

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Bak-Csiha Sára

**Az oxidatív stressz és a késői glikációs végtermékek
(AGE-k) változásának vizsgálata diabeteses
neuropathiában és Hashimoto-thyreoiditisben**

DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2026

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Az oxidatív stressz és a késői glikációs végtermékek (AGE-k)
változásának vizsgálata diabeteses neuropathiában és
Hashimoto-thyreoiditisben**

Bak-Csiha Sára

Témavezető: Dr. Berta Eszter



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2026

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés	9
2. Irodalmi áttekintés	11
2.2 Késői glikációs végtermékek (AGE-k)	12
2.3 Hashimoto - thyreoiditis	18
2.3.1 Patomechanizmus, szövődmények	20
2.3.2 Terápiás lehetőségek	21
2.4 A 2-es típusú diabetes mellitus	22
2.4.1 A T2DM patomechanizmusa, szövődményei	24
2.4.2 A diabeteszes perifériális neuropathia (DSPN)	27
2.4.2.1 Terápiás lehetőségek	28
2.5 Az alfa-liponsav (ALA)	30
3. Célkitűzések	33
Kutatásunk során a következő kérdésekre kerestük a választ:	33
4. Anyagok és Módszerek	34
4.1 Beteg és kontroll csoportok	34
4.1.1 Hashimoto thyreoditisben szenvedő betegcsoport és kontroll csoport	34
4.1.2 2-es típusú diabetes mellitusban és diabeteszes neuropathiában szenvedő beteg és kontroll csoport	34
4.2 Mintagyűjtés és laboratóriumi paraméterek mérése	36
4.3 Antropometriai paraméterek mérése	36
4.4 Szérum AGE és sRAGE szintek meghatározása	36
4.5 A pajzsmirigyhormonok és az anti-TPO szérum szintjének meghatározása	37
4.7 Szérum progranulin, ADMA, sICAM-1, sVCAM-1, TNFα, oxLDL, és VEGF szintek mérése.	37
4.10 Nitrit koncentráció meghatározása	38
4.11 Autonóm és perifériás idegi funkciók mérése	39
4.12 Statisztikai módszerek	40
5. Eredmények	41
5.1 A Hashimoto-thyreoditisben szenvedő betegcsoport és kontroll csoport eredményei	41
5.2 2-es típusú diabetes mellitusban és diabeteszes neuropátiában szenvedő beteg és kontroll csoport eredményei	47
6. Megbeszélés	55

6.1 A Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő betegcsoport és kontroll csoport.....	55
6.2 2-es típusú diabetes mellitusban és diabeteszes neuropataiban szenvedő beteg és kontroll csoport.....	60
7. Összefoglalás.....	69
8. Summary.....	72
9. Tárgyszavak.....	75
10. Köszönetnyilvánítás.....	76
11. Irodalom.....	78

Rövidítések jegyzéke

AcLDL: acetilált alacsony sűrűségű lipoprotein

ADMA: aszimmetrikus dimetil-arginin

AGE: késői glikációs végtermék

AGER-1: 1-es típusú előrehaladott glikációs végtermék receptor

AGER-2: 2-es típusú előrehaladott glikációs végtermék receptor

AGER-3: 3-as típusú előrehaladott glikációs végtermék receptor

ALA: alfa-liponsav

ALC: acetyl-l-karnitin

ANOVA: varianciaanalízis

anti-TPO: tireoperoxidáz elleni antitest

anti-TG: tireoglobulin elleni antitest

BCKDH: elágazó láncú 2-ketoacid dehidrogenáz

BMI: testtömegindex

CAS: összetett autonóm pontszám

CEL: karboxi-etil-lizin

cIMT: carotis intima-media vastagság

CML: karboxil-metil-lizin

CPT: áramérzet küszöbérték

CRP: C-reaktív protein

CV: variabilitási koefficiens

CVD: kardiovaszkuláris megbetegedés

DN4: Douleur Neuropathique 4 kérdőív

DNS: dezoxiribonukleinsav

DOLD: 1,3-di(Nε-lizino)-4-(2,3,4-trihidroxi-butil)-imidazólium

DRG: dorzális gyökérganglionok

DSPN: disztális szimmetrikus polineuropathia

ECM: extracelluláris mátrix

ELISA: enzimhez kötött immunoszorbens assay

eNOS: endotheliális nitrogén-monoxid szintetáz

FEEL-1/FEEL-2: laminin típusú EGF-szerű és linkdomént tartalmazó scavenger receptor-1/laminin típusú EGF-szerű és linkdomént tartalmazó scavenger receptor-2

fl-RAGE: teljes RAGE receptor

fT4: szabad tiroxin

fT3: szabad trijód-tironin

GCS: glicin-hasító rendszer

GLP-1: glukagon-szerű peptid-1

HbA1c: hemoglobin A1c

HDL: nagy sűrűségű lipoprotein

HT: Hashimoto-thyreoiditis

hsCRP: nagy érzékenységű C-reaktív protein

IAPP: sziget-amiloid polipeptid

ICAM-1: intercelluláris adhézios molekula 1

JNK: c-Jun amino terminális kináz

2-KGDH: 2-ketoglutarát-dehidrogenáz komplex

LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein

LT4: levothyroxin

MAPK/ERK: mitogén-aktivált protein kináz / extracelluláris jel szabályozta kináz útvonal

MCP-1: monocita kemoattraktáns fehérje-1

MG-H1: metilglioxálból származó hidroimidazon-1

MHC III: fő hisztokompatibilitási komplex III

MMP-2: mátrix metalloproteináz -2

NAC: N-acetilcisztein

NDDS: új gyógyszerleadó rendszerek

NFκB: nukleáris faktor- kappa B

NGF: idegnövekedési faktor

NO: nitrogén-monoxid

NOS: nitrogén-monoxid szintetáz

NTSS-6: Neuropathy Total Symptom Score-6

oxLDL: oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein

RAGE: AGE receptor

PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor-1

PDHC: piruvát-dehidrogenáz komplex

PGRN: progranulin

ROS: reaktív oxigén gyökök

RNS: reaktív nitrogén gyökök

PKC: protein kináz-C

sICAM-1: szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1

SR: scavenger receptor

SR-A: A osztályú scavenger (tisztogató) receptor

SR-B: B osztályú scavenger (tisztogató) receptor

SR-BI: B osztályú scavenger (tisztogató) receptor I. típus

SRE: E osztályú scavenger (tisztogató) receptor

sRAGE: solubilis AGE receptor

sVCAM-1: szolubilis vaszkuláris adhézión molekula -1

T2DM: 2-es típusú diabetes mellitus

TG: triglicerid

TGF- β : transzformáló növekedési faktor- β

Th: helper T-sejt

TNF - α : tumor nekrozis faktor - α

TSH: tiroidea stimuláló hormon

VCAM-1: vaszkuláris sejtadhézión molekula-1

VEGF: vaszkuláris endoteliális növekedési faktor

1. Bevezetés

A késői glikációs végtermékek (advanced glycation end products, AGE-k) fehérjék, lipidek vagy nukleinsavak nem-enzimatis reakciója során képződő irreverzibilis molekulák heterogén csoportja. Az AGE-k kulcsszerepet játszanak az öregedésben, fiziológiás körülmények között is felhalmozódnak a szervezetben, azonban tartósan fennálló hiperglikémia, oxidatív stressz és gyulladásos állapotok tovább fokozzák a képződésüket. Ezen felül exogén módon élelmiszerekkel és dohányzással is bekerülnek a szervezetbe. Az AGE-k kóros felhalmozódása gyorsíthatja az öregedést, hosszú távon krónikus betegségek és szövődményeik kialakulásához, illetve azok progressziójához vezet. Az AGE-k képesek módosítani fehérjék szerkezetét és funkcióját, érrendszeri és szöveti károsodásokhoz vezetve, valamint a késői glikációs végtermékek receptora (receptor for advanced glycation endproducts, RAGE) aktiválásával különböző gyulladásos jelátviteli útvonalakat indítanak el [1, 2].

Autoimmun pajzsmirigybetegségek, mint például a Hashimoto-thyreoiditis esetén a krónikus gyulladás és a fokozott oxidatív stressz elősegíti az AGE-k képződését és felhalmozódását a pajzsmirigy szövetében, ami hozzájárulhat a szöveti károsodások és a kóros autoimmun mechanizmusok fokozódásához [3]. Ezzel összhangban a diabetes mellitus különböző típusaiban, különösen a 2-es típusú diabetes esetén, a tartósan jelen lévő emelkedett vércukorszint jelentősen fokozza az AGE-k képződését és akkumulációját. Az AGE-k ezáltal hozzájárulnak a makro- és mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásához, úgy, mint a retinopathia, nefropathia, neuropathia, illetve kardiovaszkuláris elváltozásokhoz [4].

A diabeteszes neuropathia és a Hashimoto-thyreoiditis kialakulásában egyaránt komoly szerepe van a glikációs végtermékek okozta oxidatív stressznek. Terápiás szempontból fontos olyan új stratégiák fejlesztése melyek elsősorban az AGE szintek csökkentésére, az oxidatív stressz mérséklésére és ezáltal a reaktív szabadgyökök felszabadulásának gátlására fókuszálnak. Többek között az alfa-liponsav, mint erős antioxidáns és mitokondriális koenzim, képes csökkenteni az AGE-k által indukált oxidatív károsodást, javítani a perifériás idegek anyagcseréjét, és mérsékelni a neuropátiás tüneteket. Összességében a késői glikációs végtermékek és azok szöveti hatásai központi szerepet játszanak mind a

Hashimoto-thyreoiditis, mind a diabetes különböző típusainak szövődményeiben, különösen a neuropathiás elváltozások kialakulásában.

2. Irodalmi áttekintés

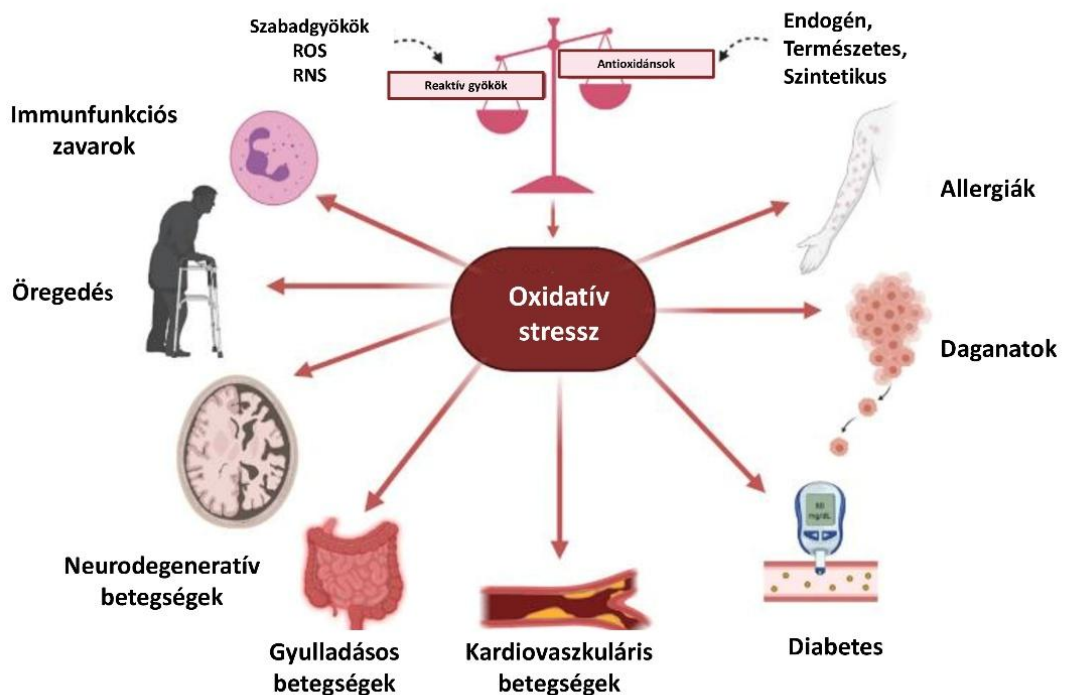
2.1 Az oxidatív stressz

Selye János 1936-ban határozta meg és vezette be a „stressz” fogalmát a mellékvese adaptív válaszainak vizsgálata kapcsán, amellyel megalapozta a modern stresszélettan tudományát. Selye megfigyelte, hogy a különböző károsító hatások, melyek lehetnek fizikai, kémiai vagy pszichológiai eredetűek, hasonló, nem specifikus élettani válaszokat váltanak ki a szervezetben. 1976-ban megjelent tanulmányában a stresszt úgy definiálta, mint *„a szervezet nem specifikus válasza bármilyen megterhelésre vagy igénybevételre”*. Az 1980-as évek közepén a stressz fogalmának molekuláris síkon történő tovább gondolása vezetett az oxidatív stressz elméletének kidolgozásához, mely azóta a biológia, kémia, biokémia és orvostudomány számos területén intenzív kutatások középpontjába került. Az oxidatív stressz olyan fiziológiai állapot, amely a sejtek redox-egyensúlyának felborulásával jár és reaktív oxigén-, illetve nitrogéngyökök (ROS és RNS) túlermelődéséhez vezet, ami meghaladja a szervezet antioxidáns kapacitását. Alapvetően a ROS fiziológiás szintje elengedhetetlen az intracelluláris és intercelluláris jelátvitel, valamint a sejtnövekedés és differenciálódás szabályozásában, de az emelkedett ROS-termelés felborítja az egyensúlyt és kóros láncreakciók sorozatát indíthatja el [5]. Ez a folyamat sejtszintű károsodásokat eredményez, beleértve a lipidperoxidációt, fehérjék módosulását és a dezoxiribonukleinsav (DNS) károsodását. Végsősoron pedig hozzájárul számos betegség és szövődményeinek kialakulásához, köztük szív- és érrendszeri, neurodegeneratív és autoimmun rendellenességek, a daganatos megbetegedések, a cukorbetegség megjelenéséhez, valamint kulcsszerepet játszik az öregedés folyamatában (1. ábra).

Hashimoto-thyreoiditisben (HT) a krónikus pajzsmirigy-gyulladás és az autoimmun folyamatok fokozzák a szabadgyök-termelést, ami hozzájárulhat a szöveti károsodáshoz és a hormonális egyensúlyzavarokhoz. Hasonlóan, 2-es típusú diabetes mellitusban a tartós hiperglikémia fokozza az AGE-k képződését és tovább növeli az oxidatív stressz szintjét, elősegítve a diabeteszes perifériás polyneuropathia (DSPN) kialakulását. Az oxidatív stressz molekuláris markereinek vizsgálata mindkét betegcsoportban lehetőséget nyújt a betegség

patofiziológiájának részletesebb megértésére, valamint a terápiás beavatkozások, például a levothyroxin- vagy alfa-liponsavas (ALA) kezelés hatásainak megfigyelésére.

Az oxidatív stressz napjainkban kutatási területként intenzív figyelemnek örvend világszerte, így az ezzel kapcsolatba hozható betegségek gyakorisága folyamatosan emelkedik, és folyamatosan bővítve tudásunkat az oxidatív stressz pleiotrop kóroki szerepéről (1. ábra).

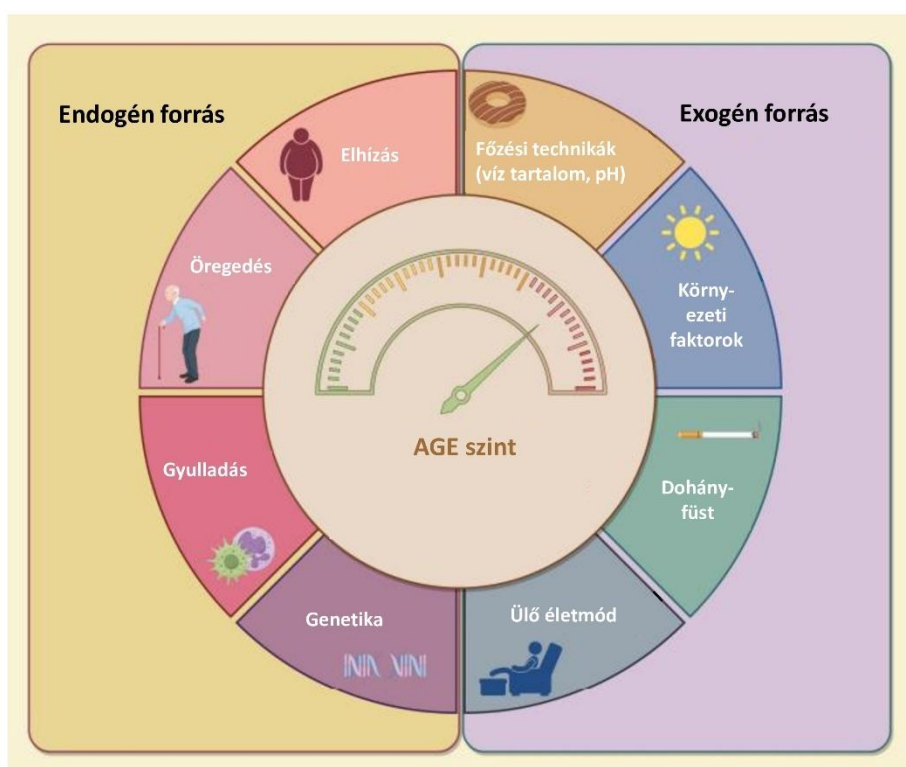


1. ábra: A fokozott oxidatív stressz jelentősen növeli a krónikus betegségek kialakulásának kockázatát [6].

2.2 Késői glikációs végtermékek (AGE-k)

Az AGE-k irreverzibilis adduktumok heterogén csoportját képezik, fehérjék, nukleinsavak és lipidek nem enzimatis glikációja és oxidációja során keletkeznek [1, 7]. Alapvetően exogén és endogén forrásból származnak (2. ábra), lassan ürülnek ki a véráramból, ezért élethosszig tartó felhalmozódásra képesek. Meghatározó szerepet játszanak az öregedésben, valamint különböző betegségek és szövődényeik kialakulásában [2, 8]. Az exogén forrásokból származó AGE-

k, nagy mennyiségben található meg a feldolgozott, magas hőmérsékleten elkészített, grillezett, magas zsír- és fehérjetartalmú ételekben [9]. Emellett a dohányzás is jelentős külső AGE-forrásnak számít. Az AGE-k kulcsszerepet töltenek be az öregedési folyamatban, valamint számos betegség és szövődmény kialakulásában, többek között a metabolikus szindrómában, a 2-es típusú diabetes mellitusban, a daganatos betegségekben, az atherosclerosisban és az autoimmun pajzsmirigy-betegségekben [10].

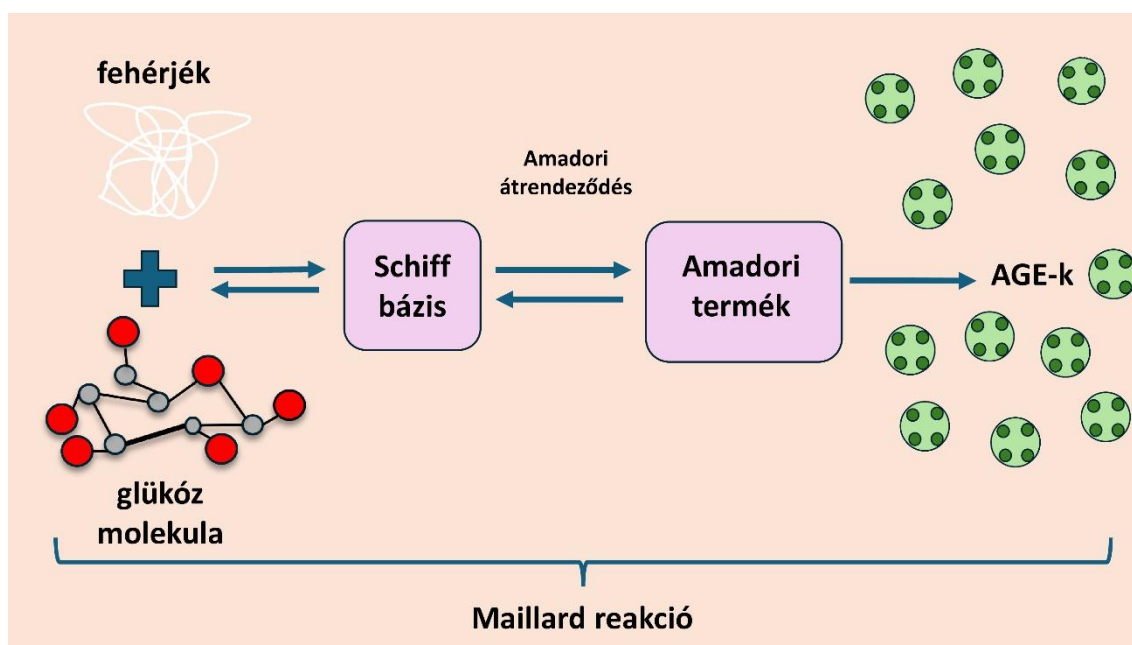


2. ábra. Az AGE-k forrásai, és felhalmozódásukat befolyásoló tényezők [11].

Továbbá az AGE-k és receptoraik jelentős hatással vannak a pajzsmirigy alakulására és progressziójára, amely növekvő előfordulása fontos közegészségügyi problémát jelent. Ez a megemelkedett incidencia részben olyan környezeti tényezőknek tulajdonítható, mint például az elhízás [8, 12].

Az AGE-k a klasszikus Maillard-reakció során jönnek létre (3. ábra), amikor a redukáló cukrok nem enzimatis módon kapcsolódnak a fehérjék, lipidek vagy nukleinsavak aminocsoportjaihoz. A folyamat egy Schiff-bázis kialakulásával

indul, majd Amadori-átrendeződéssel és az azt követő oxidatív módosulásokkal (glikoxidáció) folytatódik, amelynek eredményeként AGE-k képződnek. Ezt a folyamatot a 3. ábra szemlélteti [4]. Normál élettani viszonyok között az AGE-k csak mérsékelt mennyiségben képződnek, azonban tartósan fennálló hiperglikémia esetén a fokozott glükóz-hozzáférés miatt termelődésük jelentősen felgyorsul, így az AGE-k szintje jelentős emelkedést mutat cukorbetegknél, különösen, ha a veseműködés is károsodott.



3. ábra. AGE-k keletkezése.

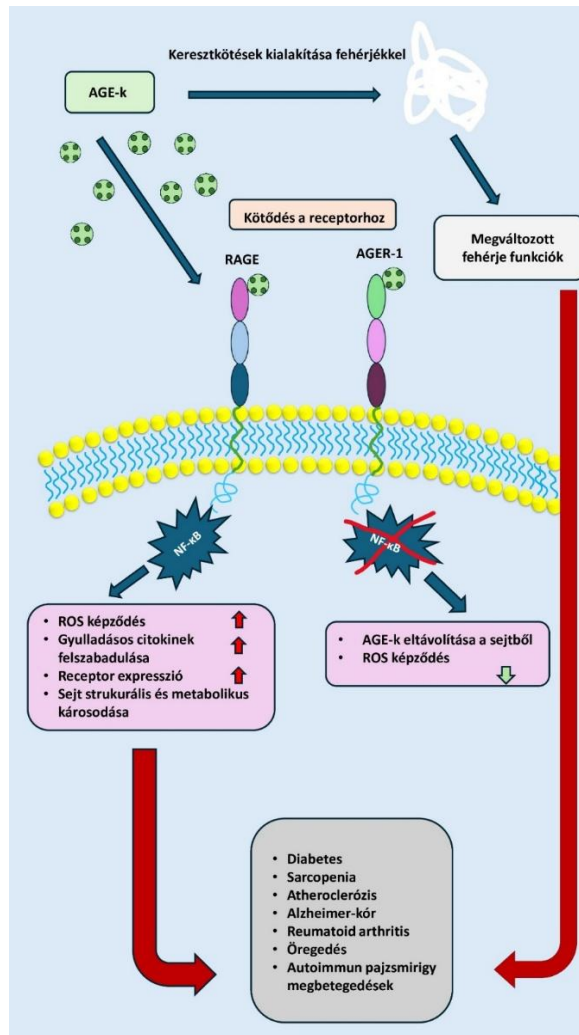
Az AGE-k számos membránhoz kötött, sejtfelszíni receptorral rendelkeznek (1. táblázat), amelyek aktiválásukat követően különféle jelátviteli útvonalakat indíthatnak el. Egyes receptoraik, mint például az 1-es típusú előrehaladott glikációs végtermék receptor (AGER-1), segítenek az AGE-k eltávolításában a szervezetből, mások, mint például a RAGE, számos jelátviteli útvonalat indít el úgy, mint a MAPK/ERK, TGF- β , c-Jun amino terminális kináz (c-Jun N-terminal kinases, JNK) és a nukleáris faktor kappa B (NF- κ B) jelátviteli útvonal.

1. táblázat. AGE receptor variánsok és celluláris funkcióik. [13],[9]

AGE receptor	Funkció
RAGE	Endocitózis, signaling (sejt aktiválás), ROS képződés, gyulladásoos válasz.
AGER1	Endocitózis, AGE-k és AGE módosított fehérjék degradációja, védelem az oxidatív stresszel szemben.
AGER2	Signaling (sejt aktiválás), glükózidáz II szabályzó alegysége.
AGER3	Signaling, sejt aktiválás.
SR-A	Endocitózis, AGE-k és AGE módosított fehérjék és az LDL degradációja.
SR-B	Endocitózis, AGE-k és AGE módosított fehérjék degradációja, sejt adhézió, zsírsav-transzport szabályzása.
SR-BI	HDL szelektív felvétele, endocitózis, AGE-k és AGE módosított fehérjék degradációja.
SRE	Signaling, az oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein (oxLDL) endocitotikus felvétele és degradációja.
FEEL-1/FEEL-2	Endocitózis, AGE-k és AGE módosított fehérjék, hialuronsav és AcLDL degradációja.

Rövidítések: AGER1, AGER2, AGER3; késői glikációs végtermékek receptora-1, -2 és -3, FEEL-1/FEEL-2; laminin típusú EGF-szerű és linkdomént tartalmazó scavenger receptor-1/laminin típusú EGF-szerű és linkdomént tartalmazó scavenger receptor-2, SR-A; A osztályú scavenger (tisztogató) receptor, SR-B; B osztályú scavenger (tisztogató) receptor, SR-BI; B osztályú scavenger (tisztogató) receptor I típus, SRE; E osztályú scavenger receptor, RAGE; késői glikációs végtermékek receptora, oxLDL; oxidált LDL, AcLDL; acetylált LDL.

Ezek közül az NF- κ B útvonal aktiválásával fokozzák a receptor expresszióját, a gyulladásoos citokinek felszabadulását, az oxidatív stresszt és a ROS képződését. A fokozott oxidatív stressz további endogén AGE-k képződéséhez vezethet. Ezáltal egy öngerjesztő folyamat alakul ki, amely hosszú távon hozzájárulhat a krónikus betegségek és szövödményeik kialakulásához (4. ábra). Emellett az AGE-k képesek fehérjékkel keresztlinkkések kialakítására, így megváltoztatva azok működését, ami szintén szerepet játszik az AGE-hez köthető kórképek széles körének pathogenezisében [2],[9].

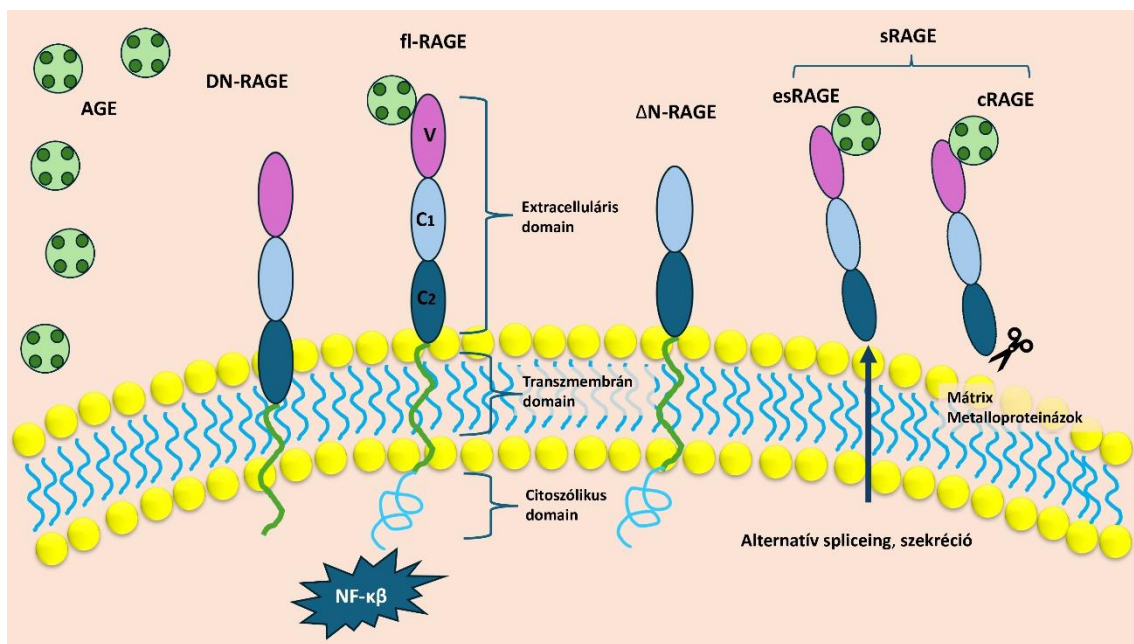


4. ábra Az AGE-k sejtszintű biológiai hatásai és az általuk okozott betegségek. Saját ábra. Rövidítések: AGE; késői glikációs végtermékek, ROS; reaktív oxigénradikálok, NF- κ B; nukleáris faktor- kapp B

Az AGE-k többféle receptorhoz képesek kötődni (Toll-like receptor, scavenger receptor, G-fehérje kapcsolat receptorok, mintázatfelismerő receptorok), de közülük a legfontosabb az előrehaladott glikációs végtermékek receptora (RAGE) mely az immunglobulin szupercsalád tagja, nevét legfontosabb ligandja után, az AGE kötő képessége miatt kapta, de számos más ligandot is képes megkötni [14]. A humán RAGE gén a 6. kromoszómán helyezkedik el, közel a fő hisztokompatibilitási komplex III (MHC III osztály) régiójához, ami arra utal, hogy szerepet játszik az immunválaszokban [15]. A teljes RAGE (full-length RAGE, fl-RAGE) a receptor egy 1-es típusú transzmembrán fehérje, 45 kDa molekulatömegű és 404 aminosavból épül fel, eredetileg szarvasmarha

tüdőendotheliumából izolálták és számos sejtípus képes expresszálni a szervezetben. Három domain-ből épül fel, extracelluláris domain (N-terminális V-típusú domén és két C-típusú - C1 és C2 immunglobulin domének), hidrofób transzmembrán domain és egy erősen töltött citoszólikus domain [16].

A teljes RAGE receptor mellett számos természetesen előforduló RAGE variánst is leírtak, többek között a DN-RAGE (hiányzik a citoszólikus farok, így blokkolja az fl-RAGE aktiválódását és jelátvitelét), Δ N-RAGE és az sRAGE-t. A solubilis AGE receptorok az fl-RAGE-ből keletkeznek (sRAGE) endogén szekréció révén (esRAGE) vagy a mártix metalloproteinázok hasítják le a sejtfelszínről (cRAGE). Az sRAGE képes kompetitíven megakadályozni az AGE-RAGE interakciót, ezáltal mérsékli a gyulladásos citokinek és ROS termelődését [7],[9, 17] (5. ábra).



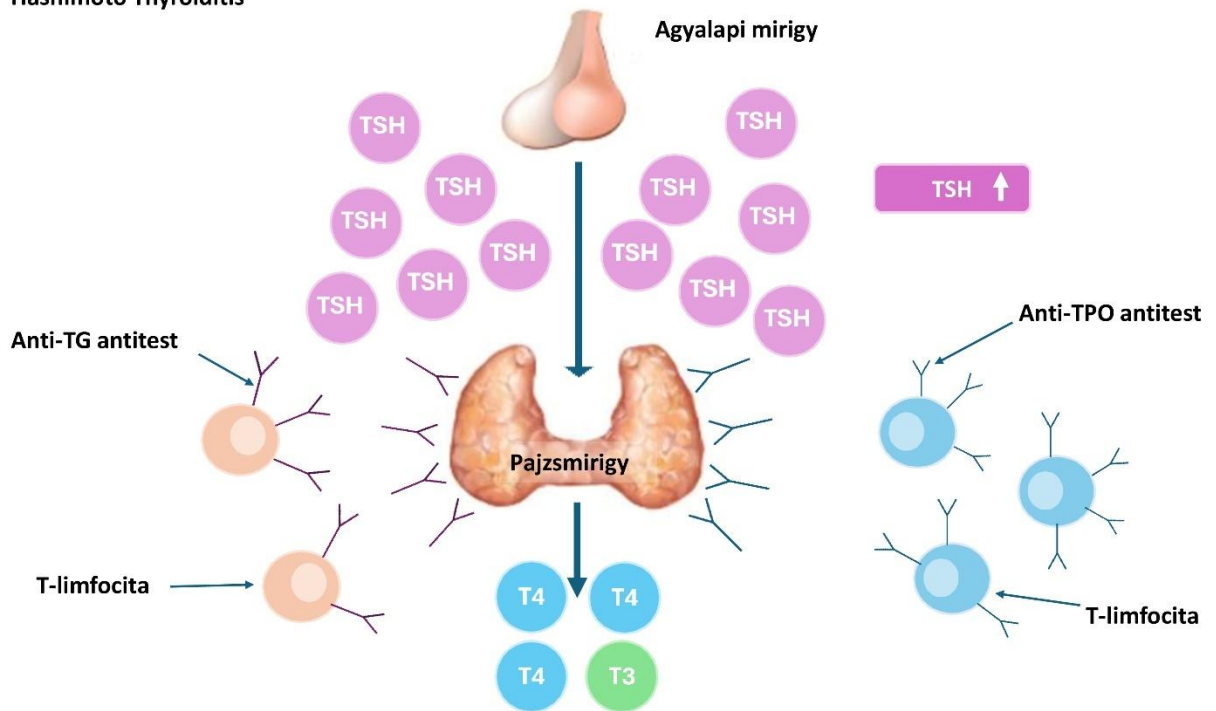
5. ábra. A RAGE receptor és splice variánsainak felépítése. Saját ábra.
 Rövidítések: AGE; késői glikációs végtermékek, fl-RAGE; teljes RAGE receptor, sRAGE; késői glikációs végtermékek solubilis receptora, NF- κ B; nukleáris faktor- kapa B.

Az sRAGE szérumszintjének csökkenését több kórképben is kimutatták, így például esszenciális hipertóniában, koszorúér-betegségben, krónikus obstruktív tüdőbetegségben, pajzsmirigy-túlműködésben, reumás ízületi gyulladásban és Alzheimer-kórban [18]. Újabb tanulmányok összefoglalták azokat a betegségeket, amelyekben az emelkedett AGE/sRAGE arány megbízható biomarkernek bizonyult, így többek között a nem ST-elevációs miokardiális infarktus [7], hyperthyreosis, thoracalis aorta aneurizma és hypercholesterinaemia [18],[19] miatt kezelt betegek esetében.

