
SBP	– skurczowe ciśnienie tętnicze (<i>ang. systolic blood pressure</i>)
TDO	– 2,3-dioksygenaza tryptofanowa (<i>ang. tryptophan-2,3-dioxygenase</i>)
TG	– triglicerydy
TRP	– tryptofan
TSH	– hormon tyreotropowy (<i>ang. thyroid stimulating hormone</i>)
T1D	– cukrzyca typu 1 (<i>ang. type 1 diabetes</i>)
T2D	– cukrzyca typu 2 (<i>ang. type 2 diabetes</i>)

- WHR – wskaźnik talia/biodra (*ang. waist-hip ratio*)
XA – kwas ksanturenowy (*ang. xanthurenic acid*)
3-HKYN – 3-hydroksykinurenina (*ang. 3-hydroxykynurenine*)
3-HAA – kwas 3-hydroksyantranilowy (*ang. 3-hydroxyanthranilic acid*)

4. Wstęp

4.1. Cukrzyca typu 1

Cukrzyca typu 1 (T1D) jest chorobą przewlekłą spowodowaną destrukcją komórek β trzustki przez proces autoimmunologiczny, co powoduje utratę zdolności wydzielania insuliny, a w rezultacie prowadzi do jej bezwzględnej niedoboru.

W ostatnich latach obserwuje się stopniowy wzrost zarówno chorobowości (o ok. 0,34%/rok), jak i zapadalności na tę chorobę [1]. W 2021 r. liczba przypadków T1D na świecie oszacowana została na około 8,4 miliona, a większość, bo aż 82%, stanowiły osoby powyżej 20 roku życia. Prognozuje się, iż do 2040 r. liczba osób żyjących z T1D będzie wynosiła 13,5-17,4 mln, co jest równoznaczne z szacunkowym wzrostem liczby przypadków o 60% - 107% w porównaniu do 2021 r. [2]. Ponadto wśród osób z T1D obserwuje się 2-, a nawet 5-krotnie wyższe ryzyko zgonu z jakiegokolwiek przyczyny w porównaniu do populacji ogólnej [3]. W krajach wysoko rozwiniętych przewidywana długość życia 10-letniego dziecka z rozpoznaną T1D wynosi 65 lat, co znacznie odbiega od średniej prognozowanej długości życia w Europie, która w 2022r. wynosiła 80,6 lat [4].

Niewystarczająca kontrola glikemii, a także występowanie ostrych i rozwój przewlekłych powikłań w postaci makro- i mikroangiopatii, neuropatii oraz retinopatii są kluczowymi czynnikami przyczyniającymi się do zwiększonego ryzyka zgonu w tej populacji. Co więcej, nawet wśród chorych z prawidłową kontrolą metaboliczną cukrzycy (u których odsetek HbA1c utrzymuje się poniżej 7%), ryzyko zgonu z jakiegokolwiek przyczyny pozostaje nadal dwukrotnie wyższe niż w populacji ogólnej [5].

Ocenia się, że do 45 roku życia u ponad 70% mężczyzn i 50% kobiet z T1D rozwinię się przewlekły zespół wieńcowy [6], natomiast u około 30% pacjentów dojdzie do rozwoju schyłkowej niewydolności nerek [7]. Osoby z cukrzycą są także w większym stopniu narażone na wystąpienie depresji oraz zaburzeń lękowych, co w rezultacie przyczynia się do obniżenia jakości ich życia [8].

Przedstawione powyżej dane epidemiologiczne wskazują na istotny wzrost zapadalności na T1D, który staje się coraz większym wyzwaniem dla zdrowia publicznego

na całym świecie. Dlatego celowe wydaje się poszukiwanie nowych patomechanizmów leżących u podłoża rozwoju oraz progresji powikłań w populacji pacjentów z T1D.

4.2. Szlak kinureninowy

Szlak kinureninowy (KP) stanowi główną drogę przemian tryptofanu (TRP), której produktem końcowym jest dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD⁺), pełniący istotną rolę w procesach oddychania komórkowego. Jednocześnie prowadzi do powstania wielu bioaktywnych metabolitów, charakteryzujących się często przeciwstawnymi właściwościami, takimi jak cytotoksyczność – cytoprotekcja, oksydacja – antyoksydacja, neurotoksyczność – neuroprotekcja, działanie prozapalne – działanie przeciwzapalne [9].

Do nadmiernej aktywacji szlaku dochodzi w warunkach pobudzenia układu immunologicznego, jak również w czasie stresu oksydacyjnego [10]. Proces ten prowadzi do kumulacji poszczególnych metabolitów, co w konsekwencji może przyczyniać się do rozwoju szeregu chorób. Ostateczny efekt, jaki wywierają metabolity KP, zależy od proporcji pomiędzy ich stężeniami w poszczególnych tkankach, a także od czynników genetycznych oraz epigenetycznych, które modyfikują aktywność biologiczną tych związków.

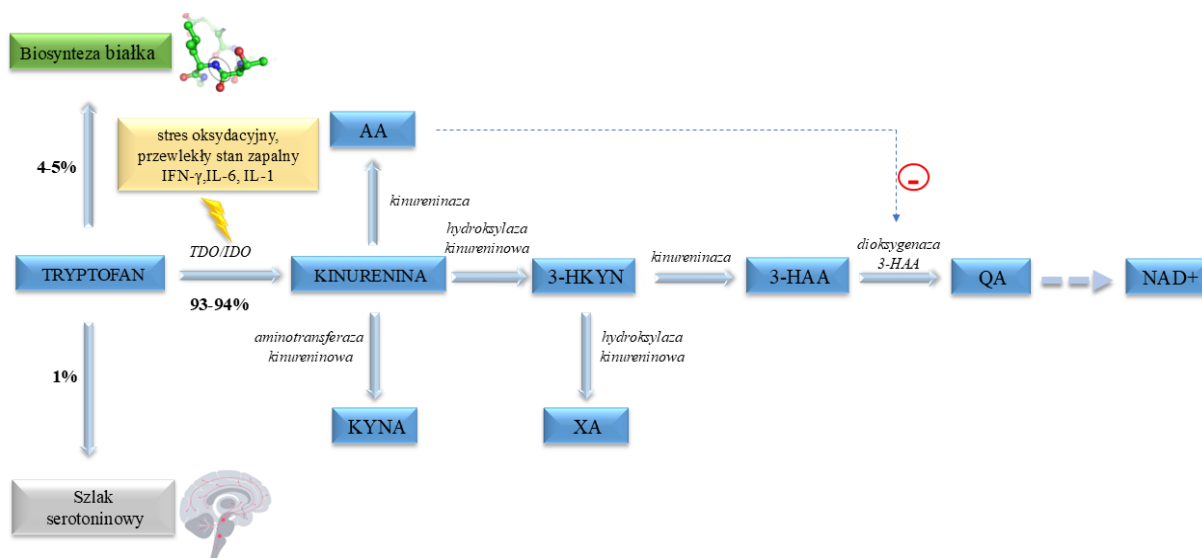
Tryptofan (TRP), aminokwas egzogeny, w organizmie człowieka wykorzystywany jest do biosyntezy białka (około 4-5%). Niewielka jego część podlega metabolizmowi w szlaku serotoninowym (około 1%), natomiast ogromna większość, bo aż 93-94%, ulega przemianom szlakiem kinureninowym [11]. W warunkach fizjologicznych, szlak największą aktywność wykazuje w wątrobie, natomiast ekspresja genów kodujących enzymy obserwowana jest w niemal każdej tkance.

Pierwszy etap szlaku katalizowany jest przez dwa niezależne enzymy: 2,3-diooksygenazę indolową (IDO) i 2,3-dioksygenzę tryptofanową (TDO). Polega on na przemianie TRP do N-formylo-kinureniny, która przy udziale formaminidazy przekształcana jest do kinureniny (KYN). TDO pełni swą rolę w warunkach fizjologicznych przede wszystkim w wątrobie, determinując stężenie TRP w surowicy. Natomiast aktywność IDO indukowana jest przez cytokiny, takie jak interferon gamma (IFN- γ) interleukina-1 (IL-1), czy IL-6, produkowane podczas stanu zapalnego oraz stresu oksydacyjnego [12]. Przyjmuje się, że aktywność IDO i TDO w piśmiennictwie przedstawiana jest jako stosunek KYN/TRP [13].

Następnie KYN może być metabolizowana w trzech różnych kierunkach. Najbardziej aktywną ścieżką przemian KYN w warunkach homeostazy jest ta, która prowadzi do syntezy NAD^+ . W wyniku hydroksylacji KYN powstaje 3-hydroksykinurenina (3-HKYN), związek o właściwościach cytotoksycznych, który dalej hydrolizowany jest do kwasu 3-hydroksyantranilowego (3-HAA). W kolejnym etapie z 3-HAA tworzony jest kwas chinolinowy (QA) - uznawany za związek neurotoksyczny, a ten następnie metabolizowany jest w reakcji katalizowanej przez fosforybozylotransferazę chinolową do mononukleotydu nikotynoamidowego – prekursora NAD^+ [14]. 3-HKYN może być także przekształcana za pomocą aminotransferazy kinureninowej do kwasu ksanturenowego (XA), który odpowiada zarówno za indukcję apoptozy w mięśniach gładkich naczyń, jak i pełni funkcję zmiatacza reaktywnych form tlenu [15].

Ponadto KYN może być przekształcana do kwasu kinureninowego (KYNA) pod wpływem aminotransferazy kinureninowej. Dotychczasowe badania wskazują na właściwości neuroprotektcyjne, immunomodulujące oraz antyoksydacyjne tego związku [16,17].

Trzecim metabolitem KP, powstającym na drodze hydrolizacji KYN, katalizowanej przez kinureninazę, jest kwas antranilowy (AA), który w warunkach fizjologicznych hamuje dioksygenazę kwasu 3-hydroksyantranilowego, zmniejszając w ten sposób produkcję QA [18]. Przebieg najważniejszych etapów KP przedstawiony został na rycinie nr 1a (Ryc.1a).



AA – kwas antranilowy, IDO – 2,3-dioksygenaza indolowa, KYNA – kwas kinureninowy, NAD^+ - dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy, QA – kwas chinolinowy, TDO – 2,3-dioksygenaza tryptofanowa, XA – kwas ksanturenowy, 3-HAA – kwas 3-hydroksyantranilowy, 3-HKYN – kwas 3-hydroksykinurenowy

Ryc. 1a. Schematyczny przebieg szlaku kinureninowego.

4.3. Szlak kinureninowy a zaburzenia metabolizmu węglowodanów

Dane z piśmiennictwa wskazują, iż zaburzenia w przebiegu szlaku kinureninowego obserwowane są w otyłości, miażdżycy, nadciśnieniu tętniczym, niewydolności serca, a także cukrzycy typu 2 (T2D) [19]. Wiele badań eksperymentalnych wykazało, iż kinureniny zaangażowane są również w metabolizm glukozy [20,21]. Jednakże badania uwzględniające zmiany w przebiegu KP w T1D są nieliczne.

W badaniach eksperymentalnych zaobserwowano, iż TRP bierze udział w regulacji wydzielania insuliny i hormonów inkretynowych [22]. Wykazano także związek pomiędzy wyższymi stężeniami TRP, a nasileniem składowych zespołu metabolicznego, m.in. insulinooporności, sekrecji insuliny oraz stężeniem TG. Badania kliniczne wskazują na związek stężenia TRP w surowicy z ryzykiem wystąpienia cukrzycy w populacji ogólnej [23]. Natomiast w modelach mysich T1D obserwowano wzrost stężeń KYNA wraz z czasem trwania cukrzycy [24].

Z kolei KYN, wykazująca właściwości immunomodulujące, w warunkach fizjologicznych zwiększa wydzielanie insuliny z komórek β trzustki po ich stymulacji glukozą [20]. Jej podwyższone stężenie było obserwowane także w otyłości [25]. Może mieć to związek z przewlekłym stanem zapalnym w tkance tłuszczowej, prowadzącym do produkcji IFN, który aktywuje przemianę TRP szlakiem kinureninowym [26]. Przeprowadzone w ostatnim czasie badania potwierdzają skuteczność KYN jako adjuwanta w szczepionce fagowej GAD65, której celem jest indukcja tolerancji immunologicznej w celu zapobiegania T1D [27].

Ponadto wykazano, iż 3-HKYN oraz 3-HAA hamują stymulowane leucyną uwalnianie insuliny z komórek β trzustki oraz dodatnio korelują z odsetkiem hemoglobiny glikowanej (HbA1c) i upośledzoną tolerancją glukozy [28].

Kolejnym ważnym związkami jest AA, charakteryzujący się działaniem insulintropowym. Jego pochodne są obecnie badane pod kątem opracowania nowych leków przeciwhiperglykemicznych, z uwagi na mechanizm hamowania α -glukozydazy oraz fosforylasy glikogenowej [29,30].

Dane literaturowe wskazują, iż pochodne KP biorą również udział w rozwoju powikłań przewlekłych cukrzycy takich jak: neuropatia, retinopatia, mikro- i makroangiopatie [31,32,33].

Biorąc pod uwagę, że osoby z T1D są szczególnie narażone zarówno na stres oksydacyjny, jak i stan zapalny, celowym wydaje się pogłębianie wiedzy na temat powiązań pomiędzy aktywacją układu kinureninowego, a patogenezą T1D, jej przebiegiem oraz rozwojem powikłań przewlekłych w tej grupie chorych. Może to w przyszłości zaowocować nową strategią farmakologiczną, opierającą się na modulacji KP oraz wcześniejszą identyfikacją osób predysponowanych do rozwoju przewlekłych powikłań, a w związku z tym przyczynić się do wcześniejszego ich wykrywania oraz wdrożenia odpowiedniego postępowania profilaktycznego.

5. Cele rozprawy doktorskiej

Celem głównym niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena zaburzeń przemian tryptofanu szlakiem kinureninowym w populacji osób z cukrzycą typu 1 oraz jego związku z kontrolą metaboliczną cukrzycy.

W oparciu o cel główny sformułowano następujące cele szczegółowe:

1. Ocena stężeń wybranych metabolitów szlaku kinureninowego (tryptofanu, kinureniny, kwasu kinureninowego, 3-hydroksykinureniny oraz kwasu antranilowego) w surowicy oraz moczu osób z cukrzycą typu 1.
2. Ocena zależności pomiędzy stężeniami tryptofanu i jego metabolitów a parametrami kontroli metabolicznej cukrzycy oraz jej powikłaniami.

6. Omówienie pracy przeglądowej pt.: „Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk - review”

Kiluk M, Lewkowicz J, Pawlak D, Tankiewicz-Kwedlo A. J Clin Med. 2021 Jun 4;10(11):2484 doi:10.3390/jcm10112484.

Celem pracy był przegląd dostępnej literatury naukowej dotyczącej postępów w badaniach nad związkiem szlaku kinureninowego z cukrzycą, a w szczególności jego roli w metabolizmie węglowodanów oraz udziale w rozwoju powikłań w układzie sercowo-naczyniowym.

We wstępie przedstawiono krótką charakterystykę KP oraz dane epidemiologiczne na temat cukrzycy. Podkreślono rolę przewlekłego stanu zapalnego oraz stresu oksydacyjnego, leżących u podłoża wielu zaburzeń metabolicznych, w aktywacji przemian TRP szlakiem kinureninowym. Następnie omówiono przemianę TRP szlakiem kinureninowym w warunkach fizjologicznych. Opisano także metodykę, którą posługiwano się w celu odpowiedniego doboru literatury.

W kolejnym rozdziale dokonano szczegółowego przeglądu badań eksperymentalnych oraz klinicznych, dotyczących roli TRP, KYN, KYNA, XA, 3-HKYN, 3-HAA oraz QA w metabolizmie węglowodanów, jak również zmian ich stężeń w wybranych warunkach patologicznych. Na końcu zamieszczono tabelę podsumowującą wyniki najistotniejszych badań przeprowadzonych na doświadczalnych modelach cukrzycy.

W następnej części publikacji przedstawiono dane literaturowe dotyczące roliIDO w patogenezie T1D, a także udziału monooksygenazy kinureninowej oraz QA w rozwoju retinopatii oraz neuropatii cukrzycowej. Ponadto omówiono zmiany w przebiegu KP obserwowane w T2D oraz przedstawiono je na rycinie.

W ostatnim rozdziale zaprezentowano analizę doniesień naukowych na temat udziału KP w patogenezie oraz progresji chorób układu sercowo-naczyniowego (miażdżycy, przewlekłego zespołu wieńcowego oraz niewydolności serca), stanowiących najczęstsze powikłania cukrzycy. Ponadto zidentyfikowano kinureniny, których udział w tych procesach wydaje się być najistotniejszy.

Podsumowując, pochodne KP ze względu na zdolność oddziaływania ze specyficznymi receptorami (receptorem węglowodorów aromatycznych (AhR), receptorem N-metylo-D-asparaginowym (NMDA)), występującymi w tkankach istotnych dla metabolizmu węglowodanów (trzustce, tkance tłuszczowej i wątrobie), mogą być uważane za modulatory zaburzeń metabolicznych. EnzymIDO wydaje się być czynnikiem łączącym cukrzycę i choroby sercowo-naczyniowe. Zrozumienie roli KP w metabolizmie węglowodanów, a także mechanizmów regulujących aktywność enzymów szlaku, jest niezwykle ważne, lecz wymaga dalszych badań. Poszerzenie wiedzy na ten temat mogłoby przynieść wiele korzyści dla spersonalizowanego leczenia cukrzycy.

7. Omówienie pracy oryginalnej pt.: „Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes”

Kiluk M, Lewkowicz J, Kowalska I, Pawlak D, Łagoda K, Tankiewicz-Kwedlo A. Pol Arch Intern Med. 2023;133(11):16581. doi:10.20452/pamw.16581.

7.1. Grupa badana i metody

7.1.1. Uczestnicy badania

Badaniem zostały objęte 93 osoby. Grupę badaną stanowiło 50 dorosłych uczestników z rozpoznaną T1D, rekrutowanych od grudnia 2019 r. do lipca 2022 r. spośród pacjentów Kliniki Chorób Wewnętrznych i Chorób Metabolicznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz poradni diabetologicznych w Białymstoku.

Grupa kontrolna składała się z 43 ochotników bez dotychczasowego wywiadu chorób przewlekłych, dopasowanych pod względem wieku, płci oraz wskaźnika masy ciała (BMI), rekrutowanych spośród pracowników Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz za pośrednictwem ogłoszeń w mediach społecznościowych.

Do badania włączono uczestników w wieku od 20. do 60. roku życia, z BMI <40 kg/m². Kryteriami wykluczającymi dla obu grup były: infekcja przebyta w ciągu ostatniego miesiąca, przyjmowanie leków przeciwdepresyjnych oraz glikokortykosteroidów, przewlekła choroba nerek z GFR <60ml/min, aktywna choroba nowotworowa, ciężka przewlekła obturacyjna choroba płuc, oporne nadciśnienie tętnicze, zaawansowana niewydolność serca oraz zaawansowana choroba wieńcowa. Kryteria wykluczenia dla grupy z T1D stanowiły ponadto odsetek HbA1c >10% i nowo rozpoznana cukrzyca (<1 miesiąca).

Każdy ochotnik przed przystąpieniem do badania dobrowolnie wyraził świadomą pisemną zgodę na wzięcie udziału w projekcie. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej, a na jego przeprowadzenie uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (nr R-I-002/641/2019).

7.1.2. Protokół badania

U każdego uczestnika przeprowadzono badanie podmiotowe, przedmiotowe, wykonano pomiary antropometryczne oraz analizę składu ciała. Obwód talii mierzono w połowie odległości między łukiem żebrowym a kolcem biodrowym przednim górnym, a obwód bioder na poziomie krętarzy kości udowej. Na podstawie wykonanych pomiarów obliczono wskaźnik BMI (masa ciała [kg]/ wzrost [m]²) oraz wskaźnik WHR (obwód talii [cm]/obwód bioder [cm]). Do analizy składu ciała wykorzystano metodę impedancji bioelektrycznej za pomocą urządzenia InBody 570 (InBody Co., Ltd., CA, USA). Pomiary ciśnienia tętniczego krwi wykonywano w pozycji siedzącej na lewym ramieniu pod koniec badania fizykalnego.

U wszystkich uczestników pobrano krew żylną celem oceny stężeń lipidów, kreatyniny, TSH oraz CRP w surowicy, a także mocz. U pacjentów z cukrzycą pobrano również krew celem oznaczenia odsetka HbA1c, a u 18 z nich dodatkowo przeprowadzono test z glukagonem, podając dożylnie 1 mg glukagonu i oceniając stężenie peptydu C w surowicy przed podaniem oraz 6 minut po podaniu glukagonu w celu oszacowania rezerwy wewnętrzwydzielniczej trzustki.

Ponadto osoby z T1D ocenione zostały pod kątem występowania przewlekłych powikłań cukrzycy, m.in. w kierunku cukrzycowej choroby nerek za pomocą wskaźnika albumina/kreatynina (ACR) oraz w kierunku neuropatii cukrzycowej.

7.1.3. Opracowanie materiału oraz metody oznaczeń

Krew do badań laboratoryjnych została pobrana w godzinach porannych, na czczo, co najmniej 8 godzin od ostatniego posiłku, natomiast mocz pobierany był ze środkowego strumienia z pierwszej porannej próbki. W celu uzyskania surowicy przeznaczonej do oceny stężeń TRP i jego metabolitów, próbki krwi zostały pobrane na 3,18% cytrynian sodu, a następnie wirowane przez 15 minut z prędkością 3500 rpm w temperaturze 4°C oraz przechowywane w temperaturze -80°C do momentu wykonania oznaczeń.

Ocena stężeń parametrów biochemicznych w surowicy

Do oznaczenia parametrów biochemicznych w surowicy zastosowano metody diagnostyczne rutynowo wykorzystywane w diagnostyce klinicznej. Stężenie glukozy oceniano metodą enzymatyczną z użyciem heksokinazy (Alinity ci-series, Abbot GmbH & Co. KG, IL, USA). Odsetek HbA1c oznaczany był za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) (D-10 Instrumentation, Bio-Rad, CA, USA). Stężenia cholesterolu całkowitego, lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL), triglicerydów (TG), a także stężenia kreatyniny, mierzono metodą enzymatyczną (Alinity ci-series, Abbot GmbH & Co. KG, IL, USA). Stężenie lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) obliczono za pomocą wzoru Friedewalda [34]. Stężenia C-peptydu oznaczano metodą fotometryczną, stężenie białka C-reaktywnego (CRP) metodą turbidymetryczną, a stężenie hormonu tyreotropowego (TSH) metodą chemiluminescencyjnego testu immunologicznego z użyciem mikrocząstek, wykonywanego na aparacie Alinity ci-series (Abbot GmbH & Co. KG, IL, USA). Wskaźnik ACR w moczu oceniano za pomocą automatycznego analizatora (Cobas Integra 400 plus, Roche, Szwajcaria).

Ocena stężeń metabolitów szlaku kinureninowego w surowicy

Ocenę stężeń metabolitów KP w surowicy krwi żyłnej przeprowadzono przy użyciu HPLC z detekcją elektrochemiczną (ECD) według metody opisanej przez Herve i wsp. [35]. Wszystkie próbki były badane jednocześnie.

System chromatograficzny składał się z pompy Agilent serii HP 1050 i kolumny Waters Spherisorb S3 ODS2 150x2,1 mm (USA). Stężenia KYN i TRP mierzono za pomocą detektora UV serii HP 1050, strumień z kolumny monitorowano przy długości fali 365 nm. Faza ruchoma składała się z 0,1M kwasu octowego, 0,1M octanu amonu (pH 4,65) zawierającego 2% acetonitrylu i była pompowana z prędkością 0,25 ml/min.

Do oceny stężeń 3-HKYN posłużono się detektorem elektrochemicznym HP 1049A. Potencjał elektrody roboczej wynosił 0,6 V. Faza ruchoma składała się z 0,1M trietyloaminy, 0,1M kwasu fosforowego, 0,3mM EDTA, 8,2mM soli sodowej kwasu heptano-1-sulfonowego, zawierała 2% acetonitrylu i była pompowana z szybkością 0,25 ml/min.

Stężenia AA oznaczano za pomocą detektora fluorescencyjnego HP 1046A. Długość fali wzbudzenia i emisji ustawiono na 320/420 nm. Faza ruchoma składała się z 50mM kwasu octowego, 0,25M octanu cynku (pH-4,9), zawierała 1,2% acetonitrylu i była pompowana z prędkością 0,25 ml/min.

7.1.4. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą oprogramowania Statistica 13.0 (StatSoft, OK, USA) oraz GraphPad Prism 9.0.0 (GraphPad Software, CA, USA). Rozkład zmiennych analizowano przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Ze względu na brak normalnego rozkładu danych, zastosowano testy nieparametryczne, a wszystkie wartości przedstawiono jako medianę i rozstęp międzykwartyłowy. Porównanie między grupami wykonano za pomocą testu Manna-Whitney'a oraz chi-kwadrat. Zależność pomiędzy zmiennymi w grupie osób z T1D oceniono za pomocą analizy współczynnika korelacji Spearmana oraz wieloczynnikowej regresji logistycznej. Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość $p < 0,05$.