2.3 Hashimoto - thyreoiditis

A kórképet először Hakaru Hashimoto japán orvos írta le 1912-ben, aki a „struma lymphomatosa” elnevezést alkalmazta megnagyobbodott pajzsmirigyek esetében, amelyekben jelentős limfocitás beszűrődést észlelt. A Hashimoto-thyreoiditis (HT), más néven krónikus autoimmun vagy krónikus limfocitás pajzsmirigy-gyulladás, egy autoimmun eredetű kórkép, amelyben az immunközvetített folyamatok következtében a pajzsmirigy ellenes antitestek, az anti-thyreoidea-peroxidáz (anti-TPO) és anti-tireoglobulin (anti-TG) képződése és a T-sejtek aktiválódása a pajzsmirigy follikuláris sejtjeinek fokozatos pusztulásához vezet (6. ábra).

Hashimoto Thyroiditis



6. ábra. A Hashimoto-thyreoiditis patomechanizmusa. Saját ábra. Rövidítések: TSH; tiroidea stimuláló hormon, T3; trijód-tironin , T4; tiroxin.

A HT az autoimmun pajzsmirigybetegségek egyik leggyakoribb formája, előfordulása 1000 főre vetítve 0,3-0,5 eset. A jódban gazdag régiókban a HT a pajzsmirigy alulműködés vezető oka [20],[21]. A betegség patogenezisében alapvető szerepet játszanak a genetikai hajlam és a környezeti tényezők, míg az előrehaladott életkor és a női nem szintén jelentős kockázati tényezők, az utóbbi esetében 8-10-szeres kockázatot feltételeznek. Számos környezeti és életmódbeli tényezők, például stressz, túlzott jó- vagy elégtelen szelénbevitel, többszörös terhességek, valamint vírusfertőzések, elősegíthetik a HT kialakulását, míg a dohányzás és a mérsékelt alkoholfogyasztás védő hatásúnak tűnik [20]. A HT mellett más autoimmun betegségek is megjelenhetnek, mint például a Sjögren-szindróma, a myasthenia gravis, az anaemia pernicioza, kötőszöveti betegségek, autoimmun májbetegség, vitiligo és a glutén-szenzitív enteropathia. Bizonyos autoimmun eredetű endokrin betegségek, például 1-es típusú cukorbetegség,

hypoparathyreosis és Addison-kór a HT-vel együtt autoimmun poliendokrin szindrómákat alkotnak [21].

A Hashimoto-thyreoiditishez társuló pajzsmirigy-alulműködés klinikai jelei a hormonhiány következményei, és több szervrendszert érintenek. A HT okozta hypothyreosis gyakori tünetei közé tartozik a bőrszárazság, hajhullás, fáékonyság, hízás, rekedt hang, és a bradycardia. Az emésztőrendszer is érintett lehet, az epehólyag és légzőrendszer működése is károsodhat, a vázizmoknál myxödémás beszűrődés és csökkent összehúzóási képesség jelentkezik, ami izomgyengeséghez vezet. A vérképző rendszer, a reprodukív és a húgyúti funkciók is érintettek, gyakoriak a centrális idegrendszeri tünetek, a fáradtság, memória- és koncentrációzavar. Súlyos esetben myxödémás kóma, ritkán Hashimoto-encephalopathia is kialakulhat.

A Hashimoto-thyreoiditis diagnózisa a pajzsmirigy-alulműködés klinikai tüneteinek és a pajzsmirigy ellenes antitestek jelenlétének alapul, bár az esetek 5–10%-ban szeronegatív forma is előfordul. Az ultrahang segíthet a differenciáldiagnózisban, különösen anti-TPO-negatív betegekben, a HT jellegzetes ultrahang jelei a csökkent echogenitás, a heterogenitás, fokozott vascularizáció és kis ciszták jelenléte [21].

2.3.1 Patomechanizmus, szövődmények

A Hashimoto-thyreoiditis klinikai megjelenése változatos lehet, a betegek a pajzsmirigy működésének különböző stádiumait mutathatják, az euthyreoid állapottól a szubklinikai és manifeszt hypothyreosisig, ritkább esetekben pedig átmeneti hyperthyreosis is kialakulhat.

A Hashimoto-thyreoiditis autoimmun folyamata a genetikai és környezeti tényezők kölcsönhatásának eredményeként alakul ki, amelyek a pajzsmirigysejtek károsodásához vezetnek, és autoantigének felszabadulását és megjelenését váltják ki. Az autoreaktív immunsejtek bejutása a pajzsmirigybe sejtes és humorális immunválaszt indít, citokintermelést stimulál, valamint citotoxikus hatás és apoptózis kialakulásához vezet. Sejtszinten az öntolerancia elvesztését elsősorban az autoreaktív CD4⁺ T-helper sejtek, különösen a Th1 és Th17 altípusok okozzák, amelyek beszivárognak a pajzsmirigybe és

gyulladásokeltő citokineket, például IFN- γ -t, IL-17-et és TNF- α -t termelnek. Ezek a citokinek aktiválják a citotoxikus CD8⁺ T-sejteket és a helyi makrofágokat, ami a pajzsmirigysejtek fokozatos pusztulásához vezet. A szabályozó T-sejtek (Treg) csökkent működése tovább súlyosbítja az immunválasz egyensúlyának felborulását. Molekuláris szinten a CTLA4, CD40 és PTPN22 gének polimorfizmusai módosítják a kostimulációs jelátvitelt és az antigénprezentációt, elősegítve az autoimmun folyamatok felerősödését. Emellett a JAK/STAT jelátviteli útvonal kóros aktiválódása fokozza a gyulladásos mediátorok transzkripcióját, fenntartva a krónikus autoimmun gyulladást [22].

A Hashimoto-pajzsmirigy-gyulladás patogenezisében korábban fokozott oxidatív stresszt és csökkent antioxidáns szintet figyeltek meg [3, 23]. Hosszú távon a felborult redox egyensúly elősegíti az endogén módon termelődő AGE-k keletkezését. Egy korábbi vizsgálatban 50 frissen diagnosztizált, euthyreoid HT-betegnél alacsonyabb sRAGE-szintet és magasabb AGE-koncentrációt találtak [24], azonban levothyroxin-kezelésben részesülő HT-páciensek esetében ezt az összefüggést még nem vizsgálták. Giannakou és munkatársai egy másik tanulmányban a levothyroxin (LT4) pótlásban részesülő betegek oxidatív paramétereit magasabbnak találták, mint a hormonpótlásra nem szoruló betegeket, azonban az AGE- és sRAGE-értéket nem vizsgálták [14]. Bár a hypothyreosis obesogén hatása régóta ismert [25] a legújabb kutatások szerint az elhízás a HT és a hypothyreosis nem hagyományos kockázati tényezőjeként is értékelhető [26]. Ruggeri és munkatársai egy friss tanulmányban euthyreoid, normál testtömegindexszel rendelkező HT-betegek étkezési szokásait vizsgálta, és arra a megállapításra jutottak, hogy esetükben magasabb volt az állati eredetű élelmiszerek, és alacsonyabb a növényi eredetű ételek fogyasztása a kontrollesoporthoz képest, amihez magasabb AGE-szintek társultak [27].

2.3.2 Terápiás lehetőségek

A Hashimoto-thyreoiditis következtében kialakuló hypothyreosis kezelésére a terápiás irányelvek szerint a LT4-monoterápia indítása ajánlott. Az LT4 a trijód-tironin (T3) szintetikus előanyaga (prohormonja), míg a T3 a szervezetben élettanilag aktív pajzsmirigy-hormonként működik. Az LT4 viszont

önmagában nem minden esetben biztosít megfelelő anyagcsere-szabályozást a pajzsmirigy-alulműködésben szenvedő betegek egy kisebb csoportjánál. Egyes nemzetközi irányelvek szerint ilyen helyzetekben érdemes megfontolni a szintetikus levothyroxin és a liotironin (LT4-LT3) kombinációs terápiáját. Ez a megközelítés azon a feltételezésen alapul, hogy egyes betegeknél csökkent lehet a T4-T3 átalakulás hatékonysága, illetve, ha a pajzsmirigy működése jelentősen károsodott, előfordulhat, hogy a szervezet nem képes elegendő mennyiségű T3-at előállítani a normális működéshez [28]. A kombinált LT4+LT3 pótlás korábbi klinikai vizsgálatok alapján nem mutatott egyértelmű előnyt, legfeljebb csekély klinikai javulást eredményezett. Alkalmazása elsősorban alacsony fT3-szintek fennállása vagy dejodináz-enzim polimorfizmusok esetén, tehát elégtelen célszöveti T3-ellátottság mellett mérlegelhető. Emellett étrend-kiegészítők és vitaminok, például D-vitamin és szelén, alkalmazása is szóba jöhet a pajzsmirigy autoantitest-szintek csökkentésére.

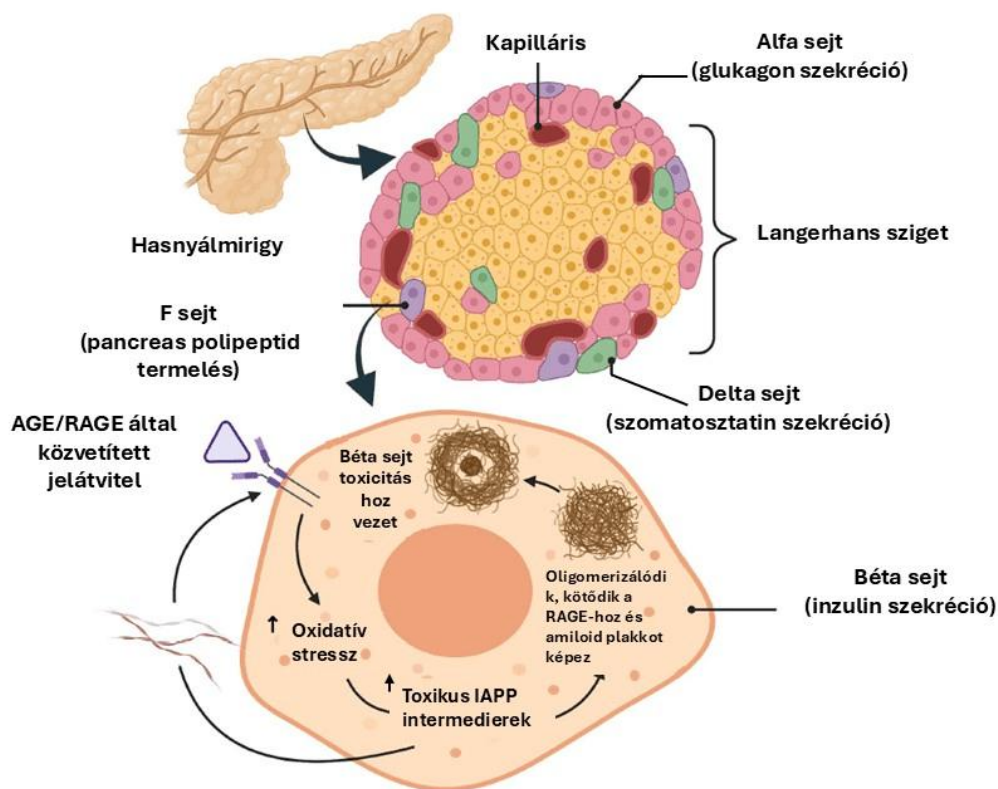
2.4 A 2-es típusú diabetes mellitus

A 2-es típusú cukorbetegség (T2DM) előfordulása világszerte növekvő tendenciát mutat, köszönhetően az ülő életmódnak és az egészségtelen táplálkozási szokásoknak. Az NCD Risk Factor Collaboration adatai szerint 2022-ben világszerte mintegy 828 millió felnőtt élt felismert T2DM-mel [29]. Az Egészségügyi Világszervezet előrejelzése alapján 2030-ra a cukorbetegség a hetedik vezető halálökként szerepel majd [30],[31]. A cukorbetegség egy összetett krónikus betegség, amely anyagcserezavarokkal és számos szövődménnyel jár. A T2DM-re jellemző tartós hiperglikémia hátterében az inzulinrezisztencia és a β -sejtek működésének károsodása áll. A tartósan emelkedett vércukorszint hozzájárul a mikro- és makrovaszkuláris szövődmények kialakulásához [32], amelyek a morbiditás és a mortalitás vezető okai cukorbetegségben [33, 34]. A neuropathia, amely a becslések szerint a T2DM-ben szenvedő betegek felénél alakul ki, rontja az életminőséget és elősegíti a munkaképesség csökkenését és elvesztését, jelentősen növeli az egészségügyi ellátás költségeit [35]. Négy fő típusa (autonóm neuropathia, proximális neuropathia, disztális perifériás neuropathia és fokális neuropathia) közül a disztális szimmetrikus

polineuropathia (DSPN) a leggyakoribb forma [35]. A diabeteszes szövődmények patofiziológiája összetett, azonban jól ismert, hogy az AGE-k meghatározó szerepet játszanak a neuropathia, a nephropathia, a retinopathia és az atherosclerosis kialakulásában és progressziójában.

2.4.1 A T2DM patomechanizmusa, szövődményei

Noha a T2DM és szövődményeinek patomechanizmusa rendkívül összetett, de feltételezhető, hogy az AGE-k, illetve az AGE/RAGE kölcsönhatása meghatározó szerepet játszik a folyamatok kialakulásában. A tartós hiperglikémia okozta AGE képződés és felhalmozódás a hasnyálmirigyben hozzájárul a béta-sejtek toxicitásához, elsősorban a gyulladáshoz vezető jelátviteli kaszkádok és az oxidatív stressz aktiválásán, illetve fokozódásán keresztül. Az AGE-k emelkedett szintje fokozza a RAGE expresszióját a Langerhans-szigetekben, az AGE/RAGE tengely aktiválja az NF- κ B jelátvitelt, ami krónikus gyulladáshoz, mitokondriális diszfunkcióhoz, béta-sejt károsodáshoz és apoptózishoz vezet [4]. Továbbá az AGE-k által kiváltott RAGE-aktivitás hosszú távú sejtműködési zavart okoz, amelyet sokszor „metabolikus memóriának” neveznek. Ez a jelenség a korábban felhalmozódott AGE-k tartós hatásán alapul, amelyek fenntartják a RAGE overexpresszióját, az NF- κ B folyamatos aktiválódását, a szövetek specifikus gyulladáshoz való választ, valamint a hosszú távú oxidatív stressz kialakulását és fennmaradását, mely még a hiperglikémia normalizálása után is fennmarad. Az AGE/RAGE tengely által kiváltott hiperglikémiás memória összefüggést mutat a cukorbetegség szövődményeinek kialakulásával [36]. Az AGE/RAGE jelátvitel fokozza az oxidatív stresszt és a gyulladást a hasnyálmirigy béta-sejtjeiben, elősegítve a toxikus sziget-amiloid polipeptidek (IAPP) kialakulását és aggregációját. A RAGE ezekhez az intermedierekhez kötődve amiloid plakkok képződéséhez vezet, ami béta-sejt toxicitást eredményez. Az AGE/RAGE tengely aktivációja ezen kívül elősegíti a hasnyálmirigy béta-sejtjeinek további károsodását (7. ábra).



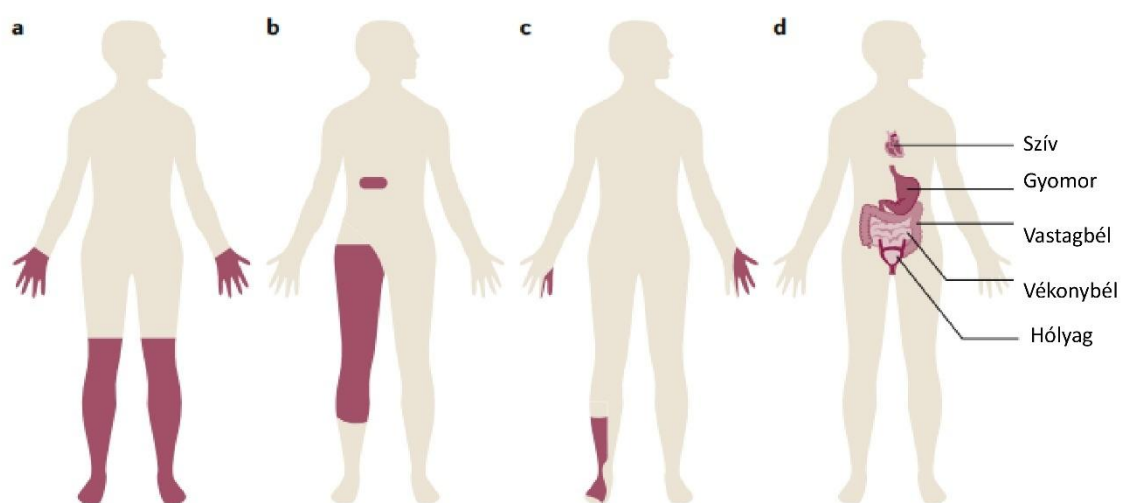
7. ábra. AGE/RAGE által közvetített hasnyálmirigy-béta-sejt toxicitás [4].

Epidemiológiai adatok igazolják, hogy a T2DM-ben szenvedők körében a szív- és érrendszeri betegségek miatti halálozás kockázata jelentősen magasabb, mint a nem cukorbeteg esetében [35]. Tanulmányok kimutatták, hogy az AGE/RAGE tengely, valamint a MAPK- és NF- κ B-jelátviteli utak aktiválódása fokozza az intracelluláris ROS-termelést, ami a gyulladásos és profibrotikus mediátorok, például a VCAM-1, ICAM-1, PAI-1, MCP-1 és MMP-2 fokozott expressziójához vezet [37]. Ezek a mediátorok hozzájárulnak az artériás merevség, az érlemezés és a plakkfelhalmozódás kialakulásához az atherosclerosisra hajlamos erekben. Az AGE/RAGE tengely aktivációja tovább fokozza az oxidatív stresszt, és elősegíti az LDL oxidációját (oxLDL), amely kulcsfontosságú szerepet játszik a kardiovaszkuláris betegségek patogenezisében. Az oxLDL ligandként kötődik a RAGE-hez, ezáltal számos intracelluláris jelátviteli útvonalat (például NF- κ B, p38, JNK és MAPK) aktivál, amelyek fokozzák a TGF- β , a C-reaktív protein (CRP), a gyulladásos citokinek és a protein-kináz C (PKC) expresszióját.

Ez a folyamat fokozza az érlelmeszesedést és az ér intima media rétegének merevségét, végső soron hozzájárulva a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásához [38]. Ezen felül az AGE-k felhalmozódása a hosszú élettartamú mátrixfehérjéken, például a kollagénen és az elasztinon, keresztkötések kialakulásához vezet, ami fokozott artériás merevséget, endothel-diszfunkciót és az extracelluláris mátrix (ECM) és a sejtek közötti kölcsönhatások zavarához vezet [39]. A kollagén nem enzimátikus módosulása nemcsak a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásában játszik szerepet, hanem jelentős mértékben hozzájárul a nephropathia, a neuropathia és a retinopathia kialakulásához is [40]. A szisztémás mikrogyulladásal összefüggő artériás merevség nyomásingadozásokat idézhet elő a különböző szervek, különösen a vese mikroereiben, ezáltal növelve a veseelégtelenség kockázatát, miközben a csökkent vesefunkció tovább fokozza az AGE-k felhalmozódását.

2.4.2 A diabeteszes perifériális neuropathia (DSPN)

A cukorbetegség mikrovaszkuláris szövődményei rendkívül gyakran fordulnak elő, és a test bármely részét érinthetik. Négy, fő típusa (autonóm neuropathia, proximális neuropathia, perifériás neuropathia és fokális neuropathia) közül a perifériás neuropathia a leggyakoribb formája (8. ábra).



8. ábra. A diabetes mellitusban kialakuló neuropathiák négy fő típusa: a perifériás neuropathia (a), a proximális neuropathia (b), a fokális neuropathia (c) és az autonóm neuropathia (d) [41].

A DSPN a T2DM egyik leggyakoribb szövődménye, amely a perifériás idegrendszer működésének károsodásához vezet. Főbb tünetei közé tartozik a bizsergés, zsibbadás, neuropátiás fájdalom, égő érzés, és paresztézia, leggyakrabban a lábujjak, lábfejek vagy a lábszárak területén. A cukorbetegséggel diagnosztizált betegek mintegy 50%-át érinti, és becslések szerint 2045-re körülbelül 350 millió DSPN-ben szenvedő beteg lesz a világon. Fő kockázati tényező a diabeteszes láb szövődményeiben, úgy, mint üszkösödés, fertőzések, lábfekély, sőt alsó végtagi amputáció kialakulásában [6].

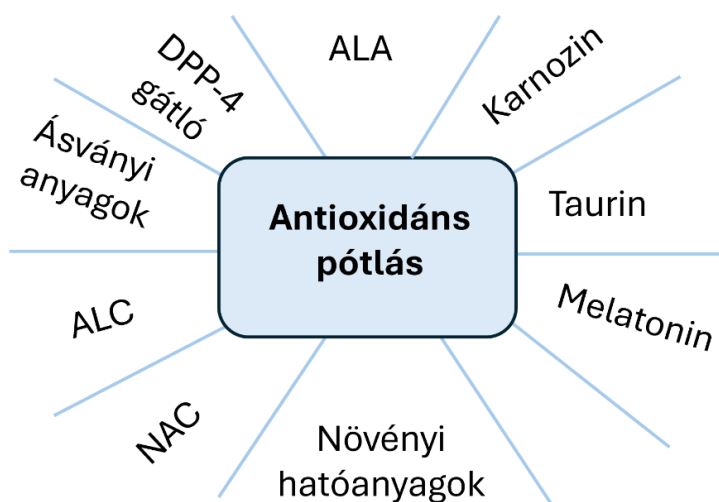
A dorzális gyökérganglionok neuronjai különösen érzékenyek az oxidatív stressz által kiváltott károsodásra, mivel nagy mitokondriumokkal rendelkeznek és intenzív oxidatív anyagcserét folytatnak. Ez a fokozott sérülékenységek főként a hiperglikémia által kiváltott oxidatív stressz következménye, amely aktiválja a poli-ol-, hexózamin-, PKC és AGE-útvonalakat, végső soron pedig endothel- és neuronális sejt-károsodást vagy apoptózist idéz elő [42]. Az NF- κ B és a NADPH-oxidáz aktiválása az oxidatív stressz fokozódásához vezet, amelynek következtében a diabeteszes neuropathia során az endoneuronális véráramlás, az idegszövet integritása és a regenerációs mechanizmusok károsodnak. Az AGE-k fokozott képződése tovább rontja az endoneuronális nitrogén-oxid (NO) metabolizmust, ami vasoconstrictiós hatást, a sejtadhéziós molekulák aktivációját és a koagulációs aktivitás fokozódását eredményezi. E folyamatok együttesen az idegrostok vérellátásának további romlását okozzák [43].

2.4.2.1 Terápiás lehetőségek

A DSPN kezelésének alapvető pillérei a vércukorszint megfelelő kontrollja, az életmódbeli tényezők rendezése, valamint a neuropátiás fájdalom csillapítása. Az életmódkezelés részeként kiemelt szerepet kap a kiegyensúlyozott étrend, a rendszeres testmozgás, továbbá a vérzsírértékek és a vérnyomás optimális beállítása.

Az oxidatív stressz a diabeteszes perifériás neuropathia kulcsfontosságú patofiziológiai tényezője, és számos tanulmány igazolta, hogy az antioxidáns-alapú beavatkozások kedvező hatásúak lehetnek állatmodellekben és DSPN-ben szenvedő betegeknél egyaránt [44]. Az exogén antioxidáns pótlás és a testmozgás alapvető terápiás eszközöknek számítanak, mivel képesek csökkenteni a ROS-ok által kiváltott káros folyamatokat. Ezen túlmenően az új gyógyszerleadó rendszerek (mikropartikulomok, nanopartikulomok, liposzómák) javíthatják az antioxidánsok biohasznosulását, fokozva a DSPN kezelésének hatékonyságát. A betegség kezelésében alkalmazott antioxidáns stratégiák főként étrendi antioxidánsokra épülnek, melyek három fő mechanizmuson keresztül mérséklék a szabad gyökök okozta oxidatív stresszt: ROS-megkötés, fémion-kelátképzés, fenolos láncreakció-gátlás. Jelentősebb antioxidánsok az alfa-liponsav (ALA),

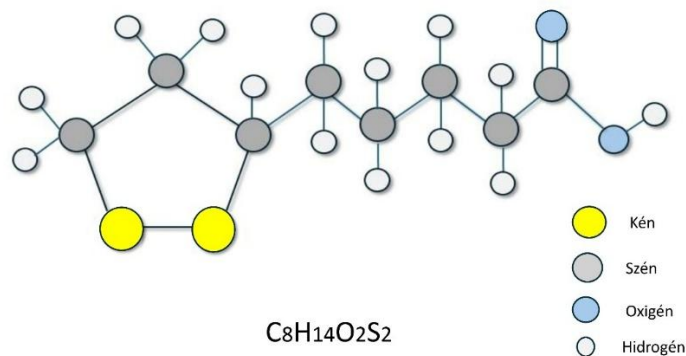
acetyl-l-karnitin (ALC), N-acetilcisztein (NAC), karnozin, taurin, vitaminok, koenzim Q10, ásványi anyagok, melatonin és növényi komponensek, például a kurkumin és DPP-4 gátlók [45] (9. ábra). Bár a legtöbb antioxidáns-kiegészítőt még nem vizsgálták randomizált, kontrollált vizsgálatokban, a preklinikai eredmények ígéretesek, és megerősítésük esetén értékes kiegészítői lehetnek a DSPN jövőbeli megelőzésének és kezelésének [6]. A rendszeres testmozgás pedig javítja az anyagcsere-folyamatokat és mérsékli a cukorbetegség szövődményeit az izmok mitokondriális oxidatív kapacitásának fokozásával és az NO biohasznosulásának növelésével.



9. ábra Antioxidáns pótlás lehetőségei diabeteszes disztális szenzoros polineuropathia esetén. Saját ábra. Rövidítések: ALA; alfa liponsav, ALC; acetyl-l-karnitin, NAC; N-acetilcisztein,

2.5 Az alfa-liponsav (ALA)

Az alfa-liponsav (1,2-ditiolán-3-pentánsav, ALA) rövid szénláncú zsírsav, amely számos farmakológiai hatással rendelkezik, többek között gyulladáscsökkentő, antidiabetikus, antioxidáns, daganatellenes, kognitív és neuroprotektív hatásokkal. Az ALA, más néven tioktánsav egy természetes antioxidáns, amelyet a mitokondriumok szintetizálnak, és széles körben megtalálható mind az állati, mind a növényi szövetekben. 1937-es felfedezése óta élénk kutatások középpontjában áll, egyszerű szerkezete (10. ábra), és komplex biológiai funkciói miatt ígéretes hatóanyagként bizonyult a gyulladással és oxidatív stresszel összefüggő krónikus betegségek kezelésében. Napjainkban gyakran alkalmazzák táplálék-kiegészítőként egészséges emberek és versenysportolók egyaránt.



10.ábra Az alfa-liponsav szerkezete. Saját ábra.

A humán szervezetben az ALA két fő forrásból származik: egyrészt az endogén szintézisből, másrészt exogén forrásokból. Exogén forrásból származó ALA mind az állati eredetű (vörös húsok, máj) mind a növényi eredetű (spenót, paradicsom, burgonya, cékla, sárgarépa, kelbimbó, élesztő) élelmiszerekben megtalálható [46]. Az ALA nélkülözhetetlen kofaktora négy mitokondriális enzimkomplex működésének, amelyek az energia-anyagcsere folyamataiban vesznek részt: a glicinhasító rendszernek, a 2-ketoglutarát-dehidrogenáz komplexnek, a piruvát-dehidrogenáz komplexnek és az elágazó láncú 2-ketoacid dehidrogenáznak. Antioxidáns tulajdonsága mellett az ALA képes fémionok kelátképzésére, így

szerepet játszhat a fémfelhalmozódással összefüggő folyamatok szabályozásában is [47]. Amfipatikus jellege pedig alkalmassá teszi a nanoterápiás alkalmazásokra is, mivel segítheti a gyógyszermolekulákat a sejtszintű szelektivitás és biztonság elérésében [48].

In vitro és *in vivo* állatkísérletek kimutatták, hogy az ALA-kezelés hatékonyan csökkentheti az AGE-szintet, ezáltal mérsékeli az oxidatív stresszt, ami kedvező hatással lehet a neuropathia patogenezisére [49]. Klinikai vizsgálatok szerint az ALA hatékony és jól tolerálható kezelési lehetőség diabeteszes neuropathia esetén, jelentős javulást eredményezve a klinikai tünetekben [50]. Exogén bevitel esetén az ALA könnyen felszívódik a bélrendszerből, Európában a diabeteszes polyneuropathia gyógyszeres kezelésében széles körben elterjedt alkalmazása.

Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy az ALA jelentősen gátolta az AGE-k által kiváltott NF- κ B jelátviteli út aktivációját vaszkuláris endothelsejt vonalakon [51] és retina endothelsejtekben [52]. Egy másik tanulmányban pedig megfigyelték, hogy az ALA csökkentette az AGE-k által indukált VCAM-1 endothel expresszióját és a monociták endotheliumhoz való tapadását [53]. Ezenkívül az ALA csökkentette az AGE-k által kiváltott indukálható nitrogén-monoxid-szintáz (iNOS) expresszióját, valamint az NO termelődését eger mikroglia sejtekben [54]. Más vizsgálatok megfigyelték, hogy az ALA csökkentette az AGE-k által közvetített lipidperoxidációs termékek képződését a neuronokban is [55],[56]. Továbbá, helyi alkalmazás esetén ALA-tartalmú nanorészecskék jelentősen mérsékelték a RAGE expresszióját és elősegítették a bőr sebgyógyulását streptozotocin által kiváltott károsodás esetén diabeteszes egerekben [57]. Az ALA bizonyítottan képes megelőzni vagy mérsékelni a hiperglikémia által okozott sejtkárosodást, ezáltal javítva az idegműködést és csökkentve a fájdalmat. Hatékony antioxidánsként semlegesíti a perifériás idegekben keletkező szabad gyököket, továbbá fokozza az idegnövekedési faktor (NGF) termelését, ami elősegíti az idegrostok regenerációját. Klinikai vizsgálatok igazolták, hogy az ALA-kiegészítés jelentős fájdalomcsillapító hatással bír, és hozzájárul a cukorbetegség életminőségének javulásához [42]. Ugyanakkor az ALA AGE-re gyakorolt hatását humán betegcsoportban még nem vizsgálták.

Kutatócsoportunk korábban vizsgálta már az ALA-kezelés hatását 2-es típusú cukorbetegséghez társuló neuropátiában, különös tekintettel az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) és a progranulin (PGRN) szintjére. Sztanek és Nádró korábbi eredményei az ADMA szintjének csökkenését mutatták, amely az NO-szintáz gátlásán keresztül az atherosclerózis ismert rizikófaktora, valamint a progranulin szintjének emelkedését, amely hozzájárul a neuronok túléléséhez, működésük fenntartásához, és védi az endotheliumot a gyulladásos folyamatoktól és az atherosclerózistól [58-60].

Az AGE-k csökkentése tehát ígéretes terápiás célpontnak tűnik különféle betegségekben, jelenleg is intenzív kutatás tárgyát képezi [61].

3. Célkitűzések

Kutatásunk során a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Az AGE- és sRAGE-szintek, valamint az AGE/sRAGE arány meghatározása Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő, levothyroxin-kezelésben részesülő betegek és kor-, nem- és testtömegindex (BMI)-illesztett kontrollok körében, valamint ezek összefüggéseinek vizsgálata pajzsmirigyfunkciós és anyagcsere-paraméterekkel.
2. Az AGE- és sRAGE-szintek változásának és az AGE/sRAGE arány alakulásának vizsgálata perifériás neuropathiában szenvedő 2-es típusú diabeteszes betegekben, 6 hónapos ALA kezelés hatására.
3. Az ALA-kezelés hatásának értékelése az AGE-k, az sRAGE, oxidatív stressz markerek és a vaszkuláris paraméterek szérumszintjére, valamint a neuropathia súlyosságára az áramérzet küszöbérték (current perception threshold, CPT) alapján.
4. Az AGE-k, az sRAGE és az atherosclerosishoz kapcsolódó vaszkuláris paraméterek közötti összefüggések feltárása.

4. Anyagok és Módszerek

4.1 Beteg és kontroll csoportok

4.1.1 Hashimoto thyreoiditisben szenvedő betegcsoport és kontroll csoport

Vizsgálatunk célja a szérum AGE, sRAGE szintek és a pajzsmirigyfunkciós paraméterek közötti kapcsolat feltárása volt olyan betegeknél, akik HT következtében kialakult pajzsmirigy-alulműködés miatt levothyroxin-szubsztitúciós kezelésben részesülnek. A tanulmányban 73 páciens-t vontunk be (69 nő és 4 férfi; átlagéletkor: 47 ± 14 év; átlagos testtömegindex: $27,4 \pm 5,6$ kg/m²) a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Belgyógyászati Klinikájának Endokrinológiai szakrendeléseiről, akiknél a betegség fennállásának átlagos időtartama $6,6 \pm 4,4$ év volt. Kontrollcsoportként 82 pajzsmirigybetegségben nem szenvedő személyt szolgált (76 nő és 6 férfi; átlagéletkor: 46 ± 14 év; átlagos testtömegindex: $27,2 \pm 6,1$ kg/m²), akiket életkor, nem és BMI szerint illesztettünk a betegcsoporthoz. A kontrollszemélyeknél a TSH, fT4, fT3 és anti-TPO szintek a referencia tartományon belül voltak.

Kizárásra kerültek a várandósok, valamint azok, akiknél korábban ismert cukorbetegség, daganatos megbetegedés vagy más egyidejűleg fennálló autoimmun betegség volt jelen. A kutatást a Debreceni Egyetem Regionális és Intézményi Etikai Bizottsága hagyta jóvá (RKEB.IKEB 6275-2022/DE), továbbá minden résztvevő – a betegek és a kontrollcsoport tagjai egyaránt – írásos beleegyezését adta a vizsgálatban való részvételhez. Azt feltételeztük, hogy a HT betegeknél az AGE szint magasabb, az sRAGE szint pedig alacsonyabb, mint az egészséges kontrollcsoportban. Továbbá összefüggéseket feltételeztünk az AGE szintjei és a pajzsmirigyfunkciós paraméterek, valamint az anyagcsere-paraméterek között.

4.1.2 2-es típusú diabetes mellitusban és diabeteszes neuropathiában szenvedő beteg és kontroll csoport

A neuropátiában szenvedő T2DM betegek körében végzett vizsgálatba összesen 54 főt vontunk be (22 férfi és 32 nő; átlagéletkor: $64,15 \pm 8,66$ év). A cukorbetegség fennállásának átlagos ideje a vizsgálat kezdetekor 12,4 év volt (interkvartilis tartomány: 4,1–14,7 év), míg a neuropathia átlagos időtartama $3,2 \pm 1,4$ évnek bizonyult. Ezen felül a kontrollcsoportba 24 fő, nem és életkor szerint illesztett, neuropátiában nem érintett

2-es típusú cukorbeteg vett részt, akiknél a diabetesz ismert időtartama 12,1 év volt (interkvartilis tartomány: 4,0–14,6 év).

A vizsgálat résztvevőit a Debreceni Egyetem, Klinikai Központ Belgyógyászati Klinikájáról, a Debreceni Diabéteszes Neuropátia Központból toboroztuk. A résztvevők előzetesen tájékoztatásban részesültek a kutatás részleteivel kapcsolatban, és mindannyian írásos beleegyezésüket adták a vizsgálatban való részvételükhöz. A kutatási protokollt a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Regionális és Intézményi Etikai Bizottsága (DE RKEB/IKEB; 4775-2017), valamint az Országos Orvostudományi Kutatási Tanács Nemzeti Tudományos és Etikai Bizottsága (5287-2/2019/EÜIG) is jóváhagyta. A vizsgálat megfelelt a Helsinki Nyilatkozat előírásainak. A kutatás nem került regisztrálásra klinikai vizsgálati adatbázisban, mivel az ALA használata elterjedt, elfogadott terápiás lehetőség a neuropathia kezelésére. Az intervenció csoport tagjai 600 mg ALA-t (WÖRWAG Pharma GmbH, Böblingen, Németország) kaptak szájon át, naponta, 6 hónapon át. A vizsgálat megkezdése előtt sem az intervenció, sem a kontrollcsoport tagjai nem részesültek neuropathia kezelésben.

Valamennyi résztvevő a mindenkori terápiás irányelveknek megfelelő orális antidiabetikus kezelést kapott (metformin, szulfonilurea és/vagy DPP-4 gátlók), és a kezelés a követései időszak alatt nem változott. Mindkét csoport életmód tanácsadásban is részesült. Nem kerültek beválogatásra a vizsgálatba azok a betegek, akik inzulinterápiában, SGLT-2 gátlón vagy GLP-1 receptor agonistán alapuló kezelésben részesültek. Továbbá kizárásra kerültek a diabéteszes nephropátiában (eGFR <60 ml/perc/1,73 m² vagy perzisztáló albuminuria), 1-es típusú diabéteszben, diabéteszes proliferatív retinopátiában, ismert májbetegségben, autoimmun betegségben érintett betegek, illetve azon páciensek, akik olyan hematológiai vagy neurológiai betegséggel rendelkeznek, amelyek önmagukban is befolyásolhatják a perifériás idegi funkciót. Szintén kizárásra kerültek a várandósok, illetve azok a páciensek, akik korábbi kardiovaszkuláris eseményen estek át (pl. miokardiális infarktus, stroke, perifériás artériás betegség), ismert koszorúér-betegségben vagy előrehaladott szívelégtelenségben (NYHA II–IV stádium) szenvedtek, továbbá akik alkoholproblémával, rosszindulatú daganattal érintettek vagy aktív dohányosok.

4.2 Mintagyűjtés és laboratóriumi paraméterek mérése

A Hashimoto-thyreoditisben szenvedő betegcsoport és a hozzá tartozó kontroll csoport esetében a vérmintákat a klinika helyi irányelveinek megfelelően gyűjtöttük. A perifériális mintavételből származó plazma és a szérum mintát 3500 g-n 10 percig végzett centrifugálással választottuk el, majd aliquotokra osztva -80 °C-on tároltuk a további vizsgálatokig.

A 2-es típusú diabeteszes neuropathiában szenvedő betegek esetében a vérvétel az ALA-kezelés megkezdése előtt, majd 6 hónappal később történt. A neuropathiában nem érintett T2DM-es kontrollszemélyek esetében bevonáskor szintén sor került vérminta begyűjtésére. A mintavétel mindkét csoportban éhgyomorral, vénás vérből történt. A feldolgozás és tárolás módja megegyezett a HT-csoport esetében alkalmazottal (centrifugálás: 3500×g, 10 perc; tárolás: -80 °C).

A rutin laboratóriumi paraméterek – lipidszintek, éhomi glükóz, CRP, húgysav, kreatinin, pajzsmirigyhormonok, anti-TPO – meghatározása a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Tanszékén történt, Cobas c6000 analizátor segítségével, a gyártói protokollok alapján friss szérum minták felhasználásával.

4.3 Antropometriai paraméterek mérése

A testtömegindexet (BMI) a testtömeg (kg) és a testmagasság (m²) hányadosaként számoltuk. A haskörfogatot szabványos anatómiai ponton, vízszintes síkban, az alsó bordaív és a csípőlapát közötti távolság felénél mértük.

4.4 Szérum AGE és sRAGE szintek meghatározása

A szérum AGE szintjének meghatározása autofluoreszcenciás kvantifikálással történt (Biotek Synergy H1, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), a mérési eredményeket pedig AU/μg fehérje egységben adtuk meg, a Münch és munkatársai által korábban leírt módszer alapján [62]. Az interassay variabilitási együttható 8,9% volt (azonos napon végzett három párhuzamos mérés alapján, $n = 35$). A napok közötti variáció (öt egymást követő napon) 10,5%-nak adódott ($n = 35$).

A solubilis RAGE (sRAGE) koncentrációkat szendvics ELISA módszerrel határoztuk meg (Human sRAGE Quantikine ELISA kit, R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, Egyesült Királyság), a gyártó előírásainak megfelelően. A szérummintákat háromszoros hígításban használtuk, az sRAGE-eredményeket pg/ml egységben fejeztük ki. Az intraassay variabilitási együtthatók 2,6–5,3% között mozogtak, míg az interassay precizitás 5,5–8,8% közötti tartományban volt. Az AGE/sRAGE arányt szintén kiszámítottuk és elemeztük.

4.5 A pajzsmirigyhormonok és az anti-TPO szérumszintjének meghatározása

A szabad tiroxin (fT4), szabad trijód-tironin (fT3) és pajzsmirigy stimuláló hormon (TSH) szintek meghatározása elektrokemilumineszcens immunvizsgálatokkal (FT4 G2 Elecsys, FT3 Elecsys, TSH Elecsys, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) történt. A referenciaértékek: TSH: 0,3–4,2 mU/l, fT4: 12–22 pmol/l, fT3: 2,4–6,3 pmol/l voltak. Az anti-TPO autoantitest szérumszintjét kemilumineszcens immunvizsgálattal határoztuk meg (LIAISON®-Anti-TPO, DiaSorin S.p.A., Saluggia, Olaszország).

4.6 Rutin laboratóriumi paraméterek meghatározása

A szérumszintű kreatinin Jaffé-féle kolorimetriás, míg a CRP szintje immunturbidimetriás módszerrel került meghatározásra. Triglicerid, összkoleszterin, LDL-C, HDL-C mérésére enzimikus kolorimetriás tesztekkel, míg a glükóz koncentrációra hexokináz-alapú kinetikus eljárást használtunk (Cobas c600 autoanalizátorral (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország)). A non-HDL koleszterinszintet az összkoleszterin és a HDL-C szint különbségéből számítottuk ki.

4.7 Szérumszintű progranulin, ADMA, sICAM-1, sVCAM-1, TNF α , oxLDL, és VEGF szintek mérése.

A szérumszintű progranulin, ADMA, sICAM-1, sVCAM-1, TNF α , oxLDL, és VEGF szintek meghatározása fagyasztott mintákból történt a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Belgyógyászati Intézet 'A' Épület Kutatólaboratóriumában. A

progranulin szérumszintjét kompetitív ELISA kittel (BioVendor, Brno, Csehország) határoztuk meg a gyártó utasításai szerint, a mérési intervallumon belüli variabilitási koefficiensek (CV) 3,4% és 4,4%, a mérési intervallumok közötti CV-k pedig 6,4% és 7,9% között voltak. Az értékeket ng/ml-ben fejeztük ki.

A szérum ADMA koncentrációját a kereskedelmi forgalomban kapható kompetitív ELISA módszerrel (ADMA-ELISA; DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Németország) mértük a gyártó ajánlása szerint, a mérési intervallumon belüli variációs koefficiensek (CV) 5,7% és 6,4%, a mérési intervallumok közötti CV-k pedig 8,3% és 10,3% között voltak. Az értékeket $\mu\text{mol/l}$ -ben fejeztük ki. A szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1 (sICAM-1) és az sVCAM-1 szérumszintjének meghatározásához szendvics ELISA készleteket (Humán szolubilis ICAM-1 és VCAM-1 ELISA, R&D Systems Europe Ltd., Abington, Egyesült Királyság) használtunk. Az ELISA módszert a gyártó ajánlásának megfelelően végeztük. Az intra-assay és inter-assay variációs együtthatók 3,7–5,2% és 4,4–6,7% (sICAM-1), illetve 2,3–3,6% és 5,5–7,8% (sVCAM-1) között voltak. Az értékeket ng/ml-ben fejeztük ki.

A tumor nekrozis faktor alfa ($\text{TNF}\alpha$) szérumszintjét a $\text{TNF}\alpha$ ELISA kittel (R&D Systems Europe Ltd., Abington, Egyesült Királyság) mértük a gyártó utasításai szerint. Az intraassay variációs együtthatók 1,9% és 2,2% között, az interassay variációs együtthatók pedig 6,2% és 6,7% között voltak. Az értékeket pg/ml-ben fejeztük ki.

A szérum oxLDL szintjét szendvics ELISA módszerrel (Merckodia AB, Uppsala, Svédország) határoztuk meg. Az intraassay koefficiens variációi 5,5% és 7,3% között, az interassay variációk pedig 4% és 6,2 között voltak. Az érzékenység 1 mU/l volt.

A vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) szérumszintjét ELISA kittel (R&D Systems Europe Ltd., Abington, Egyesült Királyság) mértük a gyártó protokollja szerint. Az intraassay variációs együtthatók 3,5% és 6,5% között, az interassay variációs együtthatók pedig 6,7% és 8,5% között voltak. Az értékeket pg/ml-ben fejeztük ki.

4.10 Nitrit koncentráció meghatározása

A nitrit szérumszintjét az NO-termelés indikátoraként a Griess-reakció szerint határoztuk meg. Az optikai sűrűséget spektrofotometriásan, 550 nm-en mértük. A nitrit koncentrációját nátrium-nitrit standard (10–100 $\mu\text{mol/l}$) alkalmazásával határoztuk meg. Az értékeket $\mu\text{mol/l}$ -ben fejeztük ki.

4.11 Autonóm és perifériás idegi funkciók mérése

A perifériás neuropathiát a Douleur Neuropathique en 4 Questions (DN4)[63], és a Neuropathy Total Symptom Score-6 (NTSS-6) [64] kérdőívek, valamint aktuális áramérzet küszöbérték (CPT) és kvantitatív érzékszervi tesztelés alkalmazásával értékeltük. A retinopathiás betegek felismerését szemész szakorvos bevonásával *in vivo* cornea konfokális mikroszkópiával valósítottuk meg. Az igazolt retinopathiás betegeket kizártuk a vizsgálatból. A perifériás érzőideg-funkciót Neurometer® (Neurotron Inc., Baltimore, MD, USA) segítségével értékeltük, és meghatároztuk a CPT-t, míg az autonóm funkciót Ewing öt standard kardiovaszkuláris reflextesztjével értékeltük: a pulzusszám változása mély belégzés és kilégzés során, a pulzusszám válasza felállásra (30/15 arány), a Valsalva-manőver, a szisztolés vérnyomás ingadozása felállásra, és a diasztolés vérnyomás változása tartós kézfogás során. Az autonóm neuropathia súlyosságát a tesztek eredményeiből származó összetett autonóm pontszámként írták le (normális = 0, határeset = 1 és kóros = 2), 0 és 10 között, ahol a 0–1 pontszám normálisnak, a 2–3 enyhének, a 4–6 közepesnek és a 7–10 súlyos autonóm neuropathiának minősült [58, 65-67].

A DN4 kérdőív egy 10 pontból álló klinikai értékelő eszköz mely alkalmas a neuropathiás fájdalom meglétének, súlyosságának szűrésére. A 10-es összpontszám érzékszervi leíró és vizsgáló elemekből tevődik össze (fájdalom leírása, társuló paresztézia/diszesztézia, érzékszervi deficit, kiváltott fájdalom, érintésre és szúrásra való érzékenység, hőérzékelési vizsgálat, valamint tapintási és nyomás allodínia), a neuropathiás fájdalom diagnózisának határértéke a 4/10-es összpontszám ([68]). Az NTSS-6 skála a tünetek gyakoriságát is figyelembe veszi, pontértékei 0 és 21,96 között változnak, és 6 pont felett klinikailag releváns neuropathiás tünetekről beszélhetünk [64].

4.12 Statisztikai módszerek

A statisztikai elemzést a STATISTICA® 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA) szoftverrel végeztük, a grafikonokat pedig a GraphPad Prism 6.01 verziójával (GraphPad szoftver, San Diego, CA, USA) készítettük.

Az eloszlás normalitása Kolmogorov–Smirnov teszttel történt, az adatokat pedig átlag \pm szórás vagy medián (interkvartilis tartományok) formájában fejeztük ki normál eloszlás esetén, mediánként és 25. és 75. percentilisként (interkvartilis tartomány, IQR) nem normál eloszlás esetén. A folytonos változók HT és kontroll csoportok közötti összehasonlításához normális eloszlású adatok esetén Student-féle t-tesztet, míg nem normális eloszlású adatok esetén Mann-Whitney-U tesztet alkalmaztunk. A diszkrét változók sztochasztikus kapcsolatait Chi-négyzet próbával elemeztük. A folytonos változók közötti kapcsolat elemzéséhez Pearson-féle korrelációt végeztünk. Többszörös lineáris regresszióanalízist végeztünk az AGE-k vagy az sRAGE szint, mint függő változó, és több független változó közötti kapcsolat elemzésére HT betegekben.

Az antropometriai és laboratóriumi paraméterek különbségeit a kontrollcsoport és az ALA-kezelés előtt neuropátiás betegek között párosítatlan t-próbával elemeztük normális eloszlás esetén; nem normális eloszlás esetén a különbségeket Mann–Whitney U-próbával elemeztük. A neuropátiás csoportban az ALA-kezelés előtt és után a különbségeket párosított t-próbával (normális eloszlású adatok esetén) vagy Wilcoxon párosított páros tesztel (nem normális eloszlású adatok esetén) határoztuk meg. A neuropátiás betegek AGE-értékeinek mintanagyságának kiszámítását a Bécsi Egyetem Statisztikai és Operációkutatási Tanszékének mintanagyság-kalkulátorával végeztük (1.062-es verzió). A kétmintás Wilcoxon Mann–Whitney U-próbához szükséges mintanagyság minimum $n = 8$ volt, 80%-os (0,8) statisztikai erővel. A tényleges statisztikai erő 99,97% (0,9997), $P(X > Y) = 0,9303$, kétoldalas alfa = 0,05 és $n = 54$. A változók közötti kapcsolatok vizsgálatára Pearson-korrelációs együtthatót használtunk.

A statisztikai szignifikancia határát $p < 0,05$ értékben határoztuk meg.

5. Eredmények

5.1 A Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő betegcsoport és kontroll csoport eredményei

Valamennyi HT beteg levothyroxin-pótló kezelésben részesült. A napi dózis medián értéke 1,15 µg/ttkg volt (interkvartilis tartomány [IQR]: 0,83–1,41; min–max: 0,32–3,28 µg/ttkg/nap). A kezelés idején a betegek 64%-a euthyreoid állapotban volt, míg szubklinikus hypothyreosis és hyperthyreosis 22%, illetve 6%-os gyakorisággal fordult elő. A manifeszt hypo- és hyperthyreosis aránya egyaránt 4% volt. A pajzsmirigyfunkciós paramétereket tekintve a HT-betegek csoportjában a TSH- és fT4-szintek szignifikánsan magasabbnak bizonyultak a kontrollcsoportéhoz képest (TSH: 2,47 vs. 1,77 mU/l, $p=0,024$; fT4: 17,6 vs. 15,5 pmol/l, $p<0,0001$), míg az fT3-szint alacsonyabb volt (4,6 vs. 5,0 pmol/l, $p<0,0001$) (2. táblázat).

2. táblázat. A Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő betegek és a kontrollcsoport klinikai és laboratóriumi jellemzőinek összehasonlítása.

	Hashimoto thyreoditis-es betegcsoport n=73	Kontrol n=82	p*
Kor (év)	47 ± 14	46 ± 14	0,635
Nő/Férfi	69/4	76/6	0,448
BMI (kg/m²)	27,4 ± 5,6	27,2 ± 6,1	0,864
TSH (mU/L)	2,47 (0,97 – 4,28)	1,77 (1,25 – 2,38)	0,024
fT4 (pmol/L)	17,6 (15,5 – 20,6)	15,5 (14,2 – 16,5)	<0,0001
fT3 (pmol/L)	4,6 ± 0,6	5,0 ± 0,6	<0,0001
Glükóz (mmol/L)	5,2 (4,8 – 5,6)	5,0 (4,7 – 5,4)	0,082
Triglicerid (mmol/L)	1,4 (1,0 – 2,0)	1,2 (0,8 – 1,7)	0,048
Koleszterol (mmol/L)	5,3 ± 1,0	5,4 ± 1,1	0,597
LDL-C (mmol/L)	3,3 ± 0,9	3,4 ± 1,0	0,525
HDL-C (mmol/L)	1,5 (1,3 – 1,8)	1,5 (1,2 – 1,7)	0,622
CRP (mg/L)	1,7 (0,9 – 3,6)	2,6 (0,9 – 5,5)	0,095
Kreatinin (µmol/L)	65 ± 11	69 ± 16	0,160
AGE (AU/µg protein)	10,71 ± 2,21	11,45 ± 2,35	0,046
sRAGE (pg/mL)	923 ± 303	755 ± 265	<0,0005
Medián AGE/sRAGE arány (AU/pg)	2,4 (1,9 – 3,1)	3,3 (2,3 – 4,1)	<0,0001

Rövidítések: AGE; késői glikációs végtermék, BMI; testtömegindex, CRP; C-reaktív protein, fT3; szabad trijód-tironin, fT4; szabad tiroxin, HDL-C; nagy sűrűségű lipoproteinhez kötött koleszterin, LDL-C; alacsony sűrűségű lipoproteinhez kötött koleszterin, sRAGE; solubilis AGE receptor, TSH; tiroidea stimuláló hormon.

Az adatokat átlag ± szórás vagy medián (interkvartilis tartomány, IQR) formájában mutatjuk be.

* t-próba az életkor, a BMI, az fT3, az AGE-k és az sRAGE összehasonlítására, khi-négyzet próba a nő/férfi arány összehasonlítására és Mann-Whitney U-próba más paraméterek összehasonlítására.

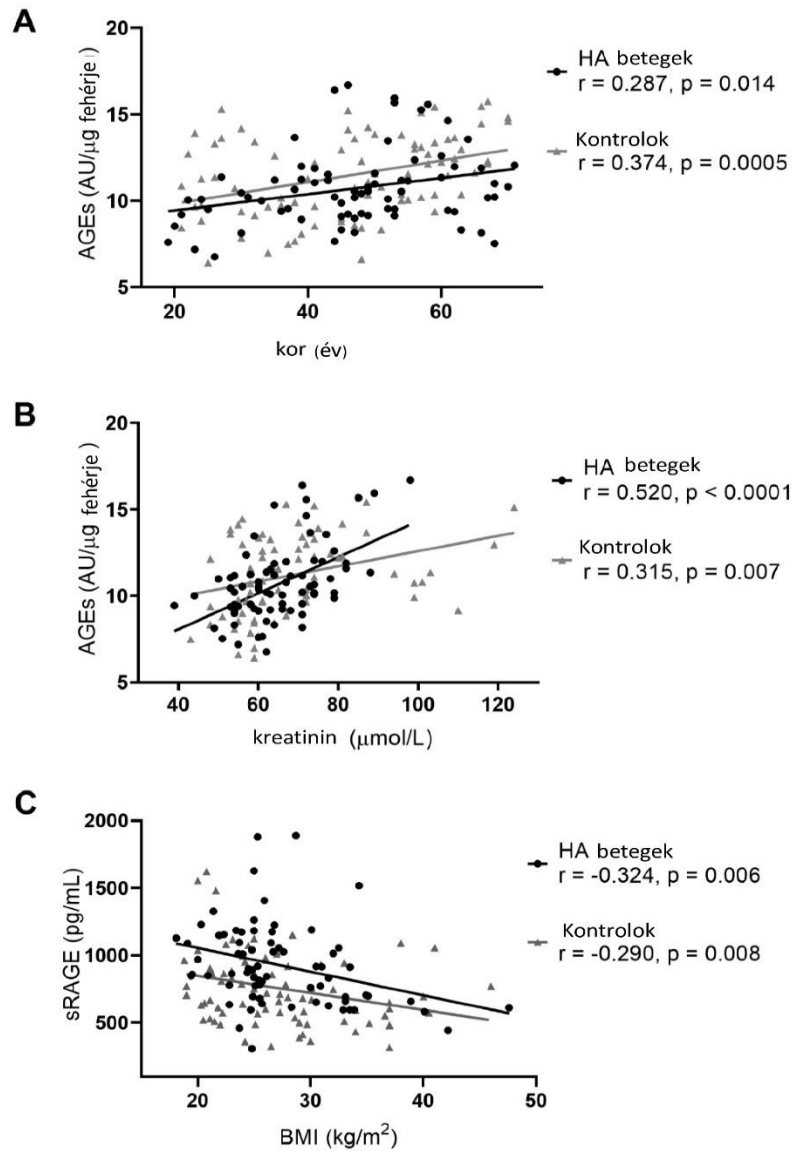
A glikációs végtermékek és receptoruk szintjeiben is szignifikáns különbségek mutatkoztak. A szérums AGE-koncentráció alacsonyabb volt HT-betegeknél (10,71 vs. 11,45 AU/ μ g fehérje, $p=0,023$), míg az sRAGE-szint magasabbnak bizonyult (923 vs. 755 pg/ml, $p<0,0005$) a kontrollcsoporthoz viszonyítva (2. táblázat). Továbbá az AGE pozitív korrelációt mutatott az életkorral és a szérums kreatininszinttel (11 A., B. ábra), míg az sRAGE negatívan korrelált a BMI-vel (11 C. ábra) mind a teljes vizsgált populációban, mind az alcsoportokban (kontrollok és HT-betegek) külön-külön.

Nem igazolódtott szignifikáns korreláció az AGE és az sRAGE szintek között ($r=0,191$, $p=0,086$ a kontrollokban; $r=0,205$, $p=0,083$ a HT-betegeknél és $r=0,140$, $p=0,082$ a teljes populációban). Negatív korrelációt találtunk a szérums AGE-koncentráció és az FT3-szint (12 A. ábra), valamint az sRAGE és a TSH-szint (12 B. ábra) között HT-betegknél, míg a kontrollcsoportban sem az AGE, sem az sRAGE nem korrelált a pajzsmirigyfunkció paramétereivel.

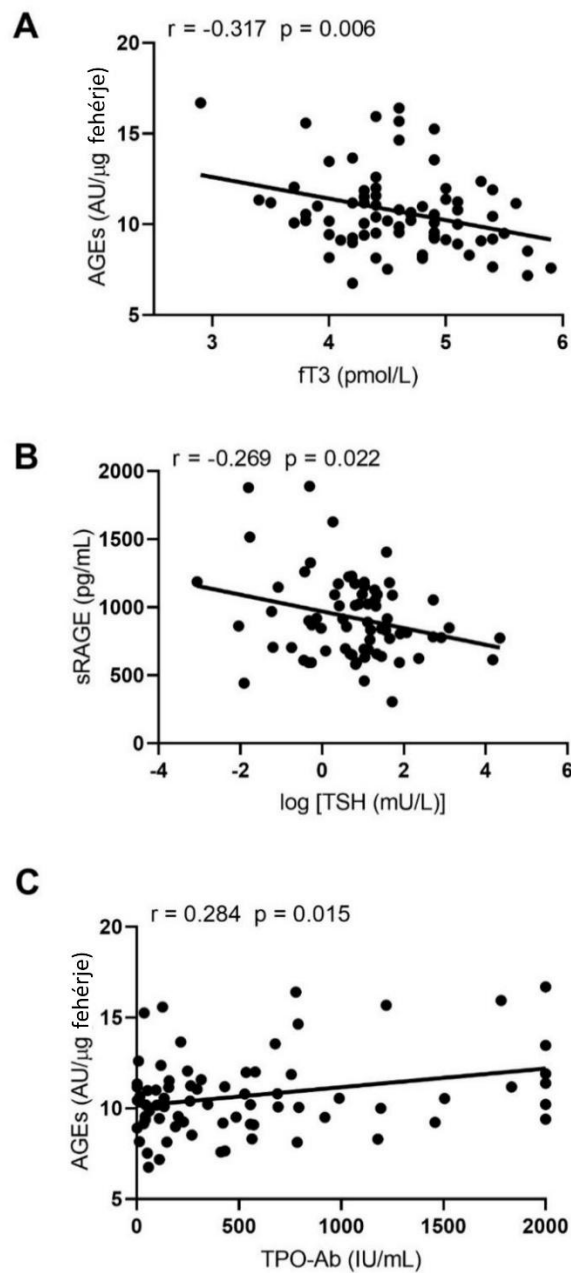
Ezen felül pozitív korrelációt figyeltünk meg az anti-TPO antitestek (TPOAb) és az AGE szintek között HT-betegknél (12 C. ábra). Az FT3-szint a HT betegek körében emellett korrelált az életkorral és a szérums kreatininszinttel is (13. ábra).

Mivel a szérums AGE-koncentráció több tényezővel is összefüggést mutatott (életkor, kreatinin, TPOAb, FT3), többszörös lineáris regresszióanalízist végeztünk. A modell alapján a szérums kreatinin és a TPOAb szint szignifikáns prediktornak bizonyult az AGE-szint alakulásában (3. táblázat).

Az sRAGE esetében ugyanezt vizsgáltuk a BMI-vel és a TSH-val összefüggésben, és mindkét paraméter hatását szignifikánsnak találtuk a többszörös regresszióanalízisben (2. táblázat). A medián AGE/sRAGE arány alacsonyabb volt a HT betegknél, mint a kontrollcsoportban (2,4, IQR 1,9–3,1 vs 3,3, IQR 2,3–4,1 AU/pg; $p < 0,0001$). Az AGE/sRAGE arány pozitív korrelációt mutatott az életkorral a kontrollokban ($r=0,286$, $p<0,01$), míg HT-s betegeknél a BMI-vel ($r=0,275$, $p=0,02$), a TSH-val ($r=0,255$, $p=0,03$), és fordítottan az FT3 szintekkel ($r= -0,239$, $p=0,04$).



11. ábra. Korrelációs összefüggések a teljes vizsgálati populációban: (A) életkor és szérums AGE-szintek, (B) szérums kreatinin koncentráció és AGE-szintek, valamint (C) testtömegindex (BMI) és szérums sRAGE-szintek között.

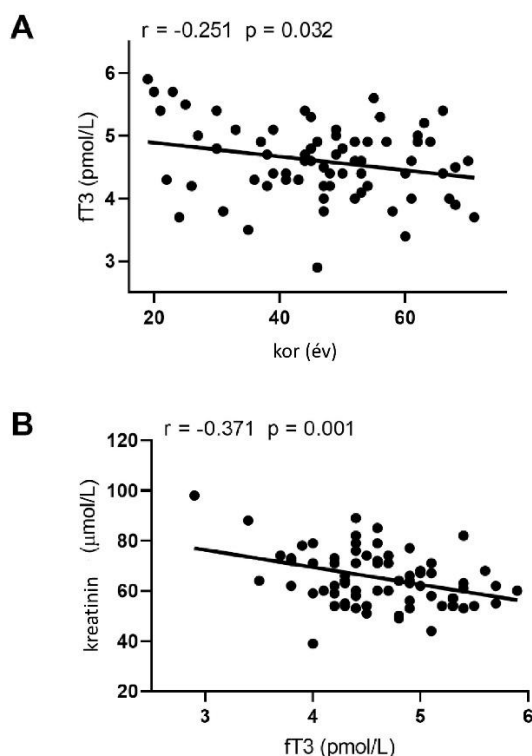


12. ábra. Jellemző korrelációk Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő betegek körében: (A) szérum fT3- és AGE-szintek, (B) TSH- és sRAGE-szintek, valamint (C) TPOAb- és AGE-szintek közötti összefüggések.

3. táblázat. A többszörös regresszióanalízis eredményei.

	β	SE of β	b	SE of b	p
Dependens változó: sRAGE					
BMI	- 0,379	0,10 8	-20,590	5,865	0,000 8
log TSH	- 0,353	0,10 8	-81,435	24,92 5	0,002
Dependens változó: AGEs					
Kor	0,187	0,10 1	0,03 1	0,017	0,069
Szérum Kreatinin	0,405	0,10 7	0,08 1	0,021	0,000 3
TPOAb	0,224	0,09 9	0,00 1	0,000 4	0,026
fT3	- 0,108	0,10 6	- 0,40 5	0,398	0,313

Rövidítések: BMI; testömegindex, fT3; szabad trijód-tironin, TPOAb; tireoperoxidáz elleni antitest, TSH; tiroidea stimuláló hormon.



13. ábra. Az fT3-szint összefüggése (A) az életkorral és (B) a szérum kreatininszinttel Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő betegek esetében.

5.2 2-es típusú diabetes mellitusban és diabeteses neuropátiában szenvedő beteg és kontroll csoport eredményei

Az 4. táblázat a diabeteses betegek klinikai jellemzőit és laboratóriumi paramétereit mutatja be az ALA-kezelés előtt és után, valamint a cukorbeteg kontrollcsoport tagjainak esetében. Nem figyeltünk meg szignifikáns különbséget a glükóz, a hemoglobin A1c (HbA1C), a kreatinin, a hsCRP, a lipidparaméterek, az sVCAM-1, az sICAM-1, a VEGF és az oxLDL tekintetében a neuropátiás és nem neuropátiás betegek, illetve a neuropátiás csoportban ALA-kezelés előtt és után. Ezzel szemben az ADMA és TNF α szérumszintje szignifikánsan magasabb volt a neuropátiás csoportban a kontrollcsoportéhoz képest. Hasonlóképpen, a küszöbérték meghatározására szolgáló áramerősség (CPT) és az összetett autonóm pontszám (CAS) is emelkedett értékeket mutatott a neuropátiás betegeknél.

4. táblázat. A vizsgálatba bevont résztvevők legfontosabb antropometriai és laboratóriumi jellemzői

	Diabetesz neuropathiás csoport ALA kezelés előtt	Diabetesz neuropathiás csoport ALA kezelés után	Diabetesz kontroll csoport
Betegek száma (M:férfi/F:nő)	54 (22M/32F)	54 (22M/32F)	24 (11M/13F)
Betegek kora (évek)	64,2±8,7	64,2±8,7	63,6±5,1
Áramérzet küszöbérték (CPT, Neurometer, mA)	0,473±0,171	0,409±0,154 *	0,375±0,124 **
Összetett autonóm pontszám (CAS)	2,67±1,05	1,56±1,24 *	1,13±0,77 **
NTSS-6	8,16 (6,99-15,97)	5,66 (2,99-12,33) *	NA
DN4	3,3±1,4	2,6±1,4 *	NA
BMI (kg/m ²)	30,02±3,29	29,95±3,73	29,50±2,86
Glükóz (mmol/l)	7,34±2,18	7,51±2,60	7,44±1,36
HbA1C (%)	6,94±0,93	6,84±1,04	6,78±0,75
Kreatinin (µmol/l)	72,61±16,97	74,75±14,65	75,17±20,97
Húgysav (µmol/l)	296,51±76,44	304,33±77,69	316,13±57,37
Totál koleszterin (mmol/l)	4,84±1,16	4,76±1,24	4,90±1,17
HDL-C (mmol/l)	1,38±0,37	1,38±0,44	1,26±0,33
LDL-C (mmol/l)	2,98±0,97	2,87±1,16	2,84±1,07
Non-HDL-C (mmol/l)	3,47±1,08	3,38±1,19	3,63±1,19
hsCRP (mg/l)	2,1 (0,8-3,36)	2,8 (0,75-5,15)	1,25 (0,9-2,25)
sVCAM-1 (ng/ml)	820 (660-992)	836,6 (674,3-929,6)	729,2 (653,8-847)
sICAM-1 (ng/ml)	210,8 (184,4-247,3)	216,8 (194,4-253,1)	213,3 (189,4-239,4)
VEGF (ng/ml)	62,5 (44,9-93,0)	72,6 (38,6-96,0)	18,6 (15,2-96,0)
oxLDL (U/l)	63,6 (507-91,1)	63,36 (45,59-89,77)	70,76 (59,18-99,46)
TNFα (pg/ml)	1,18±0,36	1,05±0,50 *	0,75±0,29 **
ADMA (µmol/l)	0,61±0,11	0,53±0,11 *	0,56±0,10 **
NO (µmol/l)	16,8±11,1	21,5±9,0 *	19,1±10,9
PGRN (ng/ml)	34,89±7,13	36,23±7,93 *	33,13±7,35

Rövidítések: ADMA ;aszimmetrikus dimetil-arginin, BMI; testtömegindex, DN4; Douleur Neuropathique en 4 Questions, HbA1c; hemoglobin A1c, HDL-C; nagy sűrűségű lipoproteinhez kötött koleszterin, hsCRP; nagy érzékenységű C-reaktív protein, LDL-C; alacsony sűrűségű lipoproteinhez kötött koleszterin, NTSS-6; Neuropathy Total Symptom Score-6, NO; nitrogén-monoxid, oxLDL; oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein, PGRN; progranulin, sICAM-1;szolubilis intercelluláris adhéziós molekula-1, sVCAM-1;szolubilis vaszkuláris adhéziós molekula -1, TNFα; tumor nekrozis faktor - α, TSH; tiroidea stimuláló hormon, VEGF; vaszkuláris endoteliális növekedési faktor.

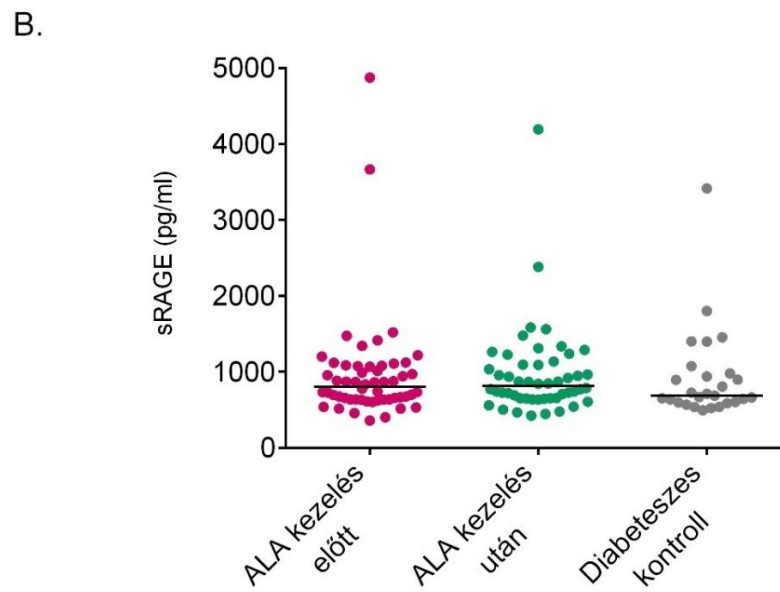
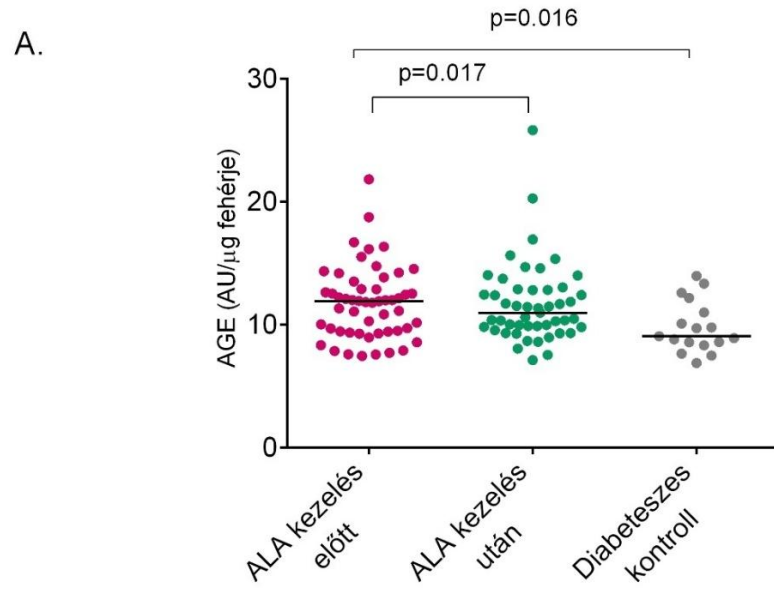
Az értékek átlag ± SD vagy medián (interkvartilis tartományok) formájában vannak megadva.