7.2. Wyniki

Grupę badaną stanowiły 24 kobiety (48%) i 26 mężczyzn (52%) w wieku 20-60 lat z medianą czasu trwania cukrzycy 9 lat (IQR: 2-18). Grupa kontrolna składała się z 22 kobiet (51%) i 21 mężczyzn (49%) dobranych pod względem wieku, płci oraz BMI.

Szczegółową charakterystykę kliniczną i biochemiczną badanych grup przedstawiono w Tabeli S1 (str. 35 niniejszej rozprawy).

Wszyscy uczestnicy z T1D otrzymywali analogi insuliny. 34 pacjentów było leczonych w schemacie intensywnej insulinoterapii metodą wielokrotnych wstrzyknięć (MDI), a 16 za pomocą osobistej pompy insulinowej (OPI). Osoby z T1D i przewlekłymi powikłaniami stosowały inhibitor konwertazy angiotensyny (n=6), statynę (n=8) oraz antagonistę receptora β -adrenergicznego (n=9). Ponadto 7 pacjentów przyjmowało metforminę o przedłużonym uwalnianiu, a 6 lewotyroksynę. Osoby z grupy kontrolnej nie otrzymywały żadnych leków.

Pacjenci z T1D charakteryzowali się wyższym stężeniem glukozy na czczo, szybszą czynnością serca (HR) oraz większą filtracją kłębuszkową GFR (odpowiednio $p<0,001$; $p=0,004$; $p=0,019$) (Tabela S1 na str. 35 niniejszej rozprawy).

Stężenia TRP, KYN i 3-HKYN w surowicy były wyższe w grupie osób z T1D w porównaniu z osobami zdrowymi (odpowiednio $p<0,0001$; $p=0,003$; $p<0,0002$), podczas gdy stężenia AA były istotnie niższe ($p=0,003$) (Ryc. 1 na str. 32 niniejszej rozprawy).

Aby ocenić, czy istnieją różnice pomiędzy stężeniami poszczególnych metabolitów KP w zależności od schematu stosowanej insulinoterapii, osoby z T1D podzielono na podgrupy. Grupa pacjentów leczonych w schemacie MDI wykazywała się istotnie wyższym odsetkiem HbA1c ($p=0,039$) oraz niższym stężeniem AA ($p=0,013$) w porównaniu z osobami leczonymi za pomocą OPI. Nie stwierdzono różnic w dobowej dawce insuliny ($p=0,223$) pomiędzy podgrupami (Tabela 1).

Tabela 1. Porównanie stężeń poszczególnych metabolitów szlaku kinureninowego, HbA1c oraz dobowej dawki insuliny w zależności od schematu insulinoterapii w grupie osób z cukrzycą typu 1.

	<i>MDI</i>	<i>OPI</i>	<i>p</i>
<i>TRP (μM)</i>	47,65 (40,68-54,61)	45,5 (38,57-54,21)	0,607
<i>KYN (μM)</i>	2,32 (2,01-2,93)	2,31 (1,81-2,95)	0,413
<i>AA (nM)</i>	27,57 (23,95-40,86)	38,93 (35,23-49,74)	0,013
<i>3-HKYN (nM)</i>	27,02 (22,39-37,41)	31,31 (27,76-39,48)	0,413
<i>3-HAA (nM)</i>	59,96 (42,45-70,75)	61,32 (51,89-75,47)	0,279
<i>HbA1c (%)</i>	7,85 (6,95-9,4)	7,1 (6,5-7,3)	0,039
<i>DDI (j/24h)</i>	29,5 (20,00-47,00)	40,00 (34-46,3)	0,094
<i>DDI (j/kg/24h)</i>	0,479 (0,266-0,43)	0,55 (0,47-0,62)	0,223

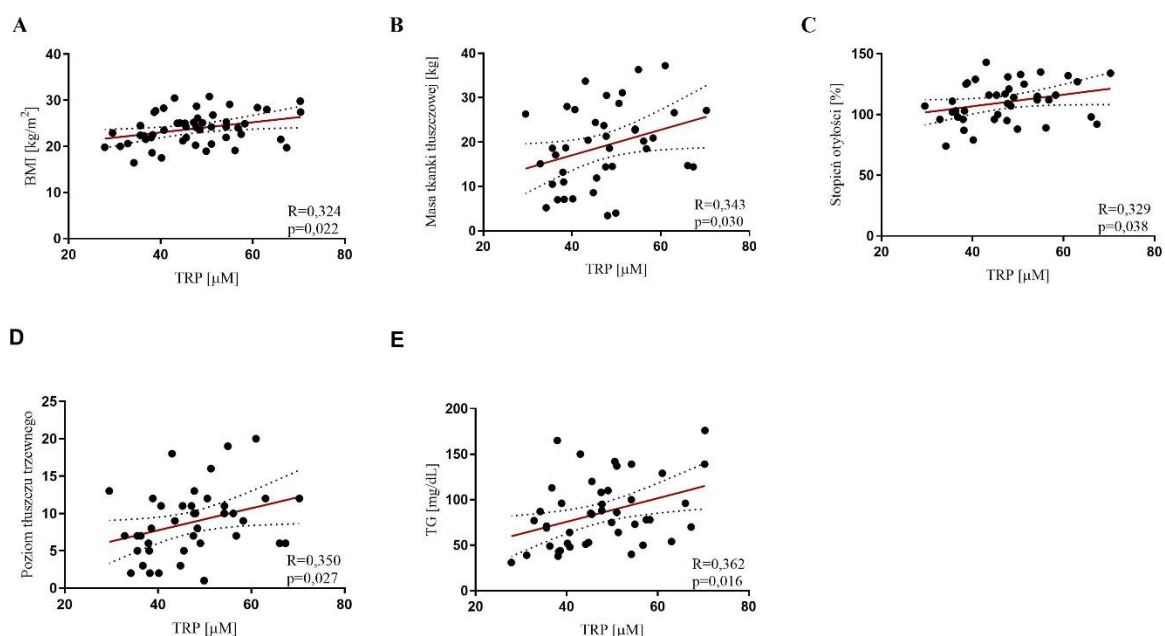
AA – kwas antranilowy, HbA1c – hemoglobina glikowana, KYN – kinurenina, KYN – kwas kinureninowy, MDI – intensywna insulinoterapia w schemacie wielokrotnych wstrzyknięć, OPI – osobista pompa insulinowa, TRP – tryptofan, 3-HKYN – kwas 3-hydroksykinureninowy. Wartości zapisane pogrubioną czcionką oznaczają różnice istotne statystycznie.

Ponadto w grupie badanej, uczestnicy z HbA1c >7% (n=33), niezależnie od sposobu podawania insuliny, wykazywali wyższe stężenia KYN (Me: 2,614 μ M (IQR 2,037-3,00), $p=0,011$) w porównaniu do osób z HbA1c \leq 7% (Me: 1,998 μ M (IQR 1,807-2,306)).

Do oceny aktywności enzymów biorących udział w przebiegu KP, wykorzystano proporcję produkt/substrat. Wykazano, iż wskaźniki KYN/TRP (odzwierciedlający aktywnośćIDO/TDO) oraz AA/KYN (odzwierciedlający aktywność kinureninazy) były niższe w grupie T1D w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio $p=0,005$; $p=0,041$).

Po uzyskaniu wyników świadczących o nasileniu przemian TRP szlakiem kinureninowym w T1D, w następnym etapie analiz oceniano występowanie korelacji pomiędzy stężeniami metabolitów KP, a parametrami antropometrycznymi, biochemicznymi oraz czasem trwania cukrzycy.

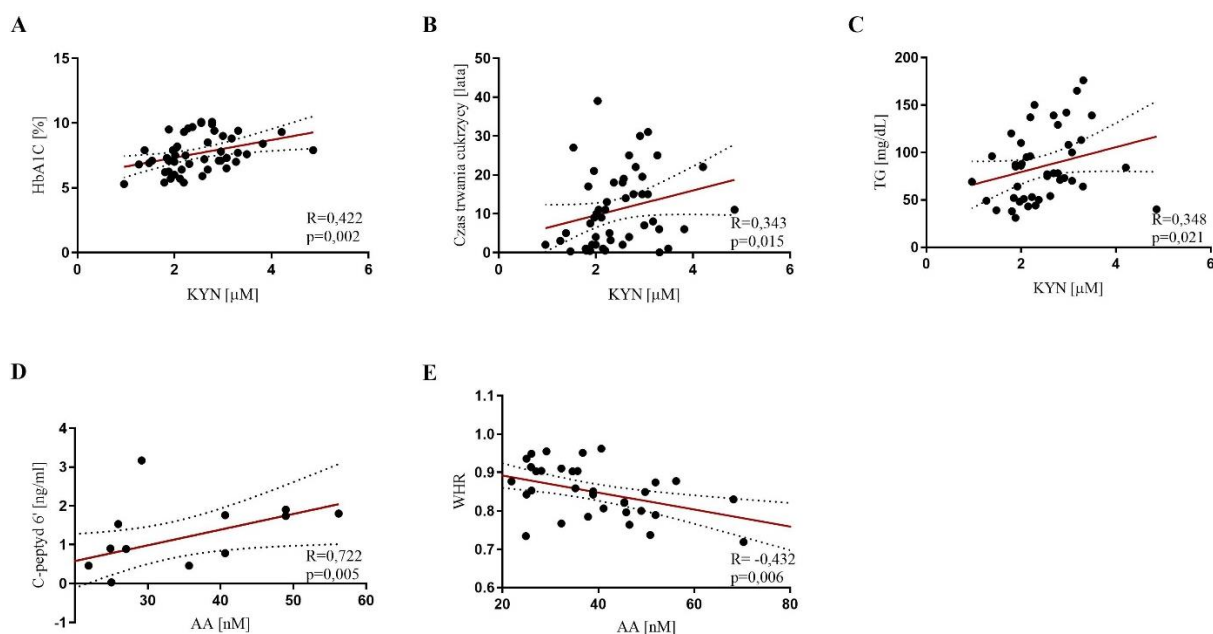
Wykazano występowanie dodatnich korelacji pomiędzy stężeniem TRP, a BMI ($R=0,324$, $p=0,022$), masą tkanki tłuszczowej ($R=0,343$, $p=0,030$), stopniem otyłości ($R=0,329$, $p=0,038$), poziomem tłuszczu trzewnego ($R=0,35$, $p=0,027$) oraz stężeniem TG ($R=0,362$, $p=0,016$). Natomiast zaobserwowano negatywną korelację stężenia HDL ze stężeniem TRP ($R=-0,4$, $p=0,007$). Dane zostały przedstawione na rycinie nr 2 (Ryc. 2).



BMI – indeks masy ciała, TG – triglicerydy, TRP – tryptofan

Ryc. 2. Korelacje pomiędzy stężeniami tryptofanu, a (A) BMI (B), masą tkanki tłuszczowej, (C) stopniem otyłości, (D) poziomem tłuszczu trzewnego oraz (E) stężeniem triglicerydów w grupie osób z cukrzycą typu 1.

Dodatnie korelacje stwierdzono także pomiędzy stężeniem KYN, a HbA1c ($R=0,422$, $p=0,002$), czasem trwania cukrzycy ($R=0,343$, $p=0,015$) oraz stężeniem TG ($R=0,348$, $p=0,021$). Ponadto dodatnia korelacja wystąpiła pomiędzy stężeniem AA, a stężeniem peptydu C w 6-ej minucie testu z glukagonem ($R=0,72$; $p=0,005$). Zaobserwowano ujemną zależność pomiędzy stężeniem AA a WHR ($R=-0,43$; $p=0,006$) (Ryc. 3).



AA – kwas antranilowy, HbA1c – hemoglobina glikowana, KYN – kinurenina, TG – triglicerydy, WHR – wskaźnik talia/biodra

Ryc. 3. Korelacje pomiędzy stężeniami kinureniny, a (A) odsetkiem HbA1c, (B) czasem trwania cukrzycy, (C) stężeniem triglicerydów oraz pomiędzy stężeniami kwasu antranilowego, a (D) stężeniem C-peptydu w 6-ej minucie testu z glukagonem oraz (E) wskaźnikiem talia/biodra w grupie osób z cukrzycą typu 1.

Aby zbadać wpływ parametrów wyrównania metabolicznego cukrzycy na stężenia metabolitów TRP, przeprowadzono analizę wieloczynnikowej regresji liniowej. Uwzględnionymi zmiennymi były HbA1c, HDL oraz czas trwania cukrzycy. Za potencjalne czynniki zakłócające uznano BMI, wiek i GFR. Stężenie KYN pozostało zależne od HbA1c, stężenia HDL i czasu trwania cukrzycy ($B=0,178$, 95% CI: 0,03;0,326; $B=-0,014$, 95% CI: -0,027;-0,002; $B=0,043$, 95% CI: 0,015;0,71), podczas gdy stężenia TRP były związane z BMI i HDL ($B=0,937$, 95% CI: 0,038;1,836; $B=-0,234$, 95% CI: -0,423;-0,046). Dane zostały przedstawione w Tabeli S2 na str. 36 niniejszej rozprawy.

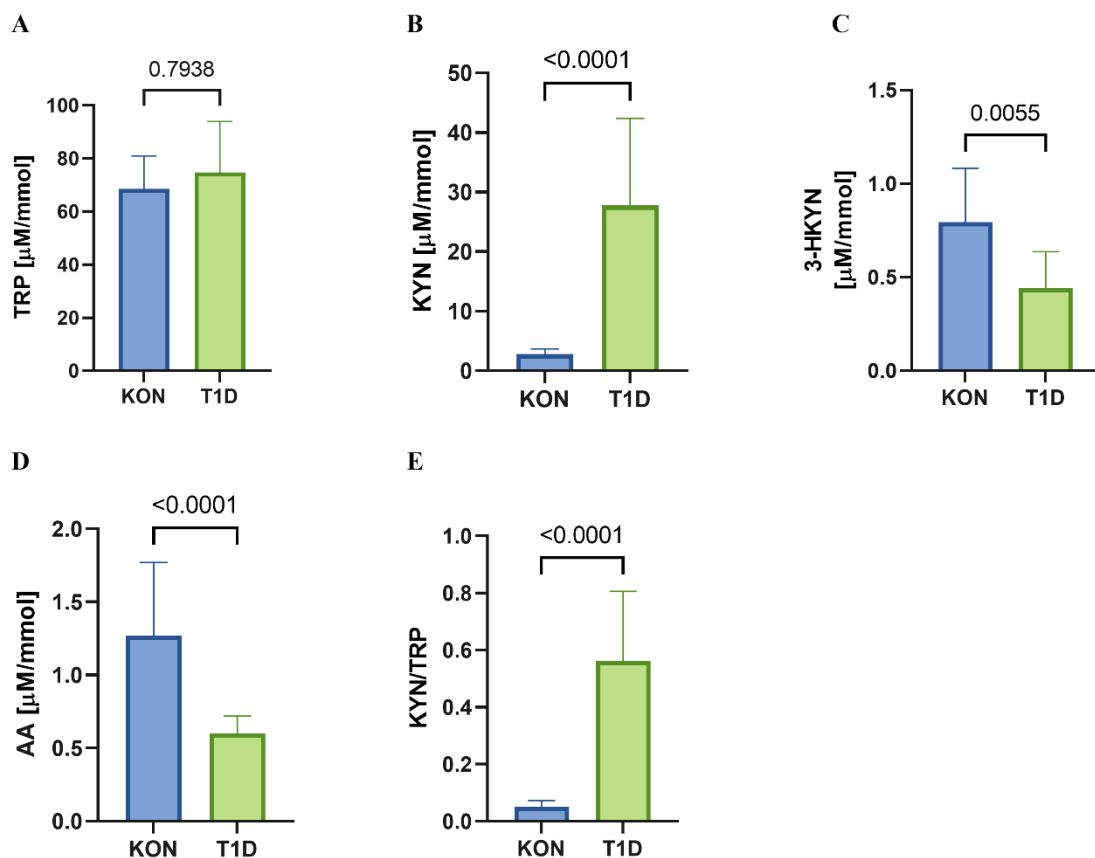
8. Nieopublikowane dane włączone do rozprawy doktorskiej

W kolejnym etapie badań, w celu dokonania kompleksowej analizy zaburzeń KP w cukrzycy typu 1, ocenione zostały stężenia metabolitów KP w moczu za pomocą HPLC (metodyka oznaczeń opisana została w podrozdziale 7.1.3. na stronie 19 niniejszej rozprawy) Wyniki oznaczeń wykonanych w moczu znormalizowano względem stężenia kreatyniny w moczu oznaczonej za pomocą komercyjnego zestawu ELISA.

Następnie, aby ocenić wpływ wyrównania metabolicznego cukrzycy, przeanalizowano różnice pomiędzy stężeniami metabolitów KP w moczu, pomiędzy pacjentami spełniającymi kryteria wyrównania cukrzycy ($HbA1c \leq 7\%$, $n=17$), niewyrównaną cukrzycą ($HbA1c > 7\%$, $n=33$) oraz grupą kontrolną ($n=43$) za pomocą testu Kruskala-Wallisa z testem post-hoc Dunna. Szczegółową charakterystykę grupy badanej i kontrolnej przedstawiono w Rozdziale 7.1. Pozostała analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą testów opisanych w Podrozdziale 7.1.4.

WYNIKI

W moczu osób z T1D zaobserwowano istotnie wyższe stężenie KYN ($p < 0,0001$) oraz wskaźnik KYN/TRP ($p < 0,0001$), a także istotnie niższe stężenia 3-HKYN oraz AA ($p = 0,0055$; $p < 0,0001$) w porównaniu z grupą kontrolną (Ryc. 4) Korelacje pomiędzy stężeniami kinurenin w moczu a parametrami wyrównania metabolicznego cukrzycy ($HbA1c$, stężeniem lipidów) i czasem trwania cukrzycy w grupie badanej nie wykazały istotnych statystycznie zależności.

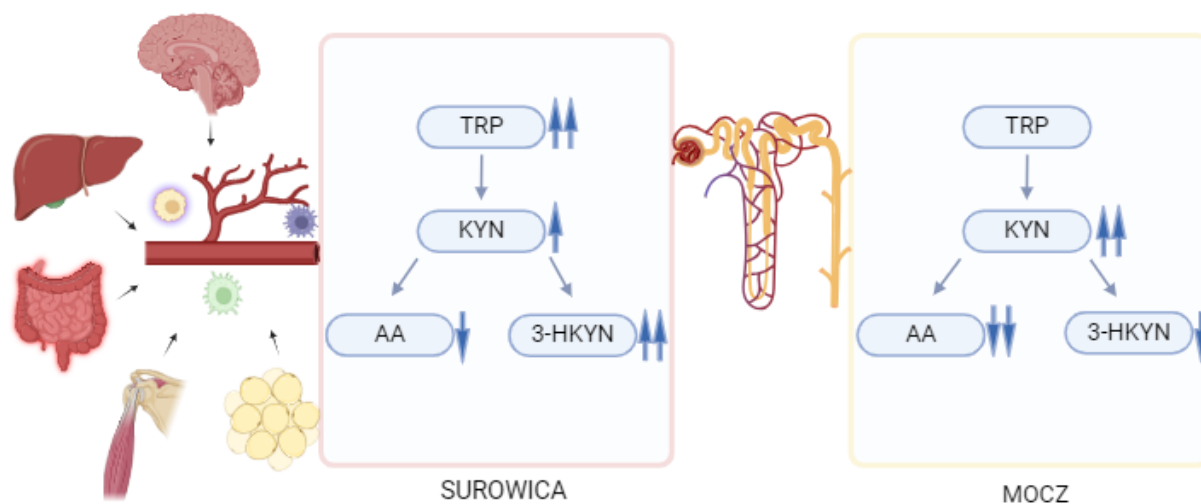


AA – kwas antranilowy, KON – grupa kontrolna, KYN – kinurenina TRP – tryptofan, T1D – cukrzyca typu 1, 3-HKYN – kwas 3-hydroksykinurenowy

Ryc. 4. Porównanie stężeń (A) tryptofanu, (B) kinureniny, (C) 3-hydroksykinureniny, (D) kwasu antranilowego oraz (E) wskaźnika kinurenina/tryptofan w moczu w grupie kontrolnej i grupie osób z cukrzycą typu 1. Statystyka została wykonana za pomocą testu Mann-Whitney'a.

Porównując grupę pacjentów z dobrą kontrolą metaboliczną cukrzycy ($\text{HbA1c} \leq 7\%$), z grupą kontrolną, stwierdzono istotnie wyższe wartości KYN i wskaźnika KYN/TRP ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$), zarazem wykazując istotnie niższe stężenia AA ($p = 0,006$).

Ponadto w grupie z niedostateczną kontrolą metaboliczną cukrzycy ($\text{HbA1c} > 7\%$) obserwowano istotnie wyższe stężenia KYN oraz wskaźnik KYN/TRP ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$), a także istotnie niższe stężenia AA i 3-HKYN ($p = 0,0003$; $p < 0,0001$) w porównaniu do grupy kontrolnej. W porównaniu do pacjentów z $\text{HbA1c} \leq 7\%$ wykazano niższe stężenia TRP ($p = 0,048$). Podsumowanie najważniejszych odchyleń KP u osób z T1D zaobserwowanych w niniejszych badaniach zaprezentowano na rycinie nr 5 (Ryc. 5).



AA – kwas antranilowy, KYN – kinurenina TRP – tryptofan, 3-HKYN – kwas 3-hydroksykinurenowy

Ryc. 5. Podsumowanie najważniejszych odchyżeń szlaku kinureninowego obserwowanych u osób z cukrzycą typu 1 w porównaniu do osób zdrowych. Ilustracja stworzona za pomocą Biorender.com.

DYSKUSJA

Wyniki badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej wskazują na istnienie związku pomiędzy cukrzycą typu 1 a nadmierną aktywacją szlaku kinureninowego, prowadzącą do akumulacji 3-HKYN oraz niedoboru AA. Stężenia KYN zarówno w surowicy, jak i w moczu były istotnie wyższe w grupie osób z cukrzycą. Zaobserwowano także korelacje pomiędzy stężeniami poszczególnych metabolitów w surowicy, a parametrami antropometrycznymi (BMI i TRP; AA i WHR) oraz parametrami odzwierciedlającymi przebieg i wyrównanie cukrzycy (KYN, AA). Pacjenci z niedostateczną kontrolą metaboliczną cukrzycy charakteryzowali się wyższymi stężeniami KYN w surowicy oraz TRP w moczu w porównaniu do pacjentów z dobrą kontrolą metaboliczną cukrzycy.

Podwyższone stężenia TRP w surowicy, obserwowane w niniejszych badaniach, mogą wynikać zarówno ze zwiększonej podaży tego aminokwasu w diecie cukrzycowej, jak również z zaburzeń mikrobioty jelitowej zaangażowanej w modulację metabolizmu TRP [36,37].

Dane literaturowe wskazują, iż ekspresja genów oraz aktywność enzymów odpowiedzialnych za przebieg KP w T1D może być zaburzona [38]. Jednym z patomechanizmów odpowiedzialnych za to zjawisko jest stres oksydacyjny powodowany przez hiperglikemię, który prowadzi do nadprodukcji reaktywnych form tlenu oraz wielu

cytokin prozapalnych, mających bezpośredni wpływ na nadmierną aktywację KP oraz kumulację poszczególnych metabolitów w ustroju, zwłaszcza KYN [39,40]. Przemawiają za tym wyniki badań dotyczące pacjentów chorujących na COVID-19. Stężenia KYN w moczu tych pacjentów były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej, a także dodatnio korelowały z ciężkością przebiegu choroby, co wskazuje na istotny udział cytokin prozapalnych w nasileniu tworzenia KYN [41]. Jak wynika z badań metabolomicznych, w przebiegu T1D (niezależnie od jej wyrównania) obserwowane są także wyższe stężenia kortyzolu, jego pochodnych oraz aldosteronu, co wiązane jest z niedoborem endogennej insuliny [42,43]. Hormony te zaangażowane są w proces zapalny oraz rozwój dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, a ich podwyższone stężenie w T1D może stanowić kolejny mechanizm, poza hiperglikemią, prowadzący do aktywacji KP.

Bardzo interesującą obserwacją niniejszej pracy jest prawie 10-krotnie wyższe stężenie KYN w moczu w grupie osób z cukrzycą w porównaniu do grupy kontrolnej, niezależnie od kontroli metabolicznej cukrzycy, przy równocześnie istotnie niższych stężeniach pozostałych metabolitów szlaku (AA oraz 3-HKYN). W badaniach metabolomicznych przeprowadzonych w populacji dzieci z T1D również wykazano tak znamienne wyższe stężenia KYN w moczu [42]. Wydalanie KYN przez nerki ściśle zależy od jej stężenia w ustroju. W warunkach fizjologicznych, związek ten podlega prawie 100% reabsorpcji w kanalikach nerkowych. Jednakże, gdy jego stężenie wzrasta, KYN jest w dużym stopniu eliminowana drogą nerkową [44]. Mechanizm ten może wyjaśniać tak znaczne różnice pomiędzy stężeniami KYN w moczu osób zdrowych i pacjentów z T1D. Nie można także wykluczyć wpływu hiperfiltracji kłębuszkowej, obserwowanej wśród osób z T1D, na nadmierne wydalanie KYN.

Podczas, gdy KYN w kanalikach nerkowych jest reabsorbowana, 3-HKYN podlega sekrecji. W badaniach dotyczących farmakokinetyki metabolitów TRP wykazano, iż najwyższe wydalanie 3-HKYN obserwowane było przy niskich stężeniach tego związku w surowicy [44]. Może to wyjaśniać przyczynę istotnie niższych stężeń 3-HKYN w moczu osób z T1D, przy wyższych stężeniach tego związku w surowicy w porównaniu do grupy kontrolnej, zaobserwowane w obecnych badaniach.

Wyniki te sugerują, iż droga nerkowa stanowi jeden z ważnych punktów regulacji stężeń kinurenin w warunkach fizjologicznych, która w czasie patologii nie spełnia swoich funkcji. Może więc stanowić potencjalny cel modyfikacji farmakologicznej.

Jednocześnie zwraca uwagę, że w obecnych badaniach stopień wyrównania metabolicznego cukrzycy miał wpływ na stężenia TRP w moczu oraz stężenia KYN w surowicy. Sugeruje to, iż zaburzenia metaboliczne u osób z cukrzycą mają wpływ przede wszystkim na pierwszy etap przebiegu KP. Stężenia AA oraz 3-HKYN zarówno w surowicy jak i w moczu, nie wykazywały różnic pomiędzy grupami z dobrą i złą kontrolą metaboliczną cukrzycy. Pokazuje to, iż średnia wartość HbA1c, nie jest w tym przypadku czynnikiem mającym znaczący wpływ na ich stężenia, pomimo iż istotnie różnią się w porównaniu do grupy kontrolnej. Pomimo braku różnic w stężeniach AA pomiędzy tymi grupami, należy podkreślić, iż metabolit ten może odgrywać ważną rolę w przebiegu T1D. Stężenia AA dodatkowo korelowały z rezerwą wewnątrzwydzielniczą trzustki, a jego wyższe stężenia związane były z lepszą kontrolą metaboliczną cukrzycy.

Wyniki dotychczasowych badań nie odpowiadają jednoznacznie na pytanie, czy zaburzenia szlaku kinureninowego biorą udział w rozwoju, a także mają wpływ na przebieg T1D, czy są jedynie konsekwencją nieprawidłowego metabolizmu glukozy. Natomiast dane wskazują na dwukierunkową zależność. Zrozumienie mechanizmów leżących u podłoża, opisanych zaburzeń metabolicznych w przebiegu cukrzycy typu 1, wymaga jeszcze wielu badań, lecz w przyszłości może przyczynić się do zidentyfikowania obiecujących celów interwencji terapeutycznej, a w konsekwencji do powstania nowych strategii leczenia cukrzycy typu 1.

OGRANICZENIA BADANIA

Istotnym ograniczeniem przeprowadzonych badań była stosunkowo mała liczebność obu grup. Ponadto uczestnicy nie wypełniali kwestionariusza żywieniowego, co nie pozwoliło na ocenę spożycia tryptofanu.

9. Wnioski

1. W cukrzycy typu 1 dochodzi do zaburzeń przebiegu szlaku kinureninowego.
2. Niedostateczna kontrola metaboliczna cukrzycy typu 1, niezależnie od stosowanego schematu insulinoaterapii, ma związek z zaburzeniami metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym.
3. Przesunięcie metabolizmu TRP w kierunku zwiększonego tworzenia 3-hydroksykinureniny, przy jednoczesnym obniżeniu stężeń kwasu antranilowego, może wiązać się z większym ryzykiem rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy u osób z cukrzycą typu 1.

10. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej

10.1. Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes

RESEARCH LETTER

Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes

Małgorzata Kiluk¹, Janina Lewkowicz¹, Irina Kowalska¹, Dariusz Pawlak²,
Katarzyna Łagoda^{1,3}, Anna Tankiewicz-Kwedlo⁴

¹ Department of Internal Medicine and Metabolic Diseases, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

² Department of Pharmacodynamics, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

³ Department of Clinical Medicine, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

⁴ Department of Monitored Pharmacotherapy, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

Introduction Type 1 diabetes mellitus (T1D) is an autoimmune disease, in which the progressive destruction of pancreatic β cells by autoreactive T cells leads to endogenous insulin deficiency that causes hyperglycemia.¹

In recent years, there has been a gradual increase in the incidence of T1D and type 2 diabetes (T2D).^{2,3} In 2040, the number of T1D cases is predicted to reach 13.5 to 17.4 million, increasing the incidence by 60% to 107%, as compared with 2021.¹ Diabetes has become a growing health problem, mainly due to macro- and microvascular complications, which are the most common causes of excess morbidity and mortality in the diabetic population, regardless of rapid technologic progress allowing for better metabolic control.⁴

Defects in the immune response mechanisms play an important role in the pathogenesis of T1D.⁵ Concomitantly, prolonged inflammation activates numerous metabolic pathways, such as the kynurenine pathway (KP), leading to the production of nicotinamide adenine dinucleotide. This metabolic route is the major pathway of tryptophan (TRP) catabolism, leading to the formation of many bioactive metabolites, namely kynurenine (KYN), kynurenic acid (KYNA), 3-hydroxykynurenine (3-HKYN), anthranilic acid (AA), and 3-hydroxyanthranilic acid.⁶ Published data indicate that TRP metabolites are related to obesity, T2D, atherosclerosis, and hypertension.⁶ However, the data regarding TRP metabolism in T1D patients are limited.

The first stable metabolite of TRP is KYN, formed via enzymatic degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) and tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO). It has been shown that

KYN directly affects normal rat pancreatic islets, increasing insulin secretion during their stimulation with glucose.⁷ Moreover, KYN may enhance helper T-cell apoptotic activity and regulatory T-cell immunosuppressive activity, thus exhibiting immunomodulatory properties.⁵

Another metabolite, AA, is a compound derived from KYN by kynureninase. In physiological conditions, AA inhibits 3-hydroxyanthranilic acid dioxygenase, thus reducing the production of quinolinic acid (QA).⁸ AA derivatives have already been studied as potential antidiabetic drugs. The potential mechanisms of action of AA derivatives, leading to the reduction of blood glucose levels, are related to the inhibitory activity against α -glucosidase and glycogen phosphorylase.⁹

Another compound originating from KYN via the action of kynurenine-3-monooxygenase is 3-HKYN. It was demonstrated that 3-HKYN inhibits leucine-stimulated insulin release from β cells, and shows a positive association with glycated hemoglobin (HbA_{1c}) levels and impaired glucose tolerance.¹⁰ Furthermore, 3-HKYN is a precursor of neurotoxins, such as QA and xanthurenic acid (XA).

This case-control study aimed to evaluate serum TRP, KYN, 3-HKYN, and AA concentrations in the patients with T1D, and to assess the relationship between the tested compounds and metabolic parameters.

Patients and methods **Study participants** The study group comprised 50 adult participants previously diagnosed with T1D, recruited from September 2019 to July 2022 from among the patients of the Department of Internal Medicine and Metabolic Diseases at the Medical University of Białystok

Correspondence to:
Małgorzata Kiluk, MD,
Department of Internal Medicine
and Metabolic Diseases,
Medical University of Białystok,
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A,
15-726 Białystok, Poland,
phone: +48 85 831 77 61,
email: malgorzatakiluk@gmail.com
Received: July 26, 2023.
Revision accepted: October 4, 2023.
Published online: October 5, 2023.
Pol Arch Intern Med. 2023;
133 (11): 16581
doi:10.20462/pamw.16581
Copyright by the Author(s), 2023

and diabetology outpatient clinics. The control group consisted of 43 healthy volunteers, similar in age and body mass index (BMI) to the study group, recruited from among the employees of the Medical University of Bialystok and through media advertisements. The participants between 20 and 60 years of age, with BMI below 40 kg/m², were enrolled in the study. The exclusion criteria for both groups included T2D, infection in the past month, taking antidepressants, chronic kidney disease with glomerular filtration rate (GFR) below 60 ml/min/1.73 m², active malignancy, resistant hypertension, advanced heart failure, and advanced coronary artery disease. The exclusion criteria for the T1D group included HbA_{1c} level above 10% and newly diagnosed diabetes (less than a month before the study). Each volunteer gave their written informed consent for participation in the study. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Medical University of Bialystok (R-I-002/641/2019). The research was performed in compliance with the Declaration of Helsinki.

Study protocol The participants underwent physical examination with anthropometric measurements. Waist circumference was obtained midway between the lower costal margin and the iliac crest. Hip circumference was measured at the maximum circumference at the level of the femoral trochanters. BMI and waist-hip-ratio (WHR) were calculated from the measurements. The bioelectrical impedance method was used to analyze the body composition (InBody 570, InBody Co., Ltd., Cerritos, California, United States). The degree of obesity was calculated using the formula: (current weight / standard weight) × 100. In the T1D patients (n = 18), the glucagon test was conducted by intravenously administering 1 mg of glucagon, and assessing serum C-peptide concentration before and at 6 minutes after the administration to estimate residual insulin secretion.

Blood sampling and assays Laboratory analyses were performed after overnight fast. The hexokinase method measured plasma glucose concentrations (Alinity ci-series, Abbott GmbH & Co. KG, Green Oaks, Illinois, United States). HbA_{1c} level was assessed with high-performance liquid chromatography (HPLC) (D-10 Instrumentation, Bio-Rad, Hercules, California, United States). Concentrations of serum total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL), triglycerides (TG), and creatinine were measured using the enzymatic method, C-peptide concentrations were assessed using the photometric method, and C-reactive protein concentrations using the turbidimetric method (Alinity ci-series).

The assessment of serum levels of KP metabolites was performed by HPLC, using the methodology outlined by Pawlak et al.¹¹

Statistical analysis Statistical analyses were carried out using Statistica 13 software (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, United States) and GraphPad

Prism version 9.0.0 (GraphPad Software, Boston, California, United States). The variables were tested for normal distribution using the Shapiro-Wilk test. The data were presented as medians and interquartile ranges (IQRs). The T1D and the control group were compared using the Mann-Whitney test and the χ^2 test. The relationships between the variables were studied using the Spearman correlation coefficient and multivariable linear regression analysis. The results were considered significant if *P* value was below 0.05.

Results The clinical and biochemical characteristics of the study participants are presented in Supplementary material, *Table S1*. All patients with T1D received insulin, of which 34 were treated with multiple daily injections (MDIs), and 16 with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII). The patients with T1D and chronic complications received appropriate treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitor (6 individuals), statin (8 individuals), and β -blocker (9 individuals). In addition, 7 patients were treated with extended-release metformin, and 6 with levodopa. The patients in the control group did not receive any medications.

Tryptophan metabolism in the serum of patients with type 1 diabetes Concentrations of serum TRP, KYN, and 3-HKYN were higher in the T1D group than in the controls, while AA levels were lower (**FIGURE 1**).

To assess the possible differences between KYN concentrations depending on the mode of insulin administration, the patients with T1D were divided into subgroups. The group treated with MDIs had higher HbA_{1c} levels (*P* = 0.04) and lower AA levels (*P* = 0.01) than the patients treated with CSII, while there were no differences in daily insulin dose (*P* = 0.22) or the levels of other KYN metabolites between the groups. Additionally, in the whole T1D group, the participants with HbA_{1c} level exceeding 7% (n = 33; irrespective of the mode of insulin administration) had higher median KYN concentrations in comparison with those with HbA_{1c} levels equal to or below 7% (2.614 μ M [IQR, 2.037–3] vs 1.998 μ M [IQR, 1.807–2.306]; *P* = 0.01).

Additionally, a product-to-substrate ratio was used to assess the involvement of specific enzyme systems in the synthesis of individual compounds. Thus, the KYN/TRP ratio reflects IDO and TDO activity, and the AA/KYN ratio reflect kynureninase activity. KYN/TRP and AA/KYN ratios were lower in the T1D group (*P* = 0.005 and *P* < 0.001, respectively) (**FIGURE 1**).

Correlations between tryptophan metabolites, anthropometric and biochemical parameters, and diabetes duration in the type 1 diabetes group Serum TRP levels positively correlated with BMI (*R* = 0.324; *P* = 0.02), body fat mass (*R* = 0.34; *P* = 0.03), degree of obesity (*R* = 0.33; *P* = 0.04), visceral fat level (*R* = 0.35; *P* = 0.03), and TG concentrations

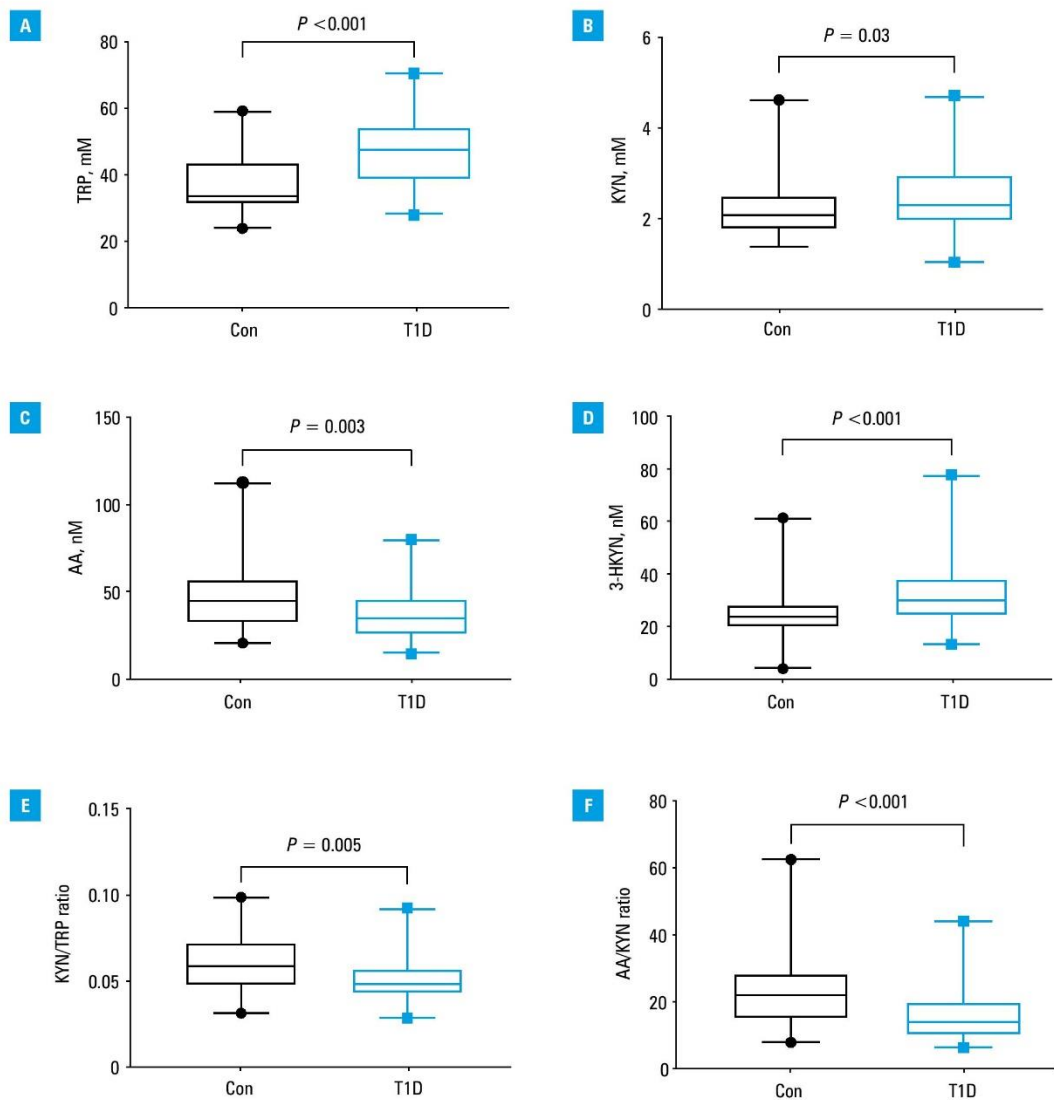


FIGURE 1 Concentrations of tryptophan (A), kynurenine (B), anthranilic acid (C), 3-hydroxykynurenine (D), and kynurenine / tryptophan ratio (E) and anthranilic acid/kynurenine ratio (F) in the control group and the type 1 diabetes group. The boxes represent interquartile ranges, the line in the middle of each box represents median, and the whiskers represent maximum and minimum values. *P* values were derived from the Mann–Whitney test. Abbreviations: 3-HKYN, 3-hydroxykynurenine; AA, anthranilic acid; Con, control group; KYN, kynurenine; T1D, type 1 diabetes; TRP, tryptophan

($R = 0.362$; $P = 0.02$). In contrast, a negative correlation with HDL level was observed ($R = -0.4$; $P = 0.007$).

Positive correlations were found between KYN concentration and HbA_{1c} ($R = 0.42$; $P = 0.002$), diabetes duration ($R = 0.34$; $P = 0.02$), and TG concentrations ($R = 0.35$; $P = 0.02$). A positive correlation occurred between AA levels and those of C-peptide assessed 6 minutes after glucagon injection ($R = 0.72$; $P = 0.005$). A negative relationship was observed between AA concentration and WHR ($R = -0.43$; $P = 0.006$).

To investigate the effects of the parameters related to diabetes on KP metabolites, multivariable

linear regression was performed. The included variables were HbA_{1c}, HDL, and diabetes duration. BMI, age, and GFR were added as potential confounders. HbA_{1c}, HDL, and diabetes duration were associated with KYN concentrations ($B = 0.178$; 95% CI, 0.03–0.326; $B = -0.014$; 95% CI, -0.027 to -0.002 ; $B = 0.043$; 95% CI, 0.015–0.71, respectively), while BMI and HDL were associated with TRP concentrations ($B = 0.937$; 95% CI, 0.038–1.836; $B = -0.234$; 95% CI, -0.423 to -0.046 , respectively) (Supplementary material, Table S2).

Discussion The alterations in downstream KP metabolite concentrations in T1D patients have

been investigated in very few studies, which showed conflicting results. The main finding of our study was identification of a specific shift in the KP metabolism toward excessive formation of 3-HKYN with parallel reduction in AA formation in the T1D group. Interestingly, higher AA concentrations but lower KYN concentrations were observed in the patients with better metabolic control of diabetes.

T1D patients and healthy controls did not differ in terms of sex, age, BMI, and blood pressure. This confirms the validity of the results, and indicates a relationship between activation of the KP and T1D. However, at this stage of research, it is unknown whether TRP metabolites are involved in the pathogenesis of diabetes or are a consequence of the disease.

Tryptophan TRP is an exogenous amino acid, and its serum concentration mainly reflects dietary habits. There are only 3 studies that assessed TRP concentrations in T1D patients. Decreased TRP concentrations were observed in patients with diabetic ketoacidosis,¹² and in those with poor metabolic control of diabetes.¹³ On the other hand, Oxenkrug et al¹⁴ showed higher TRP concentrations in individuals with T1D. In our study, we observed an increase in TRP concentrations in the T1D group. It cannot be ruled out that this is due to dietary recommendations for patients with T1D, which include many products rich in TRP. Moreover, TRP concentrations correlated positively with the parameters reflecting visceral obesity, TG concentrations, and BMI in the T1D group, despite normal BMI in these patients. Interestingly, such correlations were not observed in the control group (data not shown). Multivariate regression analysis showed that TRP concentrations were most influenced by BMI and HDL levels in the T1D group. Our results are consistent with the published data⁵ showing an association between higher TRP concentrations and the diagnostic criteria for metabolic syndrome.

Kynurenine Increased KYN levels in the T1D group, as compared with controls, has been observed. Moreover, a strong positive correlation between KYN concentrations and HbA_{1c} and TG levels was shown. Higher KYN concentrations were associated with worse metabolic control of diabetes and appeared to increase with the duration of diabetes, irrespective of age, BMI, or GFR. This may be due to increased formation of advanced glycation end-products in T1D patients with poor glycemic control.¹⁵ This leads to overproduction of reactive oxygen species and release of proinflammatory cytokines. The increase in proinflammatory cytokines, such as interleukin (IL)-1, IL-6, and interferon- γ , stimulates IDO activity in many organs and peripheral tissues, leading to enhanced KYN synthesis.⁵ The observed serum concentrations of KYN could also result from higher plasma TRP concentrations.

The serum KYN concentration depends on its synthesis, glomerular filtration, and metabolic transformations. Higher plasma KYN concentrations were associated with higher albuminuria in the T1D population.¹⁶ Diabetic nephropathy, which is a common complication of diabetes and aggravates with the duration of the disease, leads to impaired renal excretion of various metabolites.

Indirect evaluation of KP enzyme activities showed a decrease in the activity of IDO, TDO, and kynureninase. IDO is involved in the mechanisms of acquired peripheral immune tolerance. Clinical trials showed a decrease in IDO-1 expression in β cells and peripheral blood mononuclear cells of T1D patients.¹⁷ It was also demonstrated that the duration of T1D positively correlated with the degree of IDO activity loss.⁵ Gürcü et al¹³ examined the concentrations of TRP, KYN, and KYN/TRP ratio in the serum of T1D patients and showed their lower concentrations and nonaltered ratio in comparison with controls. However, the study group consisted of patients with higher HbA_{1c} and shorter duration of diabetes than ours, which might explain these differences. Another study comparing the TRP catabolism in the patients with T1D and diabetic neuropathic pain (DNP) (n = 13) and individuals without neuropathy (n = 8) reported higher KYN/TRP ratio and a positive correlation with pain severity in the DNP group.¹⁸ The patients in the DNP group presented 40% higher serum interferon- γ levels than those in the control group, which can indicate a coexisting inflammatory process in diabetic neuropathy. In our study, there were no significant differences in serum concentrations of all KP metabolites in the patients with and without diabetic complications, which might be explained by the limited number of cases with complications (n = 13; 26%).

Anthranilic acid Our research revealed a significant decrease in AA concentrations in the T1D patients in comparison with the control group. It also demonstrated a positive correlation of this metabolite with the pancreatic endocrine reserve and a negative correlation with the WHR value. In contrast, Oxenkrug et al¹⁴ showed higher AA concentration in T1D patients than in healthy individuals, and suggested it might be considered a biomarker of T1D. These discrepancies could be partially due to a different size of the study populations, as the abovementioned study assessed a group of 15 T1D patients. Additionally, a lack of a detailed description of the study group, such as the age of the participants, BMI, duration of diabetes, and diabetes metabolic control parameters, could affect the results, making it difficult to compare with other studies. Furthermore, in the group of patients treated with MDIs and characterized by worse metabolic control of diabetes, we observed lower AA levels than in the CSII-treated group, while there were no differences in the concentration of other KYNs.

Hoffman et al¹² showed an interesting pattern of changes in KP metabolite concentrations during ketoacidosis in a cohort of adolescents with T1D, as they compared KYN concentrations at 3 time points. At the time of the T1D diagnosis accompanied by high glucose values, lower concentrations of TRP, KYN, QA, and XA were observed. In contrast, AA concentrations were the highest at the beginning of the ketoacidosis, and were decreasing over time. These results suggest that AA may be a compound with antidiabetic properties, and its decrease may reflect the metabolic control of diabetes.

3-Hydroxykynurenine 3-HKYN has not yet been well studied in T1D. However, studies conducted in patients with T2D have shown elevated levels of 3-HKYN, and their positive correlation with impaired glucose tolerance, which is also observed in T1D, especially of long duration.^{19,20} Similarly, we observed higher serum concentrations of 3-HKYN in the patients with T1D than in the controls.

Study limitations An important limitation of this study was the small number of participants. Additionally, the lack of serum KYNA, XA, and QA concentrations made it difficult to assess changes in all KP metabolites in T1D. We also did not conduct a nutritional questionnaire, so we did not obtain information on TRP consumption.

Conclusions Upregulation of the KP increases degradation of TRP with simultaneous changes in serum levels of several metabolites in T1D patients. Our findings suggest an impairment of the protective mechanisms through a decreased formation of AA, and an unfavorable change in the KYN transformation toward enhanced synthesis of 3-HKYN, and further formation of its neurotoxic metabolites, such as QA and XA, which may contribute to developing diabetic complications in the patients with T1D.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary material is available at www.mp.pl/paim.

ARTICLE INFORMATION

ACKNOWLEDGMENTS We would like to thank Anna Krentowska, MD, PhD (Medical University of Białystok, Białystok, Poland) for her help with the statistical analysis and her support with writing of the manuscript.

FUNDING The research project was financed by the Medical University of Białystok, Poland (SUB/1/DN/22/002/2228; to MK).

CONFLICT OF INTEREST None declared.

OPEN ACCESS This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License (CC BY-NC-SA 4.0), allowing third parties to copy and redistribute the material in any medium or format and to remix, transform, and build upon the material, provided the original work is properly cited, distributed under the same license, and used for noncommercial purposes only.