* p <0,05 értéket jelöli a neuropathiás betegek ALA-kezelés előtti és utáni adatai között (Student-féle párosított teszttel vagy Wilcoxon-féle illesztett párosított teszttel).

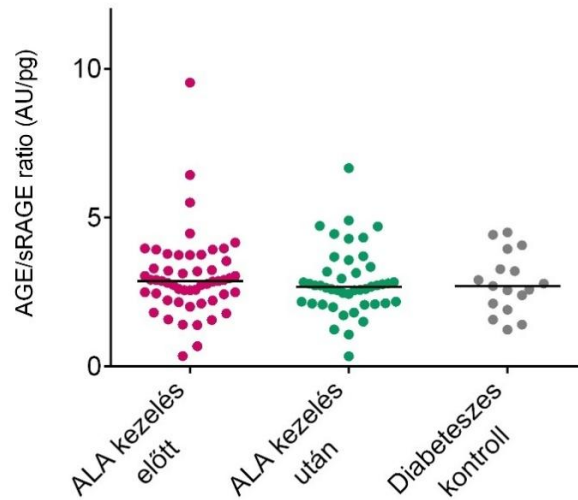
** p <0,05 értéket jelöli a neuropathiás betegek alapadatai és a cukorbeteg kontrollcsoport adatai között (Student-féle párosítatlan teszttel vagy Mann-Whitney U-teszttel).

A 6 hónapos napi orális ALA-kezelés eredményeként azt tapasztaltuk, hogy a TNF α és az ADMA plazmaszintje szignifikánsan csökkent, míg az NO és a PGRN szintje szignifikánsan emelkedett. Továbbá azt tapasztaltuk, hogy a CPT és a CAS értékek szignifikánsan csökkentek az ALA-kezelés után, vagyis a perifériás és autonóm idegi funkciók kedvező irányban változtak a kezelést követően. Az ALA-kezelés után szignifikáns javulást tapasztaltunk mind a DN4, mind az NTSS-6 pontszámokban (4. táblázat), ami a fájdalom és a neuropathiás tünetek csökkenését tükrözi.

A neuropathiás 2-es típusú diabeteszes betegek szérum AGE-koncentrációja a kiinduláskor 11,89 AU/ μ g fehérje volt (IQR: 9,44–12,88), amely szignifikánsan magasabb értéket mutatott, mint a neuropathia által nem érintett cukorbetegből álló kontrollcsoporté (9,80 AU/ μ g fehérje; IQR: 8,56–10,97; $p=0,016$). Hat hónapos ALA-kezelés után az AGE-szintek szignifikáns csökkenést mutattak, és 10,95 AU/ μ g fehérje értékre mérséklődtek (IQR: 9,81–12,82; $p=0,017$) (14. A. ábra). Ezzel szemben az sRAGE-szintek nem változtak szignifikánsan az ALA-kezelés hatására: a kiindulási érték 814,20 pg/ml (IQR: 651,70–1094,10), míg a kezelés után 806,55 pg/ml volt (IQR: 637,20–1074,6; $p=0,660$). A neuropathiás betegcsoport sRAGE-szintje nem különbözött szignifikánsan a kontrollcsoport értékétől [685,60 pg/ml; IQR: 596,70–978,90; $p=0,438$] (14. B. ábra). Az AGE/sRAGE arány a neuropathiás betegek esetében [2,87 AU/pg; IQR: 2,42–3,54] hasonló volt a nem neuropathiás kontrollcsoportéhoz [2,70 AU/pg; IQR: 2,11–3,27], és az ALA-kezelés után sem mutatott szignifikáns változást [2,68 AU/pg; IQR: 2,12–3,18] (14. C. ábra).



C.



14. ábra ábra. Az AGE-k (A), az sRAGE (B) és az AGE/sRAGE arány (C) plazmakoncentrációi 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő neuropathiás betegeknél a hat hónapos 600 mg/nap alfaliponsav (ALA) kezelés előtt és után, valamint neuropathia nélküli cukorbeteg kontrolloknál. A folytonos vonalak a mediánokat jelölik. A p-értékeket Wilcoxon párosított teszttel számítottuk ki neuropathiás betegeknél az ALA előtt és után, valamint Mann-Whitney U-teszttel a neuropathiás betegek és a cukorbeteg kontrollok között.

A 5. táblázat a neuropathiás betegek ALA kezelése előtti és utáni AGE-, sRAGE-szintek, valamint az AGE/sRAGE arány és a vaszkuláris biomarkerek közötti összefüggéseket mutatja be. Az ALA-kezelést megelőzően az AGE- és PGRN-szintek között negatív korreláció volt megfigyelhető, miközben az AGE-szint pozitív összefüggést mutatott az sVCAM-1 koncentrációjával. A kezelés után az AGE-k és az oxidált LDL (oxLDL) között negatív korrelációt tapasztaltunk. Az sRAGE esetében az ALA-kezelés előtt összefüggést figyeltünk meg a VEGF-, NO- szintek között, míg a kezelést követően a sVCAM-1, sICAM-1, VEGF és NO értékek mutattak összefüggést az sRAGE-szinttel. Az AGE/sRAGE arány esetében az ALA-kezelést megelőzően negatív korreláció volt tapasztalható az sVCAM-1 és a VEGF szintekkel. Nem találtunk továbbá szignifikáns összefüggést sem az AGE-, sem az sRAGE-szintek, illetve a fő antropometriai és rutin laboratóriumi paraméterek között, sem a kezelés előtt, sem azt követően a neuropathiás betegek körében.

5. táblázat Az AGE és az sRAGE összefüggései a vaszkuláris markerekkel neuropathiás betegekben ALA-kezelés előtt és után.

AGE (AU/μg fehérje)				
	ALA kezelés előtt		ALA kezelés után	
	r	p	r	p
sVCAM-1 (ng/ml)	-0,25	0,068	0,38	0,007
sICAM-1 (ng/ml)	-0,23	0,094	0,21	0,15
VEGF (ng/ml)	-0,21	0,132	-0,02	0,0872
oxLDL (U/l)	-0,14	0,326	-0,28	0,049
TNFα (pg/ml)	-0,10	0,469	0,12	0,4
ADMA (μmol/l)	0,05	0,704	0,23	0,112
NO (μmol/l)	0,02	0,9	0,31	0,093
PGRN (ng/ml)	-0,31	0,022	0,09	0,56

sRAGE (pg/ml)				
	ALA kezelés előtt		ALA kezelés után	
	r	p	r	p
sVCAM-1 (ng/ml)	0,18	0,196	0,28	0,045
sICAM-1 (ng/ml)	0,20	0,154	0,35	0,013
VEGF (ng/ml)	0,35	0,009	0,32	0,022
oxLDL (U/l)	-0,06	0,66	-0,20	0,155
TNFα (pg/ml)	0,20	0,16	-0,20	0,17
ADMA (μmol/l)	0,24	0,082	0,26	0,063
NO (μmol/l)	0,51	0,002	0,33	0,05
PGRN (ng/ml)	0,16	0,18	0,23	0,104

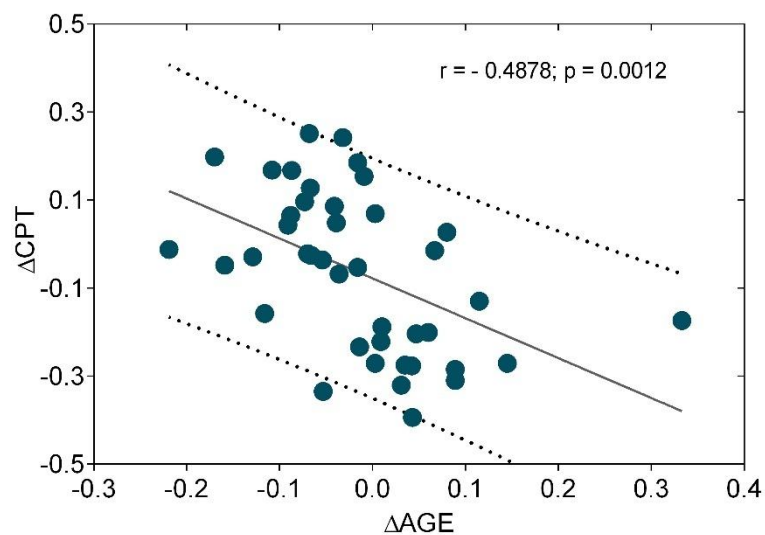
AGE/sRAGE arány (AU/pg)				
	ALA kezelés előtt		ALA kezelés után	
	r	p	r	p
sVCAM-1 (ng/ml)	-0,29	0,035	-0,08	0,62
sICAM-1 (ng/ml)	-0,25	0,073	-0,13	0,397
VEGF (ng/ml)	-0,38	0,005	-0,28	0,062
oxLDL (U/l)	0,03	0,834	0,08	0,585
TNFα (pg/ml)	-0,17	0,238	-0,16	0,301
ADMA (μmol/l)	-0,21	0,139	-0,06	0,715
NO (μmol/l)	-0,07	0,71	-0,07	0,707
PGRN (ng/ml)	-0,26	0,059	-0,01	0,928

Rövidítések: ADMA ;aszimmetrikus dimetil-arginin, NO; nitrogén-monoxid, oxLDL; oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein, PGRN; progranulin, sICAM-1;szolubilis intercelluláris adhézios molekula-1, sVCAM-1;szolubilis vaszkuláris adhézios molekula - 1, TNF α ; tumor nekrozis faktor - α , TSH; tiroidea stimuláló hormon, VEGF; vaszkuláris endoteliális növekedési faktor.

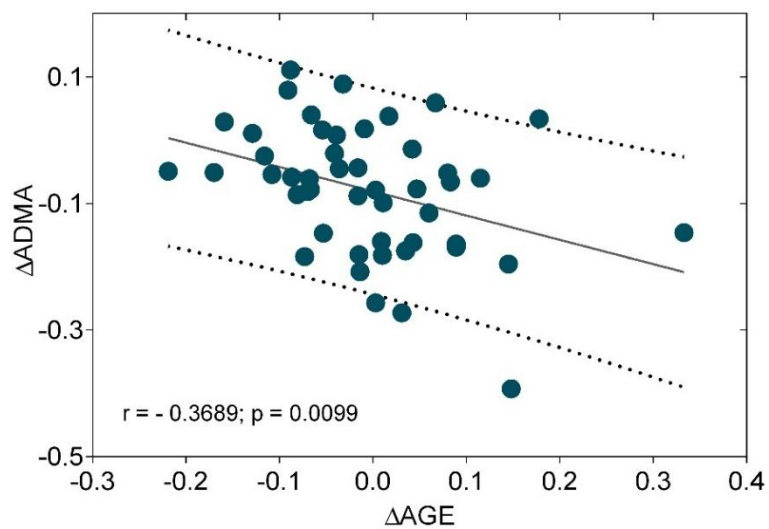
A nem normális eloszlású változókat a korrelációs analízis előtt logaritmizáltuk.

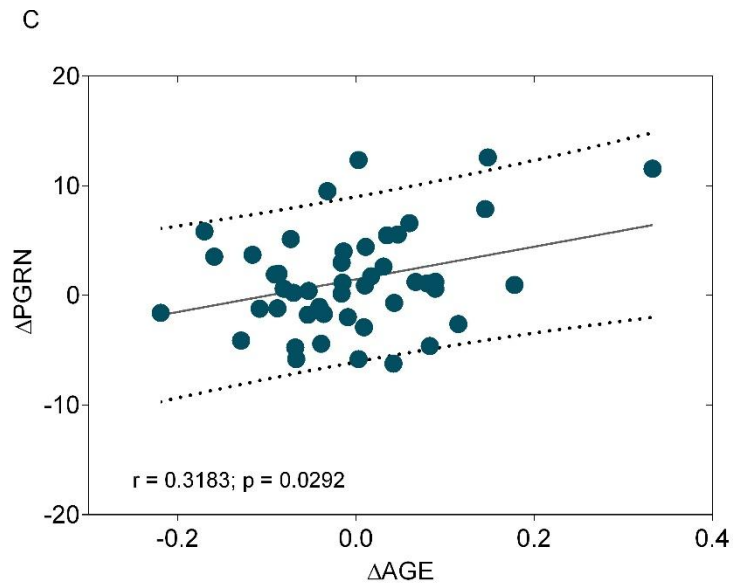
A CPT-értékek csökkenése és az ADMA-szintek változása negatív korrelációt mutatott az AGE-szintek változásával (15. A, B. ábra). Ezzel szemben a PGRN szint emelkedése pozitív korrelációt mutatott az AGE-szintek változásával (15 C. ábra).

A



B





15. ábra Összefüggések az áramérzet küszöb érték változása (ΔCPT) (A), az aszimmetrikus dimetil-arginin változása ($\Delta ADMA$) (B), a progranulin változása ($\Delta PGRN$) (C) és az AGE szérumszintek (ΔAGE) változása között 6 hónapos alfaliponsav-kezelés (napi 600 mg) után neuropathiás 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegeknél.

6. Megbeszélés

6.1 A Hashimoto-thyreoiditisben szenvedő betegcsoport és kontroll csoport

A hypothyreosis az egyik leggyakrabban előforduló endokrin megbetegedés, amely komoly kockázati tényezőt jelent a szív- és érrendszeri betegségek, az elhízás, valamint a T2DM kialakulásában [69-71]. Amennyiben glükometabolikus zavar is fennáll, a pajzsmirigy-alulműködés tovább fokozhatja a klinikai szövődmények súlyosságát, különösen a háttérben zajló összetett pathofiziológiai folyamatok révén. E mechanizmusokban az AGE-k és az ezekhez társuló gyulladásos válaszreakciók központi szerepet játszanak [72]. Autoimmun pajzsmirigybetegségek többek között a Hashimoto-thyreoiditis során a tartós gyulladás és az emelkedett oxidatív stressz kedvez az AGE-k keletkezésének és szöveti akkumulációjának, ami elősegítheti a pajzsmirigy strukturális károsodását és az autoimmun folyamatok fenntartását. A carotis intima-media vastagság (cIMT) jól ismert és megbízható biomarker a stroke és az artériás károsodás előrejelzésében. Az artériás merevség fokozódása, amelyet a hypothyreosis következtében kialakuló hiperlipidémiás állapot, fokozott koagulációs hajlam és endothel diszfunkció tovább súlyosbíthat, erősítheti a hagyományos kardiovaszkuláris rizikótényezők érfalra gyakorolt hatását [73, 74].

Az AGE-k mind szerkezeti, mind funkcionális szinten hozzájárulnak az érfali merevség fokozódásához. Strukturális szinten az AGE-k irreverzibilis kötődése (cross-linking) a kollagén- és elasztinrostokhoz jelentősen csökkenti az érfal rugalmasságát. Ezt a hatást tovább súlyosbítja a glikációval összefüggésben fokozódó kollagénszintézis és az elasztintermelés csökkenése [75]. Funkcionális vagy dinamikus szinten az endothelfunkció romlásához vezet az NO csökkent termelődése, az endothelin-1 fokozott termelődése, valamint az eltérő neuroendokrin szabályozás, amelyek együttesen jelentős szerepet játszanak a vaszkuláris diszfunkció kialakulásában [76-78].

Két független vizsgálat emelkedett cIMT-értékeket mutatott ki euthyreoid állapotú, de pajzsmirigy autoimmunitással (HT) rendelkező nőbetegeknél, függetlenül a klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktoroktól. A cIMT-értékek nem mutattak különbséget az alacsony-normális és magas-normális TSH-tartományba eső betegek között, bár az elhízás potenciálisan torzíthatta az eredményeket [79, 80]. A normál tartományon belüli TSH-szintek hatása a cIMT-re továbbra is ellentmondásos, és szakmai viták tárgyát képezi [81, 82].

Az alacsony T3-szindróma, amely számos nem pajzsmirigy eredetű szisztémás betegség következményeként alakul ki, szerepet játszhat az atherosclerotikus folyamatok előrehaladásában. Ebben az összefüggésben a T3 hormon endogén védőfaktorként viselkedhet, amely potenciálisan képes lassítani az érlemezés progresszióját [83, 84]. Emellett a T3 és T4 pajzsmirigyhormonok jól ismertek képesek genomikai és nem-genomikai mechanizmusokon keresztül befolyásolni a fiziológiás immunválaszokat, valamint támogatni az immunrendszer hatékony működését [85].

Hiperkoleszterinémiában szenvedő egyéneknél jellemzően megemelkedett plazma AGE-szinteket figyeltek meg. Feltételezések szerint ezek a molekulák közös ligand-kötőhelyen lépnek kapcsolatba a scavenger B típusú I. osztályú receptorral, amely kulcsszerepet tölt be a reverz koleszterintranszport folyamatában. Tekintettel arra, hogy ez a receptor felismeri az oxox-LDL és az AcLDL-részecskéket is, az AGE-k jelenléte akadályozhatja a reverz koleszterin transzportot és a koleszterin felvételét a perifériás sejtekből a HDL-be, mely különösen cukorbetegség esetében az atherosclerotikus folyamatok felgyorsulásához vezet [86, 87]. Ezzel szemben a sztatinok - jól ismert koleszterinszint-csökkentő hatásuk mellett - fokozhatják a szérumban keringő sRAGE koncentrációját, feltehetően a sejtfelszíni RAGE-receptor lehasításának serkentésével. Ez a hatás gátolhatja a RAGE-közvetítette patofiziológiai folyamatokat [88], ami tovább erősíti a hiperlipidémia szűrésének és megfelelő kezelésének jelentőségét különösen pajzsmirigybetegségben szenvedő betegek esetében.

Az elhízás a kezeletlen hypothyreosis egyik ismert szövődménye. A pajzsmirigyfunkció zavara befolyásolja a testsúlyt és testösszetételt, a testhőmérséklet-szabályozást, valamint a nyugalmi és teljes energiafelhasználást, függetlenül a fizikai aktivitás szintjétől. A pajzsmirigy-hormonértékeknek még a referenciatartományon belül jelentkező kisebb eltérései is hozzájárulhatnak a regionális zsíreloszlás módosulásához és az elhízás kialakulásához [70]. A DanThyr-vizsgálat eredményei azt mutatták, hogy a pajzsmirigyműködés hatása a BMI-re hasonló nagyságrendű, mint a dohányzásé vagy a fizikai aktivitásé. A BMI növekedésével párhuzamosan emelkedett T3/T4 arányt is megfigyeltek, ami a hormonális egyensúly felborulására utal [89]. Az elhízás és a hypothyreosis között valószínűleg kölcsönös, kétirányú kapcsolat áll fenn: a csökkent pajzsmirigyműködés elősegítheti a testsúlygyarapodást, míg az elhízás maga is hozzájárulhat a pajzsmirigy-diszfunkció kialakulásához [25, 69, 72]. Ebben a kölcsönhatásban a leptin nevű adipokin kulcsszerepet játszik: serkenti a dejodináz

enzimek aktivitását, ezáltal elősegítve a T4 T3-á való átalakulását. Ugyanakkor a hypothyreosisra jellemző alacsony T3-szint csökkenti a leptintermelést, ami negatív visszacsatoláson keresztül tovább rontja a T4-T3 konverziót [25]. Továbbá, a T3 közvetlenül stimulálja a táplálékfelvételt a hipotalamuszon keresztül, ezáltal befolyásolva az energiaháztartást és a metabolikus egyensúlyt [69, 90].

Egy friss, 22 tanulmányt összefoglaló szisztematikus áttekintés alapján az elhízás szignifikáns mértékben növeli a hypothyreosis előfordulását, és szoros összefüggést mutat a HT megjelenésével is [26]. Elhízás esetén a pajzsmirigyhormonok sejtmembránon keresztüli transzportja is károsodik az enyhe gyulladás miatt, ami pajzsmirigyhormon-rezisztenciához vezet [91-93]. Vizsgálatunk során negatív korrelációt figyeltünk meg a BMI és az sRAGE szintek között mind a betegek, mind a kontrollcsoport esetében. Ez az eredmény arra utal, hogy a túlsúlyos vagy elhízott állapot önmagában is hajlamosító tényező lehet a gyulladásos és oxidatív stresszen alapuló kórfolyamatokra - függetlenül a HT jelenlététől. Az általunk megfigyelt korrelációk minden testsúlycsoportban jelen voltak. Mind a beteg, mind a kontrollcsoportban az AGE-k szintje pozitív korrelációt mutatott az életkorral és a szérum kreatininszinttel. Az AGE-k növekedése az életkor előrehaladtával alaposan körül járt jelenség az irodalomban, az AGE-k élethosszig tartó felhalmozódása és a vesefunkció romlása következtében [94, 95]. HT-ben szenvedő betegeink esetében az FT3-szintek szintén pozitív korrelációt mutattak mind az életkorral, mind a szérum kreatininszinttel, ami a pajzsmirigyfunkció és a veseműködés közötti komplex kapcsolatra utal.

További vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy a kezelt HT-ben szenvedő betegeink körében megfigyelt módosult AGE- és sRAGE-mintázatok az autoimmun pajzsmirigybetegséghez társuló krónikus, alacsony szintű gyulladás következményei, vagy inkább a fiziológiához képest a levothyroxin-kezelés hatására módosult hormonális környezet eltéréseihez köthetők [96]. A vizsgált HT-betegek többségére jellemző volt a normál TSH-szinttel társuló euthyreoid állapot, a csoport FT4- és FT3-szintjei egyaránt a levothyroxinnal szubsztituált hypothyreosis jellemző hormonprofilját tükrözték.

Összességében elmondható, hogy a pajzsmirigyhormonok szintjének változásai hozzájárulhatnak az elhízás, az érlelmeszesedés és a gyulladásos folyamatok kialakulásához. Ezen túlmenően a pajzsmirigyfunkció zavara fokozhatja az immunrendszer aktivációját, ami kétirányú kölcsönhatást eredményezhet az elhízás és a pajzsmirigy autoimmunitása között [85], [92].

Ruggeri és munkatársai egy közelmúltban végzett tanulmányukban 81 frissen diagnosztizált HT-s beteg és 119 kontrollszemély táplálkozási szokásait elemezték kérdőíves módszerrel. Az eredmények szerint a HT-ben szenvedők gyakrabban fogyasztottak állati eredetű élelmiszereket, és körükben magasabb AGE-szinteket mértek. Ez alapján úgy tűnik, hogy az állati eredetű élelmiszerek alacsony bevitele protektív hatást fejthet ki a pajzsmirigy autoimmun folyamataival szemben, a növényi alapú étrend pedig elősegítheti a redox-homeosztázis fenntartását, és kedvezően befolyásolhatja az oxidatív stresszhez köthető rendellenességeket [27]. HT-vel küzdő gyermekek körében egy nemrégiben végzett másik tanulmány az sRAGE-szintek csökkent koncentrációját mutatta ki, miközben az AGE-szintekben nem volt különbség [97]. Ruggeri és munkatársai kezeletlen HT-betegeket vizsgáltak, és eredményeik alapján az AGE/sRAGE arány kedvezőtlen alakulása már korai stádiumban jelezheti a betegség progresszióját, amely idővel súlyosbodik és hypothyreosishoz vezet. Meglepő módon azonban a mi vizsgálatunkban a betegek AGE-szintje alacsonyabb volt, mint a kontrollcsoporté, míg az sRAGE-szint magasabb volt a betegek körében [24]. További vizsgálatokra lenne szükség annak feltárására, hogy a levothyroxin-terápia milyen hatással van a szubklinikus gyulladásos állapotokra euthyreoid Hashimoto-s betegek esetében.

Összességében az sRAGE és a BMI közötti összefüggés arra utalhat, hogy a normál testsúly fenntartása védelmet nyújthat a HT metabolikus és kardiovaszkuláris szövődményeivel szemben. Meg kell jegyezni, hogy az életmódbeli tényezők, például a táplálkozási szokások és a földrajzi és éghajlati különbségek is befolyásolhatják az eredményeket, ezt figyelembe kell venni a következtetések levonásakor. Kontrollcsoportunk kedvezőtlen eredményei eltérhetnek az olasz tanulmány vizsgálati csoportjának adataitól, ami magyarázható a hazai, telített zsírokban gazdag, egészségtelen táplálkozási szokásokkal, szemben a mediterrán országok egészségesebb étrendi mintázataival [98].

Giannakou és munkatársai egyik vizsgálatukban a szérum teljes lipid-peroxid szintjének mérésével kimutatták, hogy az oxidatív stressz szintje emelkedett volt levothyroxin pótlásban részesülő HT betegek körében, különösen a túlsúlyos/elhízott alpopulációban, valamint azoknál, akik alacsony gyümölcsfogyasztást és rendszertelen zöldségbevittet jeleztek [99]. Az oxidatív stressz emelkedését kezelt betegek esetében is észlelték, emellett a RAGE gén 429T>C polimorfizmusa – amelyet korábban

összefüggésbe hoztak a diabeteszes makrovaszkuláris szövődmények és a nefropátia fokozott kockázatával - szintén nagyobb hajlamot mutatott a pajzsmirigy-alulműködés kialakulására HT-ben szenvedő betegeknél [14, 100]. Az AGE-k szerepe nemcsak az oxidatív stressz fokozásában nyilvánul meg, hanem szintjük az egészségtelen étrendi szokások hatására is emelkedik, ezáltal tovább súlyosbítva (vagy akár elindítva) a HT patogenezisében feltételezett gyulladásos és immunmediált folyamatokat. A levothyroxin-kezelés kimutathatóan csökkenti az oxidatív stressz szintjét manifest [101-103] vagy szubklinikus hypothyreosis [103, 104] esetén, de egyes adatok szerint hosszú távú alkalmazása során az oxidatív stressz bizonyos paraméterei emelkedhetnek a kontrollcsoporthoz képest [105, 106].

Vizsgálatunkban a levothyroxin-kezelés Hashimoto-thyreoiditisben csökkentette az AGE-szintet és emelte az sRAGE koncentrációját, ami a hormonhiányhoz társuló oxidatív stressz mérséklődésére utal. Ugyanakkor a megváltozott AGE/sRAGE arány egyes betegeknél fennmaradhat, amelyet korábbi közlések a carotis intima-media vastagodásával és az atherosclerotikus folyamatok fokozódásával hoztak összefüggésbe. [107, 108] Ez nem tekinthető valódi ellentmondásnak, mivel az AGE/sRAGE rendszer egyensúlyát az oxidatív stresszen túl a Hashimoto-thyreoiditishez társuló gyulladásos és metabolikus eltérések is befolyásolják. Ennek megfelelően a levothyroxin elsősorban az oxidatív terhelést csökkenti, miközben a betegség saját mechanizmusai részben fennmaradó kockázatot eredményezhetnek az atherosclerózis progressziója szempontjából.

Összefüggést mutattunk ki az anti-TPO és AGE szint között. Elsőként vizsgáltuk az AGE és RAGE szinteket LT4-gyel kezelt HT betegek körében. Bár az anti-TPO szintek korreláltak az AGE-értékekkel, az AGE-szintek összességében nem voltak magasabbak az levothyroxin-kezelés alatt álló HT-betegeknél, mint az egészséges kontrollcsoportban, ami összhangban van az oxidatív stressz csökkenésére vonatkozó megfigyeléseinkkel ebben a betegcsoportban. Az elvégzett többszörös regresszióanalízis eredményei alapján a szérum kreatininszint és az anti-TPO szintje szignifikáns prediktorai voltak az AGE-szinteknek, míg a BMI és a TSH-szint szignifikáns előrejelzőként jelentek meg az sRAGE-koncentráció tekintetében (3. táblázat).

A vizsgálat korlátai a viszonylag alacsony betegszám, a vizsgált populáció széles életkor-tartománya, illetve a levothyroxin-szubsztitúció nélküli HT-betegcsoport hiánya,

valamint az oxidatív és gyulladáshoz kapcsolódó paraméterek értékelése. Egy nagyobb mintaszámú, prospektív, longitudinális vizsgálat, amely magában foglalná az artériás merevség és a cIMT mérését is, tovább pontosíthatná az élethosszig tartó AGE-felhalmozódás kardiovaszkuláris kockázatokra gyakorolt hatásának megértését HT-ben szenvedő betegeknél.

Tanulmányunk erőssége, hogy elsőként mutattuk ki a kezelt HT-betegek körében alacsonyabb AGE/sRAGE arányt a kontrollcsoportéhoz képest, valamint az AGE és az fT3-szintek közötti negatív korrelációt, az sRAGE és a TSH-szintek közötti korrelációval együtt. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a levothyroxin-kiegészítés hozzájárulhat a kedvezőbb AGE/sRAGE arányhoz a kezelt HT-betegeknél, ugyanakkor a betegspecifikus korrelációk arra utalnak, hogy a kezelt betegek körében a magasabb fT3-szint, valamint a referencia tartományon belüli alacsonyabb TSH-szint kedvezőbb hatással lehet az oxidatív stresszre.

6.2 2-es típusú diabetes mellitusban és diabeteszes neuropataiban szenvedő beteg és kontroll csoport

Becslések szerint a cukorbetegséggel élő betegek mintegy felénél élete során kialakul neuropathia, amely jelentősen rontja az életminőséget és növeli a morbiditást. A tartós hiperglikémia elősegíti a nukleinsavak, fehérjék és lipidek nem enzimátikus glikációját, amely a bevezetésben részletesen tárgyalt, klasszikus Maillard-reakción keresztül valósul meg. A diabeteszes neuropathia megelőzésének és kezelésének elsődleges célja a hiperglikémia mérséklése és a neuropátiás fájdalom csökkentése; ugyanakkor a glikémiás kontroll önmagában nem bizonyult hatékonynak a fájdalom kezelésében [109]. Korábbi adatok arra utalnak, hogy az életmódbeli változások, úgy mint a egészséges táplálkozás, testsúlycsökkentés és a fizikai aktivitás fokozása, kedvező hatással lehetnek a perifériás neuropathia okozta fájdalom mérséklésére [110], egyúttal csökkenthetik az AGE-k szintjét is [111]. A T2DM-ben szenvedő betegek esetében a metabolikus szindróma egyes tüneteinek - például hasi elhízás, magas vérnyomás, inzulinrezisztencia vagy hiperlipidémia - megléte kétszeresére növeli a neuropathia kialakulásának kockázatát azokhoz a T2DM-es páciensekhez viszonyítva, akiknél ezek a kockázati tényezők nem állnak fenn [112]. Továbbá, a metabolikus szindróma fennállása önmagában is jelentősen emeli a neuropathia kialakulásának gyakoriságát [113].

Az AGE-k receptor-közvetített jelátviteli útvonalakon keresztül gyulladást és oxidatív stresszt indukálnak, ami önfenntartó módon fokozza további képződésüket és hozzájárul krónikus kórfolyamatokhoz. A fehérjékkel kialakított irreverzibilis keresztkötéseik tartós szöveti károsodást eredményeznek. E mechanizmusok hosszú távon neuronális károsodást idéznek elő, elősegítve a diabeteszes neuropathia kialakulását.

Papachristou és munkatársai vizsgálatában a bőr autofluoreszcenciájával mért AGE-szintek összefüggést mutattak a DSPN jelenlétével és annak súlyosságával [114]. Az AGE-k nemcsak a neuropathia, hanem a makrovaszkuláris szövődmények korai előrejelzői is lehetnek, még 1-es típusú cukorbetegség esetén is [115]. A szövődményekre gyakorolt hatásuk mellett az AGE-k felhalmozódása a zsírszövetben és a vázizomzatban tovább rontja az inzulinérzékenységet. Az AGE szintek mérséklésének természetes módja az AGE-k bevitelének csökkentése táplálkozás során, míg a fizikai aktivitás az sRAGE szintek növekedésén keresztül fejt ki jótékony hatását [116-118]. Ezzel szemben az elhízás csökkenti az sRAGE-szintet, ami hozzájárulhat a kardiovaszkuláris kockázat növekedéséhez [119, 120]. Vizsgálatunkban a neuropátiás és nem neuropátiás 2-es típusú cukorbeteg sRAGE-szintje hasonló volt, ami eltér a korábbi irodalmi adatoktól, mivel Aubert és munkatársai pozitív kapcsolatot találtak az sRAGE és a perifériás neuropathia előfordulása között [121]. Az AGE- és sRAGE-szintek lehetséges biomarkerként szolgálhatnak a betegség rizikó és a kedvezőtlen kimenetek előrejelzésében [122], azonban a folyamatok pontos tisztázásához további kutatások szükségesek.

A diabeteszes neuropathia jelentősen növeli az egészségügyi ellátás költségeit, nemcsak az orvosi költségeken és a diabeteszes láb kezelésén keresztül, hanem közvetett módon is, például az életminőség romlása, a munkaképesség csökkenése, valamint a neuropathia indukálta egyensúlyzavar következtében bekövetkező törések által [109]. Terápiájának fő célja a megfelelő glikémiás kontroll és a neuropátiás fájdalom mérséklése. A sikeres életmódváltás után, beleértve a kiegyensúlyozott étrendet és a rendszeres testmozgást, az életminőségben is jelentős javulás érhető el [110]. A betegség patomechanizmusát tekintve antioxidáns készítmények adásával mérséklődhet az oxidatív stressz és csökkenhet az AGE-k képződése. Vizsgálatunk elsőként mutatta ki az antioxidáns hatású ALA AGE-csökkentő hatását T2DM-ben szenvedő betegekben. A disszertáció első felében részletesen leírt kutatásunkban a nem cukorbeteg, Hashimoto-

thyreoiditisben szenvedő betegek átlagos AGE-értéke 10,7 AU/μg, sRAGE-szintje pedig 923 pg/ml volt, míg egészséges kontrollszemélyeknél ezek az értékek rendre 11,4 AU/μg és 755 pg/ml-t tettek ki; ezek a különbségek jól összevethetők jelen cukorbeteg-populációnk adataival. Előző vizsgálatunkban az egészséges kontrollcsoport tagjaihoz képest a betegek körében észlelt kedvezőbb AGE-szinteket oxidatív stressz mérséklődésével magyaráztuk, mely vélhetően a levothyroxin hatására jelentkezett. A HT vizsgálat egészséges kontrollcsoportjának tagjai AGE-értékei T2DM vizsgálatunk kezelt neuropathiás (10,9 pg/ml) és nem neuropathiás betegcsoportjainak AGE-szintjeinél (9,8 pg/ml) is magasabbak voltak numerikusan. Quade-Lyssy és munkatársai kimutatták, hogy a sztatinok növelik az sRAGE-szintet, ami magyarázhatja a sztatinok gyulladáscsökkentő hatását [123]. Jelen vizsgálatban a betegek metformint és sztatinot kaptak az irányelveknek megfelelően, ami feltehetően már önmagában is javította AGE- és sRAGE-értékeiket, ezáltal kedvezően befolyásolva az AGE/sRAGE arányt, hasonlóan ahhoz, amit a levothyroxinnal kezelt, nem cukorbeteg HT-betegeknél korábban tapasztaltunk [124]. Feltételezhető az is, hogy a különböző farmakológiai kezelések, illetve az életmódbeli változások, például a táplálkozás során bevitt exogén forrásból származó AGE-k csökkentése az oxidatív stressz mértékére gyakorolt jótékony hatása is egymást erősítő módon előnyös lehet. Ugyanakkor az ALA AGE-szintre gyakorolt önálló hatásának értékelése cukorbeteg populációban korlátozott, mivel az antihyperglükémiás kezelés és a lipidparaméterek korrekciója a terápia alapvető és korai elemei a szövődmények megelőzése érdekében. A RAGE fokozott expressziója mellett alacsony sRAGE-szintet figyeltek meg cukorbetegségben, ami a redox státusz megváltozásához vezethet [125]. Vizsgálatunk során viszont nem találtunk különbséget az az sRAGE-szint tekintetében az egyes csoportok között.