HOW TO CITE Kiluk M, Lewkowicz J, Kowalska I, et al. Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes. *Pol Arch Intern Med.* 2023; 133: 16581. doi:10.20452/pamw.16581

REFERENCES

- 1 Ga G, Tig R, Se L, et al. Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: a modelling study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022; 10: 741-760. [↗](#)
- 2 Cieluch A, Araszkiewicz A, Naskręt D, et al. Metabolic control and presence of chronic complications of type 1 diabetes mellitus: 25 years of the Poznan Prospective Study. *Pol Arch Intern Med.* 2023; 133: 16534. [↗](#)
- 3 Zieloniewska NA, Szum-Jakubowska A, Chłabicz M, et al. The prevalence of diabetes and prediabetes: a population-based study. *Pol Arch Intern Med.* 2023; 133: 16407. [↗](#)
- 4 Sibiak R, Mantaj U, Gutaj P, et al. Continuous glucose monitoring parameters in pregnancy-related complications in patients with type 1 diabetes: a retrospective cohort study. *Pol Arch Intern Med.* 2023; 133: 16501. [↗](#)
- 5 Krupa A, Kowalska I. The kynurenine pathway-new linkage between innate and adaptive immunity in autoimmune endocrinopathies. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 9879. [↗](#)
- 6 Liu JJ, Movassat J, Portha B. Emerging role for kynurenines in metabolic pathologies. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2019; 22: 82-90. [↗](#)
- 7 Liu JJ, Raynal S, Bailbé D, et al. Expression of the kynurenine pathway enzymes in the pancreatic islet cells. Activation by cytokines and glucolipotoxicity. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1852: 980-991. [↗](#)
- 8 Pawłowski T, Pawlak D, Inglot M, et al. The role of anthranilic acid in the increase of depressive symptoms and major depressive disorder during treatment for hepatitis C with pegylated interferon- α 2a and oral ribavirin. *J Psychiatry Neurosci.* 2021; 46: E166-E175. [↗](#)
- 9 Ihmaid S. Exploring the dual inhibitory activity of novel anthranilic acid derivatives towards α -glucosidase and glycogen phosphorylase antidiabetic targets: design, in vitro enzyme assay, and docking studies. *Molecules.* 2018; 23: 1304. [↗](#)
- 10 Rogers KS, Evangelista SJ. 3-Hydroxykynurenine, 3-hydroxyanthranilic acid, and α -aminophenol inhibit leucine-stimulated insulin release from rat pancreatic islets. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1985; 178: 275-278. [↗](#)
- 11 Pawlak K, Myśliwiec M, Pawlak D. Kynurenine pathway - a new link between endothelial dysfunction and carotid atherosclerosis in chronic kidney disease patients. *Adv Med Sci.* 2010; 55: 196-203. [↗](#)
- 12 Hoffman WH, Whelan SA, Lee N. Tryptophan, kynurenine pathway, and diabetic ketoacidosis in type 1 diabetes. *PLoS One.* 2021; 16: e0254116. [↗](#)
- 13 Gürcü S, Girgin G, Younlmaz G, et al. Neopterin and biopterin levels and tryptophan degradation in patients with diabetes. *Sci Rep.* 2020; 10: 17025. [↗](#)
- 14 Oxenkrug G, van der Hart M, Summergrad P. Elevated anthranilic acid plasma concentrations in type 1 but not type 2 diabetes mellitus. *Integr Mol Med.* 2015; 2: 365-368. [↗](#)
- 15 Chiu CJ, Rabbani N, Rowan S, et al. Studies of advanced glycation end products and oxidation biomarkers for type 2 diabetes. *Biofactors.* 2018; 44: 281-288. [↗](#)
- 16 Winther SA, Henriksen P, Vogt JK, et al. Gut microbiota profile and selected plasma metabolites in type 1 diabetes without and with stratification by albuminuria. *Diabetologia.* 2020; 63: 2713-2724. [↗](#)
- 17 Anquetil F, Mondanelli G, Gonzalez N, et al. Loss of IDO1 expression from human pancreatic β -cells precedes their destruction during the development of type 1 diabetes. *Diabetes.* 2018; 67: 1858-1866. [↗](#)
- 18 Staats Pires A, Heng B, Tan VX, et al. Kynurenine, tetrahydrobiopterin, and cytokine inflammatory biomarkers in individuals affected by diabetic neuropathic pain. *Front Neurosci.* 2020; 14: 890. [↗](#)
- 19 Shimizu F, Ishii Y, Ogawa M, et al. Plasma levels of tryptophan metabolites in healthy young and old men and women, and patients of type 2 diabetes mellitus (T2DM). *Obes Open Access.* 2018; 4. [↗](#)
- 20 Grzelka-Woźniak A, Uruska A, Szymańska-Garbacz E, et al. Indirect insulin resistance markers are associated with nonalcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes. *Pol Arch Intern Med.* 2023; 133: 16404. [↗](#)

Supplementary material

Kiluk M, Lewkowicz J, Kowalska I, et al. Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes. *Pol Arch Intern Med.* 2023; 133: 16581. doi:10.20452/pamw.16581

Please note that the journal is not responsible for the scientific accuracy or functionality of any supplementary material submitted by the authors. Any queries (except missing content) should be directed to the corresponding author of the article.

Table S1 Baseline characteristics of patients without diabetes (control group) and subjects with type 1 diabetes.

	Control group (n=43)	T1D (n=50)	<i>P</i>
Age, years	40 (28-44)	34.5 (30-51)	0.05
Gender, female/male	22/21	24/26	0.76
BMI, kg/m ²	25.5 (23.21-27.4)	24.05 (21.5-26.1)	0.05
WHR	0.876 (0.85-0.91)	0.853 (0.796-0.904)	0.27
Degree of obesity, % (current weight/ standard weight) x 100	118 (107.0-129.0)	111.5 (97.0-125.0)	0.09
Visceral fat level	11 (7-13)	8.5 (6.0-11.5)	0.12
Body fat mass, kg	22.25 (17.3-29.0)	18.7 (13.2-26.3)	0.08
HR, beats/minute	64.5 (58-75)	75 (69-86)	0.004
Diabetes duration, years	-	9 (2-18)	
Daily insulin dose, units/24h	-	37.25 (25-46.3)	

Table S2 The results of multivariable linear regression analysis in the type 1 diabetes group.

Independent variables	KYN			TRP		
	B	<i>P</i>	95% CI	B	<i>P</i>	95% CI
BMI, kg/m ²	-0.003	0.91	-0.062;0.556	0.937	0.04	0.038;1.836
Age, years	-0.014	0.15	-0.341; 0.006	0.051	0.74	-0.252;0.354
GFR, ml/min	0.007	0.08	-0.001;0.015	0.059	0.33	-0.062; 0.18
HDL, mg/dL	-0.014	0.02	-0.027;-0.002	-0.234	0.02	-0.423;-0.046
HbA1c, %	0.178	0.02	0.03; 0.326	0.853	0.45	-1.409; 3.116
Diabetes duration, years	0.043	0.003	0.015; 0.71	0.214	0.31	-0.21; 0.637
Adjusted R ²	0.35			0.22		


Kynurenine and tryptophan were used as a dependent variable.

Abbreviations: BMI, body mass index; CI, confidence interval; GFR, glomerular filtration rate; HbA1c, glycated hemoglobin; HDL, high-density lipoprotein; KYN, kynurenine; T1D, type 1 diabetes; TRP, tryptophan.

10.2. Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk - review

Review

Crosstalk between Tryptophan Metabolism via Kynurenine Pathway and Carbohydrate Metabolism in the Context of Cardio-Metabolic Risk—Review

Małgorzata Kiluk¹, Janina Lewkowicz¹, Dariusz Pawlak²  and Anna Tankiewicz-Kwedło^{3,*}

¹ Department of Internal Medicine and Metabolic Diseases, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; malgorzatakiluk@gmail.com (M.K.); janina.lewkowicz@umb.edu.pl (J.L.)

² Department of Pharmacodynamics, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; dariusz.pawlak@umb.edu.pl

³ Department of Monitored Pharmacotherapy, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland

* Correspondence: anna.tankiewicz-kwedlo@umb.edu.pl; Tel.: +48-85-748-56-01

Abstract: Scientific interest in tryptophan metabolism via the kynurenine pathway (KP) has increased in the last decades. Describing its metabolites helped to increase their roles in many diseases and disturbances, many of a pro-inflammatory nature. It has become increasingly evident that KP can be considered an important part of emerging mediators of diabetes mellitus and metabolic syndrome (MS), mostly stemming from chronic systemic low-grade inflammation resulting in the aggravation of cardiovascular complications. An electronic literature search of PubMed and Embase up to March 2021 was performed for papers reporting the effects of tryptophan (TRP), kynurenine (KYN), kynurenic acid (KYNA), xanthurenic acid (XA), anthranilic acid (AA), and quinolinic acid (QA), focusing on their roles in carbohydrate metabolism and the cardiovascular system. In this review, we discussed the progress in tryptophan metabolism via KP research, focusing particular attention on the roles in carbohydrate metabolism and its complications in the cardiovascular system. We examined the association between KP and diabetes mellitus type 2 (T2D), diabetes mellitus type 1 (T1D), and cardiovascular diseases (CVD). We concluded that tryptophan metabolism via KP serves as a potential diagnostic tool in assessing cardiometabolic risk for patients with T2D.

Keywords: kynurenine pathway; diabetes mellitus type 2; diabetes mellitus type 1; cardiovascular system; review



Citation: Kiluk, M.; Lewkowicz, J.; Pawlak, D.; Tankiewicz-Kwedło, A. Crosstalk between Tryptophan Metabolism via Kynurenine Pathway and Carbohydrate Metabolism in the Context of Cardio-Metabolic Risk—Review. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 2484. <https://doi.org/10.3390/jcm10112484>

Academic Editors: Paula M. Macedo and John Jones

Received: 28 April 2021

Accepted: 2 June 2021

Published: 4 June 2021

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



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

1. Introduction

Tryptophan (TRP) is an essential exogenous amino acid that intermediates in human protein synthesis and has critical metabolic functions as a substrate for crucial molecules such as serotonin—the neurotransmitter, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), and nicotinic acid [1]. TRP has been the object of numerous research because of its metabolism in a series of bioactive metabolites with the ability to influence many metabolic pathways of numerous cells in mammalian species. The kynurenine pathway (KP) is the hub of metabolism of peripheral TRP (95%) in humans and animals [2]. Additionally, it has been found that the KP plays an important part in several factors, such as immune activation, inflammation, and oxidative stress, which are associated with a variety of metabolic diseases [3].

Diabetes (Diabetes Mellitus—DM) is a heterogeneous group of chronic metabolic disorders that in combination result in hyperglycemia [4]. In data provided by the International Diabetes Federation, in 2019 approximately 463 million adults between 20–79 years (9.3%) had diabetes. It is forecast that in 2045, this number will rise to 700 million (10.9%). In 2019, 374 million people (7.5%) were estimated to be living with impaired glucose tolerance (IGT), which is a direct risk factor for developing diabetes. Furthermore, only in 2019, diabetes caused 4.2 million deaths and is one of the top ten leading causes of death [5], and

DM represents by itself a major risk factor for cardiovascular events, which are the key cause of mortality in DM.

It has been increasingly evident that KP may be involved in the etiology of many chronic metabolic diseases, such as diabetes, metabolic syndrome, and atherosclerosis, which are well-known risk factors of cardiovascular diseases and increased mortality. A recently published review summarizes the role of KP in metabolic disorders including aging, atherosclerosis, obesity and diabetes [6]. The present literature review aims to provide an overview of the current findings of the involvement of kynurenine pathway metabolites in the pathogenesis of carbohydrate metabolism disorders and its associations with cardiovascular complications of diabetes.

Special emphasis was placed on presenting findings from either experimental and clinical studies on the role of particular KP downstream derivatives in carbohydrate metabolism. Moreover, a concise summary of the recent knowledge about KP alteration observed in atherosclerosis, heart failure and chronic artery disease is provided.

Tryptophan Metabolism via the Kynurenine Pathway

KP is the major TRP metabolic route in mammals. Many active metabolites, which are essential for the functioning of the organism, are produced through this pathway, resulting in NAD's biosynthesis. Under physiological conditions, KP is found in almost all mammalian tissues, but mainly in the liver. The process begins when TRP, an exogenous amino acid, is converted to unstable N-formyl-L-kynurenine. This step is catalyzed by two independent enzymes belonging to the oxidoreductase family: tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) and indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) [7]. Then, N-formyl-L-kynurenine is turned into L-kynurenine (KYN) by the action of formaminidase enzyme. At this point, KYN can be converted into three different compounds by three enzymes: (1) kynurenine aminotransferase (KAT), which transaminates to kynurenic acid (KYNA); (2) hydrolyzed to anthranilic acid (AA) by kynureninase A; (3) hydroxylated to 3-hydroxykynurenine (3-HKYN) by kynurenine hydroxylase (KMO) [2]. Usually, the majority of kynurenine is converted to 3-HKYN and then converted to xanthurenic acid (XA) by kynurenine aminotransferase and to 3-hydroxyanthranilic acid (3-HAA) by kynureninase. This last compound is further converted to quinolinic acid (QA) by nonenzymic cyclization and contributes to the production of nicotinamide mononucleotide (NMN) and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), which plays a major role in redox reactions as a crucial cofactor and is significant in energy homeostasis. Figure 1 presents steps of the kynurenine pathway with marked alterations observed in serum during T2D and T1D (described in further sections).

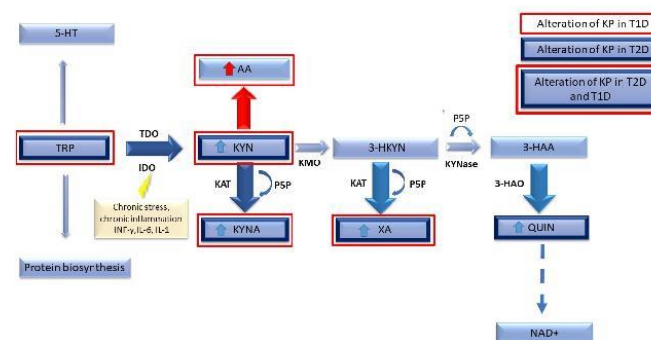


Figure 1. Schematic illustration of the kynurenine pathway (KP), including its serum alteration in type 1 diabetes (T1D) and type 2 diabetes (T2D). Dysregulation of KP in T1D was marked in red. Alterations of TRP catabolism along KP in T2D were marked in dark blue. Alterations of TRP catabolism along KP in T2D and T1D were marked in both red and dark blue. KYNase: kynureninase; 3-HAO: 3-Hydroxyanthranilic Acid Dioxygenase; P5P: Pyridoxal-5-Phosphate.

2. Methods

This review summarizes clinical and experimental studies on the role of KP metabolites in diabetes and cardiometabolic risk factors (such as cardiovascular diseases, heart failure, and atherosclerosis). We conducted a comprehensive search of PubMed and Embase electronic databases retrieving the articles published between 1975 and 2020. The search included the terms “kynurenine pathway”, “tryptophan metabolism”, “indoleamine 2,3-dioxygenase”, “kynurenic acid”, “xanthurenic acid”, “3-hydroxykynurenine”, “3-hydroxyanthranilic acid” and “quinolinic acid” in combination with at least one of the following: “diabetes type 2”, “diabetes type 1”, “metabolic syndrome”, “obesity”, “coronary artery disease”, “heart failure”, “endothelium dysfunction”, “atherosclerosis”, “clinical study”, “in vitro”, “in vivo” and “experimental study”. We also searched references of the retrieved articles to locate other potentially eligible studies. After the initial analysis of the results, duplicate records, papers on neurodegenerative diseases, kidney diseases, bone metabolism, and cancers were removed. The studies analyzing the molecular background of the kynurenine pathway’s role in carbohydrate metabolism, its association with cardiovascular dysfunction, and the possible role of KP metabolites as biomarkers have been summarized.

3. Relevance of Tryptophan and Its Metabolites in Carbohydrate Metabolism

In recent years, a growing body of research-based data has indicated that tryptophan and KP metabolites are involved in alterations of carbohydrate metabolism.

In a study carried out as a part of the Shanghai Diabetes Study (SHDS), it was observed that serum TRP levels were significantly higher in patients who developed type 2 diabetes (T2D) in a 10-year follow-up compared to subjects who remained metabolically healthy. It was also observed that individuals with higher TRP levels presented more advanced insulin resistance (IR) and higher insulin secretion, elevated blood pressure, and triglyceride concentrations. The authors concluded that TRP can be regarded as a new marker associated with the risk of diabetes development in the Chinese population [8].

In turn, Yu E. et al. studied the associations of baseline and 1-year changes of these metabolites of TRP via KP with type 2 diabetes (T2D) incidence. They demonstrated that levels of baseline TRP, and after a follow-up period, increases in quinolinic acid (QA), were positively associated with the incidence of T2D. It was also shown during this observation that changes in TRP metabolites predicted alterations in HOMA-IR [9]. Furthermore, it was confirmed that TRP metabolism may be altered in patients with DM; and by measuring its metabolites, they showed lower levels of TRP in patients with DM than in nondiabetic subjects, which suggests that TRP metabolism may be accelerated. They showed that TRP appears to be more degraded by the KP when plasma TRP levels are high in DM. However, in patients with low TRP levels, the transformations through the serotonin pathway were intensified [10].

Changes in KP were also confirmed in a study of pregnant women in whom a significant increase in the urine concentration of most TRP metabolites was associated with gestational diabetes (GDM) in comparison to 34 healthy controls at every stage of pregnancy [11]. In this study, no correlation was found in maternal plasma levels of TRP and its metabolites between the groups of subjects. Interestingly, it was shown that the KP was activated before placental hormones or the fetoplacental unit could have produced any physiological effect.

In the other data conducted among 2519 individuals with coronary artery disease (CAD) without diabetes at baseline who were observed for a median of 7.6 years, plasma and urine kynurenine: tryptophan ratio (KTR) were evaluated. During the follow-up in 173 subjects (6.9%) a new incidence of T2D was identified. The urine KTR showed a strong positive association with incident type 2 diabetes. However, plasma levels of TRP and KP metabolites seemed to be similar to those in controls without T2D [12].

Experimental models help to understand the changes observed in humans. In animal studies, TRP was shown to regulate insulin and incretin hormones. Furthermore, it was

observed that the addition of TRP to glucose load reduces glucose levels, probably by utilizing glucose via a glucose-mediated insulinotropic polypeptide [13]. A confirmation of these observations is the study by Lin et al., which showed that TRP stimulates the release of insulin from the islets of wild-type control (WT) mice in a dose-dependent manner in the presence of 11.1 mM glucose [14]. Besides, TRP activated the GPR142 receptor belonging to Gαq-coupled receptors with a role that has not yet been fully discovered. However, in the mouse model, GPR142 was confirmed to be a key mediator of TRP activity in insulin secretion [14]. It was proven that oral dosing of TRP inhibited peak glucose in WT mice during the intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) and oral glucose tolerance test (OGTT) as well as rapidly and dose-dependent increased insulin, GIP, and GLP-1 plasma levels, all reaching maximum concentration 5–10 min after TRP administration [14].

Different observations were made in studies performed on non-obese and non-insulin-dependent Goto-Kakizaki (GK) diabetic rats fed a high TRP diet. On day 14 of the experiment, incremental blood glucose levels observed over 2 h (AAUC0–2 h) in rats fed a 3% and 5% TRP diet decreased by 13% and 18%, respectively, compared to GK control rats. However, no significant differences were found in the rats fed the TRP diet compared to the GK control rats. On day 28 of the experiment, there were no significant differences in the AUC0–2h blood glucose levels in any group, including the GK control group [15]. Furthermore, oral TRP supplementation to hereditary T2D rats helped to maintain proper glucose and insulin levels after oral glucose administration. What is interesting is that long-term feeding with tryptophan-enriched chow delayed the onset and progression of diabetes in this rat model. The probable mechanism that explains this phenomenon is the protective effect (of added TRP) from the exhaustion of pancreatic β-cells. Furthermore, it was reported that TRP itself can reduce the absorption of glucose from the small intestine [16] and a lack of this amino acid in the diet caused (reversible) a decreased tolerance to glucose [17]. The observation that TRP inhibits hepatic glucose production in the rat model, whereas in the liver of guinea pigs, TRP does not have any effect on gluconeogenesis, is noteworthy [18]. On the other hand, there are some data that showed that oral administration of TRP and its continuous use may not improve blood glucose in type 2 diabetic rats [19] and a diet high in TRP induces IR in pigs [20]. The discrepancy might be due to different mechanisms involved in carbohydrate metabolism in different species.

Based on the above reports, it is not possible to unequivocally assume the occurrence of an increase or decrease in TRP concentration in the course of carbohydrate disorders. Conducting studies in vivo models (including humans) is required because in vitro studies indicate that an increase in TRP concentration enhances insulin secretion, which may be the mechanism leading to IR.

Another issue that may bring new light to understanding the link between TRP transformation and glucose disorders is the relationship between kynurenes and arylate hydrocarbon receptors (AhR). The AhR is a ligand-activated nuclear receptor that regulates the expression of many genes. It is recognized as an important molecule in regulating immune response, including T-cell differentiation towards Th17 [21], stem cell maintenance, and cellular differentiation [22–24].

It was known to be activated by exogenous ligands, especially toxins (for ex. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-TCDD), until the KYN was discovered to be the first endogenous ligand [24]. As an agonist of AhR, KYN contributes to modulating the levels of reactive oxygen species (ROS) [25]. Moreover, AhR activation by KYN can induce IDO 1, which further promotes a positive feedback loop [26,27]. Recent studies indicate that KYN acts more like a pro-ligand requiring further “activation” to stimulate AHR. The authors based their theory on the observation that for this receptor to be activated, the KYN concentration must be at μM levels, compared with the pM/nM range of other ligands such as 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and tryptophan photo-metabolite 6-formylindolo [3,2-b] carbazole (FICZ) [28,29]. However, in human plasma, KYN reaches concentrations in the order of μM.

The data indicate the involvement of AhR-kynurenine signaling in glucose and lipid metabolism. Biljes et al. observed higher glucose blood levels in AhR deficient mice [30]. On the other hand, Dabir et al. discovered for the first time that high glucose stimulation can rapidly activate AhR in aortic endothelial cells, which activates a potent anti-angiogenic and pro-atherogenic protein, trombospondin-1, and contributes to diabetic vascular complications [31].

What is interesting is that some human studies showed an association between exposure to AhR agonists (especially TCDD) and an increased risk of developing T2D and other metabolic disorders like hyperlipidemia or obesity [32,33]. Table 1 summarizes the most significant findings (in vitro and in vivo) and the effects that support the roles of kynurenines in carbohydrate metabolism.

3.1. Kynurenine (KYN)

KYN, the endogenous ligand of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) transcription factor, is the first stable TRP metabolite with immunomodulatory properties [28]. It was shown that a receptor mechanism can promote differentiation of CD4⁺ effector T cells [34]. Like TRP, KYN easily crosses the blood–brain barrier (BBB) and its concentration in peripheral tissues affects brain concentration [7,35]. It was shown that over 60% of the central KYN amount is derived to the brain from the peripheral circulation [7,29].

KYN undergoes glomerular filtration and almost 100% reabsorption in the renal tubules at low plasma concentrations. However, when its concentration increases, as it was demonstrated in patients with T2D [36], KYN is eliminated to a greater extent by the renal route. This proves the strict regulation of clearance, depending on concentration KYN in plasma. The concentration of TRP metabolites depends on the supply of this amino acid in the diet, therefore, to observe its changes, the ratio of kynurenine:tryptophan (KTR) is used, which provides a more adequate assessment of TRP catabolism than the absolute concentration of KYN [12].

In patients with type 2 diabetes, the plasma levels of TRP and KYN were positively correlated with BMI, which may indicate a relationship between these compounds and obesity [37]. Acute exercise has been shown to directly affect circulating levels of TRP, KYN, and KYNA, suggesting that the KP supports the potential mechanism of exercise benefits to increase resistance to stress-induced depression [12].

It was observed that in patients with T2D one year after bariatric surgery, the levels of TRP and KYN metabolites decreased significantly and correlated with a decrease in usCRP [38]. However, there are slightly different reports, although confirming that obesity was associated with elevated plasma KTR levels, indicating a lack of normalization even after significant weight loss [12].

Evidence that stimulation of the immune system increases the production of KYN in diabetes is the result of experimental studies conducted on hepatocytes isolated from diabetic rats induced by streptozotocin. It was proven that incubation of these cells with [5-3H] L-TRP enhances the synthesis of KYN and QA [39]. On the other hand, another study showed that during the perfusion of freshly isolated, normal rat islets with a submaximal stimulating glucose concentration (11 mM), the addition of 0.1 mM KYN significantly increased insulin secretion. This demonstrates that not only in hepatocytes, but also in pancreatic islets, glucolipototoxicity and inflammation may contribute to the activation of the KP. The modulation of KP in these organs might therefore be considered potential targets for novel therapies [40].

Taking the above into account, the concentration of KYN as a compound with immunomodulatory properties correlates with the degree of stimulation of the immune system and in many cases, though not always, with the degree of obesity. Undoubtedly, the high concentration of KYN observed in the course of diabetes contributes to the release of insulin.

3.2. Kynurenic Acid (KYNA)

Despite the fact that the literature about the exact impact of KP on carbohydrate regulation under physiological conditions is sparse, the available data indicate that KYNA can increase glycemia by autonomic regulation, while inhibiting proinsulin synthesis [41]. This compound is classified as an N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist. The literature data indicate that compounds with this mechanism of action have antidiabetic properties that increase the function and survival of beta cells [42]. Additionally, literature data show that antagonists of NMDA receptors inhibit glucose production induced by NMDA agonists injected into the vagal dorsal nerve complex in rodents. Moreover, it has pro-oxidizing properties [43]. Furthermore, KYNA is a compound that activates the Gpr35 (G protein-coupled receptor). According to recent reports, this mechanism enhances metabolism in adipose tissue and leads to diminishing weight gain in animals fed a high-fat diet and improving glucose tolerance [44].

The serum concentrations of both KYN and KYNA were higher in proliferative diabetic retinopathy (PDR) patients when compared to non-proliferative (NPDR) patients, pointing to the potential contribution of both of these compounds to the pathogenesis of diabetic retinopathy [45]. Interestingly, changes in KP metabolite concentrations can also be observed not only in urine and serum, but also in the saliva of diabetic patients. One study showed significantly elevated KYN and KYNA concentrations in patients with the earlier diagnosed complication of diabetes in the form of gingivitis and periodontitis [46]. Accelerated TRP metabolism can be linked with changes in the oral microorganism profile and chronic inflammation in the periodontal pocket observed in the course of especially hypertensive T2D patients [47]. Experimental studies showed that in the course of diabetes there is an increase in the urinary excretion of KYNA [48]. Moreover, it was observed that KYNA, like XA, preferentially inhibits proinsulin synthesis in isolated rat pancreatic islets [41]. KYNA belongs to the NMDA receptor antagonists. Literature data show that antagonists of these receptors inhibit glucose production induced by NMDA agonists injected into the vagal dorsal nerve complex in rodents [49]. Thus, there are clear indications that KYNA, by centrally regulating glycemia as well as by inhibiting insulin synthesis, plays an important role in carbohydrate metabolism, undoubtedly creating conditions conducive to the impairment of these processes.

3.3. Xanthurenic Acid (XA), 3-hydroxykynurenine (3-HKYN), 3-hydroxyanthranilic Acid (3-HAA), and Quinolinic Acid (QA)

Increased urinary XA excretion was demonstrated in patients with T2D diabetes compared to healthy individuals [50]. Besides the elevated expression of IDO and an increase in the levels of XA, KYN, and 3-HKYN in the serum of patients with diabetic retinopathy was observed [45]. This observation indicates that TRP metabolites play a key role and can most likely be involved in the pathogenesis of diabetic retinopathy by exacerbating oxidative stress. Of all metabolites of the KP, only QA and XA were significantly associated with improved glucose control in diabetes patients after bariatric surgery. It was proved that the one-year QA concentration was negatively associated with the fasting glucose and HbA1c, whereas the XA delta correlated positively with the insulin sensitivity index [38].

Moreover, other KP metabolites, such as 3-hydroxykynurenine (3-HKYN) and 3-hydroxyanthranilic acid (3-HAA), inhibit leucine-induced insulin release from pancreatic islets isolated from rat pancreas [51]. It is also worth mentioning that one of the first data examining the connection between KP and T2D proved *in vivo* in a rat model that xanthurenic acid (XA) can impair the action of insulin by binding to its circulating fraction and then the whole complex combines to the anti-insulin serum [52]. In a pre-clinical study, XA was used as a diabetes inducer in rats [53]. There are four potential mechanisms responsible for XA pathogenesis. (1) The formation of insulin chelate (XA-In) complexes having antigenic properties and 49% less activity than pure insulin [53]; (2) The formation of insulin-Zn ++ complexes in β cells that are toxic to isolated pancreatic islets [54,55];

(3) The inhibition of insulin secretion from rat pancreas [16]; and (4) The initiation of pancreatic beta-cell apoptosis through a caspase-3-dependent mechanism and destruction of mitochondria and nuclei [55,56].

QA is an NMDA receptor agonist responsible for excitatory action in CNS [7,43]. However, its presence was also recently proven in pancreatic cells. These receptors reduce the amount of insulin secreted by β cells in response to stimulating glucose levels. NMDA receptor deletion in mouse islets was proven to increase glucose-induced plasma insulin levels and lower blood glucose levels. In inflammation, as well as in the course of carbohydrate disorders, the death of β -cells with NMDAR expression was observed [42]. In the PREDIMED trial, it was observed that the annual increase in QA, like the baseline TRP, was positively associated with T2D incidence. Besides, both baseline and annual changes in TRP metabolites predicted changes in HOMA-IR [12]. It was demonstrated in a further study that after exposure to QA, the serum level of glucose and total cholesterol was significantly reduced [57].

Table 1. Summary of changes in TRP and its metabolites associated with impaired carbohydrate metabolism and its influence on carbohydrate metabolism in vitro and animal models.

Kynurenine Pathway Metabolite	Effect/Changes	Comments	References
TRP	Across the aging time course increase in the concentration of tryptophan.	The non-obese diabetic (NOD) inbred mouse strain recapitulates the autoimmune nature of T1DM, the NOD-E (transgenic NOD mice that express the I > E heterodimer of the major histocompatibility complex II).	[48]
	Tryptophan stimulates the release of insulin from β cells of the pancreas and incretin hormones via GPR142 signaling.	Wild-type control (WT) mice in a dose-dependent manner in the presence of 11.1 mM glucose.	[14]
	Tryptophan deficiency in the diet can modulate glucose tolerance.	Feeding rats for 14 days with TRP deficient diet caused worse glucose tolerance, and it was reversible after feeding a complete diet.	[17]
	Surplus tryptophan in the diet induces insulin resistance.	Feeding pigs for 3 weeks with a high (13.2%) vs. normal (3.4%) TRP large neutral amino acids (LNAA) diet.	[20]
	Enhanced TRP disappearance from the bloodstream in diabetic rats after a tryptophan load Impaired acute accumulation of TRP in the diabetic rat brains.	Normal vs. streptozotocin-diabetic rats.	[58]
KYN	“Acute exposure to KYN” enhances glucose-induced insulin secretion.	Normal rat islets and the INS-1 β -cell line.	[40]
	Increase in the concentrations of KYNA observed with the progress of T1D.	NOD vs. NOD-E mice.	[48]
KYNA	Fifty percent higher concentrations of KYNA in the serum from Zucker fatty rats.	Leptin-receptor-deficient Zucker fatty rats (ZFR)(fa/fa) vs. age-matched lean rats (FA/-).	[28]
	A 1,8 fold increase in the concentration of KYNA in urine of T2D nonhuman.	Normal vs. spontaneously and naturally diabetic nonhuman primate (rhesus macaques).	[59]
	KYNA inhibit the pro-insulin synthesis.	Isolated rat pancreatic islets, KYNA in millimolar concentrations.	[41]
XA	Increases urine excretion of XA as its complex with Zn ²⁺ .	Alloxan- and streptozotocin-induced diabetic rats.	[55]
	Forms complexes with insulin and reduces insulin activity.	XA-induced diabetic rats.	[53]
	Inhibits pro-insulin synthesis.	Isolated rat pancreatic islets; XA in millimolar concentrations.	[41]
	Induces pancreatic β -cells death.	Damage caused probably via caspase-3 dependent mechanism.	[49]

Table 1. Cont.

Kynurenine Pathway Metabolite	Effect/Changes	Comments	References
3-HKYN3-HAA	Inhibit the leucine stimulated release of insulin at concentrations below 10 mM.	Isolated pancreas islets from rats.	[51]
QA	Inhibitory effect of QA on phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in diabetic rats; in vivo studies showed that intraperitoneal injection of 300 mg/kg ⁻¹ b.wt. initiates reduction of blood glucose level in 1 h after injection, restoring the blood glucose to its normal level at 2 h postinjection and keeping it constant for at least a further 4 h.	Streptozotocin-induced diabetes in rats; in vitro studies in rat's liver.	[60]
	QA-induced increase of brain glucose uptake (55%), (14)CO ₂ generation from glucose, acetate, and citrate was inhibited (up to 60%). QA provokes a mild impairment of brain energy metabolism in vitro.	Thirty-day-old rats.	[61]
	STZ-diabetes mellitus causes augmentations of both KYN and QA generations in the liver, indicating the possibility that the immune and neuronal systems of insulin-dependent diabetes mellitus would be influenced by the increased amounts of KYN and QA.	Streptozotocin-induced diabetes in rats; the hepatocytes isolated from the rats were incubated with [5-3H]L-TRP.	[39]
	QA expression in the retinas of diabetic rats could contribute to the neuronal degeneration that is characteristic of diabetic retinopathy.	Streptozotocin-induced diabetes in rats.	[62]

4. Tryptophan Metabolism in Type 1 Diabetes Compared to Type 2 Diabetes

Far too little is known about disturbances among down-stream kynurenine/tryptophan metabolic shunt in patients with T1D (Type 1 Diabetes—T1D). Although there are some limited but significant data, there are some significant differences between the concentrations of the individual pathway metabolites between patients with T1D and T2D. T1D is associated with significantly elevated levels of anthranilic acid (AA), which has not been observed among patients with T2D in any study yet. Moreover, levels of KYNA and XA are more elevated than previously reported in patients with T2D and healthy ones. Additionally, decreased KTR has been observed in T1D. It is suggested that this specific shift of KP, which leads to excessive production of AA, may be the effect of a vitamin B2 deficiency. Riboflavin is considered to be a cofactor of the enzymatic transformation of KYN to 3-HKYN. Therefore, as a result of its deficit, this metabolic route is changed into a KYN-AA formation. What is interesting is that, in patients with T2D, these alterations of riboflavin serum level have not been observed [63]. These results were in line with the previous study that showed a lack of vitamin B2 in the majority of patients with T1D, but no deficiency was found in healthy ones [64] [Figure 1]. Furthermore, metabolome research conducted on children with T1D revealed elevated TRP catabolites (KYN) in the urine [65].

The impaired immune response and inflammation are the key mechanisms mediating the relationship of TRP transformation via KP and diabetes. IDO (the enzyme catalyzing the first rate-limiting step in KP) is supposed to be the binding factor, which plays its role in dendritic cells.

Many studies showed that IDO is responsible for immunoregulatory tryptophan catabolism. This enzyme is capable of modulating immune cell activation status and phenotype via several molecular mechanisms [66]. The expression of IDO, especially in dendritic cells (DC), has a strong immunomodulating effect and it can induce either immune activation or tolerance depending on the current environmental conditions [67]. DCs are the main antigen-presenting cells, playing an important role in the initiation of autoimmune diabetes in NOD mice (a prototypic animal's model for autoimmune T1D) islet cells [68,69]. In the experimental study, Grohmann U. et al. demonstrated that impaired expression and activity of IDO in pDCs (plasmacytoid dendritic cells) reveals a poor

response to IFN- γ stimulation (the principal IDO inducer *in vitro* and *in vivo*) and impairs the development of immune tolerance to autoantigens in NOD mice [70]. Additionally, it was observed that increased IDO expression in both pancreatic lymph nodes and bone marrow-derived dendritic cells has a protective effect against T1D development [71]. Additionally, Orabona et al. demonstrated that T1D in children was characterized by a remarkable defect in IDO1 function in sera and peripheral blood mononuclear cells in comparison with the control group [72].

Another recent study described, for the first time in humans, a defect (significantly decreased or even absent) of IDO1 expression in pancreatic β -cells from patients with T1D. The decreased IDO expression was also observed in donors without a diabetes diagnosis, but with multiple positive autoantibodies (AAb+). This finding could indicate that loss of IDO function is present before illness begins (in pre-diabetes of T1D) and could lead to developing diabetes. These new insights imply the possible IDO-1 involvement in the early stages of islet dysfunction [73]. It was observed that TRP derivatives may play an important role in neuronal damage development in T1D. Chmiel-Perzyńska et al. demonstrated significantly increased hippocampal KYNA concentrations during DM, either untreated or treated with insulin [74]. Furthermore, experimental data shows that IDO-2 and kynurenine 3-monooxygenase (KMO) are important in neuropathic pain pathology and their inhibition can effectively reduce neuropathic pain [75]. Elevated IDO and QA can contribute to the development of diabetic retinopathy characterized by neuronal degeneration, because their increased expression was observed in both human and rodent retinas [76]. QA is a well-known excitotoxin, whose chronic excessive production via altered KP results in neuroinflammation [77].

These observations put a new light on the pathogenesis of T1D and in the future could contribute to discovering new drugs able to target IDO expression in pancreatic β -cells. However, the available data suggest that the KP could be involved not only in the pathogenesis of diabetes, but also in the development of its complications.

5. Tryptophan Metabolism in Type 2 Diabetes

Patients with T2D have higher levels of urine TRP and KYNA. Similar observations were established in patients with earlier developed diabetic retinopathy [45]. Extensive research conducted by Meyramov G. et al. revealed that some KP metabolites can form chelate complexes with insulin, which directly reduces insulin activity by up to 50%. What is interesting is that, in regular laboratory tests, normal and chelate insulin are indistinguishable [78]. Moreover, it was proven that under physiological conditions, some of the TRP/KYN pathway (TKP) genes are constitutively expressed in rat islet cells (IDO2, KMO, Kase, KAT1-KAT4) [40]. The only exception is transcripts of IDO and ACMSD (enzyme aminocarboxymuconate-semialdehyde-decarboxylase regulating and limiting the formation of QA). Changes in the transcript of these genes were observed after exposition to IFN- γ . These findings are in line with previous research that pancreatic islet cells are also affected by inflammation during obesity and T2D [79].

Several studies on humans confirm that when pancreatic islets are exposed to IFN- γ , increased levels of transcripts encoding IDO were observed following an increase in KYN concentration [79,80]. This supports the findings and points to a strong contribution of inflammatory factors in the pathogenesis of type 2 diabetes [81]. Under this condition, insulin secretion assessed by glucose-induced insulin secretion (GSIS) is impaired, but the data of Liu et al. reported that it can also be improved by the supply of KYN (to normal islets) [40]. It could be a probable protective mechanism that is intended to protect the pancreatic islets from damage caused by the cytotoxic activity of the immune system.

A study carried out on streptozotocin-induced diabetic rats confirmed the involvement of the KP in the control of glucose-induced insulin secretion and hepatic glucose production in the state of T2D. TRP, KYN, and KYNA administration significantly increased insulin secretion from the diabetic isolated pancreas in response to glucose. Furthermore, the same KP metabolites (TRP, KYN, KYNA) in the case of the absence of glucose, induced

a glucagon release (the second hormone produced by islet cells, antagonist to insulin). It was shown that in the hepatic cells of non-diabetic Wistar rats, the supply of TRP and KYN inhibited hepatic glucose production [82]. This data suggests that TRP transformations leading to KYNA formation via indirect KYN may be a protective mechanism in diabetes.

On the other hand, it was also established that the transformation of TRP through the KYN-3-HKYN-XA pathway promotes the formation of metabolites that were more diabetogenic, described in the literature as the “kynurenine hypothesis of insulin resistance and its progression to T2D” [83]. Recently published study results fully support the “hypothesis” that indicates the overproduction of diabetogenic KP metabolites induced by chronic stress and low-grade chronic inflammation, which is crucial to the mechanisms promoting the development of T2D [84]. It is postulated that KP metabolites can serve as T2D biomarkers and future targets for clinical intervention.

Those studies provide a well-supported but intricate interplay between TRP and its metabolites and the development of T2D. Interestingly, some research has discovered decreased TRP levels and higher KYN/TRP ratios in pre-diabetes [85,86]. Further work should be undertaken to explain those differences.

The involvement of KP metabolites in the pathogenesis of diabetes mellitus is presented in Figure 2.

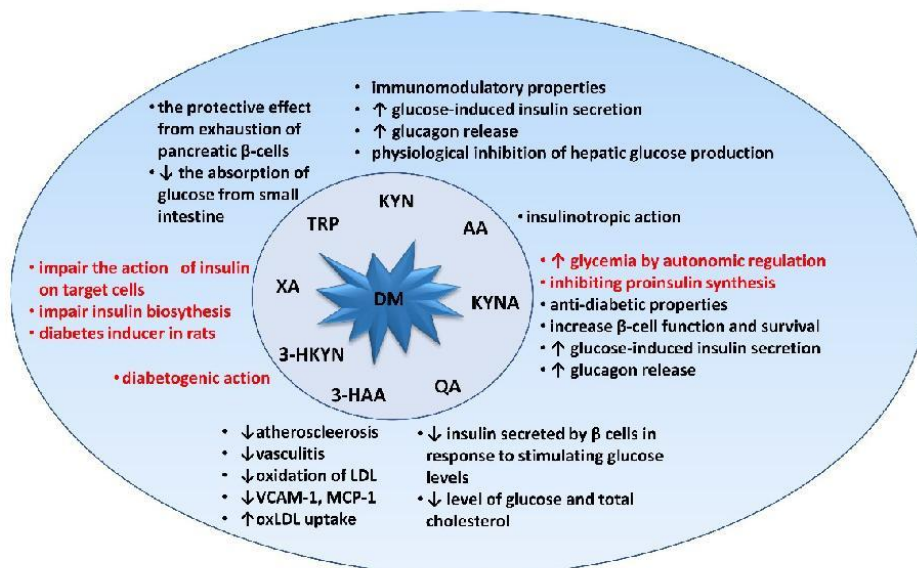


Figure 2. The biological behaviors of kynurenine pathway metabolites and their contribution in metabolic syndrome and T2D. KP appears to be one of the important factors regulating the mechanisms involved in the development of T2DM in the pre-diabetic state.

6. Linking Cardiovascular Diseases to Diabetes and the Kynurenine Pathway

Many years of research have shown that the probability of death from cardiovascular diseases (CVD) in patients with carbohydrate metabolism disorders is comparable to that of people with coronary artery disease (CAD) after myocardial infarction, but without diabetes [87]. The risk of vascular outcomes, including ischemic stroke, vascular deaths, and coronary heart disease, is twice as high in patients with diabetes [88]. CVD is responsible for approximately half of the deaths among patients with T2D, which makes it the leading cause of mortality in this group [89]. However, the most common primary symptoms of cardiovascular complications in T2D are heart failure and peripheral vascular disease [90].

It has been well established that low-grade chronic inflammation, immune activation, and oxidative stress (SOX) are pivotal factors in the pathogenesis of atherosclerosis and CVD. Additionally, there is increasing evidence that the KP has drawn considerable attention to the above-mentioned contributing factor. Accelerated TRP degradation via the kynurenine pathway occurs during immune system activation [91,92]. Notably, the contribution of KP's role in chronic inflammation as a factor of atherosclerosis development and progression has been well documented [34,93].

The link between the immune system and the kynurenine pathway is $\text{INF-}\gamma$ as well as IL-6 and IL-1 [94,95]. These cytokines have been assigned a crucial role in the induction of IDO activity. The increase in TRP degradation via the KP has been proven in patients with confirmed ischemic heart disease [96,97] and atherosclerotic lesions in peripheral arteries [98]. One of the KP metabolites, 3-hydroxyanthranilic (3-HAA), has been presented as an immune regulatory compound that plays its role by inhibiting T cell responses and increasing the number of Tregs [99,100]. Furthermore, some studies imply its significant role in reducing atherosclerotic lesion size in arteries combined with reduced T-cell driven vascular inflammation and decreasing plasma lipid levels (especially VLDL, total cholesterol levels, and TG) [101]. Further investigation conducted by the same study group confirmed IDO involvement in atherosclerotic plaque formation and vascular inflammation. The inhibition of IDO contributed to the remarkable aggravation of atherosclerosis in the aorta by up-regulating VCAM-1, CCL2, and rising CD68 macrophage accumulation in the lesions [102]. These findings were in agreement with the observations of Cole et al., who also demonstrated that loss of IDO resulted in decreasing IL-10 production and modulating plaque composition towards increased macrophage content [98].

A strong positive correlation between IDO activity and neopterin concentration [103], a marker of inflammatory process activity considered a risk stratification factor for cardiovascular events in patients with coronary artery disease and the occurrence of left ventricular dysfunction in patients with angina pectoris, was also observed [104,105]. Moreover, it was proven that vascular endothelial cells can synthesize de novo KYNA from a bioprecursor such as KYN [106,107]. Another study revealed that KYN can also be considered a vasoactive compound that plays its role via the sGC-cGMP-dependent protein kinase pathway [108] in the endothelium and via the activation of the Kv7 channels (voltage-dependent K(+) channels encoded by the KCNQ gene family) in vascular smooth muscles [109]. Further investigation recognized another KP metabolite, XA, as a more efficacious vasodilator than KYN, but the exact molecular mechanism remains unclear and requires elucidation [110].

This information leads one to consider whether plasma kynurenines can be a new risk factor for cardiovascular diseases. Moreover, the data suggest a correlation between early enhanced activation of the KP and poor outcome after post-cardiac arrest shock [111]. Eussen et al. demonstrated that KYN and 3-HKYN are associated with an increased risk of acute coronary events and suggest that the KYN route is involved in the development of ischemic heart disease at the initial stages. Furthermore, the results of this large prospective study show that high plasma KYN and 3-HKYN concentrations are associated with an increased risk of acute coronary incidents in the elderly population [112]. In patients with suspected stable angina pectoris, elevated plasma KYN concentrations increase the risk of acute myocardial infarction [113].

7. Atherosclerosis, Endothelium Dysfunction, and the Pathogenesis of Coronary Artery Disease

In studies conducted on a mouse model, one of the KP metabolites, 3-HKYN, was shown to accelerate endothelium apoptosis and as a result its dysfunction by /via NAD(P)H oxidase up-regulation. This happens because of enhanced superoxide anion production mediated by this enzyme, which promotes oxidation stress in the cells [114]. On the other hand, XA which is a KAT-derived metabolite of 3-HKYN was found to possess potent antioxidant capabilities [115].

Consequently, the 3-HKYN/XA ratio could be considered an issue reflecting the disturbed balance between cell apoptosis and antioxidation properties in the endothelium.

Another aspect that requires to be highlighted is the role of 3-HAA in atherogenesis. It is suggested that 3-HAA plays a role in the control of autoimmunity through a direct influence on T cells and increased antigen presentation by macrophages and dendritic cells. In the literature, 3-HAA has been presented as an immune regulatory compound, which plays its role by inhibiting proinflammatory Th1 and Th2 cells while increasing the number of Tregs. Research on the autoimmune rodent encephalitis model revealed that 3-HAA reduced the inflammation triggered by Th17 cells [116]. Another study conducted on a mouse model of asthma reported that 3-HAA can inhibit NF- κ B, resulting in the death of previously activated Th2 cells [99]. 3-HAA has been demonstrated to be a compound with properties reducing the expression of the vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1, which mediates the adhesion of immunological cells to the vascular endothelium and plays an important role in atherosclerosis development [117]. Moreover, this compound is known for decreasing the secretion of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 in the endothelium, the chemokine responsible for the recruitment of monocytes, T cells, and dendritic cells to the site of inflammation [118].

Zhang et al. reported a significantly decreased oxLDL uptake by macrophages in 3-HAA-treated mice, showing the direct influence of this compound on macrophages. Furthermore, they demonstrated that treatment with 3-HAA led to a significant reduction of CD4+ T cell infiltration in the plaques, increased HDL concentration by stimulating the expression of ApoA1 and ABCA1 genes located in the liver, lowered plasma cholesterol and triglyceride levels, and finally reduced local inflammation in vessels [101]. Interestingly, the authors suggest that the possible mechanism of 3-HAA's action on the immune response of an organism is based on its action on peripheral immune cells rather than its effect on bone marrow. Cole et al. also confirmed that orally administered 3-HAA (3,4-DAA 3,4-dimethoxycinnamoyl anthranilic acid) contributed to the reduction of vascular inflammation and the size of atherosclerotic plaques [98]. Additionally, the role of quinolinic acid (QA), a metabolite of 3-HAA, has been emphasized in many studies. It was found that this metabolite plays a very important role in the dysregulation in the oxidant/antioxidant ratio, and increases the SOX in two ways: (1) by causing mitochondrial dysfunction activating NMDA receptors [119] and (2) increasing free radicals formation [120].