Az érrendszeri paraméterek esetében korábbi *in vitro* vizsgálatok kimutatták, hogy az ALA-kezelés csökkenti az AGE-indukált VCAM-1 endoteliális expresszióját, valamint a monociták endotheliumhoz való kötődését [53]. A VCAM-1 és az ICAM-1 kulcsszerepet játszanak a gyulladással járó folyamatokban, mivel elősegítik a leukociták migrációját és hozzájárulnak az atherosclerosis patogeneziéhez, ezáltal növelve a kardiovaszkuláris betegségek kockázatát [126]. Tanulmányunkban az sVCAM-1 szintje nem különbözött a neuropátiás és a nem neuropátiás betegeknél, és nem tapasztaltunk változást az sVCAM-1 szintjében az ALA-kezelés előtt és után. Az ALA endothel-adhéziós molekulák expressziójára gyakorolt, korábban leírt kedvező hatása alapján [127]

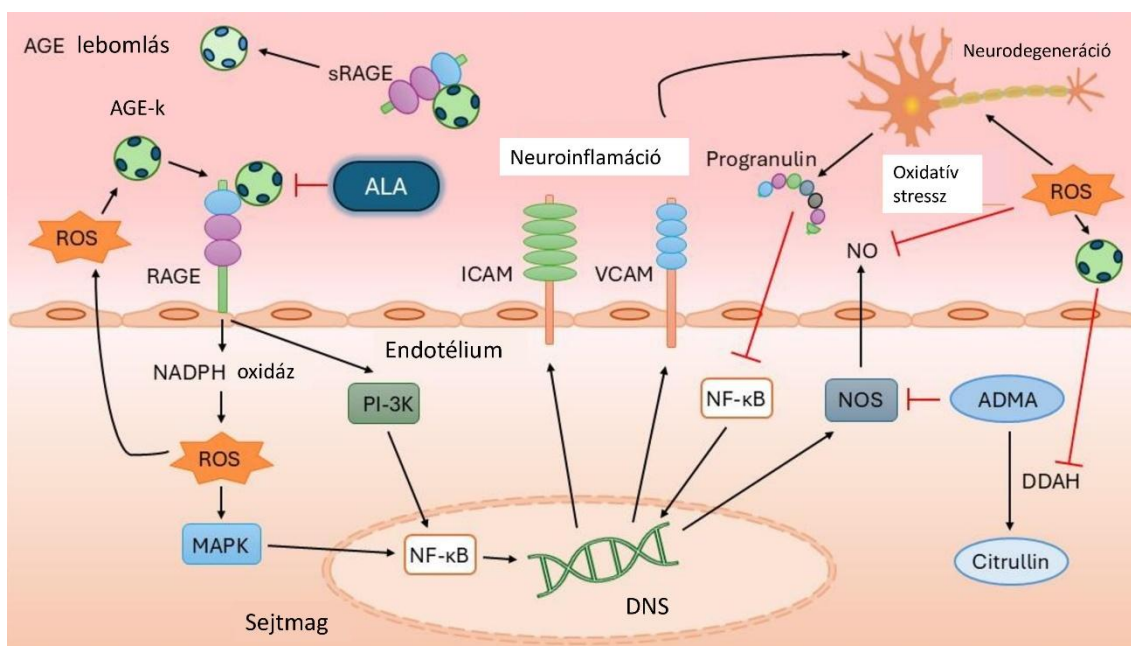
alacsonyabb gyulladási marker-szintekre számítottunk 6 hónapos kezelés után. Bár a TNF α -szintek jelentősen csökkentek, a vizsgálati időtartam feltehetően nem volt elegendő az sVCAM-1, sICAM-1 és VEGF koncentrációk változásának számottevő kimutatásához. Azonban szignifikáns korreláció volt megfigyelhető az AGE és az sVCAM-1 között, valamint az sRAGE és az sVCAM-1 között pedig mérsékelt, nem szignifikáns összefüggést találtunk az ALA-kezelést követően. Az AGE/sRAGE arány negatív korrelációt mutatott az sVCAM-1-gyel az ALA-kezelés előtt neuropátiás betegekben. Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy az sVCAM-1 erősebb korrelációt mutat az AGE-kkel, amikor az ALA-kezelés jótékony hatásai jelen vannak.

McNair és munkatársai negatív korrelációt figyeltek meg az sRAGE és az sVCAM-1 között miokardiális infarktuson átesett betegekben [128]. Sabbatinelli és munkatársai újabb tanulmányukban összefüggést mutattak ki az sRAGE és a súlyos kardiovaszkuláris események előfordulása között 2-es típusú cukorbetegségben [129]. Az AGE-RAGE kölcsönhatás növeli a VCAM-1 szintjét, míg a GLP-1 gátolja az AGE-indukált VCAM-1 mRNS expresszióját az endothelsejtekben a RAGE-expresszió visszaszorításával [130, 131]. Jelen vizsgálatunkban összefüggést találtunk az sRAGE és az sVCAM-1, illetve az sICAM-1 és a VEGF, az ér- és vér-ideg gát permeabilitásának induktora között. *In vitro* modellekben az AGE-k fokozzák, míg az sRAGE csökkenti a VEGF expresszióját [132, 133]. Betegcsoportjainkban a VEGF és az AGE-k között nem találtunk összefüggést, de korrelációt figyeltünk meg a VEGF és az sRAGE között. A neuropátiás csoportban, az ALA-kezelés előtt, az AGE/sRAGE arány negatívan korrelált a VEGF-fel, ami alátámasztja azt a hipotézist, miszerint 2-es típusú cukorbetegségben az sRAGE az endothel-diszfunkció és az érrendszeri események potenciális kockázati tényezője lehet.

Dedert és munkatársai *in vitro* eredményei szerint a PGRN segít az AGE-k sejtekből való kiürülésében [134], amelyet vizsgálatunk is részben megerősít a PGRN, és AGE-szintek közötti korrelációval. Eredményeink alapján az ALA-kezelés indukálta PGRN-növekedés elősegíti az AGE-k kiürülését, amely 6 hónap után alacsonyabb szérumszintekben nyilvánult meg. Feltételezhető, hogy a kezelés kezdeti szakaszában az sRAGE-szint emelkedett volt, melynek igazolása a jövőben további vizsgálatot igényel. A NO vazoprotektív hatást fejt ki az érfalra, és ez a jótékony hatás hozzájárul az endothelfunkció javulásához ACE-gátlóval és sztatinnal kezelt betegekben [135].

Vizsgálatunkban neuropátiás betegeknél az ALA-kezelést követően emelkedett NO-szintet észleltünk. Összefüggést találtunk a NO és az sRAGE között az intervenció csoportban az ALA-kezelés előtt. Emellett a progranulin szintje emelkedett, az ADMA szintje pedig csökkent az ALA-kezelés után; mindkettő jótékony változása korrelált az AGE-k változásával. Ren és munkatársai korábbi tanulmányukban kimutatták, hogy az AGE-k csökkentik az endothel nitrogén-monoxid-szintáz expresszióját humán koszorúér-endothelsejtekben, míg az ADMA a NO-termelés endogén inhibitora [136].

A PGRN, egy új adipokin, amely a metabolikus szindróma, a cukorbetegség, a diszlipidémia és a magas vérnyomás metszéspontjában áll, fokozza az endothel NOS foszforilációját [137]. A fent említett adatok mind alátámasztják eredményeinket, és arra utalnak, hogy az ALA komplex hatást fejt ki NOS-ra több, egymással összefutó útvonalon keresztül fejthet ki kedvező hatást. Az AGE-k krónikus gyulladásban és atherosclerosisban betöltött szerepének, valamint az ALA neuroprotektív és endothelfunkciót javító mechanizmusainak pontos feltérképezése további vizsgálatokat igényel. Eredményeink egyértelműen tükrözik az ALA szinergikus neuro- és atheroprotektív hatásainak meglétét, amelyben az AGE-csökkentő hatása alapvető fontosságú lehet (16. ábra).



16. ábra. Az AGE–RAGE jelátviteli útvonal szerepe az oxidatív stressz, gyulladás és neurodegeneráció kialakulásában, valamint az alfa-liponsav (ALA) és a progranulin protektív hatásainak lehetséges útja. Az AGE–RAGE jelátviteli út aktiválódása fokozza a ROS-k képződését, ami aktiválja a MAPK és NF-κB útvonalakat, növelve az ICAM és VCAM gyulladásos mediátorok expresszióját.

Ez endothel diszfunkcióhoz, neuroinflammációhoz és neurodegeneratív folyamatok előrehaladásához vezet. Saját ábra. Rövidítések: ADMA; aszimmetrikus dimetilarginin, AGE; késői glikációs végtermékek, ALA; alfa-liponsav, DDAH; dimetilarginin-dimetilaminohidroláz, DNS: dezoxiribonukleinsav, sRAGE; késői glikációs végtermékek szolubilis receptora, RAGE; késői glikációs végtermékek receptora, ROS; reaktív oxigéngyökök, NADPH-oxidáz; nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát oxidáz, MAPK; mitogén-aktivált protein kináz jelátviteli út, PI-3K; foszfatidil-inozitol 3-kináz jelátviteli út, NF-κB; nukleáris faktor- kappa B, ICAM; intercelluláris adhéziós molekula, VCAM; vaszkuláris adhéziós molekula, NOS; nitrogén-monoxid szintáz, NO; nitrogén-monoxid,

Azonban néhány korlátozó tényezőt meg kell említeni. A megfelelő statisztikai erő ellenére nagyobb méretű betegpopuláció javíthatja a vizsgálat statisztikai erejét. Tanulmányunk a kaukázusi populációra összpontosított; ezért az eredmények más etnikai csoportokra vonatkozó értelmezése csak korlátozott mértékben lehetséges. Tanulmányunk keresztmetszeti és prospektív jellege miatt minden ok-okozati összefüggést óvatosan kell megközelíteni. Ezenkívül az ALA-kezelés során változatlan sRAGE-szintek oka részben ismeretlen. Az sRAGE meghatározása humán szérumból történt, a képződés pontos mechanizmusa további *in vitro* kísérleteket igényel. További kutatások szükségesek annak vizsgálatára is, hogy az ALA megelőzheti-e a szövődmények kialakulását cukorbetegségben. Továbbá célszerű lenne a T2DM diagnózisakor bevonni a betegeket, hogy az ALA hatását étrendi változtatásokkal és testmozgással kombinálva pontosabban lehessen értékelni. Az ALA AGE-kre és az endotheliumra gyakorolt pontos hatásmechanizmusának tisztázása érdekében további *in vitro* kutatásokra van szükség, ahol a RAGE expressziója is értékelhető.

Új tudományos eredmények

1. Levothyroxin-terápiában részesülő, euthyreoid HT betegek körében elsőként írtuk le, hogy az AGE-szintek alacsonyabbak, míg az sRAGE-koncentrációk magasabbak az egészséges kontrollcsoporthoz képest.
2. Elsőként igazoltuk, hogy a levothyroxin-kezelésben részesülő HT betegekben az AGE/sRAGE arány szignifikánsan alacsonyabb, mint az egészséges kontrollokban. Ez az eredmény új értelmezési lehetőséget nyújt az AGE–RAGE tengely immunológiai és érfaai hatásainak vizsgálatában, és arra utal, hogy az LT4-kezelés protektív mechanizmusokat aktiválhat.
3. Hashimoto-thyreoiditisben korábban nem publikált összefüggéseket azonosítottunk az AGE–RAGE tengely és a pajzsmirigy-státusz között:
 - negatív korreláció az AGE és az FT3 között,
 - pozitív korreláció az sRAGE és a TSH között.

Többszörös regressziós modellben elsőként mutattuk ki, hogy az antiTPO és a kreatinin az AGE-szintek, míg a BMI és a TSH az sRAGE-szintek szignifikáns előrejelzői.
4. Kimutattuk, hogy a BMI minden vizsgálati csoportban – pajzsmirigy-státusztól és betegségcsoporttól függetlenül – szignifikáns negatív korrelációt mutat az sRAGE-szintekkel.

Ez az eredmény arra utal, hogy az elhízás önmagában is kedvezőtlenül befolyásolja az AGE–RAGE tengely működését, és fontos kockázati tényezője a gyulladáshoz és érfaai folyamatok felerősödésének HT-ben.
5. Klinikai vizsgálatunk elsőként szolgáltatott bizonyítékot arra, hogy az ALA hat hónapos alkalmazása szignifikánsan csökkenti az AGE-szinteket T3DM-ben. Ez új farmakológiai összefüggésre utal az ALA antioxidáns hatásai és az AGE-képződés szabályozása között.
6. 2-es típusú cukorbetegségben nem találtunk különbséget az sRAGE-szintekben neuropathia fennállása szerint, ami eltér több korábbi vizsgálat eredményeitől.

7. Új vaszkuláris marker-kapcsolatot azonosítottunk: az AGE-szintek szignifikáns pozitív korrelációt mutattak az sVCAM-1 értékeivel T2DM-ben. ALA-kezelés után mérsékelt negatív korreláció jelent meg az sRAGE és az sVCAM-1 között, ami az AGE–RAGE–adhéziós molekula tengely új, eddig nem jelzett dinamikáira utal.

7. Összefoglalás

Mind a HT-ben, mind a T2DM-ben kritikus kérdés az AGE-szintek és az oxidatív stressz csökkentése. Ez elsősorban életmódváltással, megfelelő stresszkezeléssel és rendszeres testmozgással érhető el. Az egészséges, főként növényi alapú étrend és a dohányzás kerülése jelentősen mérsékli az exogén AGE-bevitelt, míg a testmozgás bizonyítottan csökkenti a keringő AGE-k szintjét és növeli az sRAGE értékeket, míg elhízás esetén irodalmi források az sRAGE szintek csökkenéséről számoltak be. Ezen felül egyre több kutatás vizsgálja a farmakológiai lehetőségeket az AGE-k szisztémás csökkentésére.

A hypothyreosis az egyik leggyakoribb endokrin zavar, amely jelentősen növeli a szív- és érrendszeri betegségek, az elhízás és a 2-es típusú diabetes kialakulásának kockázatát. Pajzsmirigy-alulműködés esetén az AGE-k és az ezekhez kapcsolódó gyulladásos folyamatok kulcsfontosságúak a szövődmények kialakulásában, hozzájárulva az érfal merevségéhez, a cIMT növekedéséhez és az atherosclerotikus folyamatok felgyorsulásához. Az AGE-k szerkezeti módosulásokat okoznak a kollagén- és elasztinrostokban, miközben romlik az endothelfunkció, csökken az NO biohasznosulása, és nő az endothelin-1 termelése. Hashimoto-thyreoiditisszel rendelkező betegekben a cIMT emelkedett lehet a klasszikus kardiovaszkuláris rizikótényezőktől függetlenül, és az alacsony T3-szint elősegítheti az atherosclerózis progresszióját, míg a T3 hormon védő szerepet tölthet be.

A hypothyreosis és az elhízás között kölcsönhatás áll fenn: a csökkent pajzsmirigyműködés elősegíti a testsúlygyarapodást, míg az elhízás maga is hozzájárulhat a pajzsmirigy-diszfunkcióhoz. A leptin és a T3/T4 arány, valamint a T4–T3 konverzió kulcsszerepet játszanak ebben a folyamatban, miközben a táplálkozás és a testmozgás jelentősen befolyásolja az oxidatív stresszt és az immunválaszt. Levothyroxin-kezelés hatására HT betegekben az AGE-szintek alacsonyabbak, az sRAGE-koncentráció magasabb, ami a kezelés antioxidáns jellegére utal, és összefügg az anti-TPO szintek változásaival.

Hasonló mechanizmusok szerepelnek a diabeteszes neuropathiában is: a tartós hiperglikémia elősegíti az AGE-k felhalmozódását, amelyek RAGE-receptorokon keresztül gyulladásos és oxidatív stressz útvonalakat aktiválnak, fokozva a szövetkárosodást. Életmódbeli beavatkozások, kiegyensúlyozott étrend, testmozgás,

testsúlycsökkentés, valamint farmakológiai kezelések, például ALA, sztatin vagy metformin, csökkenthetik az AGE-k szintjét, növelhetik az sRAGE-t, javíthatják az endothelfunkciót és mérsékelhetik az oxidatív stresszt. Az ALA különösen előnyös, mivel egyszerre fejti ki neuroprotektív, érvédő és antioxidáns hatását, javítja a NO-termelést, növeli a PGRN szintjét és csökkenti az ADMA koncentrációt. Az AGE-k szubcelluláris hatásainak pontos mechanizmusát a különböző neuropathia-altípusok kialakulásában és progressziójában továbbra is vizsgálni kell. Eredményeink szerint a 6 hónapos orális ALA-kezelés, a párhuzamos életmódbeli változtatásoktól függetlenül javította az érzékelési küszöböt és az összetett autonóm pontszámot, miközben csökkentette az AGE-szintet. Ez arra utal, hogy az ALA legalább részben az AGE-k mérséklésén keresztül enyhítheti a neuropathia jeleit és tüneteit. Az AGE-csökkenés az ADMA és a progranulin kedvező irányú változásaival is összefüggött, ami az ALA komplex klinikai hatásaira utal, beleértve antiatherogén, érrendszeri és neuroprotektív tulajdonságait.

Kutatásaink során levothyroxinnal kezelt HT-beteg szérumban AGE- és sRAGE-szintjét vizsgáltuk, összehasonlítva életkor-, nem- és BMI-illesztett egészséges kontrollal. Az eredmények szerint a HT-csoportban az AGE-szint szignifikánsan alacsonyabb volt míg az sRAGE-koncentráció magasabb. Az AGE-szint pozitívan korrelált az életkorral, az sRAGE-szint pedig mindkét csoportban negatív korrelációt mutatott a BMI-vel. A HT-betegek esetében az AGE-szint és az fT3-szint között negatív, valamint az sRAGE és a TSH között negatív korreláció volt kimutatható. A medián AGE/sRAGE arány szignifikánsan alacsonyabb volt a HT-betegekben, mint a kontrollokban, pozitív korrelációval a BMI-vel és negatív korrelációval az fT3-szinttel. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a referencia-tartományon belüli alacsonyabb TSH- és magasabb fT3-értékek kedvező AGE/RAGE egyensúlyt biztosítanak, mérsékelve a glikáció okozta sejtkárosodást.

T2DM-ben, különösen diabeteszes polineuropathia esetén, a tartós hiperglikémia elősegíti az AGE-k felhalmozódását, amelyek a RAGE-receptorokon keresztül gyulladásszerű és oxidatív stressz útvonalakat aktiválnak, fokozva a szövetkárosodást. Kutatásaink másik felébe neuropátiás T2DM-ben szenvedő betegeket vontunk be, akik napi 600 mg orális ALA-kezelésben részesültek hat hónapon keresztül. Emellett neuropátiában nem érintett T2DM-beteggel vizsgáltunk kontroll csoportként. Eredményeink azt mutatták, hogy az ALA-kezelés szignifikánsan csökkentette a szérumban az AGE-szintet miközben az sRAGE és az AGE/sRAGE arány változatlan maradt. Az AGE-

csökkenés pozitív korrelációt mutatott a CPT és a PGRN-szint javulásával, valamint negatív korrelációt az ADMA változásával, ami az endothelfunkció javulását jelzi. Ez arra utal, hogy az ALA az AGE-k mérséklésén keresztül képes javítja a neuropathia mértékét és enyhíti a tüneteit.

Összességében a pajzsmirigyfunkció, az elhízás, az étrend és a farmakológiai kezelés komplex módon szabályozza az AGE-RAGE tengelyt, az oxidatív stresszt és az immunválaszt, így döntő szerepet játszik a metabolikus és kardiovaszkuláris szövődmények, valamint a diabeteszes neuropathi kialakulásában és progressziójában. Az életmód- és gyógyszeres beavatkozások célzott alkalmazása lehetőséget kínál ezen folyamatok mérséklésére és a szövődmények megelőzésére.

8. Summary

Both in Hashimoto's thyroiditis and type 2 diabetes, a critical issue is the reduction of AGE levels and oxidative stress. This can primarily be achieved through lifestyle changes, proper stress management, and regular physical exercise. A healthy, predominantly plant-based diet and avoiding smoking significantly reduce exogenous AGE intake, while physical exercise has been shown to lower circulating AGE levels and increase sRAGE values; in the case of obesity, literature sources have reported a decrease in sRAGE levels. Furthermore, increasing research is examining pharmacological options for the systemic reduction of AGEs.

Hypothyroidism is one of the most common endocrine disorders, significantly increasing the risk of cardiovascular diseases, obesity, and the development of type 2 diabetes. In hypothyroidism, AGEs and their associated inflammatory processes are crucial in the development of complications, contributing to arterial stiffness, increased carotid intima-media thickness (cIMT), and accelerated atherosclerotic processes. AGEs cause structural modifications in collagen and elastin fibers, while endothelial function deteriorates, the bioavailability of nitric oxide (NO) decreases, and the production of endothelin-1 increases. In patients with Hashimoto's thyroiditis, cIMT may be elevated independently of classical cardiovascular risk factors, and low T3 levels may promote the progression of atherosclerosis, while T3 hormone may play a protective role.

There is an interaction between hypothyroidism and obesity: decreased thyroid function promotes weight gain, while obesity itself can contribute to thyroid dysfunction. The leptin and T3/T4 ratio, along with T4-T3 conversion, play key roles in this process, while nutrition and exercise significantly influence oxidative stress and immune response. In Hashimoto's patients undergoing levothyroxine treatment, lower AGE levels and higher sRAGE concentrations indicate the antioxidant nature of the treatment, correlating with changes in anti-TPO levels.

Similar mechanisms are involved in diabetic neuropathy: prolonged hyperglycemia facilitates the accumulation of AGEs, which activate inflammatory and oxidative stress pathways through RAGE receptors, exacerbating tissue damage. Lifestyle interventions, a balanced diet, exercise, weight loss, and pharmacological treatments such as ALA, statins, or metformin can reduce AGE levels, increase sRAGE, improve endothelial function, and mitigate oxidative stress. ALA is particularly beneficial as it simultaneously exerts neuroprotective, vascular-protective, and antioxidant effects, improving NO

production, increasing progranulin levels, and reducing ADMA concentration. The precise mechanisms of AGE's subcellular effects in the development and progression of various neuropathy subtypes remain to be further investigated. Our results indicate that a 6-month oral ALA treatment, independent of simultaneous lifestyle changes, improved sensory thresholds and overall autonomic scores while reducing AGE levels. This suggests that ALA may alleviate neuropathy symptoms at least partly through the reduction of AGEs. The reduction in AGEs was also associated with favorable changes in ADMA and progranulin, indicating ALA's complex clinical effects, including its anti-atherogenic, vascular, and neuroprotective properties.

In our research, we examined the serum AGE and sRAGE levels in HT patients treated with levothyroxine, comparing them with age-, gender-, and BMI-matched healthy controls. The results showed that in the HT group, AGE levels were significantly lower while sRAGE concentrations were higher. The AGE level showed a positive correlation with age, while the sRAGE level exhibited a negative correlation with BMI in both groups. In HT patients, a negative correlation was observed between AGE levels and fT3 levels, and between sRAGE and TSH. The median AGE/sRAGE ratio was significantly lower in HT patients than in controls, and it positively correlated with BMI and negatively correlated with fT3 levels. These results suggest that lower TSH and higher fT3 values within the reference range provide a favorable AGE/RAGE balance, mitigating cell damage caused by glycation. In T2DM, especially in cases of diabetic polyneuropathy (DSPN), prolonged hyperglycemia facilitates the accumulation of AGEs, which activate inflammatory and oxidative stress pathways through RAGE receptors, exacerbating tissue damage. In the other part of our research, we included patients with neuropathic T2DM who received a daily oral ALA treatment of 600 mg for six months. In addition, T2DM patients without neuropathy were examined as a control group. Our findings indicate that ALA treatment significantly reduced serum AGE levels while sRAGE and the AGE/sRAGE ratio remained unchanged. The reduction in AGEs showed a positive correlation with improvements in current perception threshold (CPT) and progranulin levels and a negative correlation with changes in ADMA, indicating improved endothelial function. This suggests that ALA can improve the severity of neuropathy and alleviate its symptoms through the reduction of AGEs.

Overall, thyroid function, obesity, diet, and pharmacological treatment complexly regulate the AGE-RAGE axis, oxidative stress, and immune response, playing a crucial role in the development and progression of metabolic and cardiovascular complications.

9. Tárgyszavak

ADMA, előrehaladott glikációs végtermékek, alfa-liponsav, atherosclerózis, diabeteszes neuropathia, elhízás, Hashimoto-thyreoidis, hiperlipidémia, levothyroxin, pajzsmirigy-alulműködés, pajzsmirigy, progranulin, sRAGE, oxidatív stressz.

10. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni hálámat mindazoknak, akik szakmai és tudományos munkám megvalósításában segítségemre voltak.

Köszönöm Prof. Dr. Balla Józsefnek, a DE KK Belgyógyászati Klinika igazgatójának, Prof. Dr. Bácskay Ildikónak a Gyógyszerésztudományi Kar dékánjának, Prof. Dr. Nagy Endrének, a DE Általános Orvostudományi Kar Belgyógyászati Intézet Endocrinológiai Tanszék vezetőjének, Dr. Bodor Miklós egyetemi docensnek a DE Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerészi Klinikai Alapismeretek Tanszék vezetőjének, valamint Prof. Dr. Paragh Györgynek, a DE Általános Orvostudományi Kar Belgyógyászati Intézet Anyagcsere Betegségek Tanszék vezetőjének, amiért lehetővé tették számomra a tanszéken folyó tudományos munkában való részvételt.

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Berta Eszter egyetemi adjunktusnak, aki, szakmai iránymutatásával, támogatásával, értékes tanácsaival, és szüntelen biztatásával hozzájárult kutatásaim sikeréhez.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Harangi Mariann egyetemi tanárnak, Dr. Katkó Mónika biológusnak, az Orvostudományi Doktori Iskola, Egészségtudományok Szekció titkárának, valamint Dr. Lőrincz Hajnalka tudományos munkatársnak, akik odaadó közreműködésére mindig számíthattam a laboratóriumi munkákban, és szakmai kérdésekben egyaránt. Köszönöm Dr. Sztanek Ferenc egyetemi docensnek értékes szakmai támogatását, amelyek jelentősen hozzájárultak kutatásaim sikeréhez.

Köszönet illeti tudományos közleményeim társszerzőit, akik szakmai támogatásukkal és együttműködésükkel segítették kutatásaim megvalósítását.

Hálás vagyok a DE Általános Orvostudományi Kar Belgyógyászati Intézet Kutatólaboratóriumában és az intézetben dolgozó munkatársaknak a laboratóriumi és szakmai munkában nyújtott segítségükért.

Külön hálával tartozom családomnak és barátaimnak. Köszönöm szüleimnek, testvéreimnek, akik mindig bátorítottak. Köszönöm férjemnek és kislányomnak, Ágotának türelmüket és szeretetüket, amellyel rendületlenül végig kísérték ezen az úton.

11. Irodalom

1. Henning C, Glomb MA: **Pathways of the Maillard reaction under physiological conditions.** *Glycoconj J* 2016, **33**(4):499-512.
2. Zeng C, Li Y, Ma J, Niu L, Tay FR: **Clinical/Translational Aspects of Advanced Glycation End-Products.** *Trends Endocrinol Metab* 2019, **30**(12):959-973.
3. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A, Giovinazzo S, Saija A, Campenni A, Trimarchi F *et al*: **Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis.** *Thyroid* 2016, **26**(4):504-511.
4. Khalid M, Petroianu G, Adem A: **Advanced Glycation End Products and Diabetes Mellitus: Mechanisms and Perspectives.** *Biomolecules* 2022, **12**(4).
5. Sies H, Berndt C, Jones DP: **Oxidative Stress.** *Annu Rev Biochem* 2017, **86**:715-748.
6. Lin Q, Li K, Chen Y, Xie J, Wu C, Cui C, Deng B: **Oxidative Stress in Diabetic Peripheral Neuropathy: Pathway and Mechanism-Based Treatment.** *Mol Neurobiol* 2023, **60**(8):4574-4594.
7. McNair ED, Wells CR, Mabood Qureshi A, Basran R, Pearce C, Orvold J, Devilliers J, Prasad K: **Soluble receptors for advanced glycation end products (sRAGE) as a predictor of restenosis following percutaneous coronary intervention.** *Clin Cardiol* 2010, **33**(11):678-685.
8. Bronowicka-Szydelko A, Kotyra Ł, Lewandowski Ł, Gamian A, Kustrzeba-Wójcicka I: **Role of Advanced Glycation End-Products and Other Ligands for AGE Receptors in Thyroid Cancer Progression.** *J Clin Med* 2021, **10**(18).
9. Chen JH, Lin X, Bu C, Zhang X: **Role of advanced glycation end products in mobility and considerations in possible dietary and nutritional intervention strategies.** *Nutr Metab (Lond)* 2018, **15**:72.
10. Liu J, Zhu T, Yang L, Qian W, Fang L, Zhang W, Zhang H, Wang Y, Yu B, Sun J *et al*: **Cigarette Smoking Drives Thyroid Eye Disease Progression via RAGE Signaling Activation.** *Thyroid* 2025, **35**(7):803-815.
11. Zhang Y, Zhang Z, Tu C, Chen X, He R: **Advanced Glycation End Products in Disease Development and Potential Interventions.** *Antioxidants (Basel)* 2025, **14**(4).
12. Kitahara CM, Sosa JA: **The changing incidence of thyroid cancer.** *Nat Rev Endocrinol* 2016, **12**(11):646-653.
13. Twarda-Clapa A, Olczak A, Białkowska AM, Koziółkiewicz M: **Advanced Glycation End-Products (AGEs): Formation, Chemistry, Classification, Receptors, and Diseases Related to AGEs.** *Cells* 2022, **11**(8).
14. Giannakou M, Saltiki K, Mantzou E, Loukari E, Philippou G, Terzidis K, Lili K, Stavrianos C, Kyprianou M, Alevizaki M: **RAGE polymorphisms and oxidative stress levels in Hashimoto's thyroiditis.** *Eur J Clin Invest* 2017, **47**(5):341-347.
15. Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M, Yang H, Grant PJ, Schmidt AM: **Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants.** *FASEB J* 2008, **22**(5):1572-1580.
16. Dong H, Zhang Y, Huang Y, Deng H: **Pathophysiology of RAGE in inflammatory diseases.** *Front Immunol* 2022, **13**:931473.
17. Perrone A, Giovino A, Benny J, Martinelli F: **Advanced Glycation End Products (AGEs): Biochemistry, Signaling, Analytical Methods, and Epigenetic Effects.** *Oxid Med Cell Longev* 2020, **2020**:3818196.
18. Prasad K: **Is there any evidence that AGE/sRAGE is a universal biomarker/risk marker for diseases?** *Mol Cell Biochem* 2019, **451**(1-2):139-144.
19. McNair E, Qureshi M, Prasad K, Pearce C: **Atherosclerosis and the Hypercholesterolemic AGE-RAGE Axis.** *Int J Angiol* 2016, **25**(2):110-116.

20. Ajjan RA, Weetman AP: **The Pathogenesis of Hashimoto's Thyroiditis: Further Developments in our Understanding.** *Horm Metab Res* 2015, **47**(10):702-710.
21. Klubo-Gwiedzinska J, Wartofsky L: **Hashimoto thyroiditis: an evidence-based guide to etiology, diagnosis and treatment.** *Pol Arch Intern Med* 2022, **132**(3).
22. Chaker L, Razvi S, Bensenor IM, Azizi F, Pearce EN, Peeters RP: **Hypothyroidism.** *Nat Rev Dis Primers* 2022, **8**(1):30.
23. Ruggeri RM, Cristani M, Vicchio TM, Alibrandi A, Giovinazzo S, Saija A, Campenni A, Trimarchi F, Gangemi S: **Increased serum interleukin-37 (IL-37) levels correlate with oxidative stress parameters in Hashimoto's thyroiditis.** *J Endocrinol Invest* 2019, **42**(2):199-205.
24. Ruggeri RM, Barbalace MC, Cristani MT, Alibrandi A, Giovinazzo S, Giuffrida G, Trimarchi F, Cannavò S, Campenni A: **Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are increased and their soluble receptor (sRAGE) reduced in Hashimoto's thyroiditis.** *J Endocrinol Invest* 2020, **43**(9):1337-1342.
25. Santini F, Marzullo P, Rotondi M, Ceccarini G, Pagano L, Ippolito S, Chiovato L, Biondi B: **Mechanisms in endocrinology: the crosstalk between thyroid gland and adipose tissue: signal integration in health and disease.** *Eur J Endocrinol* 2014, **171**(4):R137-152.
26. Song RH, Wang B, Yao QM, Li Q, Jia X, Zhang JA: **The Impact of Obesity on Thyroid Autoimmunity and Dysfunction: A Systematic Review and Meta-Analysis.** *Front Immunol* 2019, **10**:2349.
27. Ruggeri RM, Giovinazzo S, Barbalace MC, Cristani M, Alibrandi A, Vicchio TM, Giuffrida G, Aguenouz MH, Malaguti M, Angeloni C *et al*: **Influence of Dietary Habits on Oxidative Stress Markers in Hashimoto's Thyroiditis.** *Thyroid* 2021, **31**(1):96-105.
28. Almotairi JA, Al-Otaibi NMM, Alhubail MSM, Al-Mutairi AZ, Alotaibi DDA, Dahish AA, Aldhafeeri TM, AlMoqbel LS, Alshammari MZ, Alharis MA *et al*: **Biochemical Mechanisms of Autoimmune Thyroid Diseases: Enhancing Nursing Interventions for Diagnosis, Management, and Holistic Patient Care.**
29. **Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants.** *Lancet* 2024, **404**(10467):2077-2093.
30. Chandrasekaran P, Weiskirchen R: **The Role of Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus-An Overview.** *Int J Mol Sci* 2024, **25**(3).
31. Li S, Wang J, Zhang B, Li X, Liu Y: **Diabetes Mellitus and Cause-Specific Mortality: A Population-Based Study.** *Diabetes Metab J* 2019, **43**(3):319-341.
32. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T: **Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus.** *Biomolecules* 2015, **5**(1):194-222.
33. Cole JB, Florez JC: **Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications.** *Nat Rev Nephrol* 2020, **16**(7):377-390.
34. Mohammedi K, Woodward M, Marre M, Colagiuri S, Cooper M, Harrap S, Mancina G, Poulter N, Williams B, Zoungas S *et al*: **Comparative effects of microvascular and macrovascular disease on the risk of major outcomes in patients with type 2 diabetes.** *Cardiovasc Diabetol* 2017, **16**(1):95.
35. Dal Canto E, Ceriello A, Rydén L, Ferrini M, Hansen TB, Schnell O, Standl E, Beulens JW: **Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications.** *Eur J Prev Cardiol* 2019, **26**(2_suppl):25-32.
36. Ceriello A: **The emerging challenge in diabetes: the "metabolic memory".** *Vascul Pharmacol* 2012, **57**(5-6):133-138.
37. Tóbon-Velasco JC, Cuevas E, Torres-Ramos MA: **Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF-κB pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress.** *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2014, **13**(9):1615-1626.