7.1. Role of IDO in the Progression of CVD

Two oxygenases (IDO and TDO) involved in the first and the most important reaction of KP differ in their site of action as well as the factors that activate them. Initially, it was thought that TDO occurs only in the liver in the cytosolic fraction, but recent studies indicate its presence in the epididymis, the testis, the placenta, the pregnant uterus, and the brain [121,122]. The presence of the second enzyme, IDO, was demonstrated in the cytosolic fraction of extrahepatic tissues like the kidneys, spleen, intestine, brain (especially in the hypothalamus), placenta, epididymis, endocrine glands, and monocytes. Nowadays, it is well established that IDO is an important link between the KP and immunoinflammatory response [123,124]. KP metabolites are commonly referred to as anti-inflammatory particles, which also possess the ability to affect auto-tolerance mechanisms [125]. IDO expression takes place in endothelial cells of the vessel wall, the leukocytes present inside them, and smooth muscle cells. This process is stimulated by proinflammatory cytokines such as TNF, IFN- γ , or LPS. It was confirmed that INF- γ , which is a cytokine synthesized by T lymphocytes, influences the regulation of the atherosclerotic plaque [126]. It is being suggested that IDO fulfills an atheroprotective role. The research showed that IDO inhibition using 1-methyl-TRP (1-MT) when given orally resulted in a statistically relevant increase in VCAM-1 expression in tunica media and increased CD68+ macrophage infiltration into the intimal part of the arterial wall of ApoE-/- mouse. This process leads to a relevant increase in the inflammatory process and the consequence of atherosclerotic plaque development progression. Subsequently, it was verified that IDO repression has

an upregulating effect on VCAM-1 protein in the SMC cells grown from human coronary vessels. It was proven that this effect can be reversed using 3-HAA, which was confirmed in previous studies conducted by those authors [102].

Another way in which IDO may influence the progression of atherosclerotic plaque is its ability to induce the immunomodulating functions of B lymphocytes. Its action led to reduced amounts of IL-10 being synthesized by B lymphocytes, which are widely known for their protective effect in the progression of atherosclerosis [103]. Furthermore, it was proven that in the absence of IDO, there is increased infiltration of CD68+ macrophages and CD4+ T lymphocytes. On top of that, reduced amounts of SMC have been noted in the atherosclerotic plaque. What is interesting is that a lack of IDO resulted in increased expression of GATA3 (transacting T-cell specific transcription factor 3), which suggests the facilitation of the Th2 response. The IDO deficiency led to reduced KYN concentrations, while it did not affect TRP concentrations in both IDO positive and negative subjects [120].

Those observations are in line with the data gathered as part of the Tampere Vascular Study, in which enhanced expression of IDO was observed in atherosclerotic plaque highly infiltrated by macrophages [100]. KYNA inhibits the release of TNF and high mobility group box protein 1 (HMGB1) through monocytes and granulocytes [127].

7.2. The Kynurenine Pathway Links Inflammation, Immune Response to Heart Failure

An important role in the pathogenesis of heart failure (HF) has been assigned to monocyte-derived macrophages [128]. Their activation stimulates myocardial fibrosis resulting in unfavorable remodeling of the myocardium [129,130], simultaneously inducing an increased transformation of TRP via the KP. This leads to an accumulation of TRP metabolites in the heart tissue, which is known for its immunological and oxidative properties. Additionally, in both experimental studies and clinical trials on individuals with HF, elevated pro-inflammatory cytokines [131], including INF- γ , which is well known for inducing IDO activity, were observed. According to the research conducted by Jones et al. on human peripheral mononuclear cells (monocytes) treated with INF- γ , significant up-regulation of IDO-1, as well as raised KTR and elevated blood concentration of KYN, 3-HKYN, and QA, were detected, which in contrast did not occur in the INF-stimulated lymphocytes [132]. KTR is considered to be a marker of the cellular immune response, which can reflect the activation of monocytes [133]. Lund et al. hypothesized that myocardial fibrosis, which plays a crucial role in HF progression, could be linked to the excess formation of KP metabolites by activated monocytes [134]. The same study demonstrated the relationship between the increased concentration of kynurenine pathway metabolites (3-HKYN, QA, and XA) and increased mortality in patients with heart failure independent of coexisting CAD [134]. Another recent study reported an association between elevated kynurenine plasma levels and increased NT-proBNP about NYHA class. The severity of CHF correlated with the rate of KYN concentration. Interestingly, KYN (not NT-proBNP) was shown to be a better prediction factor of death among patients with previously diagnosed CHF than the well-known CHF biomarker NT-proBNP [135].

Although elevated KYN plasma levels in HF patients are well established, it was shown that KYN concentration differs significantly among patients with HF depending on the co-existing complications. In a longitudinal observation study, SICA-HF higher KYN values among patients with HF_rEF were detected in those with coexisting arterial hypertension and atrial fibrillation as well as in a group with HF_pEF in those with ischemic etiology. It was also observed that having higher KYN concentrations resulted in a higher risk of death [136]. Figure 3 summarizes the role of KP metabolites in cardiovascular complications.

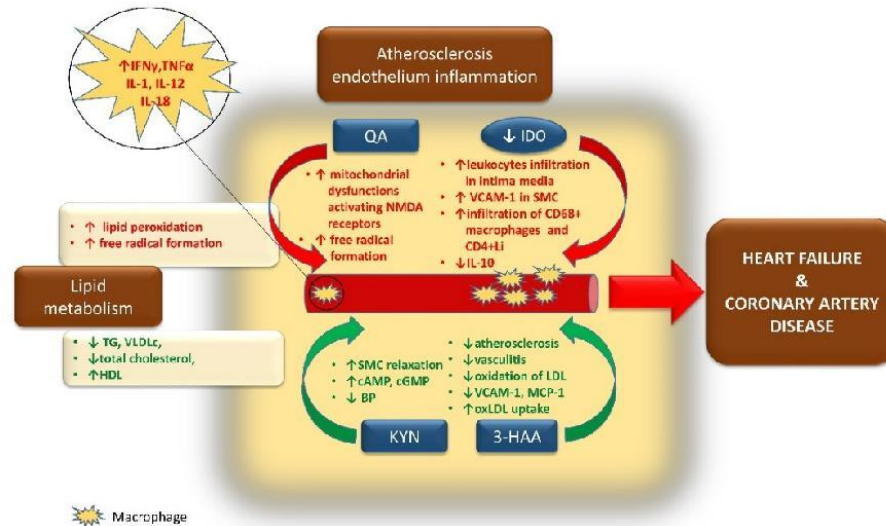


Figure 3. The involvement of kynurenine pathway metabolites in the pathogenesis of heart failure and coronary artery disease.

8. Possible Avenues for Therapeutic Action and Conclusions

It is now clear that TRP metabolism via the kynurenine pathway has multiple important roles in the body, and the increasing research effort in this area is gradually revealing the intricate derivatives of the kynurenine-mediated interplay between diabetes, metabolic disorders, and cardiovascular complications. Although many issues remain hazy, in the presented review of the literature, we outline some potential prospects for therapeutic action.

An impressive amount of data on the reduction of inflammation by some metabolites of KP is available. It might be conceivable to control IDO activity and the amount of bioavailable circulating 3-HAA, and hence to modulate low-grade diabetes-induced inflammation.

Alternatively, it might be possible to enhance endogenous KYN, KYNA production to use their anti-diabetic properties.

Additionally, in T1D, there is some promising suggestion that by restoring IDO function normoglycemia can be restored (for instance by using IL-6 receptor blockers), as was suggested by Orabona C. et al. [72]. It cannot be ruled out that kynurenine derivatives may indirectly become a premise for a completely new concept of diabetes therapy. There are numerous indications that an in-depth exploration of changes in TRP metabolism would accelerate our understanding of the pathogenesis and course of diabetes, contribute to the prevention, early detection, and more effective treatment. The rate at which the role of KP is being clarified in developing DM and its CVD complications makes it certain that in the future TRP metabolism can be pivotal to pharmacotherapeutic approaches to diabetes-induced inflammatory complications in the cardiovascular system.

Understanding the actions of TRP metabolism, as well as the mechanisms regulating the activity of KP enzymes, is extremely important, but still too incomplete to generate well-supported therapeutic hypotheses. If this could be achieved, it would undoubtedly have multiple benefits for personalized and precise diabetes medicine.

Derivatives of the kynurenine pathway (especially KYN, KYNA, XA), because of their ability to interact with specific receptors (such as AhR, NMDAR, Gpr35) expressed in tissues relevant for carbohydrate metabolism (pancreas, adipose tissue, liver), can be considered as modulators of metabolic disorders. Moreover, enhanced IDO expression is observed in atherosclerotic plaques in vascular inflammation, as well as in β -cells in diabetes. According to reviewed literature, IDO should be considered as a novel factor linking diabetes and cardiovascular diseases.

Author Contributions: Conceptualization, A.T.-K.; writing—original draft preparation, M.K., A.T.-K.; writing—review and editing, J.L., A.T.-K.; supervision, D.P.; funding acquisition, M.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Medical University of Białystok, grant number SUB/1/DN/20/003/1208 and SUB/1/DN/21/002/2211.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors thank Irina Kowalska for her assistance with this manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Badawy, A.A. Kynurenine pathway and human systems. *Exp. Gerontol.* **2020**, *129*, 110770. [\[CrossRef\]](#)
2. Badawy, A.A. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *Int. J. Tryptophan Res.* **2017**, *10*, 1178646917691938. [\[CrossRef\]](#)
3. Sas, K.; Szabo, E.; Vecsei, L. Mitochondria, Oxidative Stress and the Kynurenine System, with a Focus on Ageing and Neuroprotection. *Molecules* **2018**, *23*, 191. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Kerner, W.; Bruckel, J.; German Diabetes, A. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **2014**, *122*, 384–386. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Saeedi, P.; Petersohn, I.; Salpea, P.; Malanda, B.; Karuranga, S.; Unwin, N.; Colagiuri, S.; Guariguata, L.; Motala, A.A.; Ogurtsova, K.; 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.* **2019**, *157*, 107843. [\[CrossRef\]](#)
6. Liu, J.J.; Movassat, J.; Portha, B. Emerging role for kynurenines in metabolic pathologies. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2019**, *22*, 82–90. [\[CrossRef\]](#)
7. Takikawa, O.; Yoshida, R.; Kido, R.; Hayaishi, O. Tryptophan degradation in mice initiated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 3648–3653. [\[CrossRef\]](#)
8. Chen, T.; Zheng, X.; Ma, X.; Bao, Y.; Ni, Y.; Hu, C.; Rajani, C.; Huang, F.; Zhao, A.; Jia, W.; et al. Tryptophan Predicts the Risk for Future Type 2 Diabetes. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0162192. [\[CrossRef\]](#)
9. Yu, E.; Papandreou, C.; Ruiz-Canela, M.; Guasch-Ferre, M.; Clish, C.B.; Dennis, C.; Liang, L.; Corella, D.; Fitó, M.; Razquin, C.; et al. Association of Tryptophan Metabolites with Incident Type 2 Diabetes in the PREDIMED Trial: A Case–Cohort Study. *Clin. Chem.* **2018**, *64*, 1211–1220. [\[CrossRef\]](#)
10. Matsuoka, K.; Kato, K.; Takao, T.; Ogawa, M.; Ishii, Y.; Shimizu, F.; Masuda, J.; Takada, A. Concentrations of various tryptophan metabolites are higher in patients with diabetes mellitus than in healthy aged male adults. *Diabetol. Int.* **2016**, *8*, 69–75. [\[CrossRef\]](#)
11. Law, K.P.; Han, T.-L.; Mao, X.; Zhang, H. Tryptophan and purine metabolites are consistently upregulated in the urinary metabolome of patients diagnosed with gestational diabetes mellitus throughout pregnancy: A longitudinal metabolomics study of Chinese pregnant women part 2. *Clin. Chim. Acta* **2017**, *468*, 126–139. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Rebnord, E.W.; Strand, E.; Middtun, O.; Svingen, G.F.T.; Christensen, M.H.E.; Ueland, P.M.; Mellgren, G.; Njolstad, P.R.; Tell, G.S.; Nygard, O.K.; et al. The kynurenine:tryptophan ratio as a predictor of incident type 2 diabetes mellitus in individuals with coronary artery disease. *Diabetologia* **2017**, *60*, 1712–1721. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Ponter, A.A.; Sève, B.; Morgan, L.M. Intra-gastric Tryptophan Reduces Glycemia after Glucose, Possibly via Glucose-Mediated Insulinotropic Polypeptide, in Early-Weaned Piglets. *J. Nutr.* **1994**, *124*, 259–267. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Lin, H.V.; Efanov, A.M.; Fang, X.; Beavers, L.S.; Wang, X.; Wang, J.; Gonzalez Valcarcel, I.C.; Ma, T. GPR142 Controls Tryptophan-Induced Insulin and Incretin Hormone Secretion to Improve Glucose Metabolism. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0157298. [\[CrossRef\]](#)
15. Kuwabara, W.M.T.; Panveloski-Costa, A.C.; Yokota, C.N.F.; Pereira, J.N.B.; Filho, J.M.; Torres, R.P.; Hirabara, S.M.; Curi, R.; Alba-Loureiro, T.C. Comparison of Goto-Kakizaki rats and high fat diet-induced obese rats: Are they reliable models to study Type 2 Diabetes mellitus? *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0189622. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Inubushi, T.; Kamemura, N.; Oda, M.; Sakurai, J.; Nakaya, Y.; Harada, N.; Suenaga, M.; Matsunaga, Y.; Ishidoh, K.; Katunuma, N. L-Tryptophan Suppresses Rise in Blood Glucose and Preserves Insulin Secretion in Type-2 Diabetes Mellitus Rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **2012**, *58*, 415–422. [\[CrossRef\]](#)
17. Wittman, J.S. Alteration of Glucose Tolerance by Dietary L-Tryptophan in Rats. *J. Nutr.* **1976**, *106*, 631–635. [\[CrossRef\]](#)
18. Elliott, K.R.F.; Pogson, C.I.; Smith, S.A. Effects of Tryptophan on Gluconeogenesis in the Rat and the Guinea Pig. *Biochem. Soc. Trans.* **1976**, *4*, 1048–1049. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Imai, E.; Shibata, K. Oral Glucose Tolerance and Tryptophan Metabolism in Non-Obese and Non-Insulin-Dependent Diabetic Goto-Kakizaki Rats Fed High-Tryptophan Diets. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **2018**, *64*, 48–55. [\[CrossRef\]](#)

20. Koopmans, S.J.; Ruis, M.; Dekker, R.; Korte, M. Surplus dietary tryptophan inhibits stress hormone kinetics and induces insulin resistance in pigs. *Physiol. Behav.* **2009**, *98*, 402–410. [[CrossRef](#)]
21. Veldhoen, M.; Hirota, K.; Westendorf, A.M.; Buer, J.; Dumoutier, L.; Renauld, J.-C.; Stockinger, B. The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature* **2008**, *453*, 106–109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Esser, C. The Aryl Hydrocarbon Receptor in Immunity: Tools and Potential. *Methods Mol. Biol.* **2016**, 239–257. [[CrossRef](#)]
23. Rothhammer, V.; Quintana, F.J. The aryl hydrocarbon receptor: An environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* **2019**, *19*, 184–197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Opitz, C.A.; Litztenburger, U.M.; Sahm, F.; Ott, M.; Tritschler, I.; Trump, S.; Schumacher, T.; Jestaedt, L.; Schrenk, D.; Weller, M.; et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature* **2011**, *478*, 197–203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kaiser, H.; Parker, E.; Hamrick, M.W. Kynurenine signaling through the aryl hydrocarbon receptor: Implications for aging and healthspan. *Exp. Gerontol.* **2020**, *130*, 110797. [[CrossRef](#)]
26. Vogel, C.F.A.; Goth, S.R.; Dong, B.; Pessah, I.N.; Matsumura, F. Aryl hydrocarbon receptor signaling mediates expression of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *375*, 331–335. [[CrossRef](#)]
27. Yamamoto, T.; Hatabayashi, K.; Arita, M.; Yajima, N.; Takenaka, C.; Suzuki, T.; Takahashi, M.; Oshima, Y.; Hara, K.; Kagawa, K.; et al. Kynurenine signaling through the aryl hydrocarbon receptor maintains the undifferentiated state of human embryonic stem cells. *Sci. Signal.* **2019**, *12*, eaaw3306. [[CrossRef](#)]
28. Oxenkrug, G.; Cornicelli, J.; van der Hart, M.; Roeser, J.; Summergrad, P. Kynurenine acid, an aryl hydrocarbon receptor ligand, is elevated in serum of Zucker fatty rats. *Integr. Mol. Med.* **2016**, *3*, 761–763.
29. Gál, E.M.; Sherman, A.D. l-Kynurenine Its synthesis and possible regulatory function in brain. *Neurochem. Res.* **1980**, *5*, 223–239. [[CrossRef](#)]
30. Biljes, D.; Hammerschmidt-Kamper, C.; Kadow, S.; Diel, P.; Weigt, C.; Burkart, V.; Esser, C. Impaired glucose and lipid metabolism in ageing aryl hydrocarbon receptor deficient mice. *EXCLI J.* **2015**, *14*, 1153–1163. [[CrossRef](#)]
31. Dabir, P.; Marinic, T.E.; Krukovets, I.; Stenina, O.I. Aryl Hydrocarbon Receptor Is Activated by Glucose and Regulates the Thrombospondin-1 Gene Promoter in Endothelial Cells. *Circ. Res.* **2008**, *102*, 1558–1565. [[CrossRef](#)]
32. Pelcl, T.; Skrha, J.; Prazny, M.; Vlckova, S.; Fenclova, Z.; Navratil, T.; Malik, J.; Diblik, P.; Zikan, V.; Pelclova, D. Diabetes, Cardiovascular Disorders and 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin Body Burden in Czech Patients 50 Years After the Intoxication. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2018**, *123*, 356–359. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Warner, M.; Mocarrelli, P.; Brambilla, P.; Wesselink, A.; Samuels, S.; Signorini, S.; Eskenazi, B. Diabetes, Metabolic Syndrome, and Obesity in Relation to Serum Dioxin Concentrations: The Seveso Women’s Health Study. *Environ. Health Perspect.* **2013**, *121*, 906–911. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Sinclair, L.V.; Neyens, D.; Ramsay, G.; Taylor, P.M.; Cantrell, D.A. Single cell analysis of kynurenine and System L amino acid transport in T cells. *Nat. Commun.* **2018**, *9*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Fukui, S.; Schwarcz, R.; Rapoport, S.I.; Takada, Y.; Smith, Q.R. Blood?Brain Barrier Transport of Kynurenines: Implications for Brain Synthesis and Metabolism. *J. Neurochem.* **1991**, *56*, 2007–2017. [[CrossRef](#)]
36. Møller, S.E. Pharmacokinetics of tryptophan, renal handling of kynurenine and the effect of nicotinamide on its appearance in plasma and urine following L-tryptophan loading of healthy subjects. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1981**, *21*, 137–142. [[CrossRef](#)]
37. Mudry, J.M.; Alm, P.S.; Erhardt, S.; Gojny, M.; Fritz, T.; Caidahl, K.; Zierath, J.R.; Krook, A.; Wallberg-Henriksson, H. Direct effects of exercise on kynurenine metabolism in people with normal glucose tolerance or type 2 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2016**, *32*, 754–761. [[CrossRef](#)]
38. Favennec, M.; Hennart, B.; Verbanck, M.; Pigeyre, M.; Caiazzo, R.; Raverdy, V.; Verkindt, H.; Leloire, A.; Guillemin, G.J.; Yengo, L.; et al. Post-Bariatric Surgery Changes in Quinolinic and Xanthurenic Acid Concentrations Are Associated with Glucose Homeostasis. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0158051. [[CrossRef](#)]
39. Sasaki, N.; Egashira, Y.; Sanada, H. Production of l-tryptophan-derived catabolites in hepatocytes from streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur. J. Nutr.* **2009**, *48*, 145–153. [[CrossRef](#)]
40. Liu, J.J.; Raynal, S.; Bailbe, D.; Gausseres, B.; Carbone, C.; Autier, V.; Movassat, J.; Kergoat, M.; Portha, B. Expression of the kynurenine pathway enzymes in the pancreatic islet cells. Activation by cytokines and glucolipototoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1852*, 980–991. [[CrossRef](#)]
41. Noto, Y.; Okamoto, H. Inhibition by kynurenine metabolites of proinsulin synthesis in isolated pancreatic islets. *Acta Diabetol. Lat.* **1978**, *15*, 273–282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Scholz, O.; Welters, A.; Lammert, E. Role of NMDA Receptors in Pancreatic Islets. *NMDA Recept.* **2017**, 121–134. [[CrossRef](#)]
43. Takikawa, O.; Truscott, R.J.W.; Fukao, M.; Miwa, S. Age-Related Nuclear Cataract and Indoleamine 2,3-Dioxygenase-Initiated Tryptophan Metabolism in the Human Lens. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2003**, 277–285. [[CrossRef](#)]
44. Agudelo, L.Z.; Ferreira, D.M.S.; Cervenka, I.; Bryzgalova, G.; Dadvar, S.; Jannig, P.R.; Pettersson-Klein, A.T.; Lakshminanth, T.; Sustarsic, E.G.; Porsmyr-Palmertz, M.; et al. Kynurenine Acid and Gpr35 Regulate Adipose Tissue Energy Homeostasis and Inflammation. *Cell Metab.* **2018**, *27*, 378–392 e375. [[CrossRef](#)]
45. Munipally, P.K.; Agraharm, S.G.; Valavala, V.K.; Gundae, S.; Turlapati, N.R. Evaluation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression and kynurenine pathway metabolites levels in serum samples of diabetic retinopathy patients. *Arch. Physiol. Biochem.* **2011**, *117*, 254–258. [[CrossRef](#)]

46. Buczko, P.; Stokowska, W.; Górska, M.; Kucharewicz, I.; Pawlak, D.; Buczko, W.I. Tryptophan metabolites via kynurenine pathway in saliva of diabetic patients. *Dent. Med. Prob.* **2006**, *43*, 21–25.
47. Preshaw, P.M.; Alba, A.L.; Herrera, D.; Jepsen, S.; Konstantinidis, A.; Makrilakis, K.; Taylor, R. Periodontitis and diabetes: A two-way relationship. *Diabetologia* **2011**, *55*, 21–31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Murfitt, S.A.; Zaccone, P.; Wang, X.; Acharjee, A.; Sawyer, Y.; Koulman, A.; Roberts, L.D.; Cooke, A.; Griffin, J.L. Metabolomics and Lipidomics Study of Mouse Models of Type 1 Diabetes Highlights Divergent Metabolism in Purine and Tryptophan Metabolism Prior to Disease Onset. *J. Proteome Res.* **2018**, *17*, 946–960. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Oxenkrug, G. Insulin Resistance and Dysregulation of Tryptophan–Kynurenine and Kynurenine–Nicotinamide Adenine Dinucleotide Metabolic Pathways. *Mol. Neurobiol.* **2013**, *48*, 294–301. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Hattori, M.; Kotake, Y.; Kotake, Y. Studies on the urinary excretion of xanthurenic acid in diabetics. *Acta Vitam. Enzym.* **1984**, *6*, 221–228.
51. Rogers, K.S.; Evangelista, S.J. 3-Hydroxykynurenine, 3-Hydroxyanthranilic Acid, and o-Aminophenol Inhibit Leucine-Stimulated Insulin Release from Rat Pancreatic Islets. *Exp. Biol. Med.* **1985**, *178*, 275–278. [[CrossRef](#)]
52. Murakami, E.; Kotake, Y. Studies on the Xanthurenic Acid-Insulin Complex. *J. Biochem.* **1972**, *72*, 251–259. [[CrossRef](#)]
53. Kotake, Y.; Ueda, T.; Mori, T.; Igaki, S.; Hattori, M. Abnormal tryptophan metabolism and experimental diabetes by xanthurenic acid (XA). *Acta Vitam. Enzym.* **1975**, *29*, 236–239.
54. Meyramov, G.; Korchin, V.; Kocheryzkina, N. Diabetogenic activity of xanthurenic acid determined by its chelating properties? *Transplant. Proc.* **1998**, *30*, 2682–2684. [[CrossRef](#)]
55. Ikeda, S.; Kotake, Y. Urinary excretion of xanthurenic acid and zinc in diabetes: (3). Occurrence of xanthurenic acid-Zn²⁺ complex in urine of diabetic patients and of experimentally-diabetic rats. *Ital. J. Biochem.* **1986**, *35*, 232–241.
56. Malina, H.Z.; Richter, C.; Mehl, M.; Hess, O.M. Pathological apoptosis by xanthurenic acid, a tryptophan metabolite: Activation of cell caspases but not cytoskeleton breakdown. *BMC Physiol.* **2001**, *1*, 7. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Kalaska, B.; Ciborowski, M.; Domaniewski, T.; Czyżewska, U.; Godzien, J.; Milyk, W.; Kretowski, A.; Pawlak, D. Serum metabolic fingerprinting after exposure of rats to quinolinic acid. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2016**, *131*, 175–182. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Masiello, P.; Balestreri, E.; Bacciola, D.; Bergamini, E. Influence of experimental diabetes on brain levels of monoamine neurotransmitters and their precursor amino acids during tryptophan loading. *Acta Diabetol. Lat.* **1987**, *24*, 43–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Patterson, A.D.; Bonzo, J.A.; Li, F.; Krausz, K.W.; Eichler, G.S.; Aslam, S.; Tigno, X.; Weinstein, J.N.; Hansen, B.C.; Idle, J.R.; et al. Metabolomics Reveals Attenuation of the SLC6A20 Kidney Transporter in Nonhuman Primate and Mouse Models of Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 19511–19522. [[CrossRef](#)]
60. Dayer, M.R.; Safari, L.; Dayer, M.S. New Evidence on Hypoglycemic Effect of Quinolinic Acid in Diabetic Rats. *Pak. J. Biol. Sci.* **2009**, *12*, 1025–1030. [[CrossRef](#)]
61. Schuck, P.F.; Tonin, A.; da Costa Ferreira, G.; Rosa, R.B.; Latini, A.; Balestro, F.; Perry, M.L.S.; Wannmacher, C.M.D.; de Souza Wyse, A.T.; Wajner, M. In vitro effect of quinolinic acid on energy metabolism in brain of young rats. *Neurosci. Res.* **2007**, *57*, 277–288. [[CrossRef](#)]
62. Suzuki, T.; De Hartog, M.; Gordon, E.E. Relationship of energy production to gluconeogenesis in renal cortical tubules. *J. Cell. Physiol.* **1975**, *86*, 111–119. [[CrossRef](#)]
63. Oxenkrug, G.; der Hart, M.v.; Summergrad, P. Elevated anthranilic acid plasma concentrations in type 1 but not type 2 diabetes mellitus. *Integr. Mol. Med.* **2015**, *2*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Kodentsova, V.M.; Vrzhesinskaia, O.A.; Sokol'nikov, A.A.; Alekseeva, I.A.; Spirichev, V.B. Obmen riboflavina i funkcion-al'no sviazannykh s nim vitaminov gruppy Bpri insulinzavisimom sakharnom diabete [Metabolism of riboflavin and B group vitamins functionally bound to it in insulin-dependent diabetes mellitus]. *Vopr. Med. Khim.* **1993**, *39*, 33–36. [[PubMed](#)]
65. Galderisi, A.; Pirillo, P.; Moret, V.; Stocchero, M.; Gucciardi, A.; Perilongo, G.; Moretti, C.; Monciotti, C.; Giordano, G.; Baraldi, E. Metabolomics reveals new metabolic perturbations in children with type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes* **2017**, *19*, 59–67. [[CrossRef](#)]
66. Yeung, A.W.; Terentis, A.C.; King, N.J.; Thomas, S.R. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in health and disease. *Clin. Sci.* **2015**, *129*, 601–672. [[CrossRef](#)]
67. Pallotta, M.T.; Orabona, C.; Volpi, C.; Vacca, C.; Belladonna, M.L.; Bianchi, R.; Servillo, G.; Brunacci, C.; Calvitti, M.; Bicciato, S.; et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nat. Immunol.* **2011**, *12*, 870–878. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Reizis, B.; Bunin, A.; Ghosh, H.S.; Lewis, K.L.; Sisirak, V. Plasmacytoid Dendritic Cells: Recent Progress and Open Questions. *Annu. Rev. Immunol.* **2011**, *29*, 163–183. [[CrossRef](#)]
69. Gilliet, M.; Cao, W.; Liu, Y.-J. Plasmacytoid dendritic cells: Sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 594–606. [[CrossRef](#)]
70. Grohmann, U.; Fallarino, F.; Bianchi, R.; Orabona, C.; Vacca, C.; Fioretti, M.C.; Puccetti, P. A Defect in Tryptophan Catabolism Impairs Tolerance in Nonobese Diabetic Mice. *J. Exp. Med.* **2003**, *198*, 153–160. [[CrossRef](#)]
71. Androulidaki, A.; Wachsmuth, L.; Polykratis, A.; Pasparakis, M. Differential role of MyD88 and TRIF signaling in myeloid cells in the pathogenesis of autoimmune diabetes. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0194048. [[CrossRef](#)]
72. Orabona, C.; Mondanelli, G.; Pallotta, M.T.; Carvalho, A.; Albin, E.; Fallarino, F.; Vacca, C.; Volpi, C.; Belladonna, M.L.; Berio, M.G.; et al. Deficiency of immunoregulatory indoleamine 2,3-dioxygenase 1 in juvenile diabetes. *JCI Insight* **2018**, *3*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

73. Anquetil, F.; Mondanelli, G.; Gonzalez, N.; Rodriguez Calvo, T.; Zapardiel Gonzalo, J.; Krogvold, L.; Dahl-Jørgensen, K.; Van den Eynde, B.; Orabona, C.; Grohmann, U.; et al. Loss of IDO1 Expression From Human Pancreatic β -Cells Precedes Their Destruction During the Development of Type 1 Diabetes. *Diabetes* **2018**, *67*, 1858–1866. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Chmiel-Perzyńska, I.; Perzyński, A.; Urbańska, E.M. Experimental diabetes mellitus type 1 increases hippocampal content of kynurenic acid in rats. *Pharmacol. Rep.* **2014**, *66*, 1134–1139. [[CrossRef](#)]
75. Rojewska, E.; Ciapała, K.; Piotrowska, A.; Makuch, W.; Mika, J. Pharmacological Inhibition of Indoleamine 2,3-Dioxygenase-2 and Kynurenine 3-Monooxygenase, Enzymes of the Kynurenine Pathway, Significantly Diminishes Neuropathic Pain in a Rat Model. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*. [[CrossRef](#)]
76. Hu, P.; Hunt, N.H.; Arfuso, F.; Shaw, L.C.; Uddin, M.N.; Zhu, M.; Devasahayam, R.; Adamson, S.J.; Benson, V.L.; Chan-Ling, T.; et al. Increased Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Quinolinic Acid Expression in Microglia and Müller Cells of Diabetic Human and Rodent Retina. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2017**, *58*, 5043. [[CrossRef](#)]
77. Lovejoy, D.; Jacobs, K. Inhibiting the kynurenine pathway in spinal cord injury: Multiple therapeutic potentials? *Neural Regen. Res.* **2018**, *13*, 2073. [[CrossRef](#)]
78. Meyramov, G.G.; Meyramova, A.G.A. Diabetogenic Zinc Binding B-Cytotoxic Chemicals: Mechanisms of Action and Methods for Prevention of Diabetes. *J. Obes. Eat. Disord.* **2016**, *2*. [[CrossRef](#)]
79. Sarkar, S.A.; Wong, R.; Hackl, S.I.; Moua, O.; Gill, R.G.; Wiseman, A.; Davidson, H.W.; Hutton, J.C. Induction of Indoleamine 2,3-Dioxygenase by Interferon- γ in Human Islets. *Diabetes* **2006**, *56*, 72–79. [[CrossRef](#)]
80. Wolowczuk, I.; Hennart, B.; Leloire, A.; Bessede, A.; Soichot, M.; Taront, S.; Caiazzo, R.; Raverdy, V.; Pigeyre, M.; Guillemin, G.J.; et al. Tryptophan metabolism activation by indoleamine 2,3-dioxygenase in adipose tissue of obese women: An attempt to maintain immune homeostasis and vascular tone. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2012**, *303*, R135–R143. [[CrossRef](#)]
81. Heilbronn, L.; Campbell, L. Adipose Tissue Macrophages, Low Grade Inflammation and Insulin Resistance in Human Obesity. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 1225–1230. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Autier, V.; Arbellot, A.; Audet, A.; Moinet, G.; Durbin, P.; Kergoat, M. Implication of Kynurenine Pathway in Glucose Metabolism and Insulin Secretion in Type II Diabetes. *Diabetes* **2005**, *54*, A34.
83. Oxenkrug, G.F. Increased Plasma Levels of Xanthurenic and Kynurenic Acids in Type 2 Diabetes. *Mol. Neurobiol.* **2015**, *52*, 805–810. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Muzik, O.; Burghardt, P.; Yi, Z.; Kumar, A.; Seyoum, B. Successful metformin treatment of insulin resistance is associated with down-regulation of the kynurenine pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *488*, 29–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Brandacher, G.; Winkler, C.; Aigner, F.; Schwelberger, H.; Schroecksnadel, K.; Margreiter, R.; Fuchs, D.; Weiss, H. Bariatric Surgery Cannot Prevent Tryptophan Depletion Due to Chronic Immune Activation in Morbidly Obese Patients. *Obes. Surg.* **2006**, *16*, 541–548. [[CrossRef](#)]
86. Yokoi, N.; Beppu, M.; Yoshida, E.; Hoshikawa, R.; Hidaka, S.; Matsubara, T.; Shinohara, M.; Irino, Y.; Hatano, N.; Seino, S. Identification of putative biomarkers for prediabetes by metabolome analysis of rat models of type 2 diabetes. *Metabolomics* **2015**, *11*, 1277–1286. [[CrossRef](#)]
87. Leon, B.M.; Maddox, T.M. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World J. Diabetes* **2015**, *6*, 1246–1258. [[CrossRef](#)]
88. Grant, P.J.; Cosentino, F. The 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur. Heart J.* **2019**, *40*, 3215–3217. [[CrossRef](#)]
89. Einarson, T.R.; Acs, A.; Ludwig, C.; Panton, U.H. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: A systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. *Cardiovasc. Diabetol.* **2018**, *17*. [[CrossRef](#)]
90. Dinesh Shah, A.; Langenberg, C.; Rapsomaniki, E.; Denaxas, S.; Pujades-Rodriguez, M.; Gale, C.P.; Deanfield, J.; Smeeth, L.; Timmis, A.; Hemingway, H. Type 2 diabetes and incidence of a wide range of cardiovascular diseases: A cohort study in 1.9 million people. *Lancet* **2015**, *385*, S86. [[CrossRef](#)]
91. Valdiglesias, V.; Marcos-Pérez, D.; Lorenzi, M.; Onder, G.; Gostner, J.M.; Strasser, B.; Fuchs, D.; Bonassi, S. Immunological alterations in frail older adults: A cross sectional study. *Exp. Gerontol.* **2018**, *112*, 119–126. [[CrossRef](#)]
92. Sorgdrager, F.J.H.; Naudé, P.J.W.; Kema, I.P.; Nollen, E.A.; Deyn, P.P.D. Tryptophan Metabolism in Inflammaging: From Biomarker to Therapeutic Target. *Front. Immunol.* **2019**, *10*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Karlsson, T.; Strand, E.; Dierkes, J.; Drevon, C.A.; Oyen, J.; Midttun, O.; Ueland, P.M.; Gudbrandsen, O.A.; Pedersen, E.R.; Nygard, O. Associations between intake of fish and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and plasma metabolites related to the kynurenine pathway in patients with coronary artery disease. *Eur. J. Nutr.* **2017**, *56*, 261–272. [[CrossRef](#)]
94. Moffett, J.R.; Namboodiri, M.A.A. Tryptophan and the immune response. *Immunol. Cell Biol.* **2003**, *81*, 247–265. [[CrossRef](#)]
95. Schroecksnadel, K.; Frick, B.; Winkler, C.; Fuchs, D. Crucial Role of Interferon- γ and Stimulated Macrophages in Cardiovascular Disease. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **2006**, *4*, 205–213. [[CrossRef](#)]
96. Rudzite, V.; Sileniece, G.; Liepina, D.; Dalmane, A.; Zirne, R. Impairment of Kynurenine Metabolism in Cardiovascular Disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1991**, *663*–667. [[CrossRef](#)]
97. Wirleitner, B.; Rudzite, V.; Neurauter, G.; Murr, C.; Kalnins, U.; Erglis, A.; Trusinskis, K.; Fuchs, D. Immune activation and degradation of tryptophan in coronary heart disease. *Eur. J. Clin. Invest.* **2003**, *33*, 550–554. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

98. Cole, J.E.; Astola, N.; Cribbs, A.P.; Goddard, M.E.; Park, I.; Green, P.; Davies, A.H.; Williams, R.O.; Feldmann, M.; Monaco, C. Indoleamine 2,3-dioxygenase-1 is protective in atherosclerosis and its metabolites provide new opportunities for drug development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 13033–13038. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
99. Hayashi, T.; Mo, J.H.; Gong, X.; Rossetto, C.; Jang, A.; Beck, L.; Elliott, G.I.; Kufareva, I.; Abagyan, R.; Broide, D.H.; et al. 3-Hydroxyanthranilic acid inhibits PDK1 activation and suppresses experimental asthma by inducing T cell apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 18619–18624. [[CrossRef](#)]
100. Lee, W.-S.; Lee, S.-M.; Kim, M.-K.; Park, S.-G.; Choi, I.-W.; Choi, I.; Joo, Y.-D.; Park, S.-J.; Kang, S.-W.; Seo, S.-K. The tryptophan metabolite 3-hydroxyanthranilic acid suppresses T cell responses by inhibiting dendritic cell activation. *Int. Immunopharmacol.* **2013**, *17*, 721–726. [[CrossRef](#)]
101. Zhang, L.; Ovchinnikova, O.; Jönsson, A.; Lundberg, A.M.; Berg, M.; Hansson, G.K.; Ketelhuth, D.F.J. The tryptophan metabolite 3-hydroxyanthranilic acid lowers plasma lipids and decreases atherosclerosis in hypercholesterolaemic mice. *Eur. Heart J.* **2012**, *33*, 2025–2034. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
102. Polyzos, K.A.; Ovchinnikova, O.; Berg, M.; Baumgartner, R.; Agardh, H.; Pirault, J.; Gistera, A.; Assinger, A.; Laguna-Fernandez, A.; Back, M.; et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase promotes vascular inflammation and increases atherosclerosis in Apoe^{-/-} mice. *Cardiovasc. Res.* **2015**, *106*, 295–302. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Weiss, G.; Murr, C.; Zoller, H.; Haun, M.; Widner, B.; Ludescher, C.; Fuchs, D. Modulation of neopterin formation and tryptophan degradation by Th1- and Th2-derived cytokines in human monocyte cells. *Clin. Exp. Immunol.* **1999**, *116*, 435–440. [[CrossRef](#)]
104. De Rosa, S.; Cirillo, P.; Pacileo, M.; Petrillo, G.; D'Ascoli, G.-L.; Maresca, F.; Ziviello, F.; Chiariello, M. Neopterin: From Forgotten Biomarker to Leading Actor in Cardiovascular Pathophysiology. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **2011**, *9*, 188–199. [[CrossRef](#)]
105. Zeng, X.; Zhang, G.; Yang, B.; Zhang, B.; Zhang, L.; Ni, Y.; Liu, C.; Luo, Y. Neopterin as a Predictor of Functional Outcome and Mortality in Chinese Patients with Acute Ischemic Stroke. *Mol. Neurobiol.* **2015**, *53*, 3939–3947. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Stażka, J.; Luchowski, P.; Wielosz, M.; Kleinrok, Z.; Urbańska, E.M. Endothelium-dependent production and liberation of kynurenic acid by rat aortic rings exposed to l-kynurenine. *Eur. J. Pharmacol.* **2002**, *448*, 133–137. [[CrossRef](#)]
107. Rzeski, W.; Zdzisinska, B.; Rejdak, R.; Kocki, T.; Okuno, E.; Kandefers-Szarszen, M.; Zrenner, E.; Turski, W.A.; Parada-Turska, J.; Wejksza, K. Kynurenic acid production in cultured bovine aortic endothelial cells. Homocysteine is a potent inhibitor. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2004**, *369*, 300–304. [[CrossRef](#)]
108. Wang, Y.; Liu, H.; McKenzie, G.; Witting, P.K.; Stasch, J.-P.; Hahn, M.; Changsirivathanathamrong, D.; Wu, B.J.; Ball, H.J.; Thomas, S.R.; et al. Kynurenine is an endothelium-derived relaxing factor produced during inflammation. *Nat. Med.* **2010**, *16*, 279–285. [[CrossRef](#)]
109. Sakakibara, K.; Feng, G.G.; Li, J.; Akahori, T.; Yasuda, Y.; Nakamura, E.; Hatakeyama, N.; Fujiwara, Y.; Kinoshita, H. Kynurenine causes vasodilation and hypotension induced by activation of KCNQ-encoded voltage-dependent K(+) channels. *J. Pharmacol. Sci.* **2015**, *129*, 31–37. [[CrossRef](#)]
110. Fazio, F.; Carrizzo, A.; Lionetto, L.; Damato, A.; Capocci, L.; Ambrosio, M.; Battaglia, G.; Bruno, V.; Madonna, M.; Simmaco, M.; et al. Vasorelaxing Action of the Kynurenine Metabolite, Xanthurenic Acid: The Missing Link in Endotoxin-Induced Hypotension? *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*. [[CrossRef](#)]
111. Ristagno, G.; Latini, R.; Vaahersalo, J.; Masson, S.; Kurola, J.; Varpula, T.; Lucchetti, J.; Fracasso, C.; Guiso, G.; Montanelli, A.; et al. Early activation of the kynurenine pathway predicts early death and long-term outcome in patients resuscitated from out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* **2014**, *85*, S13. [[CrossRef](#)]
112. Eussen, S.J.P.M.; Ueland, P.M.; Vollset, S.E.; Nygård, O.; Midttun, Ø.; Sulo, G.; Ulvik, A.; Meyer, K.; Pedersen, E.R.; Tell, G.S. Kynurenines as predictors of acute coronary events in the Hordaland Health Study. *Int. J. Cardiol.* **2015**, *189*, 18–24. [[CrossRef](#)]
113. Pedersen, E.R.; Tuseth, N.; Eussen, S.J.P.M.; Ueland, P.M.; Strand, E.; Svingen, G.F.T.; Midttun, Ø.; Meyer, K.; Mellgren, G.; Ulvik, A.; et al. Associations of Plasma Kynurenines With Risk of Acute Myocardial Infarction in Patients With Stable Angina Pectoris. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2015**, *35*, 455–462. [[CrossRef](#)]
114. Wang, Q.; Zhang, M.; Ding, Y.; Wang, Q.; Zhang, W.; Song, P.; Zou, M.-H. Activation of NAD(P)H Oxidase by Tryptophan-Derived 3-Hydroxykynurenine Accelerates Endothelial Apoptosis and Dysfunction In Vivo. *Circ. Res.* **2014**, *114*, 480–492. [[CrossRef](#)]
115. Reyes Ocampo, J.; Lugo Huitrón, R.; González-Esquível, D.; Ugalde-Muñoz, P.; Jiménez-Anguiano, A.; Pineda, B.; Pedraza-Chaverri, J.; Ríos, C.; Pérez de la Cruz, V. Kynurenines with Neuroactive and Redox Properties: Relevance to Aging and Brain Diseases. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2014**, *2014*, 1–22. [[CrossRef](#)]
116. Platten, M.; Ho, P.P.; Youssef, S.; Fontoura, P.; Garren, H.; Hur, E.M.; Gupta, R.; Lee, L.Y.; Kidd, B.A.; Robinson, W.H.; et al. Treatment of Autoimmune Neuroinflammation with a Synthetic Tryptophan Metabolite. *Science* **2005**, *310*, 850–855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Park, J.-G.; Ryu, S.Y.; Jung, I.-H.; Lee, Y.-H.; Kang, K.J.; Lee, M.-R.; Lee, M.-N.; Sonn, S.K.; Lee, J.H.; Lee, H.; et al. Evaluation of VCAM-1 antibodies as therapeutic agent for atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* **2013**, *226*, 356–363. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
118. Pae, H.-O.; Oh, G.-S.; Lee, B.-S.; Rim, J.-S.; Kim, Y.-M.; Chung, H.-T. 3-Hydroxyanthranilic acid, one of l-tryptophan metabolites, inhibits monocyte chemoattractant protein-1 secretion and vascular cell adhesion molecule-1 expression via heme oxygenase-1 induction in human umbilical vein endothelial cells. *Atherosclerosis* **2006**, *187*, 274–284. [[CrossRef](#)]
119. Baran, H.; Staniek, K.; Kepplinger, B.; Gille, L.; Stolze, K.; Nohl, H. Kynurenic Acid Influences the Respiratory Parameters of Rat Heart Mitochondria. *Pharmacology* **2001**, *62*, 119–123. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

120. Leipnitz, G.; Schumacher, C.; Scussiato, K.; Dalcin, K.B.; Wannmacher, C.M.D.; Wyse, A.T.D.; Dutra-Filho, C.S.; Wajner, M.; Latini, A. Quinolinic acid reduces the antioxidant defenses in cerebral cortex of young rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2005**, *23*, 695–701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
121. Kozlova, A.; Frédéric, R. Current state on tryptophan 2,3-dioxygenase inhibitors: A patent review. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2019**, *29*, 11–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
122. Yu, C.-P.; Song, Y.-L.; Zhu, Z.-M.; Huang, B.; Xiao, Y.-Q.; Luo, D.-Y. Targeting TDO in cancer immunotherapy. *Med. Oncol.* **2017**, *34*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
123. Stone, T.W.; Connick, J.H. Effects of Quinolinic and Kynurenic Acids on Central Neurons. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1991**, 329–336. [[CrossRef](#)]
124. Mizuguchi, T.; Mitaka, T.; Hirata, K.; Nakamura, T.; Mochizuki, Y. Recovery of mRNA Expression of Tryptophan 2,3-Dioxygenase and Serine Dehydratase in Long-Term Cultures of Primary Rat Hepatocytes. *J. Biochem.* **1996**, *120*, 511–517. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
125. Mellor, A.L.; Munn, D.H. Tryptophan Catabolism and Regulation of Adaptive Immunity. *J. Immunol.* **2003**, *170*, 5809–5813. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
126. Sakash, J.B.; Byrne, G.I.; Lichtman, A.; Libby, P. Cytokines Induce Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in Human Atheroma-Associated Cells: Implications for Persistent Chlamydia pneumoniae Infection. *Infect. Immun.* **2002**, *70*, 3959–3961. [[CrossRef](#)]
127. Wang, J.; Simonavicius, N.; Wu, X.; Swaminath, G.; Reagan, J.; Tian, H.; Ling, L. Kynurenic Acid as a Ligand for Orphan G Protein-coupled Receptor GPR35. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 22021–22028. [[CrossRef](#)]
128. Shahid, F.; Lip, G.Y.H.; Shantsila, E. Role of Monocytes in Heart Failure and Atrial Fibrillation. *J. Am. Heart Assoc.* **2018**, *7*. [[CrossRef](#)]
129. Patel, B.; Bansal, S.S.; Ismahil, M.A.; Hamid, T.; Rokosh, G.; Mack, M.; Prabhu, S.D. CCR2+ Monocyte-Derived Infiltrating Macrophages Are Required for Adverse Cardiac Remodeling During Pressure Overload. *JACC* **2018**, *3*, 230–244. [[CrossRef](#)]
130. Sager, H.B.; Hulsmans, M.; Lavine, K.J.; Moreira, M.B.; Heidt, T.; Courties, G.; Sun, Y.; Iwamoto, Y.; Tricot, B.; Khan, O.F.; et al. Proliferation and Recruitment Contribute to Myocardial Macrophage Expansion in Chronic Heart Failure. *Circ. Res.* **2016**, *119*, 853–864. [[CrossRef](#)]
131. Gullestad, L.; Ueland, T.; Vinge, L.E.; Finsen, A.; Yndestad, A.; Aukrust, P. Inflammatory Cytokines in Heart Failure: Mediators and Markers. *Cardiology* **2012**, *122*, 23–35. [[CrossRef](#)]
132. Jones, S.P.; Franco, N.F.; Varney, B.; Sundaram, G.; Brown, D.A.; de Bie, J.; Lim, C.K.; Guillemin, G.J.; Brew, B.J. Expression of the Kynurenine Pathway in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Inflammatory and Neurodegenerative Disease. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0131389. [[CrossRef](#)]
133. Ueland, P.M.; McCann, A.; Midttun, Ø.; Ulvik, A. Inflammation, vitamin B6 and related pathways. *Mol. Asp. Med.* **2017**, *53*, 10–27. [[CrossRef](#)]
134. Lund, A.; Nordrehaug, J.E.; Sletton, G.; Solvang, S.-E.H.; Pedersen, E.K.; Midttun, Ø.; Ulvik, A.; Ueland, P.M.; Nygård, O.; Giil, L.M. Correction: Plasma kynurenines and prognosis in patients with heart failure. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0230056. [[CrossRef](#)]
135. Dschietzig, T.B.; Kellner, K.H.; Sasse, K.; Boschann, F.; Klusener, R.; Ruppert, J.; Armbruster, F.P.; Bankovic, D.; Meinitzer, A.; Mitrovic, V.; et al. Plasma Kynurenine Predicts Severity and Complications of Heart Failure and Associates with Established Biochemical and Clinical Markers of Disease. *Kidney Blood Press Res.* **2019**, *44*, 765–776. [[CrossRef](#)]
136. Konishi, M.; Ebner, N.; Springer, J.; Schefold, J.C.; Doehner, W.; Dschietzig, T.B.; Anker, S.D.; von Haehling, S. Impact of Plasma Kynurenine Level on Functional Capacity and Outcome in Heart Failure—Results From Studies Investigating Co-morbidities Aggravating Heart Failure (SICA-HF). *Circ. J.* **2017**, *81*, 52–61. [[CrossRef](#)]

11. Streszczenie w języku polskim

Wstęp: Szlak kinureninowy (KP) stanowi główną drogę przemian tryptofanu (TRP), aminokwasu egzogenego, prowadzącą do produkcji bioaktywnych metabolitów m.in. kinureniny (KYN), kwasu kinureninowego (KYNA), 3-hydroksykinureniny (3-HKYN), kwasu antranilowego (AA), 3-hydroksyantranilowego (3-HAA) oraz dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD⁺). Wzrost stężenia 3-HKYN obserwowano u osób z retinopatią cukrzycową, wykazano także jego związek z podwyższonym ryzykiem ostrych incydentów wieńcowych. Natomiast AA jest uznawany za metabolit o właściwościach przeciwhiperglykemicznych. Dane z piśmiennictwa wskazują także, iż w otyłości, cukrzycy typu 2 (T2D), miażdżycy oraz niewydolności serca dochodzi do zaburzeń metabolizmu TRP szlakiem kinureninowym. Jednakże badania uwzględniające zmiany metabolizmu TRP w przebiegu cukrzycy typu 1 (T1D) są nieliczne.