38. Cervantes Gracia K, Llanas-Cornejo D, Husi H: **CVD and Oxidative Stress**. *J Clin Med* 2017, **6**(2).
39. Choi KM, Yoo HJ, Kim HY, Lee KW, Seo JA, Kim SG, Kim NH, Choi DS, Baik SH: **Association between endogenous secretory RAGE, inflammatory markers and arterial stiffness**. *Int J Cardiol* 2009, **132**(1):96-101.
40. Yamagishi SI, Matsui T: **Role of Ligands of Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) in Peripheral Artery Disease**. *Rejuvenation Res* 2018, **21**(5):456-463.
41. Feldman EL, Callaghan BC, Pop-Busui R, Zochodne DW, Wright DE, Bennett DL, Bril V, Russell JW, Viswanathan V: **Diabetic neuropathy**. *Nat Rev Dis Primers* 2019, **5**(1):41.
42. Jeffrey S, Samraj PI, Raj BS: **The Role of Alpha-lipoic Acid Supplementation in the Prevention of Diabetes Complications: A Comprehensive Review of Clinical Trials**. *Curr Diabetes Rev* 2021, **17**(9):e011821190404.
43. Sztanek F, Molnárné Molnár Á, Balogh Z: **[The role of oxidative stress in the development of diabetic neuropathy]**. *Orv Hetil* 2016, **157**(49):1939-1946.
44. Manful CF, Fordjour E, Subramaniam D, Sey AA, Abbey L, Thomas R: **Antioxidants and Reactive Oxygen Species: Shaping Human Health and Disease Outcomes**. *Int J Mol Sci* 2025, **26**(15).
45. Zakaria EM, Tawfeek WM, Hassanin MH, Hassaballah MY: **Cardiovascular protection by DPP-4 inhibitors in preclinical studies: an updated review of molecular mechanisms**. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2022, **395**(11):1357-1372.
46. Najafi N, Mehri S, Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H: **Effects of alpha lipoic acid on metabolic syndrome: A comprehensive review**. *Phytother Res* 2022, **36**(6):2300-2323.
47. Yan S, Lu J, Chen B, Yuan L, Chen L, Ju L, Cai W, Wu J: **The Multifaceted Role of Alpha-Lipoic Acid in Cancer Prevention, Occurrence, and Treatment**. *Antioxidants (Basel)* 2024, **13**(8).
48. Viana MDM, Lauria PSS, Lima AA, Opretzka LCF, Marcelino HR, Villarreal CF: **Alpha-Lipoic Acid as an Antioxidant Strategy for Managing Neuropathic Pain**. *Antioxidants (Basel)* 2022, **11**(12).
49. Ghelani H, Razmovski-Naumovski V, Pragada RR, Nammi S: **(R)- α -Lipoic acid inhibits fructose-induced myoglobin fructation and the formation of advanced glycation end products (AGEs) in vitro**. *BMC Complement Altern Med* 2018, **18**(1):13.
50. McIllduff CE, Rutkove SB: **Critical appraisal of the use of alpha lipoic acid (thioctic acid) in the treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy**. *Ther Clin Risk Manag* 2011, **7**:377-385.
51. Bierhaus A, Chevion S, Chevion M, Hofmann M, Quehenberger P, Illmer T, Luther T, Berentshtein E, Tritschler H, Müller M *et al*: **Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells**. *Diabetes* 1997, **46**(9):1481-1490.
52. Kowluru RA: **Effect of advanced glycation end products on accelerated apoptosis of retinal capillary cells under in vitro conditions**. *Life Sci* 2005, **76**(9):1051-1060.
53. Kunt T, Forst T, Wilhelm A, Tritschler H, Pfuetzner A, Harzer O, Engelbach M, Zschaebitz A, Stofft E, Beyer J: **Alpha-lipoic acid reduces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and endothelial adhesion of human monocytes after stimulation with advanced glycation end products**. *Clin Sci (Lond)* 1999, **96**(1):75-82.
54. Wong A, Dukic-Stefanovic S, Gasic-Milenkovic J, Schinzel R, Wiesinger H, Riederer P, Münch G: **Anti-inflammatory antioxidants attenuate the expression of inducible nitric oxide synthase mediated by advanced glycation endproducts in murine microglia**. *Eur J Neurosci* 2001, **14**(12):1961-1967.

55. Gasic-Milenkovic J, Loske C, Münch G: **Advanced glycation endproducts cause lipid peroxidation in the human neuronal cell line SH-SY5Y.** *J Alzheimers Dis* 2003, **5**(1):25-30.
56. Yin QQ, Dong CF, Dong SQ, Dong XL, Hong Y, Hou XY, Luo DZ, Pei JJ, Liu XP: **AGEs induce cell death via oxidative and endoplasmic reticulum stresses in both human SH-SY5Y neuroblastoma cells and rat cortical neurons.** *Cell Mol Neurobiol* 2012, **32**(8):1299-1309.
57. Chen SA, Chen HM, Yao YD, Hung CF, Tu CS, Liang YJ: **Topical treatment with anti-oxidants and Au nanoparticles promote healing of diabetic wound through receptor for advance glycation end-products.** *Eur J Pharm Sci* 2012, **47**(5):875-883.
58. Nádró B, Lőrincz H, Molnár Á, Szentpéteri A, Zöld E, Seres I, Páll D, Paragh G, Kempler P, Harangi M *et al*: **Effects of alpha-lipoic acid treatment on serum progranulin levels and inflammatory markers in diabetic neuropathy.** *J Int Med Res* 2021, **49**(5):3000605211012213.
59. Sztanek F, Lőrincz H, Molnár Á, Szentpéteri A, Zöld E, Seres I, Páll D, Harangi M, Kempler P, Paragh G: **The effect of α -lipoic acid treatment on plasma asymmetric dimethylarginine, a biomarker of endothelial dysfunction in diabetic neuropathy.** *Arch Med Sci* 2025, **21**(2):392-400.
60. Hwang HJ, Jung TW, Hong HC, Choi HY, Seo JA, Kim SG, Kim NH, Choi KM, Choi DS, Baik SH *et al*: **Progranulin protects vascular endothelium against atherosclerotic inflammatory reaction via Akt/eNOS and nuclear factor- κ B pathways.** *PLoS One* 2013, **8**(9):e76679.
61. Rungratanawanich W, Qu Y, Wang X, Essa MM, Song BJ: **Advanced glycation end products (AGEs) and other adducts in aging-related diseases and alcohol-mediated tissue injury.** *Exp Mol Med* 2021, **53**(2):168-188.
62. Münch G, Keis R, Wessels A, Riederer P, Bahner U, Heidland A, Niwa T, Lemke HD, Schinzel R: **Determination of advanced glycation end products in serum by fluorescence spectroscopy and competitive ELISA.** *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997, **35**(9):669-677.
63. Spallone V, Morganti R, D'Amato C, Greco C, Cacciotti L, Marfia GA: **Validation of DN4 as a screening tool for neuropathic pain in painful diabetic polyneuropathy.** *Diabet Med* 2012, **29**(5):578-585.
64. Bastyr EJ, Price KL, Bril V, Group MS: **Development and validity testing of the neuropathy total symptom score-6: questionnaire for the study of sensory symptoms of diabetic peripheral neuropathy.** *Clin Ther* 2005, **27**(8):1278-1294.
65. Matsutomo R, Takebayashi K, Aso Y: **Assessment of peripheral neuropathy using measurement of the current perception threshold with the neurometer in patients with type 2 diabetes mellitus.** *J Int Med Res* 2005, **33**(4):442-453.
66. Ewing DJ, Clarke BF: **Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy.** *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982, **285**(6346):916-918.
67. Masson EA, Boulton AJ: **The Neurometer: validation and comparison with conventional tests for diabetic neuropathy.** *Diabet Med* 1991, **8 Spec No**:S63-66.
68. Bouhassira D, Attal N, Alchaar H, Boureau F, Brochet B, Bruxelle J, Cunin G, Fermanian J, Ginies P, Grun-Overdyking A *et al*: **Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4).** *Pain* 2005, **114**(1-2):29-36.
69. Biondi B: **Thyroid and obesity: an intriguing relationship.** *J Clin Endocrinol Metab* 2010, **95**(8):3614-3617.
70. Biondi B, Kahaly GJ, Robertson RP: **Thyroid Dysfunction and Diabetes Mellitus: Two Closely Associated Disorders.** *Endocr Rev* 2019, **40**(3):789-824.
71. Duntas LH: **Thyroid disease and lipids.** *Thyroid* 2002, **12**(4):287-293.
72. Kalra S, Aggarwal S, Khandelwal D: **Thyroid Dysfunction and Dysmetabolic Syndrome: The Need for Enhanced Thyrovigilance Strategies.** *Int J Endocrinol* 2021, **2021**:9641846.

73. Berta E, Lengyel I, Halmi S, Zrinyi M, Erdei A, Harangi M, Páll D, Nagy EV, Bodor M: **Hypertension in Thyroid Disorders.** *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019, **10**:482.
74. Obuobie K, Smith J, Evans LM, John R, Davies JS, Lazarus JH: **Increased central arterial stiffness in hypothyroidism.** *J Clin Endocrinol Metab* 2002, **87**(10):4662-4666.
75. Tanaka S, Avigad G, Brodsky B, Eikenberry EF.
76. Prasad K, Mishra M: **Do Advanced Glycation End Products and Its Receptor Play a Role in Pathophysiology of Hypertension?** *Int J Angiol* 2017, **26**(1):1-11.
77. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA: **Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury.** *Circulation* 2006, **114**(6):597-605.
78. Yamazaki KG, Gonzalez E, Zambon AC: **Crosstalk between the renin-angiotensin system and the advanced glycation end product axis in the heart: role of the cardiac fibroblast.** *J Cardiovasc Transl Res* 2012, **5**(6):805-813.
79. Topaloglu O, Gokay F, Kucukler K, Burnik FS, Mete T, Yavuz HC, Berker D, Guler S: **Is autoimmune thyroiditis a risk factor for early atherosclerosis in premenopausal women even if in euthyroid status?** *Endocrine* 2013, **44**(1):145-151.
80. İşgüven P, Gündüz Y, Kılıç M: **Effects of Thyroid Autoimmunity on Early Atherosclerosis in Euthyroid Girls with Hashimoto's Thyroiditis.** *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2016, **8**(2):150-156.
81. Jorde R, Joakimsen O, Stensland E, Mathiesen EB: **Lack of significant association between intima-media thickness in the carotid artery and serum TSH level. The Tromsø Study.** *Thyroid* 2008, **18**(1):21-25.
82. Sakamaki K, Tsunekawa K, Ishiyama N, Kudo M, Ando K, Akuzawa M, Nakajima K, Shimomura Y, Araki O, Kimura T *et al*: **Association between high normal-range thyrotropin concentration and carotid intima-media thickness in euthyroid premenopausal, perimenopausal and postmenopausal women.** *Maturitas* 2021, **144**:29-36.
83. Chang X, Zhang B, Lihua L, Feng Z: **T3 inhibits the calcification of vascular smooth muscle cells and the potential mechanism.** *Am J Transl Res* 2016, **8**(11):4694-4704.
84. Fan J, Yan P, Wang Y, Shen B, Ding F, Liu Y: **Prevalence and Clinical Significance of Low T3 Syndrome in Non-Dialysis Patients with Chronic Kidney Disease.** *Med Sci Monit* 2016, **22**:1171-1179.
85. Wenzek C, Boelen A, Westendorf AM, Engel DR, Moeller LC, Führer D: **The interplay of thyroid hormones and the immune system - where we stand and why we need to know about it.** *Eur J Endocrinol* 2022, **186**(5):R65-R77.
86. Ohgami N, Miyazaki A, Sakai M, Kuniyasu A, Nakayama H, Horiuchi S: **Advanced glycation end products (AGE) inhibit scavenger receptor class B type I-mediated reverse cholesterol transport: a new crossroad of AGE to cholesterol metabolism.** *J Atheroscler Thromb* 2003, **10**(1):1-6.
87. Ohgami N, Nagai R, Miyazaki A, Ikemoto M, Arai H, Horiuchi S, Nakayama H: **Scavenger receptor class B type I-mediated reverse cholesterol transport is inhibited by advanced glycation end products.** *J Biol Chem* 2001, **276**(16):13348-13355.
88. Quade-Lyssy P, Kanarek AM, Baiersdörfer M, Postina R, Kojro E: **Statins stimulate the production of a soluble form of the receptor for advanced glycation end products.** *J Lipid Res* 2013, **54**(11):3052-3061.
89. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bülow I, Perrild H, Ovesen L, Jørgensen T: **Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population.** *J Clin Endocrinol Metab* 2005, **90**(7):4019-4024.
90. López M, Alvarez CV, Nogueiras R, Diéguez C: **Energy balance regulation by thyroid hormones at central level.** *Trends Mol Med* 2013, **19**(7):418-427.

91. Santini F, Pinchera A, Marsili A, Ceccarini G, Castagna MG, Valeriano R, Giannetti M, Taddei D, Centoni R, Scartabelli G *et al*: **Lean body mass is a major determinant of levothyroxine dosage in the treatment of thyroid diseases.** *J Clin Endocrinol Metab* 2005, **90**(1):124-127.
92. Le Moli R, Vella V, Tumino D, Piticchio T, Naselli A, Belfiore A, Frasca F: **Inflammasome activation as a link between obesity and thyroid disorders: Implications for an integrated clinical management.** *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022, **13**:959276.
93. Dhillon WS: **Appetite regulation: an overview.** *Thyroid* 2007, **17**(5):433-445.
94. Rabbani N, Thornalley PJ: **Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease.** *Kidney Int* 2018, **93**(4):803-813.
95. Fournet M, Bonté F, Desmoulière A: **Glycation Damage: A Possible Hub for Major Pathophysiological Disorders and Aging.** *Aging Dis* 2018, **9**(5):880-900.
96. Ito M, Kawasaki M, Danno H, Kohsaka K, Nakamura T, Hisakado M, Yoshioka W, Kasahara T, Kudo T, Nishihara E *et al*: **Serum Thyroid Hormone Balance in Levothyroxine Monotherapy-Treated Patients with Atrophic Thyroid After Radioiodine Treatment for Graves' Disease.** *Thyroid* 2019, **29**(10):1364-1370.
97. Aversa T, Ruggeri RM, Corica D, Cristani MT, Pepe G, Vicchio TM, Alibrandi A, Trimarchi F, Cannavò S, Pajno GB *et al*: **Serum Levels of Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products Are Reduced in Euthyroid Children with Newly Diagnosed Hashimoto's Thyroiditis: A Pilot Study.** *Horm Res Paediatr* 2021, **94**(3-4):144-150.
98. Sarkadi Nagy E, Bakacs M, Illés É, Nagy B, Varga A, Kis O, Schreiberné Molnár E, Martos É: **[Hungarian Diet and Nutritional Status Survey - OTÁP2014. II. Energy and macronutrient intake of the Hungarian population].** *Orv Hetil* 2017, **158**(15):587-597.
99. Giannakou M, Saltiki K, Mantzou E, Loukari E, Philippou G, Terzidis K, Stavrianos C, Kyprianou M, Psaltopoulou T, Karatzi K *et al*: **The effect of obesity and dietary habits on oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis.** *Endocr Connect* 2018, **7**(9):990-997.
100. Tripathi AK, Chawla D, Bansal S, Banerjee BD, Madhu SV, Kalra OP: **Association of RAGE gene polymorphism with vascular complications in Indian type 2 diabetes mellitus patients.** *Diabetes Res Clin Pract* 2014, **103**(3):474-481.
101. Ates I, Altay M, Yilmaz FM, Topcuoglu C, Yilmaz N, Berker D, Guler S: **The impact of levothyroxine sodium treatment on oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis.** *Eur J Endocrinol* 2016, **174**(6):727-734.
102. Al-Naimi MS, Hussien NR, Rasheed HA, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI: **Levothyroxine improves Paraoxonase (PON-1) serum levels in patients with primary hypothyroidism: Case-control study.** *J Adv Pharm Technol Res* 2018, **9**(3):113-118.
103. Tellechea ML: **Meta-analytic evidence for increased low-grade systemic inflammation and oxidative stress in hypothyroid patients. Can levothyroxine replacement therapy mitigate the burden?** *Endocrine* 2021, **72**(1):62-71.
104. Mutlu S, Parlak A, Aydogan U, Aydogdu A, Soykut B, Akay C, Saglam K, Taslipinar A: **The effect of levothyroxine replacement therapy on lipid profile and oxidative stress parameters in patients with subclinical hypothyroid.** *Arch Pharm Res* 2021, **44**(8):1-9.
105. Kaçmaz M, Atmaca M, Arslan A, Demir H, Özbay MF: **Oxidative stress in patients with thyroidectomy and thyroparathyroidectomy under replacement therapy.** *Endocrine* 2015, **48**(1):227-232.
106. Neeraja K, Nanda N, Sahoo J, Pal GK: **Cardiovascular modulation and oxidative stress in hypothyroidism on maintenance therapy.** *Tunis Med* 2022, **100**(1):27-32.
107. Grauen Larsen H, Marinkovic G, Nilsson PM, Nilsson J, Engström G, Melander O, Orho-Melander M, Schiopu A: **High Plasma sRAGE (Soluble Receptor for**

- Advanced Glycation End Products) Is Associated With Slower Carotid Intima-Media Thickness Progression and Lower Risk for First-Time Coronary Events and Mortality.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2019, **39**(5):925-933.
108. Vianello E, Beltrami AP, Aleksova A, Janjusevic M, Fluca AL, Corsi Romanelli MM, La Sala L, Dozio E: **The Advanced Glycation End-Products (AGE)-Receptor for AGE System (RAGE): An Inflammatory Pathway Linking Obesity and Cardiovascular Diseases.** *Int J Mol Sci* 2025, **26**(8).
109. Hicks CW, Selvin E: **Epidemiology of Peripheral Neuropathy and Lower Extremity Disease in Diabetes.** *Curr Diab Rep* 2019, **19**(10):86.
110. Zilliox LA, Russell JW: **Physical activity and dietary interventions in diabetic neuropathy: a systematic review.** *Clin Auton Res* 2019, **29**(4):443-455.
111. Santos HO, Penha-Silva N: **Translating the advanced glycation end products (AGEs) knowledge into real-world nutrition strategies.** *Eur J Clin Nutr* 2022, **76**(7):922-928.
112. Costa LA, Canani LH, Lisbôa HR, Tres GS, Gross JL: **Aggregation of features of the metabolic syndrome is associated with increased prevalence of chronic complications in Type 2 diabetes.** *Diabet Med* 2004, **21**(3):252-255.
113. Smith AG, Rose K, Singleton JR: **Idiopathic neuropathy patients are at high risk for metabolic syndrome.** *J Neurol Sci* 2008, **273**(1-2):25-28.
114. Papachristou S, Pafili K, Trypsianis G, Papazoglou D, Vadikolias K, Papanas N: **Skin Advanced Glycation End Products among Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus with or without Distal Sensorimotor Polyneuropathy.** *J Diabetes Res* 2021, **2021**:6045677.
115. Diallo AM, Jaisson S, Barriquand R, Lukas C, Barraud S, Decoudier B, Francois M, Ly S, Mahmoudi R, Arndt C *et al*: **Association Between the Tissue and Circulating Advanced Glycation End-Products and the Micro- and Macrovascular Complications in Type 1 Diabetes: The DIABAGE Study.** *Diabetes Ther* 2022, **13**(8):1531-1546.
116. Magalhães PM, Appell HJ, Duarte JA: **Involvement of advanced glycation end products in the pathogenesis of diabetic complications: the protective role of regular physical activity.**
117. Kotani K, Caccavello R, Sakane N, Yamada T, Taniguchi N, Gugliucci A: **Influence of Physical Activity Intervention on Circulating Soluble Receptor for Advanced Glycation end Products in Elderly Subjects.** *J Clin Med Res* 2011, **3**(5):252-257.
118. Legaard GE, Feineis CS, Johansen MY, Hansen KB, Vaag AA, Larsen EL, Poulsen HE, Almdal TP, Karstoft K, Pedersen BK *et al*: **Effects of an exercise-based lifestyle intervention on systemic markers of oxidative stress and advanced glycation endproducts in persons with type 2 diabetes: Secondary analysis of a randomised clinical trial.** *Free Radic Biol Med* 2022, **188**:328-336.
119. Prasad K: **AGE-RAGE Stress and Coronary Artery Disease.** *Int J Angiol* 2021, **30**(1):4-14.
120. Kanikowska D, Kanikowska A, Strojny Z, Kawka E, Zawada A, Rutkowski R, Litwinowicz M, Sato M, Grzymisławski M, Bręborowicz A *et al*: **Assessment of EN-RAGE, sRAGE, and its isoforms: cRAGE, esRAGE in obese patients treated by moderate caloric restriction combined with physical activity conducted in hospital condition.** *Cytokine* 2024, **180**:156665.
121. Aubert CE, Michel PL, Gillery P, Jaisson S, Fonfrede M, Morel F, Hartemann A, Bourron O: **Association of peripheral neuropathy with circulating advanced glycation end products, soluble receptor for advanced glycation end products and other risk factors in patients with type 2 diabetes.** *Diabetes Metab Res Rev* 2014, **30**(8):679-685.
122. Erusalimsky JD: **The use of the soluble receptor for advanced glycation-end products (sRAGE) as a potential biomarker of disease risk and adverse outcomes.** *Redox Biol* 2021, **42**:101958.

123. Koyama H, Tanaka S, Monden M, Shoji T, Morioka T, Fukumoto S, Mori K, Emoto M, Fukui M, Fujii H *et al*: **Comparison of effects of pioglitazone and glimepiride on plasma soluble RAGE and RAGE expression in peripheral mononuclear cells in type 2 diabetes: randomized controlled trial (PioRAGE)**. *Atherosclerosis* 2014, **234**(2):329-334.
124. Csiha S, Molnár I, Halmi S, Hutkai D, Lőrincz H, Somodi S, Katkó M, Harangi M, Paragh G, Nagy EV *et al*: **Advanced glycation end products and their soluble receptor (sRAGE) in patients with Hashimoto's thyroiditis on levothyroxine substitution**. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2023, **14**:1187725.
125. Tam XH, Shiu SW, Leng L, Bucala R, Betteridge DJ, Tan KC: **Enhanced expression of receptor for advanced glycation end-products is associated with low circulating soluble isoforms of the receptor in Type 2 diabetes**. *Clin Sci (Lond)* 2011, **120**(2):81-89.
126. Singh V, Kaur R, Kumari P, Pasricha C, Singh R: **ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders**. *Clin Chim Acta* 2023, **548**:117487.
127. Tayebati SK, Tomassoni D, Di Cesare Mannelli L, Amenta F: **Effect of treatment with the antioxidant alpha-lipoic (thioctic) acid on heart and kidney microvasculature in spontaneously hypertensive rats**. *Clin Exp Hypertens* 2016, **38**(1):30-38.
128. McNair ED, Wells CR, Qureshi AM, Basran RS, Pearce C, Orvold J, Devilliers J, Prasad K: **Low levels of soluble receptor for advanced glycation end products in non-ST elevation myocardial infarction patients**. *Int J Angiol* 2009, **18**(4):187-192.
129. Sabbatinelli J, Castiglione S, Macrì F, Giuliani A, Ramini D, Vinci MC, Tortato E, Bonfigli AR, Olivieri F, Raucci A: **Circulating levels of AGEs and soluble RAGE isoforms are associated with all-cause mortality and development of cardiovascular complications in type 2 diabetes: a retrospective cohort study**. *Cardiovasc Diabetol* 2022, **21**(1):95.
130. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S: **Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of VCAM-1 mRNA levels in endothelial cells by suppressing AGE receptor (RAGE) expression**. *Biochem Biophys Res Commun* 2010, **391**(3):1405-1408.
131. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, Cao R, Yan SD, Brett J, Stern D: **Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes**. *J Clin Invest* 1995, **96**(3):1395-1403.
132. Zhang H, Tang L, Chen S, Yang Y, Chen M, Luo J: **Effect of advanced glycation end products on the expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor proteins in RF/6A cells**. *Exp Ther Med* 2013, **5**(5):1519-1522.
133. Wang B, Wang J, Liu Y, Wang L, Du M, Zhang Z, Guan Y: **sRAGE downregulates the VEGF expression in OHSS ovarian granulosa cells**. *Gynecol Endocrinol* 2021, **37**(9):836-840.
134. Dedert C, Mishra V, Aggarwal G, Nguyen AD, Xu F: **Progranulin Preserves Autophagy Flux and Mitochondrial Function in Rat Cortical Neurons Under High Glucose Stress**. *Front Cell Neurosci* 2022, **16**:874258.
135. Gewaltig MT, Kojda G.
136. Ren X, Ren L, Wei Q, Shao H, Chen L, Liu N: **Advanced glycation end-products decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells**. *Cardiovasc Diabetol* 2017, **16**(1):52.
137. Korolczuk A, Bęłtowski J: **Progranulin, a New Adipokine at the Crossroads of Metabolic Syndrome, Diabetes, Dyslipidemia and Hypertension**. *Curr Pharm Des* 2017, **23**(10):1533-1539.

Saját közlemények listája



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/566/2025.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Csiha Sára
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10088808

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Csiha, S.**, Hernyák, M., Molnár, Á., Lőrincz, H., Katkó, M., Paragh, G., Bodor, M., Harangi, M., Sztanek, F., Berta, E.: Alpha-Lipoic Acid Treatment Reduces the Levels of Advanced End Glycation Products in Type 2 Diabetes Patients with Neuropathy. *Biomedicines*. 13 (2), 1-16, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines13020438>
IF: 3.9 (2024)
2. **Csiha, S.**, Molnár, I., Halmi, S., Hutkai, D., Lőrincz, H., Somodi, S., Katkó, M., Harangi, M., Paragh, G., Nagy, E. V., Berta, E., Bodor, M.: Advanced glycation end products and their soluble receptor (sRAGE) in patients with Hashimoto's thyroiditis on levothyroxine substitution. *Front. Endocrinol.* 14, 1-9, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2023.1187725>
IF: 3.9

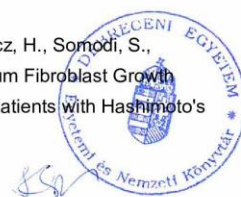
További közlemények

3. Diószegi, Á., Lőrincz, H., Kaáli, E., **Csiha, S.**, Kaluha, J., Varga, É., Páll, D., Tarr, T., Harangi, M.: Assessment of Serum Endocan Levels and Their Associations with Arterial Stiffness Parameters in Young Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Med*. 14 (17), 1-16, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm14175955>
IF: 2.9 (2024)





4. Borbásné Sebestyén, V., Ujvárosy, D., Ratku, B., Lőrincz, H., **Csiha, S.**, Tari, D., Majai, G., Somodi, S., Szűcs, G., Harangi, M., Szabó, Z.: Inflammatory Biomarkers and Lipid Parameters May Predict an Increased Risk for Atrial Arrhythmias in Patients with Systemic Sclerosis.
Biomedicines. 13 (1), 1-15, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines13010220>
IF: 3.9 (2024)
5. Dániel, E., Sztanek, F., **Csiha, S.**, Ratku, B., Somodi, S., Paragh, G., Harangi, M., Lőrincz, H.: Long-Term Effects of Semaglutide and Sitagliptin on Circulating IGFBP-1, IGFBP-3 and IGFBP-rp1: results from a One-Year Study in Type 2 Diabetes.
Int. J. Mol. Sci. 26 (21), 1-14, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms262110404>
IF: 4.9 (2024)
6. Tóth, L., Harsányi, A., **Csiha, S.**, Molnár, Á., Lőrincz, H., Nagy, A. C., Paragh, G., Harangi, M., Sztanek, F.: Semaglutide Improves Lipid Subfraction Profiles in Type 2 Diabetes: insights from a One-Year Follow-Up Study.
Int. J. Mol. Sci. 26 (13), 1-18, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms26135951>
IF: 4.9 (2024)
7. Lőrincz, H., **Csiha, S.**, Ratku, B., Somodi, S., Sztanek, F., Paragh, G., Harangi, M.: Associations between Serum Kallistatin Levels and Markers of Glucose Homeostasis, Inflammation, and Lipoprotein Metabolism in Patients with Type 2 Diabetes and Nondiabetic Obesity.
Int. J. Mol. Sci. 25 (11), 1-12, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms25116264>
IF: 4.9
8. Hernyák, M., Tóth, L., **Csiha, S.**, Molnár, Á., Lőrincz, H., Paragh, G., Harangi, M., Sztanek, F.: Kallistatin as a Potential Marker of Therapeutic Response During Alpha-Lipoic Acid Treatment in Diabetic Patients with Sensorimotor Polyneuropathy.
Int. J. Mol. Sci. 25 (24), 1-14, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms252413276>
IF: 4.9
9. Berta, E., Halmi, S., Molnár, I., Hutkai, D., **Csiha, S.**, Bhattoa, H. P., Lőrincz, H., Somodi, S., Katkó, M., Harangi, M., Paragh, G., Nagy, E. V., Bodor, M.: Low Serum Fibroblast Growth Factor 21 Level and Its Altered Regulation by Thyroid Hormones in Patients with Hashimoto's Thyroiditis on Levothyroxine Substitution.
Metabolites. 14 (10), 1-10, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo14100565>
IF: 3.7





10. Csengő, E., Lőrincz, H., Csósz, É., Guba, A., Kárai, B., Tóth, J., **Csiha, S.**, Paragh, G., Harangi, M., Nagy, G. G.: Newly Initiated Statin Treatment Is Associated with Decreased Plasma Coenzyme Q10 Level After Acute ST-Elevation Myocardial Infarction.
Int. J. Mol. Sci. 26 (1), 1-18, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms26010106>
IF: 4.9
11. Ratku, B., Lőrincz, H., **Csiha, S.**, Borbásné Sebestyén, V., Berta, E., Bodor, M., Nagy, E. V., Szabó, Z., Harangi, M., Somodi, S.: Serum afamin and its implications in adult growth hormone deficiency: a prospective GH-withdrawal study.
Front Endocrinol (Lausanne). 15, 1-13, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2024.1348046>
IF: 4.6
12. Lőrincz, H., **Csiha, S.**, Ratku, B., Somodi, S., Sztanek, F., Seres, I., Paragh, G., Harangi, M.: Gender-Dependent Associations between Serum Betatrophin Levels and Lipoprotein Subfractions in Diabetic and Nondiabetic Obese Patients.
Int. J. Mol. Sci. 24 (22), 1-13, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms242216504>
IF: 4.9
13. Lőrincz, H., Ratku, B., **Csiha, S.**, Seres, I., Szabó, Z., Paragh, G., Harangi, M., Somodi, S.: Impaired Organokine Regulation in Non-Diabetic Obese Subjects: halfway to the Cardiometabolic Danger Zone.
Int. J. Mol. Sci. 24 (4), 1-13, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24044115>
IF: 4.9
14. Galgóczi, E., Katkó, M., Papp, F. R., Csiki, R., **Csiha, S.**, Erdei, A., Bodor, M., Ujhelyi, B., Steiber, Z., Győry, F., Nagy, E. V.: Glucocorticoids Directly Affect Hyaluronan Production of Orbital Fibroblasts: a Potential Pleiotropic Effect in Graves' Orbitopathy.
Molecules. 28 (1), 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28010015>
IF: 4.6

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 61,8

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az érkekezés alapjául szolgáló közleményekre): 7,8

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományterületi ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2025.11.04.





OPEN ACCESS

EDITED BY
Aleksandra Klisic,
Primary Health Care Center Podgorica,
Montenegro

REVIEWED BY
Tommaso Aversa,
University of Messina, Italy
Rosaria Maddalena Ruggeri,
University of Messina, Italy

*CORRESPONDENCE
Eszter Berta
✉ berta.eszter@med.unideb.hu

†These authors have contributed
equally to this work and share
last authorship

RECEIVED 16 March 2023

ACCEPTED 09 May 2023

PUBLISHED 26 May 2023

CITATION

Csiha S, Molnár I, Halmi S, Hutkai D,
Lőrincz H, Somodi S, Katkó M, Harangi M,
Paragh G, Nagy EV, Berta E and Bodor M
(2023) Advanced glycation end products
and their soluble receptor (sRAGE) in
patients with Hashimoto's thyroiditis on
levothyroxine substitution.
Front. Endocrinol. 14:1187725.
doi: 10.3389/fendo.2023.1187725

COPYRIGHT

© 2023 Csiha, Molnár, Halmi, Hutkai,
Lőrincz, Somodi, Katkó, Harangi, Paragh,
Nagy, Berta and Bodor. This is an open-
access article distributed under the terms of
the [Creative Commons Attribution License
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or
reproduction in other forums is permitted,
provided the original author(s) and the
copyright owner(s) are credited and that
the original publication in this journal is
cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does not
comply with these terms.

Advanced glycation end products and their soluble receptor (sRAGE) in patients with Hashimoto's thyroiditis on levothyroxine substitution

Sára Csiha^{1,2,3}, István Molnár^{2,3,4}, Sándor Halmi^{1,3},
Dávid Hutkai^{5,6}, Hajnalka Lőrincz⁴, Sándor Somodi^{4,7},
Mónika Katkó¹, Mariann Harangi^{4,8}, György Paragh⁴,
Endre V. Nagy¹, Eszter Berta^{2,4*†} and Miklós Bodor^{1,2†}

¹Division of Endocrinology, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ²Department of Clinical Basics, Faculty of Pharmacy, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ³Doctoral School of Health Sciences, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ⁴Division of Metabolism, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ⁵Division of Nephrology, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ⁶Kálmán Laki Doctoral School, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ⁷Department of Emergency Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, ⁸Institute of Health Studies, Faculty of Health Sciences, University of Debrecen, Debrecen, Hungary

Background: Advanced glycation end products (AGEs) are heterogenous group of irreversible chemical moieties originated from non-enzymatic glycation and oxidation of proteins, nucleic acids, and lipids. The engagement of AGEs with their chief cellular receptor (RAGE) activates a myriad of signaling pathways contributing to the progression of chronic diseases like autoimmune thyroiditis, type 2 diabetes mellitus and its complications. Soluble RAGE (sRAGE) prevents AGE-RAGE interaction in a competitive manner.

Objective: We investigated the association between serum AGE, sRAGE and thyroid function in 73 Hashimoto thyroiditis patients (HT) on levothyroxine substitution, and in 83 age, BMI and gender-matched healthy controls.

Methods: The serum AGEs levels were determined by autofluorescence on a multi-mode microplate reader, and the serum sRAGE levels by ELISA method.

Results: Mean AGE level was lower (10.71 vs 11.45 AU/ μ g protein; $p=0.046$), while mean sRAGE level was higher (923 vs 755 pg/mL; $p<0.0005$) in the serum of HT patients than the controls. AGE correlated with age, while sRAGE correlated negatively with BMI in both groups. We found negative correlation between AGE and fT3 levels ($r=-0.32$; $p=0.006$) and sRAGE and TSH levels ($r=-0.27$; $p=0.022$) in HT patients, while we failed to find association between AGE, sRAGE and parameters of thyroid function in the control group. Median AGE/sRAGE ratio was lower in HT patients than in controls (2.4, IQR 1.9 – 3.1 vs 3.3, IQR 2.3 – 4.1 AU/pg; $p<0.001$). In HT patients, the AGE/sRAGE ratio correlated positively with BMI and correlated negatively with fT3.

Conclusion: According to our results in HT patients lower TSH and higher FT3 levels within the reference range is accompanied by a favorable AGE/RAGE balance. Further investigations are needed to confirm these results.

KEYWORDS

thyroid, advanced glycation end products, sRAGE, hypothyroidism, Hashimoto's thyroiditis, levothyroxine, hyperlipidemia, obesity

1 Introduction

Hashimoto's thyroiditis (HT) is a frequent form of autoimmune thyroid disease with an incidence of 0.3-0.5 cases per 1000 people, being the leading cause of hypothyroidism in iodine sufficient regions of the world (1, 2). Environmental factors and genetic susceptibility together have a fundamental role in the pathogenesis of HT, while advancing age and female gender are also important predisposing factors, the latter carrying an 8-10-fold risk. Several existential and environmental factors such as stress, excessive iodine or inadequate dietary selenium intake, multiparity and viral infections promote the occurrence of HT, while smoking and alcohol consumption seem to have a protective effect (1). Besides thyroid autoimmunity other autoimmune disorders may develop among Hashimoto's thyroiditis patients such as Sjögren's syndrome, myasthenia gravis, pernicious anemia, connective tissue disorders, autoimmune liver disease, vitiligo and celiac disease; certain concomitant endocrinopathies of autoimmune origin like type 1 diabetes mellitus, hypoparathyroidism and Addison's disease together with HT form autoimmune polyendocrine syndromes (2).

In the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis, increased oxidative stress and decreased antioxidant levels were previously observed (3, 4). In the long term, the disturbed redox balance promotes the generation of endogenously produced Advanced Glycation End-Products (AGEs). In a previous study, a decrease in sRAGE and an increase in AGE levels were confirmed in 50 newly diagnosed euthyroid HT patients, but this relationship has not been investigated yet in HT patient group on stable levothyroxine hormone substitution (5). In an earlier study, Giannakou et al. found the oxidative parameters of LT4-treated patients higher than patients without supplementation need, however, AGE and sRAGE results were not evaluated (6).

In addition to the documented obesogenic effect of hypothyroidism (7), according to growing data obesity is also a non-conventional risk factor for Hashimoto's thyroiditis and hypothyroidism (8). In a recent publication euthyroid non-obese HT patients' dietary habits were investigated, and their animal originated food consumption was higher, while plant food intake was lower than the control subjects' accompanied by higher AGEs level among HT patients (9).

AGEs are a heterogeneous group of irreversible adducts resulting from non-enzymatic glycation and oxidation of proteins, nucleic acids and lipids (10, 11). They can be of exogen and endogen

origin and have a slow elimination from the bloodstream, therefore are capable of lifelong accumulation (12, 13). AGEs from exogenous sources also called dietary AGEs are found in large quantities in processed, high-temperature, grilled foods containing a high level of fat and protein (14). Besides food, smoking is an important exogen source of AGEs. AGEs play fundamental role in aging and in the development of various diseases and their complications, including metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, cancer, atherosclerosis and autoimmune thyroid disease. Furthermore, AGEs and their receptors have significant influence on carcinogenesis and progression of thyroid carcinoma, which with an increasing incidence represents an important public health concern; the growing incidence might be partially attributable to environmental factors like obesity (13, 15).

AGEs have several membrane-bound, cell surface receptors which, following interaction can initiate various signal transduction pathways. Some receptors, such as the advanced glycation end product receptor 1, help eliminate AGEs from the body, others, like RAGE by activating the nuclear factor kappa B signaling pathway increase receptor expression, the release of inflammatory cytokines, oxidative stress, and reactive oxygen species (ROS) formation. The increased oxidative stress can also lead to formation of endogenous AGEs. This phenomenon leads to the development of a self-exciting process, which plays a long-term role in the formation of the above-mentioned chronic diseases and the development of their complications. Furthermore, AGEs can form cross-links with proteins, thus changing their function, adding to the pathogenesis for the wide range of AGE-related diseases (12, 14).

The best characterized AGE receptor is RAGE. It is a member of the superfamily of cell surface immunoglobulins (6) type 1 transmembrane protein (with an N-terminal extracellular domain) with size of 45 kDa and 404 amino acids, originally isolated from bovine pulmonary endothelium (16). In addition to the complete RAGE receptor, several naturally occurring RAGE variants have also been described, like DN-RAGE, ΔN-RAGE and sRAGE (es RAGE and cRAGE). Soluble AGE receptor (sRAGE) competitively prevents AGE-RAGE interaction, thereby reducing the generation of inflammatory cytokines and ROS (11, 14, 17). Decreased serum levels of sRAGE was detected in patients with essential hypertension (18), coronary artery diseases, chronic obstructive pulmonary disease, hyperthyroidism, rheumatic arthritis, and Alzheimer's disease (19).

A recent work of Prasad summarized the diseases, in which the elevated ratio of AGE/sRAGE was proved to be a biomarker among

a wide variety of patients treated for non-ST-elevation myocardial infarction (11), hyperthyroidism (20), thoracic aortic aneurysm and hypercholesterolemia (19, 21).

We aimed to assess the AGE and sRAGE levels, and the AGE/sRAGE ratio and their correlations with thyroid function and metabolic parameters in HT patients on levothyroxine substitution treatment and in age, body mass index (BMI), and gender-matched control subjects. We hypothesized that in HT patients AGE level is higher and sRAGE level is lower than in healthy controls. We supposed correlations between the levels of AGE and parameters of thyroid function and metabolic parameters.

2 Materials and subjects

2.1 Study population

We investigated the association between serum AGE, serum sRAGE and thyroid function parameters in patients receiving levothyroxine substitution treatment for HT-caused hypothyroidism. Seventy-three Caucasian subjects (69 women and 4 men, mean age: 47 ± 14 years, mean BMI: 27.4 ± 5.6 kg/m², mean duration of the disease 6.6 ± 4.4 years) and eighty-two Caucasian controls (n=82, 76 women and 6 men, mean age: 46 ± 14 years, mean BMI: 27.2 ± 6.1 kg/m²) were enrolled from the outpatient clinic of our Endocrine Unit. Expectant mothers and patients with known diabetes mellitus, cancer, or concomitant other autoimmune diseases were excluded. The control group consisted of age, sex, and BMI-matched controls without thyroid disease in their medical history, whom TSH, fT4 and fT3 and TPOAb levels were in the reference range. The study was approved by the Regional and Institutional Ethics Committee of the University of Debrecen. All patients and controls consented in participation and signed the Informed Consent Form.

2.2 Sample collection and laboratory measurements

Blood samples were collected according to local clinical protocol. The plasma and serum were separated by centrifugation at 2200 g for 10 minutes, aliquoted and stored at -80°C until later measurements.

The serum AGEs levels were determined by autofluorescence on a multi-mode microplate reader (Biotek Synergy H1, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), and the sRAGE levels by ELISA method (Human RAGE Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturer's instructions.

The serum free thyroxine (fT4) and free triiodothyronine (fT3) and thyroid stimulating hormone (TSH) levels were measured using electrochemiluminescence immunoassays (FT4 G2 Elecsys, FT3 Elecsys, TSH Elecsys, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Reference ranges 12–22 pmol/L, 2.4–6.3 pmol/L and 0.3–4.2 mU/L for fT4, fT3 and TSH, respectively. Anti-thyroperoxidase (aTPO) antibody concentrations were measured by chemiluminescent immunoassay (LIAISON[®]-Anti-TPO, DiaSorin S.p.A., Saluggia, Italy).

Serum creatinine was measured by Jaffe's colorimetric method, C-reactive protein (CRP) was measured by immunoturbidimetric assay. Triglyceride, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured using enzymatic, colorimetric tests, and glucose was measured by hexokinase kinetic enzymatic assay with a Cobas c600 autoanalyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

2.3 Statistical analysis

Statistical analysis was performed by STATISTICA (Statsoft Inc. Tulsa, OK, USA) and Graphpad Prism (Graphpad Software, San Diego, CA, USA). The distribution of continuous variables was checked by the Kolmogorov–Smirnov test. To compare continuous variables between groups, for normal distributed data Student's t test was applied, whereas for nonnormal distributed data Mann Whitney-U test was used. Results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) in case of normal distribution, or median and 25th and 75th percentiles (interquartile range, IQR) in case of nonnormal distribution. The stochastic relationships of discrete variables were analyzed by Chi-square test. For analysis of the relationship between continuous variables Pearson's correlation was performed. Multiple linear regression analysis was performed to analyze the relationship between AGEs or sRAGE level as dependent variable and several independent variables. p values below 0.05 were considered statistically significant.

3 Results

All patients needed levothyroxine (LT4) supplementation with 1.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight median prescribed daily dose (IQR: 0.83 – 1.41, minimum-maximum: 0.32 – 3.28), 64% of them were euthyroid at the time of study, subclinical hypo- and hyperthyroidism occurred in 22 and 6% of the cases, while overt hypo- and hyperthyroidism occurred in 4 and 4% of the cases, respectively. The median TSH and fT4 levels of the HT patients were higher (2.47 vs 1.77 mU/L, $p=0.024$ and 17.6 vs 15.5 pmol/L, $p<0.0001$, respectively), while mean fT3 level was lower compared to the control group (4.6 vs 5.0 pmol/L, $p<0.0001$) (Table 1). Furthermore, the mean AGE was lower (10.71 vs 11.45 AU/ μg protein, $p=0.023$) while the sRAGE level was higher (923 vs 755 pg/mL, $p<0.0005$) in the serum of HT patients compared to the controls (Table 1). Moreover, AGE was positively correlated with age and serum creatinine (Figures 1A, B), whereas sRAGE was negatively correlated with BMI (Figure 1C) both in the whole studied population and in subgroups (controls and HT patients) separately. No correlation was found between AGEs and sRAGE levels ($r=0.191$, $p=0.086$ in controls; $r=0.205$, $p=0.083$ in HT patients and $r=0.140$, $p=0.082$ in the whole population).

A negative correlation was found between the serum AGE concentration and fT3 level (Figure 2A), as well as between sRAGE and TSH levels (Figure 2B) in HT patients, while in the control group neither AGE nor sRAGE correlated with the parameters of thyroid function (data not shown). In addition, we

TABLE 1 Clinical characteristics and laboratory parameters of HT patients and controls.

	HT patients n=73	Controls n=82	p*
Age (years)	47 ± 14	46 ± 14	0.635
Female/Male	69/4	76/6	0.448
BMI (kg/m ²)	27.4 ± 5.6	27.2 ± 6.1	0.864
TSH (mU/L)	2.47 (0.97 – 4.28)	1.77 (1.25 – 2.38)	0.024
fT4 (pmol/L)	17.6 (15.5 – 20.6)	15.5 (14.2 – 16.5)	<0.0001
fT3 (pmol/L)	4.6 ± 0.6	5.0 ± 0.6	<0.0001
Random glucose (mmol/L)	5.2 (4.8 – 5.6)	5.0 (4.7 – 5.4)	0.082
Triglyceride (mmol/L)	1.4 (1.0 – 2.0)	1.2 (0.8 – 1.7)	0.048
Cholesterol (mmol/L)	5.3 ± 1.0	5.4 ± 1.1	0.597
LDL-C (mmol/L)	3.3 ± 0.9	3.4 ± 1.0	0.525
HDL-C (mmol/L)	1.5 (1.3 – 1.8)	1.5 (1.2 – 1.7)	0.622
CRP (mg/L)	1.7 (0.9 – 3.6)	2.6 (0.9 – 5.5)	0.095
Creatinine (μmol/L)	65 ± 11	69 ± 16	0.160
AGE (AU/μg protein)	10.71 ± 2.21	11.45 ± 2.35	0.046
sRAGE (pg/mL)	923 ± 303	755 ± 265	<0.0005
Median AGE/sRAGE ratio (AU/pg)	2.4 IQR 1.9 – 3.1	3.3 IQR 2.3 – 4.1	p < 0.0001

Data are shown as mean ± standard deviation or median (interquartile range).

* t-test for comparing age, BMI, fT3, AGEs and sRAGE. Chi-square test for comparing female/male ratio and Mann-Whitney U test for comparing other parameters.

found positive correlation between TPOAb and AGE level in HT patients (Figure 2C). In HT patients fT3 levels correlated with age and serum creatinine levels (Figure 3). Since the serum AGE level was correlated with age, creatinine, TPOAb and fT3 level among patients, we performed a multiple regression analysis, in which creatinine and TPOAb levels proved to be significant predictors (Table 2). In the case of sRAGE, the same was examined in relation to BMI and TSH, and the effect of both parameters was found to be significant in the multiple regression analysis (Table 2).

The median AGE/sRAGE ratio was lower in HT patients than in controls (2.4, IQR 1.9 – 3.1 vs 3.3, IQR 2.3 – 4.1 AU/pg; p < 0.0001). The AGE/sRAGE ratio positively correlated with age in controls (r=0.286, p<0.01), while in patients with HT it correlated with BMI (r=0.275, p=0.02), TSH (r=0.255, p=0.03), and inversely with fT3 (r= - 0.239, p=0.04).

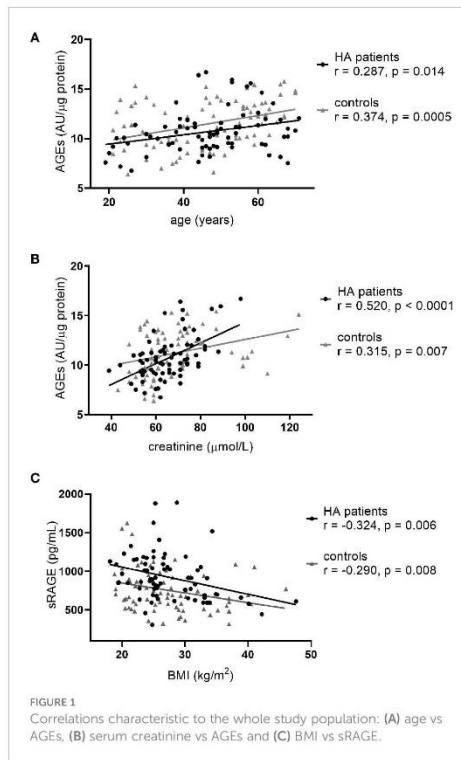
4 Discussion

Hypothyroidism is a commonly encountered clinical condition, and a predisposing factor for cardiovascular disease, obesity and diabetes mellitus (22–24). In glucometabolic diseases hypothyroidism further worsens clinical complications *via* complex mechanisms (25), among which AGEs, together with inflammatory response might play a significant role.

Carotid intima-media thickness (cIMT) is a predictor of stroke and coronary heart disease and acts as a marker of subclinical

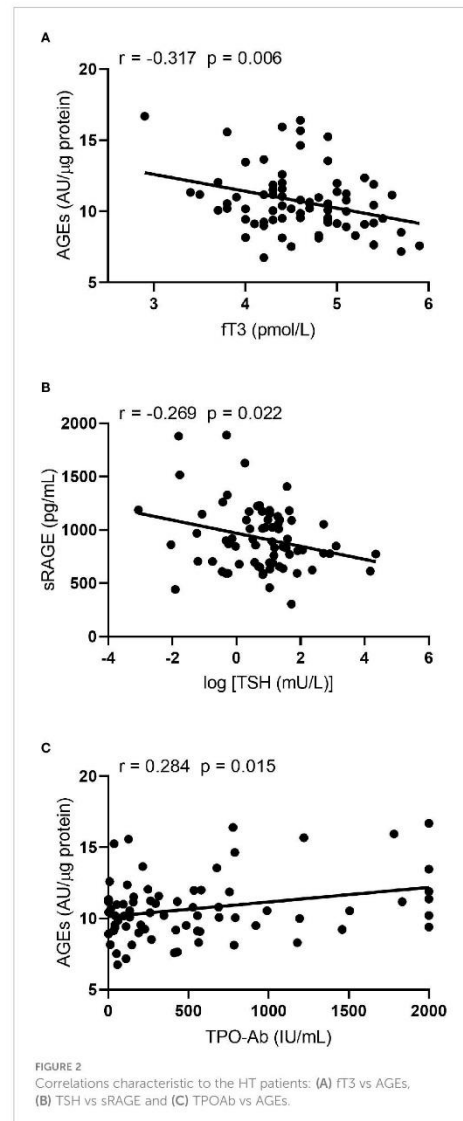
atherosclerosis. The enhanced arterial stiffness, together with hyperlipidemia, hypercoagulable state, endothelial dysfunction caused by hypothyroidism might worsen the effect of traditional cardiovascular risk factors (26, 27). The accumulation of AGEs enhances arterial stiffness *via* structural and dynamic components. Cross-linking of AGEs on collagen and elastin makes the arterial wall stiffer, together with the glycation-provoked increased collagen and decreased elastin amount (28), while dynamic components as reduced nitric oxide (NO), increased endothelin-1 and altered neuroendocrine signaling will lead to endothelial cell damage (29–31). In two studies, cIMT was increased among euthyroid HT female patients regardless of traditional cardiovascular risk factors. cIMT was not different between low-normal and high-normal TSH categories. However, adiposity might have influenced the findings of the study (32, 33). The effect of TSH levels in the normal range on cIMT is still controversial (34, 35). Low T3 syndrome, the consequence of non-thyroid systemic diseases seems to affect the progression of atherosclerosis and T3 may serve as an endogenous protective molecule to inhibit vascular calcification (36, 37). Furthermore, both T3 and T4 are well known to modulate physiologic immune responses through genomic and nongenomic mechanisms and support the function of the immune system (38).

AGEs are elevated among patients with hypercholesterolemia, and they seem to have a common ligand-binding site on scavenger receptor class B type I, which plays a central role in reverse cholesterol transport, with oxidized (ox-LDL) and acetyl-LDL,

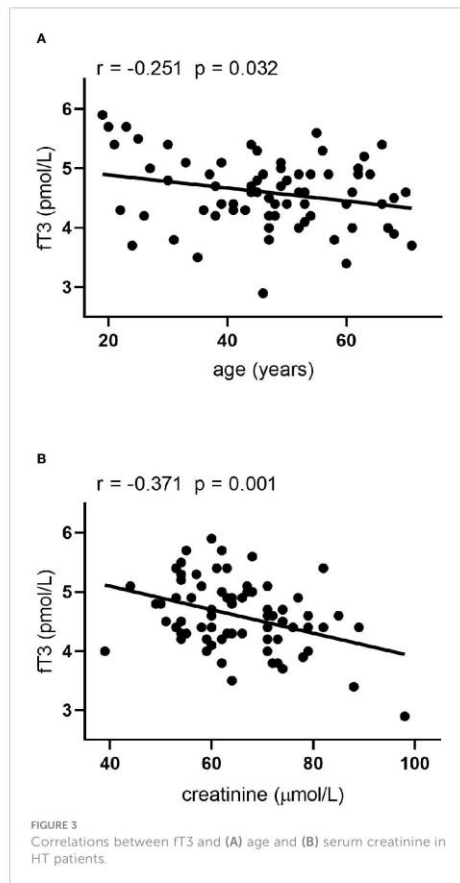


therefore in the presence of AGEs the cholesterol efflux from cells to HDL is inhibited, resulting in accelerated atherosclerosis in diabetes mellitus (39, 40). On the other hand, statins, due to their cholesterol-lowering effects, can increase the soluble RAGE level by inducing RAGE shedding, therefore preventing the development of RAGE-mediated pathogenesis (41), this underlines the importance of screening hyperlipidemia among patients with thyroid disorders.

Obesity is a well-known complication of untreated hypothyroidism. Thyroid dysfunction is associated with changes in body weight and composition, body temperature, total and resting energy expenditure independently of physical activity. Even slight variations of thyroid function within the normal reference range can contribute to the development of regional obesity (23). According to the data of the DanThyr study, thyroid function has the same impact on BMI as tobacco smoking and physical activity. An increase in T3/T4 ratio had been also observed with increasing BMI (42). Obesity and hypothyroidism seem to have a bidirectional relationship, as thyroid disorders can also develop secondary to obesity (7, 22, 25). Leptin affects thyroid deiodinase activities resulting in activation of T4 to T3 conversion, while the low level of T3 in hypothyroid patients leads to decreased



leptin expression, further decreasing conversion of T4 to T3 (7). Besides, T3 directly stimulates food intake at the level of the hypothalamus (22, 43). A recent systematic review of 22 studies found obesity to be significantly associated with an increased risk of hypothyroidism and clearly associated with Hashimoto thyroiditis (8). In obesity, the thyroid hormone transport through cell membrane becomes impaired due to the low-grade inflammation



leading to thyroid hormone resistance in obesity (44–46). As we found a negative correlation between BMI and sRAGE levels in both patient and control group, we can conclude that overweight/obese state is a risk factor for disorders based on inflammation and oxidative stress, independently of the presence of HT. The correlations we found were present in all weight cohorts (data not shown). Among both groups AGE was positively correlated with age and serum creatinine. The increment of AGEs with advanced age is well documented in the literature, as a consequence of the life-long accumulation of AGEs and the deterioration kidney function (47, 48). Besides that, in HT patients fT3 levels also correlated with age and serum creatinine levels.

It remains to clarify if the modulated AGE and RAGE patterns in our treated HT group is related to the low grade inflammation present in HT or to the thyroid hormonal environment which is different in endogenous and exogenously achieved hypothyroidisms (49). The majority of the HT patients studied presented with chemical euthyroidism with normal TSH. The fT4 and fT3 pattern of the HT group was characteristic of T4 treated hypothyroidism.

Altogether, alterations in thyroid hormone levels may favor obesity, atherosclerosis, and inflammation; besides, thyroid dysfunction contributes to the activation of inflammation and immunity response, leading to a bidirectional crosstalk between obesity and thyroid autoimmunity (38, 45). In a recent study of Ruggeri et al. 81 newly diagnosed HT patients' and 119 controls' dietary habits were evaluated through questionnaires. HT patients reported higher intake frequencies of animal foods, and AGEs were also higher among them. A protective effect seems to exist of low intake of animal foods toward thyroid autoimmunity with a positive influence of higher intake of plant-based nutritional patterns on redox balance and potentially on oxidative stress-related disorders (9). Among HT children a recent pilot study showed decreased sRAGE levels with no difference in AGE levels (50). In the study of Ruggeri et al. untreated Hashimoto patients were enrolled, and from their results the malevolent change in AGE/sRAGE ratio could be predicted to worsen during the course of HT leading to hypothyroidism. However, surprisingly, in our study the patients' AGE levels were lower than the control groups', while sRAGE levels

TABLE 2 Results of the multiple regression analysis.

	β	SE of β	b	SE of b	p
Dependent variable: AGEs					
age	0.187	0.101	0.031	0.017	0.069
se creatinine	0.405	0.107	0.081	0.021	0.0003
TPOAb	0.224	0.099	0.001	0.0004	0.026
fT3	-0.108	0.106	-0.405	0.398	0.313
Dependent variable: sRAGE					
BMI	-0.379	0.108	-20.590	5.865	0.0008
log TSH	-0.353	0.108	-81.435	24.925	0.002

were higher among patients (5). Further studies would be beneficial to evaluate the effect of levothyroxine supplementation on subclinical inflammation in euthyroid Hashimoto's thyroiditis population. Altogether, the association of sRAGE with BMI might imply that maintaining normal weight might be protective from the metabolic and cardiovascular complications of HT.

The results affected by lifestyle factors such as nutritional behavior and climate of different countries and geographical regions might differ and that needs to be considered when one draws consequences. The unfavorable results from our control group might be different from the Italian data due to the unhealthy Hungarian dietary habits with saturated fat consumption compared to a healthier Mediterranean diet (51).

In a work of Giannakou et al. the increase of oxidative stress determined by total lipid peroxide levels in serum was higher among HT patients receiving LT4-supplementation; in the overweight/obesity patient group and among patients with low fruit and sporadic vegetable consumption (52). The oxidative stress was elevated among treated patients, furthermore, RAGE 429T>C polymorphism, which is a supposed risk factor for diabetic macrovascular complications and nephropathy bore also an elevated risk for developing hypothyroidism among HT patients (6, 53).

Besides their role in oxidative stress AGEs are elevated with unhealthy nutritional habits, further worsening (or originally initiating) the putative mechanism in HT pathogenesis.

Levothyroxine treatment decreases oxidative stress when initiated in overt hypothyroidism (54–56) or subclinical hypothyroidism (57). However, in long time continued LT4 therapy parameters of oxidative stress might be elevated when compared to controls (58, 59). In our study, AGEs were lower and sRAGE was higher in HT patients, further confirming the antioxidative effect of LT4 substitution in HT. We showed correlation between TPOAb and AGE level. We are the first to evaluate AGEs and RAGE levels among LT4-treated HT patients.

Elevated cIMT and the change in AGE/RAGE axis might play a role in atherosclerosis among HT patients. In our study anti-TPO levels correlated with AGE levels, but the AGEs were not higher among LT4-treated HT patients than in healthy controls, which is in concordance with the decrement of oxidative stress among subjects on LT4-substitution (54).

According to the performed multiple regression analysis, creatinine and TPOAb levels proved to be significant predictors of AGEs, while BMI and TSH were significant predictors of sRAGE (Table 2).

The limitations of the study are relatively low number of patients, the wide age range of the studied population, and the lack of a HT patient group without levothyroxine substitution and evaluation of oxidative and inflammatory parameters. Higher patient number with measurement of arterial stiffness and cIMT could add to our results in terms of the effect of life-long AGE accumulation regarding the cardiovascular risk factors in HT patients in a prospective longitudinal study. The strength of our study is that we are first to demonstrate a lower AGE/sRAGE ratio

among treated HT patients than controls, and the negative correlation between AGE and fT3 levels, together with correlation between sRAGE and TSH levels.

Based on our results, we assume that levothyroxine supplementation may contribute to a more favorable AGE/sRAGE ratio in treated HT patients, but at the same time, patient-specific correlations suggest that higher fT3 levels among treated patient; as well as a lower TSH level within the reference range, may have a more favorable effect on oxidative stress. However, the use of combination therapy with both levothyroxine and liothyronine remains highly controversial with conflicting results from published clinical trials. Combination therapy might be beneficial for patients with persistent symptoms despite adequate doses of levothyroxine, after having closed out alternative causes originated from a concomitant disease; but not recommended for patients who are pregnant or trying to conceive, or with arrhythmias or established cardiovascular disease (60, 61).

The modulation of the AGE-RAGE axis can be attained by the modification of lifestyle, cooking with moist heat, at lower temperatures, increasing physical activity and smoking cessation (12). All these might be useful tools of AGE decrement in general, and specifically in patients with Hashimoto's thyroiditis.

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Ethics statement

The studies involving human participants were reviewed and approved by Regional and Institutional Ethics Committee of the University of Debrecen. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

Study design: EB and MB. Development of methodology: MK, HL, and SC. Collection of data: IM, SH, DH, and SS. Analysis and/or interpretation of data: MK and SC. Writing (not revising) all or sections of the manuscript: SC, EB, MB, and MH. Manuscript review: GP, EN, MB, and MH. EB and MB contributed equally to this work and share last authorship. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

Funding

This research was supported by the National Research, Development, and Innovation Office-NKFIH, grant number: K142273 and by the ÚNKP-21-4.2 New National Excellence Program of the Ministry for Innovation and Technology from the

source of the National Research, Development and Innovation Fund.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

References

- Ajjan RA, Weetman AP. The pathogenesis of hashimoto's thyroiditis: further developments in our understanding. *Hormone Metab Res* (2015) 47(10):702–10. doi: 10.1055/s-0035-1548832
- Klubo-Gwiedzinska J, Wartofsky L. Hashimoto thyroiditis: an evidence-based guide to etiology, diagnosis and treatment. vol. 132, polish archives of internal medicine. *Medycyna Praktyczna Cholesteryn*; (2022) 132:1–10. doi: 10.20452/pamw.16222
- Ruggeri RM, Cristani M, Vicchio TM, Alibrandi A, Giovannozzo S, Saija A, et al. Increased serum interleukin-37 (IL-37) levels correlate with oxidative stress parameters in hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest* (2019) 42(2):199–205. doi: 10.1007/s40618-018-0903-3
- Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A, et al. Oxidative stress and advanced glycation end products in hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* (2016) 26(4):504–11. doi: 10.1089/thy.2015.0592
- Ruggeri RM, Barbalace MC, Cristani MT, Alibrandi A, Giovannozzo S, Giuffrida G, et al. Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are increased and their soluble receptor (sRAGE) reduced in hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest* (2020) 43(9):1337–42. doi: 10.1007/s40618-020-01231-7
- Giannakou M, Salihi K, Mantzou E, Loukari E, Philippou G, Terzidis K, et al. RAGE polymorphisms and oxidative stress levels in hashimoto's thyroiditis. *Eur J Clin Invest* (2017) 47(5):341–7. doi: 10.1111/eci.12739
- Santini F, Marzullo P, Rotondi M, Ceccarini G, Pagano I, Ippolito S, et al. Mechanisms in endocrinology: the crosstalk between thyroid gland and adipose tissue: signal integration in health and disease. *Vol 171 Eur J Endocrinol BioScientifica Ltd.*; (2014) p:R137–52. doi: 10.1530/EJE-14-0067
- Song RH, Wang B, Yao QM, Li Q, Jia X, Zhang JA. The impact of obesity on thyroid autoimmunity and dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol Front Media S.A.* (2019) Vol. 10. doi: 10.3389/fimmu.2019.02349
- Ruggeri RM, Giovannozzo S, Barbalace MC, Cristani M, Alibrandi A, Vicchio TM, et al. Influence of dietary habits on oxidative stress markers in hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* (2021) 31(1):96–105. doi: 10.1089/thy.2020.0299
- Henning C, Glomb MA. Pathways of the maillard reaction under physiological conditions. *Glycoconjugate J Springer New York LLC*; (2016) Vol. 33:499–512. doi: 10.1007/s10719-016-9694-y
- McNair ED, Wells CR, Mabood Qureshi A, Basran R, Pearce C, Orvold J, et al. Soluble receptors for advanced glycation end products (sRAGE) as a predictor of restenosis following percutaneous coronary intervention. *Clin Cardiol* (2010) 33(11):678–85. doi: 10.1002/clc.20815
- Zeng C, Li Y, Ma J, Niu L, Tay FR. Clinical/Translational aspects of advanced glycation end-products. *Trends Endocrinol Metab Elsevier Inc.*; (2019) Vol. 30:959–73. doi: 10.1016/j.tem.2019.08.005
- Bronowicka-Szydlo A, Kotyra L, Lewandowski L, Gamin A, Kustrzeba-Wójcicka I. Role of advanced glycation end-products and other ligands for age receptors in thyroid cancer progression. *J Clin Med MDPH* (2021) Vol. 10. doi: 10.3390/jcm10184084
- Chen JH, Lin X, Bu C, Zhang X. Role of advanced glycation end products in mobility and considerations in possible dietary and nutritional intervention strategies. *Nutr Metab BioMed Cent Ltd* (2018) 15:72. doi: 10.1186/s12986-018-0306-7
- Kitahara CM, Sosa JA. The changing incidence of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol Nat Publishing Group*; (2016) 12:646–53. doi: 10.1038/nrendo.2016.110
- Oliveira MA, de SEM, Pedrosa F de O, Réa RR, Alves A da SC, Picheth C, et al. RAGE receptor and its soluble isoforms in diabetes mellitus complications. *J Bras Patol Med Lab* (2013) 49(2):97–108. doi: 10.1590/S1676-24442013000200004
- Perrone A, Giovino A, Benny J, Martinelli F. Advanced glycation end products (AGEs): biochemistry, signaling, analytical methods, and epigenetic effects. *Oxid Med Cell Longevity Hindawi Limited* (2020) 2020. doi: 10.1155/2020/3818196
- Geroldi D, Falcone C, Emanuele E, D'angelo A, Calcagnino M, Buzzi MP, et al. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end-products in patients with essential hypertension. *J Hypertension Lippincott Williams Wilkins* (2005) 23(9):1725–9. doi: 10.1097/01.hjh.0000177535.45785.64

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

- Prasad K. Is there any evidence that AGE/sRAGE is a universal biomarker/risk marker for diseases? *Mol Cell Biochem Springer New York LLC*; (2019) Vol. 451:139–44. doi: 10.1007/s11010-018-3400-2
- Caspar-Bell G, Dhar I, Prasad K. Advanced glycation end products (AGEs) and its receptors in the pathogenesis of hyperthyroidism. *Mol Cell Biochem* (2016) 414(1–2):171–8. doi: 10.1007/s11010-016-2669-2
- McNair E, Qureshi M, Prasad K, Pearce C. Atherosclerosis and the hypercholesterolemic AGE-RAGE axis. *Int J Angiology* (2016) 25(2):110–6. doi: 10.1055/s-0035-1570754
- Biondi B. Thyroid and obesity: an intriguing relationship. *J Clin Endocrinol Metab* (2010) 95:3614–7. doi: 10.1210/jc.2010-1245
- Biondi B, Kahaly GJ, Robertson RP. Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: two closely associated disorders. *Endocrine Rev Endocrine Society*; (2018) Vol. 40:789–824. doi: 10.1210/er.2018-00163
- Duntas LH. Thyroid disease and lipids. *Thyroid* (2002) 12:4 p287–93. doi: 10.1089/10507250252949405
- Kalra S, Aggarwal S, Khandelwal D. Thyroid dysfunction and dysmetabolic syndrome: the need for enhanced thyroglance strategies. *Int J Endocrinol* (2021) Vol. 2021. doi: 10.1155/2021/9641846
- Berta E, Lengyel I, Halmi S, Zrinyi M, Erdei A, Harangi M, et al. Hypertension in thyroid disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)* (2019) 10(JULY). doi: 10.3389/fendo.2019.00482
- Obuobie K, Smith J, Evans LM, John R, Davies JS, Lazarus JH. Increased central arterial stiffness in hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* (2002) 87(10):4662–6. doi: 10.1210/jc.2002-020493
- Tanakait S, Avigad' G, Brodskyl B, Eikenberry EF. Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen. *J Mol Biol* (1988) 203(2):495–505. doi: 10.1016/0022-2836(88)90015-0
- Prasad K, Mishra M. Do advanced glycation end products and its receptor play a role in pathophysiology of hypertension? *Int J Angiology* (2017) 26(1):1–11. doi: 10.1055/s-0037-1598183
- Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Vol 114 Circulation* (2006) 114:597–605. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.621854
- Yamazaki KG, Gonzalez E, Zambon AC. Crosstalk between the renin-angiotensin system and the advanced glycation end product axis in the heart: role of the cardiac fibroblast. *J Cardiovasc Transl Res* (2012) 5(6):805–13. doi: 10.1007/s12265-012-9405-4
- Topaloglu O, Gokay F, Kucukler K, Burnik FS, Mete T, Yavuz HC, et al. Is autoimmune thyroiditis a risk factor for early atherosclerosis in premenopausal women even if in euthyroid status? *Endocrine* (2013) 44(1):145–51. doi: 10.1007/s12020-012-9842-5
- İsgüven P, Gündüz Y, Kılıç M. Effects of thyroid autoimmunity on early atherosclerosis in euthyroid girls with hashimoto's thyroiditis. *JCRPE J Clin Res Pediatr Endocrinol* (2016) 8(2):150–6. doi: 10.4274/jcrpe.2145
- Jorde R, Joakimsen O, Stensland E, Mathiesen EB. Lack of significant association between intima-media thickness in the carotid artery and serum TSH level. *Tromso Study Thyroid* (2008) 18(1):21–5. doi: 10.1089/thy.2007.0165
- Sakamaki K, Tsunekawa K, Ishiyama N, Kudo M, Ando K, Akuzawa M, et al. Association between high normal-range thyrotropin concentration and carotid intima-media thickness in euthyroid premenopausal, perimenopausal and postmenopausal women. *Maturitas* (2021) 144:29–36. doi: 10.1016/j.maturitas.2020.10.022
- Chang X, Zhang B, Lihua L, Feng Z. T3 inhibits the calcification of vascular smooth muscle cells and the potential mechanism. *Am J Transl Res* (2016) 8(11).
- Fan J, Yan P, Wang Y, Shen B, Ding F, Liu Y. Prevalence and clinical significance of low T3 syndrome in non-dialysis patients with chronic kidney disease. *Med Sci Monitor.* (2016) 22. doi: 10.12659/MSM.895953