Cel: Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena stężeń wybranych metabolitów szlaku kinureninowego w surowicy oraz moczu pacjentów z T1D w porównaniu z osobami zdrowymi, a także ocena ich związku z parametrami kontroli metabolicznej cukrzycy.

Grupa badana: Badaniem objętych zostało 50 osób z T1D (24 kobiety/26 mężczyzn) w wieku 20- 60 lat z medianą czasu trwania cukrzycy 9 lat (IQR: 2-18) oraz 43 osoby zdrowe stanowiące grupę kontrolną (22 kobiety/21 mężczyzn) dobranych pod względem wieku, płci oraz BMI.

Metody: U wszystkich uczestników oceniono parametry antropometryczne. W surowicy krwi oznaczono stężenie CRP, glukozy, kreatyniny oraz lipidów. Ponadto w grupie uczestników z T1D oceniono odsetek HbA1c oraz funkcję wewnątrzwydzielniczą trzustki za pomocą testu z glukagonem, a także wskaźnik albumina/kreatynina w moczu. Stężenia TRP, KYN, 3-HKYN i AA w surowicy oraz moczu oszacowano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Wyniki oznaczeń wykonanych w moczu znormalizowano względem stężenia kreatyniny w moczu oznaczonej za pomocą metody ELISA.

Wyniki: W surowicy osób z T1D wykazano wzrost stężenia TRP, KYN i 3-HKYN ($p<0,0001$; $p=0,003$; $p<0,0002$) oraz obniżenie stężenia AA ($p=0,003$) i wartości stosunku KYN/TRP, AA/KYN ($p=0,005$; $p=0,041$) w porównaniu do grupy kontrolnej. W moczu pacjentów z T1D zaobserwowano około 10-krotny wzrost stężenia KYN ($p<0,0001$) oraz spadek stężenia 3-HKYN ($p=0,0055$) i AA ($p<0,0001$). W grupie osób z niedostatecznie kontrolowaną cukrzycą (HbA1c>7%; n=33) stwierdzono wzrost stężenia KYN w surowicy ($p=0,011$) oraz spadek

stężenia TRP w moczu ($p=0,048$) w porównaniu z uczestnikami z $HbA1c \leq 7\%$. Wykazano także zależność pomiędzy $HbA1c$ i czasem trwania cukrzycy, a stężeniami KYN ($R=0,422$, $p=0,002$; $R=0,343$; $p=0,015$), a także pomiędzy stężeniami AA, a rezerwą wewnątrzwydzielniczą trzustki ($R=0,72$, $p=0,005$). Analiza regresji wieloczynnikowej wykazała, iż stężenie KYN pozostało zależne od $HbA1c$, stężenia HDL i czasu trwania cukrzycy ($B=0,178$, 95% CI: 0,03;0,326; $B=-0,014$, 95% CI: -0,027;-0,002; $B=0,043$, 95% CI: 0,015;0,71), podczas gdy stężenia TRP były związane z BMI oraz stężeniami HDL ($B=0,937$, 95% CI: 0,038;1,836; $B=-0,234$, 95% CI: -0,423;-0,046), po uwzględnieniu BMI, wieku oraz GFR jako potencjalnych czynników zakłócających.

Wnioski: Niedostateczna kontrola metaboliczna cukrzycy u osób z T1D wiąże się z zaburzeniami metabolizmu TRP, w szczególności obserwowanych w przebiegu pierwszego etapu KP. Przesunięcie metabolizmu TRP w kierunku zwiększonego tworzenia 3-HKYN, przy jednoczesnym obniżeniu stężeń AA, może wiązać się z większym ryzykiem rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy u osób z T1D. Szczegółowe zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw opisanych wyżej zaburzeń stwarza możliwości opracowania nowych strategii terapeutycznych w T1D.

12. Streszczenie w języku angielskim

Introduction: The kynurenine pathway (KP) is the main route of tryptophan (TRP) – an exogenous amino acid- metabolism. It leads to the production of many bioactive compounds including kynurenine (KYN), kynurenic acid (KYNA), 3-hydroxykynurenine (3-HKYN), anthranilic acid (AA), 3-hydroxyanthranilic acid (3-HAA), and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺). Significantly higher concentrations of 3-HKYN were reported in patients with diabetic retinopathy, and it has also been shown to be associated with an increased risk of acute coronary incidents. AA, in contrast, is considered a metabolite with antihyperglycemic properties. Literature data indicate that TRP metabolism via KP is impaired in obesity, type 2 diabetes, atherosclerosis and heart failure. However, studies considering changes in TRP metabolism in type 1 diabetes (T1D) are scarce.

Aim: The purpose of the present dissertation was to evaluate alterations in TRP metabolism via KP in patients with T1D compared to healthy subjects and to assess their association with metabolic control parameters.

Study group: Anthropometric parameters, serum levels of CRP, glucose, creatinine and lipids were assessed in all participants. Additionally, in the T1D group, HbA1c and pancreatic endocrine reserve using the glucagon test were determined, as well as the urine albumin/creatinine ratio. Concentrations of TRP, KYN, 3-HKYN, and AA in serum and urine were estimated by high-performance liquid chromatography (HPLC). The results of the urine assays were normalised against urinary creatinine concentration determined by ELISA.

Methods: In all participants, anthropometric parameters, HbA1c (in the T1D group), serum levels of CRP, glucose, creatinine and lipids were assessed. Serum and urine concentrations of TRP, KYN, 3-HKYN, and AA were estimated by high-performance liquid chromatography (HPLC).

Results: The serum of T1D patients showed an increase in TRP, KYN and 3-HKYN concentrations ($p<0.0001$; $p=0.003$; $p<0.0002$) and a decrease in AA concentrations ($p=0.003$), KYN/TRP, and AA/KYN ratio values ($p=0.005$; $p=0.041$) compared to the control group. In the urine of T1D patients, an approximately 10-fold increase in KYN ($p<0.0001$) and a decrease in 3-HKYN ($p=0.0055$) and AA concentrations ($p<0.0001$) were observed. Participants with inadequately controlled diabetes (HbA1c>7%; n=33) showed an increase in serum KYN concentrations ($p=0.011$) and a decrease in urinary TRP concentrations ($p=0.048$) in

comparison with those with HbA1c $\leq 7\%$. Positive correlations were found between HbA1c, diabetes duration and KYN concentrations ($R=0.422, p=0.002$; $R=0.343, p=0.015$) and between AA concentrations and pancreatic endocrine reserve ($R=0.72, p=0.005$). Multivariable logistic regression analysis revealed the association between KYN concentrations and HbA1C, HDL concentrations and diabetes duration ($B=0.178, 95\% \text{ CI: } 0.03;0.326$; $B=-0.014, 95\% \text{ CI: } -0.027;-0.002$; $B=0.043, 95\% \text{ CI: } 0.015;0.71$, respectively), while BMI and HDL were associated with TRP concentrations ($B = 0.937; 95\% \text{ CI, } 0.038-1.836$; $B = -0.234;95\% \text{ CI, } -0.423 \text{ to } -0.046$, respectively). BMI, age, and GFR were added as potential confounders.

Conclusions: Poor metabolic control of diabetes is associated with impaired TRP metabolism in T1D patients, especially observed at the first step of KP. A shift in TRP metabolism toward the increased formation of 3-HKYN with a concomitant decrease in AA concentrations, may be associated with a greater risk of developing chronic diabetic complications in individuals with T1D. A thorough understanding of the mechanisms underlying the abnormalities described above offers opportunities to develop new therapeutic strategies in T1D.

13. Piśmiennictwo

- 1 Liu J, Ren Z-H, Qiang H, et al. Trends in the incidence of diabetes mellitus: results from the Global Burden of Disease Study 2017 and implications for diabetes mellitus prevention. *BMC Public Health*. 2020; 20: 1415.
- 2 Ga G, Tig R, Se L, et al. Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: a modelling study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022; 10: 741-760.
- 3 Ruiz PLD, Chen L, Morton JI, et al. Mortality trends in type 1 diabetes: a multicountry analysis of six population-based cohorts. *Diabetologia*. 2022; 65: 964-972.
- 4 Mortality and life expectancy statistics. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Mortality_and_life_expectancy_statistics.
- 5 Lind Marcus, Svensson Ann-Marie, Kosiborod Mikhail, et al. Glycemic Control and Excess Mortality in Type 1 Diabetes. *New England Journal of Medicine*. 2014; 371: 1972-1982.
- 6 Costacou T, Edmundowicz D, Prince C, et al. Progression of Coronary Artery Calcium in Type 1 Diabetes Mellitus. *Am J Cardiol*. 2007; 100: 1543-1547.
- 7 Reutens AT. Epidemiology of Diabetic Kidney Disease. *Medical Clinics of North America*. 2013; 97: 1-18.
- 8 Nielsen HB, Ovesen LL, Mortensen LH, et al. Type 1 diabetes, quality of life, occupational status and education level - A comparative population-based study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016; 121: 62-68.
- 9 Savitz J. The kynurenine pathway: a finger in every pie. *Mol Psychiatry*. 2020; 25: 131-147.
- 10 Valdíglesias V, Marcos-Pérez D, Lorenzi M, et al. Immunological alterations in frail older adults: A cross sectional study. *Experimental Gerontology*. 2018; 112: 119-126.
- 11 Stone TW. Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacol Rev*. 1993; 45: 309-379.
- 12 Moffett JR, Namboodiri MA. Tryptophan and the immune response. *Immunology & Cell Biology*. 2003; 81: 247-265.
- 13 Badawy AA-B, Guillemin G. The Plasma [Kynurenine]/[Tryptophan] Ratio and Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Time for Appraisal. *Int J Tryptophan Res*. 2019; 12: 1178646919868978.
- 14 Badawy AA-B. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *Int J Tryptophan Res*. 2017; 10: 1178646917691938.
- 15 Reyes Ocampo J, Lugo Huitrón R, González-Esquível D, et al. Kynurenines with Neuroactive and Redox Properties: Relevance to Aging and Brain Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 646909.
- 16 Lugo-Huitrón R, Blanco-Ayala T, Ugalde-Muñiz P, et al. On the antioxidant properties of kynurenic acid: Free radical scavenging activity and inhibition of oxidative stress. *Neurotoxicology and Teratology*. 2011; 33: 538-547.
- 17 Nahomi RB, Nam M-H, Rankenberg J, et al. Kynurenic Acid Protects Against Ischemia/Reperfusion-Induced Retinal Ganglion Cell Death in Mice. *Int J Mol Sci*. 2020; 21: E1795.
- 18 Pawlowski T, Pawlak D, Inglot M, et al. The role of anthranilic acid in the increase of depressive symptoms and major depressive disorder during treatment for hepatitis C with pegylated interferon- α 2a and oral ribavirin. *J Psychiatry Neurosci*. 2021; 46: E166-E175.
- 19 Liu J-J, Movassat J, Portha B. Emerging role for kynurenines in metabolic pathologies. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2019; 22: 82-90.
- 20 Liu JJ, Raynal S, Bailbé D, et al. Expression of the kynurenine pathway enzymes in the pancreatic islet cells. Activation by cytokines and glucolipotoxicity. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1852: 980-991.

- 21 Noto Y, Okamoto H. Inhibition by kynurenine metabolites of proinsulin synthesis in isolated pancreatic islets. *Acta Diabetol Lat.* 1978; 15: 273-282.
- 22 Ponter AA, Sève B, Morgan LM. Intra-gastric tryptophan reduces glycemia after glucose, possibly via glucose-mediated insulinotropic polypeptide, in early-weaned piglets. *J Nutr.* 1994; 124: 259-267.
- 23 Chen T, Zheng X, Ma X, et al. Tryptophan Predicts the Risk for Future Type 2 Diabetes. *PLoS One.* 2016; 11: e0162192.
- 24 Murfitt SA, Zaccane P, Wang X, et al. Metabolomics and Lipidomics Study of Mouse Models of Type 1 Diabetes Highlights Divergent Metabolism in Purine and Tryptophan Metabolism Prior to Disease Onset. *J Proteome Res.* 2018; 17: 946-960.
- 25 Huang T, Song J, Gao J, et al. Adipocyte-derived kynurenine promotes obesity and insulin resistance by activating the AhR/STAT3/IL-6 signaling. *Nat Commun.* 2022; 13: 3489.
- 26 Rebnord EW, Strand E, Midttun Ø, et al. The kynurenine:tryptophan ratio as a predictor of incident type 2 diabetes mellitus in individuals with coronary artery disease. *Diabetologia.* 2017; 60: 1712-1721.
- 27 Sun J, Shi J, Li J, et al. The Effect of Immunosuppressive Adjuvant Kynurenine on Type 1 Diabetes Vaccine. *Front Immunol.* 2021; 12: 681328.
- 28 Rogers KS, Evangelista SJ. 3-Hydroxykynurenine, 3-hydroxyanthranilic acid, and o-aminophenol inhibit leucine-stimulated insulin release from rat pancreatic islets. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1985; 178: 275-278.
- 29 Ihmaid S. Exploring the Dual Inhibitory Activity of Novel Anthranilic Acid Derivatives towards α -Glucosidase and Glycogen Phosphorylase Antidiabetic Targets: Design, In Vitro Enzyme Assay, and Docking Studies. *Molecules.* 2018; 23: 1304.
- 30 Jahan H, Choudhary MI, Manzoor M, et al. Insulinotropic action of 2, 4-dinitroanilino-benzoic acid through the attenuation of pancreatic beta-cell lesions in diabetic rats. *Chem Biol Interact.* 2017; 273: 237-244.
- 31 Rojewska E, Ciapała K, Piotrowska A, et al. Pharmacological Inhibition of Indoleamine 2,3-Dioxygenase-2 and Kynurenine 3-Monooxygenase, Enzymes of the Kynurenine Pathway, Significantly Diminishes Neuropathic Pain in a Rat Model. *Front Pharmacol.* 2018; 9: 724.
- 32 Munipally PK, Agraharm SG, Valavala VK, et al. Evaluation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression and kynurenine pathway metabolites levels in serum samples of diabetic retinopathy patients. *Arch Physiol Biochem.* 2011; 117: 254-258.
- 33 Polyzos KA, Ovchinnikova O, Berg M, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase promotes vascular inflammation and increases atherosclerosis in Apoe^{-/-} mice. *Cardiovasc Res.* 2015; 106: 295-302.
- 34 Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18: 499-502.
- 35 Hervé C, Beyne P, Jamault H, Delacoux E. Determination of tryptophan and its kynurenine pathway metabolites in human serum by high-performance liquid chromatography with simultaneous ultraviolet and fluorimetric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* 1996; 675: 157-161.
- 36 Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, et al. L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications. *Int J Tryptophan Res.* 2009; 2: 45-60.
- 37 Luo S, Yue T, Liu Z, et al. Gut microbiome and metabolic activity in type 1 diabetes: An analysis based on the presence of GADA. *Front Endocrinol.* 2022; 13.
- 38 Özer Y, Cansever MŞ, Turan H, et al. Pteridine and tryptophan pathways in children with type 1 diabetes: Isoxanthopterin as an indicator of endothelial dysfunction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2024; 243: 116072.

- 39 Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014; 18: 1-14.
- 40 Dutta T, Kudva YC, Persson X-MT, et al. Impact of Long-Term Poor and Good Glycemic Control on Metabolomics Alterations in Type 1 Diabetic People. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101: 1023-1033.
- 41 Dewulf JP, Martin M, Marie S, et al. Urine metabolomics links dysregulation of the tryptophan-kynurenine pathway to inflammation and severity of COVID-19. *Sci Rep*. 2022; 12: 9959.
- 42 Galderisi A, Pirillo P, Moret V, et al. Metabolomics reveals new metabolic perturbations in children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2018; 19: 59-67.
- 43 Baudrand R, Campino C, Carvajal CA, et al. Increased urinary glucocorticoid metabolites are associated with metabolic syndrome, hypoadiponectinemia, insulin resistance and β cell dysfunction. *Steroids*. 2011; 76: 1575-1581.
- 44 Møller SE. Pharmacokinetics of tryptophan, renal handling of kynurenine and the effect of nicotinamide on its appearance in plasma and urine following L-tryptophan loading of healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. 1981; 21: 137-142.

14. Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach

Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji:

„Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Iriny Kowalskiej, Dariusza Pawlaka, Katarzyny Łagody, Anny Tankiewicz-Kwedło opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine*, 2023;133(11):16581.

Imię i nazwisko współautora	Charakter udziału	Procentowy wkład
doktorant lek. Małgorzata Kiluk	stworzenie koncepcji pracy, rekrutacja pacjentów, zebranie i opracowanie danych literaturowych, przygotowanie i zredagowanie manuskryptu, zatwierdzenie ostatecznej wersji publikacji	64
dr n. med. Janina Lewkowicz	ocena merytoryczna pracy, korekta manuskryptu	3
prof. dr hab. n. med. Irina Kowalska	ocena merytoryczna pracy, korekta manuskryptu, zatwierdzenie ostatecznej wersji publikacji	10
prof. dr hab. n. med. Dariusz Pawlak	ocena stężeń metabolitów tryptofanu metodą HPLC, ocena merytoryczna, zatwierdzenie ostatecznej wersji publikacji	11
dr n. med. Katarzyna Łagoda	pobieranie materiału do badań	2
dr hab. Anna Tankiewicz- Kwedło	pomoc przy stworzeniu koncepcji pracy, ocena stężeń metabolitów tryptofanu metodą HPLC, ocena merytoryczna, korekta manuskryptu, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji	10

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższej publikacji w pracy doktorskiej lek. Małgorzaty Kiluk.

Małgorzata Kiluk

Potwierdzam opisany powyżej merytoryczny wkład kandydata w powstanie publikacji wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej.

Anna Tankiewicz-Kwedło

Białystok, 21.05.2024r.

Dr n. med. Janina Lewkowicz
Klinika Chorób Wewnętrznych
i Chorób Metabolicznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A
15-276 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Iriny Kowalskiej, Dariusza Pawlaka, Katarzyny Łagody, Anny Tankiewicz-Kwedło opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 3%, polegał na ocenie merytorycznej pracy oraz korekcie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, 21.05.2024r.

Prof. dr hab. n. med. Irina Kowalska
Klinika Chorób Wewnętrznych
i Chorób Metabolicznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A
15-276 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: *„Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes”* autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Iriny Kowalskiej, Dariusza Pawlaka, Katarzyny Łagody, Anny Tankiewicz-Kwedlo opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej *„Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1”*, wynoszący 10%, polegał na ocenie merytorycznej pracy, korekcie manuskryptu oraz zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

I. Kowalska

Białystok, 21.05.2024r.

Prof. dr hab. n. med. Dariusz Pawlak
Zakład Farmakodynamiki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2C
15-222 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Iriny Kowalskiej, Dariusza Pawłaka, Katarzyny Łagody, Anny Tankiewicz-Kwedło opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 11%, polegał na ocenie stężeń metabolitów tryptofanu, ocenie merytorycznej pracy oraz zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK
Zakładu Farmakodynamiki

prof. dr hab. Dariusz Pawlak

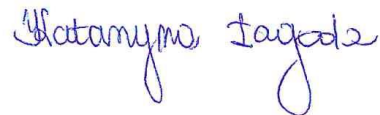
Białystok, 21.05.2024r.

Dr n. med. Katarzyna Łagoda
Klinika Chorób Wewnętrznych
i Chorób Metabolicznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A
15-276 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Iriny Kowalskiej, Dariusza Pawlaka, Katarzyny Łagody, Anny Tankiewicz-Kwedlo opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 2%, polegał na pobieraniu materiału do badań.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, 21.05.2024r.

Dr hab. Anna Tankiewicz-Kwedło
Zakład Farmakodynamiki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2C
15-222 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Alterations of the kynurenine pathway in patients with type 1 diabetes are associated with metabolic control of diabetes*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Iriny Kowalskiej, Dariusza Pawlaka, Katarzyny Łagody, Anny Tankiewicz-Kwedło opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 10%, polegał na pomocy przy stworzeniu koncepcji pracy, ocenie stężeń metabolitów tryptofanu, ocenie merytorycznej, korekcie manuskryptu oraz zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

ADIUNKT
Zakładu Farmakodynamiki
Anna Tankiewicz-Kwedło
dr hab. Anna Tankiewicz-Kwedło

Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji:

„Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk- review” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Dariusza Pawlaka, Anny Tankiewicz-Kwedło, opublikowanej w *J Clin Med*. 2021;10(11):2484.

Imię i nazwisko współautora	Charakter udziału	Procentowy wkład
doktorant lek. Małgorzata Kiluk	stworzenie koncepcji pracy, zebranie i opracowanie danych literaturowych, przygotowanie i zredagowanie manuskryptu, zatwierdzenie ostatecznej wersji publikacji	70
dr n. med. Janina Lewkowicz	ocena merytoryczna pracy, korekta manuskryptu, zatwierdzenie ostatecznej wersji publikacji	10
prof. dr hab. n. med. Dariusz Pawlak	ocena merytoryczna, zatwierdzenie ostatecznej wersji publikacji	5
dr hab. Anna Tankiewicz- Kwedło	pomoc przy stworzeniu koncepcji pracy, ocena merytoryczna, korekta manuskryptu, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji	15

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższej publikacji w pracy doktorskiej lek. Małgorzaty Kiluk.

Małgorzata Kiluk

Potwierdzam opisany powyżej merytoryczny wkład kandydata w powstanie publikacji wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej.

Anna Tankiewicz-Kwedło

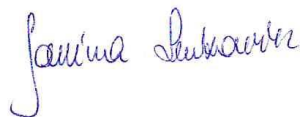
Białystok, 21.05.2024r.

Dr n. med. Janina Lewkowicz
Klinika Chorób Wewnętrznych
i Chorób Metabolicznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A
15-276 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk- review*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Dariusza Pawlaka, Anny Tankiewicz-Kwedło, opublikowanej w *Journal of Clinical Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 10%, polegał na ocenie merytorycznej pracy, korekcie manuskryptu oraz zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Białystok, 21.05.2024r.

Prof. dr hab. n. med. Dariusz Pawlak
Zakład Farmakodynamiki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2C
15-222 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk- review*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Dariusza Pawlaka, Anny Tankiewicz-Kwedło, opublikowanej w *Journal of Clinical Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 5%, polegał na ocenie merytorycznej pracy oraz zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK
Zakładu Farmakodynamiki

prof. dr hab. Dariusz Pawlak

Białystok, 21.05.2024r.

Dr hab. Anna Tankiewicz-Kwedło
Zakład Farmakodynamiki
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Mickiewicza 2C
15-222 Białystok

Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „*Crosstalk between tryptophan metabolism via kynurenine pathway and carbohydrate metabolism in the context of cardio-metabolic risk- review*” autorów: Małgorzaty Kiluk, Janiny Lewkowicz, Dariusza Pawlaka, Anny Tankiewicz-Kwedło, opublikowanej w *Journal of Clinical Medicine*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „*Ocena metabolizmu tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z cukrzycą typu 1*”, wynoszący 15%, polegał na pomocy przy stworzeniu koncepcji pracy, ocenie merytorcznej, korekcie manuskryptu oraz zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez lekarz Małgorzatę Kiluk publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

ADIUNKT
Zakładu Farmakodynamiki
Anna Tankiewicz-Kwedło
dr hab. Anna Tankiewicz-Kwedło

15. Zgoda Komisji Bioetycznej

UNIWERSYTET MEDYCZNY
w Białymstoku
KOMISJA BIOETYCZNA
5-086 Białystok, ul. Jana Kińskiego 1

Białystok, 19-12-2019

Uchwała nr: R-I-002/641/2019

Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, po zapoznaniu się z projektem badania zgodnie z zasadami GCP/ Guidelines for Good Clinical Practice /- **w y r a ż a z g o d ę** na prowadzenie tematu badawczego: „Wskaźnik kinurenina/tryptofan jako marker uszkodzenia układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z cukrzycą typu 1” przez lek. Małgorzatę Kiluk wraz z zespołem badawczym z UMB.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej UMB

prof. dr hab.  Otylia Kowal-Bielecka