38. Wenzek C, Boelen A, Westendorf AM, Engel DR, Moeller LC, Fuhrer D. The interplay of thyroid hormones and the immune system - where we stand and why we need to know about it. *Eur J Endocrinol* (2022) Vol. 168. doi: 10.1530/EJE-21-1171
39. Ohgami N, Miyazaki A, Sakai M, Kuniyasu A, Nakayama H, Horiuchi S. Advanced glycation end products (AGE) inhibit scavenger receptor class b type I-mediated reverse cholesterol transport: a new crossroad of AGE to cholesterol metabolism. *J Atheroscl Thromb Rev* (2003) Vol. 1. doi: 10.5551/jat.10.1
40. Ohgami N, Nagai R, Miyazaki A, Ikemoto M, Arai H, Horiuchi S, et al. Scavenger receptor class b type I-mediated reverse cholesterol transport is inhibited by advanced glycation end products. *J Biol Chem* (2001) 276(16):13348–55. doi: 10.1074/jbc.M011613200
41. Quade-Lyssy P, Kanarek AM, Baiersdorfer M, Postina R, Kojro E. Statins stimulate the production of a soluble form of the receptor for advanced glycation end products. *J Lipid Res* (2013) 54(11):3052–61. doi: 10.1194/jlr.M038968
42. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bilow I, Perrild H, Ovesen L, et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J Clin Endocrinol Metab* (2005) 90(7):4019–24. doi: 10.1210/jc.2004-2225
43. López M, Alvarez CV, Nogueiras R, Diéguez C. Energy balance regulation by thyroid hormones at central level. *Trends Mol Med* (2013) 19:418–27. doi: 10.1016/j.molmed.2013.04.004
44. Santini F, Pinchera A, Marsili A, Ceccarini G, Castagna MG, Valeriano R, et al. Lean body mass is a major determinant of levothyroxine dosage in the treatment of thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* (2005) 90(1):124–7. doi: 10.1210/jc.2004-1306
45. Le Moli R, Vella V, Tumino D, Pitticchio T, Naselli A, Belfiore A, et al. Inflammasome activation as a link between obesity and thyroid disorders: implications for an integrated clinical management. *Front Endocrinol Front Media S.A* (2022) Vol. 13. doi: 10.3389/fendo.2022.959276
46. Dhillon WS. Appetite regulation: an overview. *Thyroid* (2007) 17(5):433–45. doi: 10.1089/thy.2007.0018
47. Rabbani N, Thornalley PJ. Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease. *Vol 93 Kidney Int Elsevier B.V.*; (2018) p3803–13. doi: 10.1016/j.kint.2017.11.034
48. Fournet M, Bonté F, Desmoulière A. Glycation damage: a possible hub for major pathophysiological disorders and aging. *Vol 9 Aging Disease. Int Soc Aging Disease*; (2018) 9:880–900. doi: 10.14336/AD.2017.1121
49. Ito M, Kawasaki M, Danno H, Kohsaka K, Nakamura T, Hisakado M, et al. Serum thyroid hormone balance in levothyroxine monotherapy-treated patients with atrophic thyroid after radioiodine treatment for graves' disease. *Thyroid* (2019) 29(10):1364–70. doi: 10.1089/thy.2019.0135
50. Aversa T, Ruggeri RM, Corica D, Cristani MT, Pepe G, Vicchio TM, et al. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products are reduced in euthyroid children with newly diagnosed hashimoto's thyroiditis: a pilot study. *Horm Res Paediatr* (2021) 94(3):144–50. doi: 10.1159/000517341
51. Sarkadi Nagy E, Bakacs M, Illés É, Nagy B, Varga A, Kis O, et al. Országos táplálkozás és tápláltsági Állapot vizsgálat – OTÁP2014. II. a magyar lakosság energia- és makrotápanyag-bevitel. *Orv Hetil* (2017) 158(15):587–97. doi: 10.1556/650.2017.30718
52. Giannakou M, Saltiki K, Mantzou E, Loukari E, Philippou G, Terzidis K, et al. The effect of obesity and dietary habits on oxidative stress in hashimoto's thyroiditis. *Endocr Connect*. (2018) 7(9):990–7. doi: 10.1530/EC-18-0272
53. Tripathi AK, Chawla D, Bansal S, Banerjee BD, Madhu SV, Kalra OP. Association of RAGE gene polymorphism with vascular complications in Indian type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract* (2014) 103(3):474–81. doi: 10.1016/j.diabres.2013.12.004
54. Ates I, Altay M, Yilmaz FM, Topcuoglu C, Yilmaz N, Berker D, et al. The impact of levothyroxine sodium treatment on oxidative stress in hashimoto's thyroiditis. *Eur J Endocrinol* (2016) 174(6):727–34. doi: 10.1530/EJE-15-1061
55. Al-Naimi MS, Hussien NR, Rasheed HA, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI. Levothyroxine improves paraoxonase (PON-1) serum levels in patients with primary hypothyroidism: case-control study. *J Adv Pharm Technol Res* (2018) 9(3):80–6. doi: 10.4103/japtr.JAPTR_298_18
56. Tellechea ML. Meta-analytic evidence for increased low-grade systemic inflammation and oxidative stress in hypothyroid patients. can levothyroxine replacement therapy mitigate the burden? *Endocrine* (2021) 72(1):62–71. doi: 10.1007/s12020-020-02484-1
57. Mutlu S, Parlak A, Aydoğan U, Aydoğan A, Soykut B, Akay C, et al. The effect of levothyroxine replacement therapy on lipid profile and oxidative stress parameters in patients with subclinical hypothyroid. *Arch Pharm Res* (2021) 44(8):1–9. doi: 10.1007/s12272-013-0227-y
58. Kaçmaz M, Atmaca M, Arslan A, Demir H, Özbay MF. Oxidative stress in patients with thyroidectomy and thyroparathyroidectomy under replacement therapy. *Endocrine* (2015) 48(1):227–32. doi: 10.1007/s12020-014-0270-6
59. Neeraja K, Nanda N, Sahoo J, Pal GK, Nanda Nivedita C. Cardiovascular modulation and oxidative stress in hypothyroidism on maintenance therapy modulation cardiovasculaire et stress oxydatif dans l'hypothyroïdie sous traitement d'entretien. *LA TUNISIE MEDICALE* (2022) 100:27–32.
60. Jonklaas J, Bianco AC, Cappola AR, Celi FS, Fliers E, Heuer H, et al. Evidence-based use of Levothyroxine/Liothyronine combinations in treating hypothyroidism: a consensus document. *Thyroid* (2021) 31(2):156–82. doi: 10.1089/thy.2020.0720
61. Jonklaas J, Bianco AC, Bauer AJ, Burman KD, Cappola AR, Celi FS, et al. Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the American thyroid association task force on thyroid hormone replacement. *Thyroid* (2014) 24(12):1670–751. doi: 10.1089/thy.2014.0028

Article

Alpha-Lipoic Acid Treatment Reduces the Levels of Advanced End Glycation Products in Type 2 Diabetes Patients with Neuropathy

Sára Csiha^{1,2,3}, Marcell Hernyák^{3,4}, Ágnes Molnár⁴, Hajnalka Lőrincz⁴, Mónika Katkó^{1,3}, György Paragh⁴, Miklós Bodor^{1,2}, Mariann Harangi^{3,4}, Ferenc Sztanek^{4,*} and Eszter Berta^{2,4}

- ¹ Division of Endocrinology, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, 4032 Debrecen, Hungary
- ² Department of Clinical Basics, Faculty of Pharmacy, University of Debrecen, 4032 Debrecen, Hungary; berta.eszter@med.unideb.hu
- ³ Doctoral School of Health Sciences, University of Debrecen, 4032 Debrecen, Hungary
- ⁴ Division of Metabolism, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, 4032 Debrecen, Hungary
- * Correspondence: sztanek@belklinika.com

Abstract: Background/Objectives: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its macro- and microvascular complications are major health concerns with multiple factors, like advanced end glycation products (AGEs), in the background. AGEs induce long-lasting functional modification of the proteins and collagen in the vascular wall and nerve tissue. We investigated the effect of alpha-lipoic acid (ALA) treatment on AGEs, soluble AGE receptor (sRAGE), the AGE/sRAGE ratio, and the parameters of endothelial dysfunction and their correlations. **Methods:** In our 6-month intervention study, 54 T2DM patients with neuropathy treated according to the actual therapeutic guidelines with unchanged oral antidiabetic drugs were included and treated by daily oral administration of 600 mg ALA. A total of 24 gender and age-matched T2DM patients without neuropathy served as controls. **Results:** In our work, we first demonstrated the attenuating effect of alpha lipoic acid therapy on AGEs in humans (11.89 (9.44–12.88) to 10.95 (9.81–12.82) AU/ μ g ($p = 0.017$)). sRAGE levels or the AGEs/sRAGE ratio were not affected by ALA treatment or by the presence of neuropathy. We found a correlation between the changes of AGEs and the improvement of current perception threshold and progranulin levels, and an inverse correlation with the change of asymmetric dimethylarginine. **Conclusions:** According to our results, ALA decreases AGEs, which may contribute to the clinically well-known beneficial effect in diabetic neuropathy and improvement of endothelial function.

Keywords: advanced glycation end products; AGEs; sRAGE; diabetic neuropathy; alpha lipoic acid; atherosclerosis; oxidative stress; ADMA; progranulin



Academic Editor: Anand Rotte

Received: 14 January 2025

Revised: 31 January 2025

Accepted: 6 February 2025

Published: 11 February 2025

Citation: Csiha, S.; Hernyák, M.; Molnár, Á.; Lőrincz, H.; Katkó, M.; Paragh, G.; Bodor, M.; Harangi, M.; Sztanek, F.; Berta, E. Alpha-Lipoic Acid Treatment Reduces the Levels of Advanced End Glycation Products in Type 2 Diabetes Patients with Neuropathy. *Biomedicines* **2025**, *13*, 438. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13020438>

Copyright: © 2025 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

The incidence and the prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) are increasing due to sedentary lifestyles and unhealthy eating habits. According to the NCD Risk Factor Collaboration, in 2022, an estimated 828 million adults had diabetes worldwide [1]. Based on the World Health Organization's opinion, diabetes will be the seventh leading cause of death by 2030 [2,3]. Diabetes mellitus is a complex chronic disease associated with metabolic disturbances and numerous complications. The characteristic hyperglycemia in T2DM is caused by insulin resistance and β -cell damage. Persistent elevated blood glucose

contributes to the development of micro- and macrovascular complications [4], which are leading causes of morbidity and mortality [5,6]. Neuropathy, which is estimated to develop in half of the T2DM patients, reduces quality of life and facilitates the development of disability, contributing significantly to healthcare costs [7]. Among its four main types (autonomic neuropathy, proximal neuropathy, distal peripheral neuropathy, and focal neuropathy), distal symmetric polyneuropathy (DSPN) is the most common form [8]. The pathophysiology of diabetes complications is complex. However, it is well established that advanced glycation end products (AGEs) play a significant role in the development and progression of neuropathy, nephropathy, retinopathy, and atherosclerosis. The soluble receptor of advanced glycation end products (sRAGE) is a circulating form of receptor of advanced glycation end products (RAGE) without trans-membrane domain, thereby lacking involvement in the AGEs pathogenesis effect. On the contrary, sRAGE facilitates the degradation and removal of AGEs. The AGE/sRAGE ratio seems to be a promising marker of disease activity in many conditions [9,10].

Alpha lipoic acid (ALA, 1,2-dithiolane-3-pentanoic acid) is a short-chain fatty acid with various pharmacological benefits, such as anti-inflammatory, antidiabetic, antioxidant, anticancer, and neuroprotective effects. Numerous *in vitro* and *in vivo* animal studies have shown that ALA treatment can effectively reduce AGE levels, thereby reducing oxidative stress, which ultimately has a beneficial effect on the pathogenesis of neuropathy [11]. ALA is an effective and well-tolerated treatment option in diabetic neuropathy, resulting in a significant improvement of clinical symptoms and signs [12], but the effect of ALA treatment on AGEs has not been investigated in human studies. Preliminary experiments proved that ALA markedly suppressed AGE-induced activation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in cultured vascular endothelial cells [13] and retinal endothelial cells [14]. Another study observed that AGE-induced endothelial expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and monocyte attachment to the endothelium were reduced by ALA treatment [15]. Furthermore, ALA prevented the up-regulation of AGE-induced nitric oxide synthase (iNOS) expression and nitric oxide (NO) production in murine microglial cells [16]. ALA can also reduce the AGE-mediated formation of lipid peroxidation products in human neuronal cells [17,18]. In addition, topical ALA nanoparticles significantly reduced RAGE expression and enhanced skin wound healing in streptozotocin-induced damage in diabetic mice [19].

Our research group has previously examined the effect of ALA treatment in T2DM patients with neuropathy on asymmetric dimethylarginine (ADMA) and progranulin (PGRN), and found a decrease of ADMA, which is a known risk factor of atherosclerosis through the inhibition of nitric oxide synthase, and an increase of progranulin, which exerts a role in survival, maintenance, and function of neurons and also protects the vascular endothelium against inflammatory reactions and atherosclerosis [20–22]. Reducing AGEs seems to be a promising therapeutical target in various diseases and is under extensive research [23]. In our present study, we aimed to evaluate the assumed beneficial effect of ALA on AGEs in T2DM-caused neuropathy to prove the decremental effect of ALA on AGEs in humans and, therefore, confirm a link between the advanced glycation end pathway in the background and ALA in the treatment of DSPN.

We also evaluated the possible association between AGEs, sRAGE, and the vascular parameters of atherosclerosis, together with the effect of ALA treatment on the investigated parameters. We hypothesized that ALA treatment decreases the serum levels of oxidative stress markers and AGEs. Furthermore, the change in serum AGE levels correlates with the severity of neuropathy characterized by the current perception threshold (CPT).

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

In our present study, we enrolled fifty-four T2DM patients with neuropathy (22 men and 32 women; mean age: 64.15 ± 8.66 years; mean known diabetes duration at the initiation of our study: 12.4 years [interquartile range: 4.1–14.7 years]; duration of diabetic neuropathy: 3.2 ± 1.4 years), and twenty-four gender and age-matched T2DM subjects without neuropathy (duration of diabetes was 12.1 years [interquartile range: 4.0–14.6 years]) as a control group. All participants were recruited from the Diabetic Neuropathy Center of Debrecen, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Hungary, and provided written informed consent. The study protocol was approved by the Regional and Institutional Ethics Committee, University of Debrecen, Clinical Center (UDCC REC/IEC; 4775-2017) and by the Medical Research Council of Hungary, National Scientific and Ethical Committee (5287-2/2019/EÜIG), and the study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki. This study was not registered in the clinical trial registry, as ALA is widely used in neuropathy treatment. Patients in the intervention group were administered 600 mg ALA (WÖRWAG Pharma GmbH, Böblingen, Germany) orally daily for 6 months. Neither subjects nor controls received treatment for neuropathy before the study. All subjects and controls were treated according to the therapeutic guidelines [24], controlled appropriately with oral antidiabetic agents, and unchanged during the follow-up (metformin, sulfonylurea, and/or dipeptidyl-peptidase-4 inhibitors). In our study, lifestyle counseling was applied due to the actual therapeutic guidelines in both groups. Patients receiving insulin therapy, sodium/glucose cotransporter-2 inhibitors, or glucagon-like peptide-1 receptor agonists were not enrolled. We also excluded patients with a history of diabetic nephropathy (eGFR < 60 mL/min/1.73 m², persistent albuminuria), type 1 diabetes, or diabetic proliferative retinopathy. Patients with known liver disease, autoimmune disease, and hematological and neurological abnormalities that can worsen or cause peripheral neuropathy were excluded. Patients with prior cardiovascular events, myocardial infarction or established coronary artery disease, stroke and peripheral arterial disease, severe congestive heart failure (NYHA class II–IV), subjects with alcoholism or established malignancy, pregnant women, and current smokers were also excluded.

2.2. Sample Collection and Routine Laboratory Measurements

Venous blood samples were collected after overnight fasting from the ALA-treated patients before the beginning of ALA treatment and 6 months later, and also from T2DM patients without neuropathy according to the local clinical protocol. Plasma and sera were separated by centrifugation at $2200 \times g$ for 10 min, aliquoted, and stored in 200 µL aliquots at -80 °C until later measurements.

Routine laboratory analyses (high-density lipoprotein-cholesterol—HDL-C, low-density lipoprotein cholesterol—LDL-C, triglyceride, total cholesterol, glucose, haemoglobin A1c-HbA1c, high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), uric acid, and creatinine) were carried out from fresh sera by Cobas c600 autoanalyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) at the Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary. Parameters were determined according to the manufacturer's recommendation. Non-HDL-C was calculated as the total cholesterol minus HDL-C.

2.3. Measurement of Anthropometric Parameters

Body mass index (BMI) was calculated by dividing an adult's weight in kilograms by their height in meters squared, and abdominal circumference was measured in the horizontal plane midway between the lowest rib and the iliac crest.

2.4. Determination of Serum AGE and sRAGE

Serum AGE levels were determined by autofluorescence on a multi-mode microplate reader (Biotek Synergy H1, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) and expressed as AU/ μ g protein as described previously by Münch et al. [25]. The inter-assay coefficient of variation was 8.9% (triplicates on the same day, $n = 35$). Day-to-day variation (5 days) was 10.5% ($n = 35$). sRAGE levels were measured by the ELISA method (Human sRAGE Quantikine ELISA kit, R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, UK) according to the manufacturer's instruction. Sera were used in 3-fold dilution, and sRAGE was expressed as pg/mL. The intra-assay coefficients of variability ranged from 2.6 to 5.3 CV%, and the inter-assay precision ranged from 5.5 to 8.8 CV%. The AGE/sRAGE ratio was also calculated.

2.5. PGRN, ADMA, sICAM-1, sVCAM-1, TNF α , oxLDL, and VEGF Measurement

Serum levels of progranulin were measured by a competitive ELISA kit (BioVendor, Brno, Czech Republic) according to the manufacturer's instructions, with intra-assay coefficients of variability (CVs) ranging from 3.4% to 4.4% and inter-assay CVs ranging from 6.4% to 7.9%. Values were expressed as ng/mL.

Serum ADMA concentrations were determined by the commercially available competitive ELISA method (ADMA-ELISA; DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Germany) according to the instructions of the manufacturer, with intra-assay coefficients of variation (CVs) ranging from 5.7% to 6.4% and inter-assay CVs ranging from 8.3% to 10.3%. The values were expressed as μ mol/L.

To determine the serum level of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and sVCAM-1, we used sandwich ELISA kits (Human soluble ICAM-1 and VCAM-1 ELISA, R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, UK). The ELISA method was performed according to the manufacturer's recommendation. The intra-assay CVs and inter-assay CVs were in the range of 3.7–5.2% and 4.4–6.7% (sICAM-1) and 2.3–3.6% and 5.5–7.8% (sVCAM-1), respectively. The values were expressed as ng/mL.

Serum concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF α) was detected using the TNF α ELISA kit (R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, UK) according to the manufacturer's instructions. The intra-assay CVs ranged from 1.9% to 2.2%, and the inter-assay CVs ranged from 6.2% to 6.7%. Values were expressed as pg/mL.

The oxidized LDL (oxLDL) levels of the serum were measured by the sandwich ELISA method (Mercodia AB, Uppsala, Sweden). The coefficient variations of the intra-assay were from 5.5% to 7.3%, and the inter-assay variations were from 4% to 6.2. The sensitivity was 1 mU/L.

Serum concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF) was detected using the ELISA kit (R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, UK) according to the manufacturer's instructions. The intra-assay CVs ranged from 3.5% to 6.5%, and the inter-assay CVs ranged from 6.7% to 8.5%. Values were expressed as pg/mL.

2.6. Assay for Nitrite Concentration

The serum level of nitrite was determined as an indicator of NO production according to the Griess reaction, as described previously. Optical density was detected spectrophotometrically at 550 nm. The concentration of nitrite was determined using sodium nitrite as a standard (10–100 μ mol/L). The values were expressed as μ mol/L.

2.7. Assessment of Autonomic and Peripheral Nerve Function

Peripheral neuropathy was assessed with the application of the Douleur Neuropathique en 4 Questions (DN4) [26] and Neuropathy Total Symptom Score-6 (NTSS-6) [27] questionnaires, vibration perception threshold, and quantitative sensory testing. The ex-

clusion of patients with retinopathy was ensured by an ophthalmologist through in vivo corneal confocal microscopy. We assessed peripheral sensory nerve function using a Neurometer® (Neurotron Inc., Baltimore, MD, USA) and determined CPT, while autonomic function was assessed using Ewing's five standard cardiovascular reflex tests: changes in heart rate during deep inspiration and expiration heart rate responses to standing up (30/15 ratio), the Valsalva maneuver, systolic blood pressure fluctuation to standing up, and changes in diastolic pressure during sustained handgrip. The severity of autonomic neuropathy was described as the composite autonomic score derived from the results of the tests (normal = 0, borderline = 1, and abnormal = 2), ranging from 0 to 10, with a score of 0–1 classified as normal, 2–3 classified as mild, 4–6 classified as moderate, and 7–10 classified as severe autonomic neuropathy. The applied methodologies have been described in the literature and in our previous work in detail [20,28–30].

2.8. Statistical Methods

Statistical analysis was performed by STATISTICA® 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA), and graphs were made using GraphPad Prism Version 6.01 (GraphPad software, San Diego, CA, USA). The normality of distribution was checked by the Kolmogorov–Smirnov test, and data were expressed as mean \pm standard deviation or median (interquartile ranges). Differences in anthropometric and laboratory parameters between controls and patients with neuropathy prior to ALA-treatment were analyzed by unpaired *t*-test in the case of normal distribution (parametric tests); for non-normal distribution, differences were analyzed with the Mann–Whitney *U*-test (non-parametric tests). In the neuropathy group, prior and after ALA treatment, we determined differences by the paired *t*-test (for data with normal distributions) or the Wilcoxon matched pairs test (for data with non-normal distributions). Sample size calculation for AGEs in neuropathic patients was performed using the Sample Size Calculator of Department of Statistics and Operations Research, University of Vienna (version 1.062). The required sample size for a two-sample Wilcoxon Mann–Whitney *U*-test was minimum $n = 8$ with 80% (0.8) statistical power. The actual statistical power was 99.97% (0.9997), $P(X > Y) = 0.9303$, two-sided $\alpha = 0.05$, and $n = 54$. The Pearson correlation coefficient was used to investigate the connections between variables. The null hypothesis was rejected for two-sided values of $p < 0.05$.

3. Results

Table 1 shows the clinical characteristics and laboratory parameters of the patients before and after the ALA treatment, as well as the diabetic control subjects. We did not observe significant differences in glucose, hemoglobin A1c (HbA1C), creatinine, uric acid, hsCRP, lipid parameters, sVCAM-1, sICAM-1, VEGF, and oxLDL regarding patients with and without neuropathy, or in the neuropathy group before and after ALA treatment. We found ADMA and TNF α levels significantly higher in patients with neuropathy compared to controls. CPT and composite autonomic score (CAS) values were also significantly higher in the examined group compared to the control cohort. As a result of 6 months of daily oral ALA treatment, we found that the plasma level of TNF α and ADMA decreased significantly. The levels of NO and PGRN significantly increased. CPT and CAS significantly decreased after ALA treatment.

DN4 is a clinical score suitable to screen and detect the severity of neuropathic pain. A total score of 10 consists of sensory descriptor and examiner elements (description of pain, associated paresthesia/dysesthesia, sensory deficits, evoked pain, sensitivity to touch and pricking, thermal sensory examination, and tactile and pressure allodynia), and the cut-off value for the diagnosis of neuropathic pain is a total score of 4/10 [31]. NTSS-6 also

incorporates frequency as a dimension. The scores can vary from 0 to 21.96, and clinically significant symptoms are defined as an NTSS-6 total score of >6 points [27]. We detected significant improvement in the scores from the DN4 questionnaire and NTSS-6 after ALA treatment (Table 1).

Table 1. Main anthropometric and laboratory parameters of enrolled participants.

	Diabetic Patients with Neuropathy Before ALA	Diabetic Patients with Neuropathy After ALA	Control Diabetic Patients Without Complications
Number of patients (male/female)	54 (22M/32F)		24 (11M/13F)
Age of patients (years)	64.2 ± 8.7		63.6 ± 5.1
Diabetes duration (years)	12.4 ± 2.3		11.3 ± 3.1
Current perception threshold (by Neurometer, mA)	0.473 ± 0.171	0.409 ± 0.154 *	0.375 ± 0.124 **
Composite autonomic score (CAS)	2.67 ± 1.05	1.56 ± 1.24 *	1.13 ± 0.77 **
NTSS-6	8.16 (6.99–15.97)	5.66 (2.99–12.33) *	NA
DN4	3.3 ± 1.4	2.6 ± 1.4 *	NA
BMI (kg/m ²)	30.02 ± 3.29	29.95 ± 3.73	29.50 ± 2.86
Abdominal circumference (cm)	102.3 ± 12.7	102.4 ± 13.2	101.0 ± 9.8
Glucose (mmol/L)	7.34 ± 2.18	7.51 ± 2.60	7.44 ± 1.36
HbA1C (%)	6.94 ± 0.93	6.84 ± 1.04	6.78 ± 0.75
Creatinine (μmol/L)	72.61 ± 16.97	74.75 ± 14.65	75.17 ± 20.97
Uric acid (μmol/L)	296.51 ± 76.44	304.33 ± 77.69	316.13 ± 57.37
Total cholesterol (mmol/L)	4.84 ± 1.16	4.76 ± 1.24	4.90 ± 1.17
HDL-C (mmol/L)	1.38 ± 0.37	1.38 ± 0.44	1.26 ± 0.33
LDL-C (mmol/L)	2.98 ± 0.97	2.87 ± 1.16	2.84 ± 1.07
Non-HDL-C (mmol/L)	3.47 ± 1.08	3.38 ± 1.19	3.63 ± 1.19
hsCRP (mg/L)	2.1 (0.8–3.36)	2.8 (0.75–5.15)	1.25 (0.9–2.25)
sVCAM-1 (ng/mL)	820 (660–992)	836.6 (674.3–929.6)	729.2 (653.8–847)
sICAM-1 (ng/mL)	210.8 (184.4–247.3)	216.8 (194.4–253.1)	213.3 (189.4–239.4)
VEGF (ng/mL)	62.5 (44.9–93.0)	72.6 (38.6–96.0)	18.6 (15.2–96.0)
Oxidized LDL (U/L)	63.6 (507–91.1)	63.36 (45.59–89.77)	70.76 (59.18–99.46)
TNFα (pg/mL)	1.18 ± 0.36	1.05 ± 0.50 *	0.75 ± 0.29 **
ADMA (μmol/L)	0.61 ± 0.11	0.53 ± 0.11 *	0.56 ± 0.10 **
NO (μmol/L)	16.8 ± 11.1	21.5 ± 9.0 *	19.1 ± 10.9
PGRN (ng/mL)	34.89 ± 7.13	36.23 ± 7.93 *	33.13 ± 7.35

Abbreviations: ADMA, asymmetric dimethylarginine; ALA, alpha-lipoic acid; BMI, body mass index; DN4, Douleur Neuropathique en 4 Questions; HbA1C, Hemoglobin A1c; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; hsCRP, high-sensitivity C-reactive protein; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; NA, not available; NO, nitrogen monoxide; NTSS-6, neuropathy total symptom score-6; PGRN, progranulin; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; TNFα, tumor necrosis factor alpha; VEGF, vascular endothelial growth factor. Values are presented as mean ± SD or median (interquartile ranges). * indicates $p < 0.05$ between neuropathic patients before and after ALA treatment (by Student's paired test or Wilcoxon matched paired test). ** indicates $p < 0.05$ between baseline data of neuropathic patients compared to diabetic controls (by Student's unpaired test or Mann–Whitney U -test).

Baseline AGE plasma concentration in T2DM patients with neuropathy was 11.89 (9.44–12.88) AU/μg protein, higher than in T2DM controls without neuropathy [9.80 (8.56–10.97) AU/μg protein; $p = 0.016$]. After 6 months of ALA treatment, AGEs significantly decreased to 10.95 (9.81–12.82) AU/μg ($p = 0.017$) (Figure 1A). sRAGE levels did not change significantly in the intervention group with neuropathy during ALA treatment (814.20 (651.70–1094.10) and 806.55 (637.20–1074.6) pg/mL, respectively ($p = 0.660$)). Regarding the sRAGE levels of neuropathic patients compared to the control group's [685.60 (596.70–978.90) pg/mL], we could not detect a significant difference ($p = 0.438$) (Figure 1B). The AGE/sRAGE ratio was similar in T2DM patients with [2.87 (2.42–3.54) AU/pg] and without neuropathy [2.70 (2.11–3.27) AU/pg]. The AGE/sRAGE ratio did not change significantly during ALA treatment [2.68 (2.12–3.18) AU/pg] (Figure 1C).

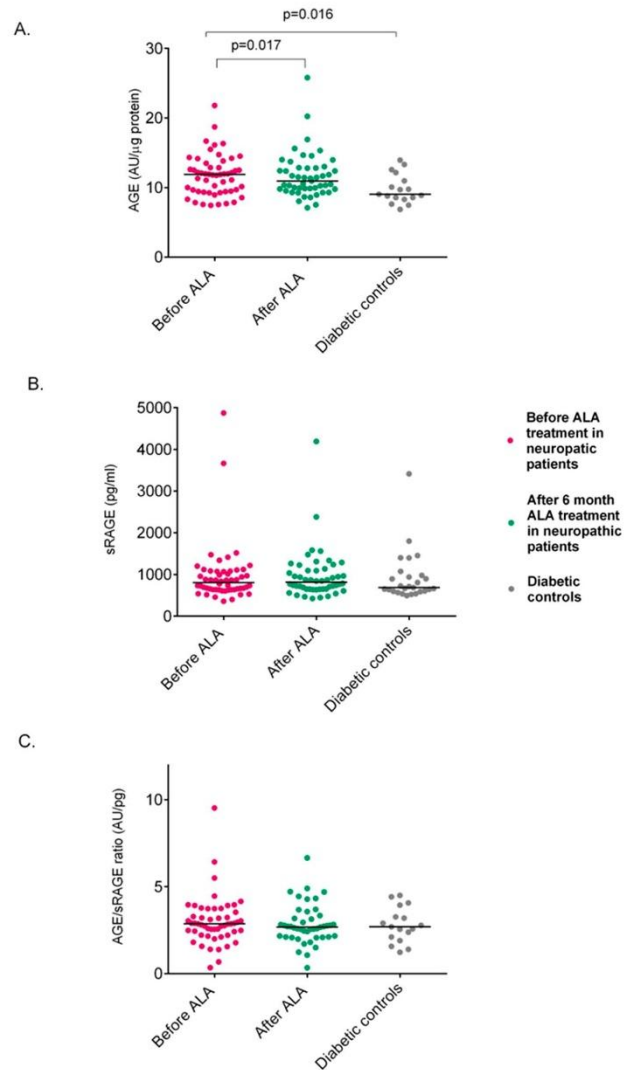


Figure 1. Plasma concentrations of AGEs (A), sRAGE (B), and AGE/sRAGE ratio (C) in patients with type 2 diabetes with neuropathy before and after six months of 600 mg/day alpha-lipoic acid (ALA) treatment and in diabetic controls without neuropathy. Solid lines represent medians. Magenta dots represent data from neuropathic patients before ALA treatment, green dots represent data from neuropathic patients after six months of ALA treatment, and grey dots represent data of age-, gender-, and BMI-matched diabetic controls. p -values were calculated by the Wilcoxon matched paired test in neuropathic patients before and after ALA, and by the Mann–Whitney U -test between neuropathic patients and diabetic controls. Abbreviations: ALA, alpha-lipoic acid; AGE, advanced glycation end product; AU, autofluorescence; sRAGE, soluble receptor of advanced glycation end products.

Correlations of AGEs, sRAGE levels, and the AGE/sRAGE ratio with vascular parameters of neuropathic patients before and after ALA treatment are shown in Table 2. Regarding AGEs, a negative correlation was observed between AGEs and PGRN before ALA treatment. AGEs correlated with sVCAM-1 and negatively with oxLDL after ALA treatment. We found correlations between VEGF, NO, and sRAGE before ALA, while sVCAM-1, sICAM-1, VEGF, and NO correlated with sRAGE after ALA treatment. Regarding the AGE/sRAGE ratio, we detected negative correlations with sVCAM-1 and VEGF before ALA treatment.

Table 2. Correlations of AGE and sRAGE with vascular markers in neuropathic patients before and after ALA treatment.

	AGE (AU/ μ g Protein)			
	Before ALA		After ALA	
	r	p	r	p
sVCAM-1 (ng/mL)	−0.25	0.068	0.38	0.007
sICAM-1 (ng/mL)	−0.23	0.094	0.21	0.15
VEGF (ng/mL)	−0.21	0.132	−0.02	0.0872
Oxidized LDL (U/L)	−0.14	0.326	−0.28	0.049
TNF α (pg/mL)	−0.10	0.469	0.12	0.4
ADMA (μ mol/L)	0.05	0.704	0.23	0.112
NO (μ mol/L)	0.02	0.9	0.31	0.093
PGRN (ng/mL)	−0.31	0.022	0.09	0.56
	sRAGE (pg/mL)			
	Before ALA		After ALA	
	r	p	r	p
sVCAM-1 (ng/mL)	0.18	0.196	0.28	0.045
sICAM-1 (ng/mL)	0.20	0.154	0.35	0.013
VEGF (ng/mL)	0.35	0.009	0.32	0.022
Oxidized LDL (U/L)	−0.06	0.66	−0.20	0.155
TNF α (pg/mL)	0.20	0.16	−0.20	0.17
ADMA (μ mol/L)	0.24	0.082	0.26	0.063
NO (μ mol/L)	0.51	0.002	0.33	0.05
PGRN (ng/mL)	0.16	0.18	0.23	0.104
	AGE/sRAGE Ratio (AU/pg)			
	Before ALA		After ALA	
	r	p	r	p
sVCAM-1 (ng/mL)	−0.29	0.035	−0.08	0.62
sICAM-1 (ng/mL)	−0.25	0.073	−0.13	0.397
VEGF (ng/mL)	−0.38	0.005	−0.28	0.062
Oxidized LDL (U/L)	0.03	0.834	0.08	0.585
TNF α (pg/mL)	−0.17	0.238	−0.16	0.301
ADMA (μ mol/L)	−0.21	0.139	−0.06	0.715
NO (μ mol/L)	−0.07	0.71	−0.07	0.707
PGRN (ng/mL)	−0.26	0.059	−0.01	0.928

Abbreviations: ADMA, asymmetric dimethylarginine; ALA, alpha-lipoic acid; LDL, low-density lipoprotein; NO, nitrogen monoxide; PGRN, progranulin; sICAM-1, soluble intercellular adhesion molecule-1; sVCAM-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1; TNF α , tumor necrosis factor alpha; VEGF, vascular endothelial growth factor. Variables with non-normal distribution were logarithmized before correlation analyses.

We did not find correlations between AGE and sRAGE and anthropometric and routine laboratory parameters in neuropathic patients before and after ALA treatment. The results are detailed in Supplementary Table S1.

The decrease of CPT values and the change of ADMA levels were negatively correlated with the change of AGE levels (Figure 2A,B). The increase of PGRN positively correlated with the change of AGEs (Figure 2C).

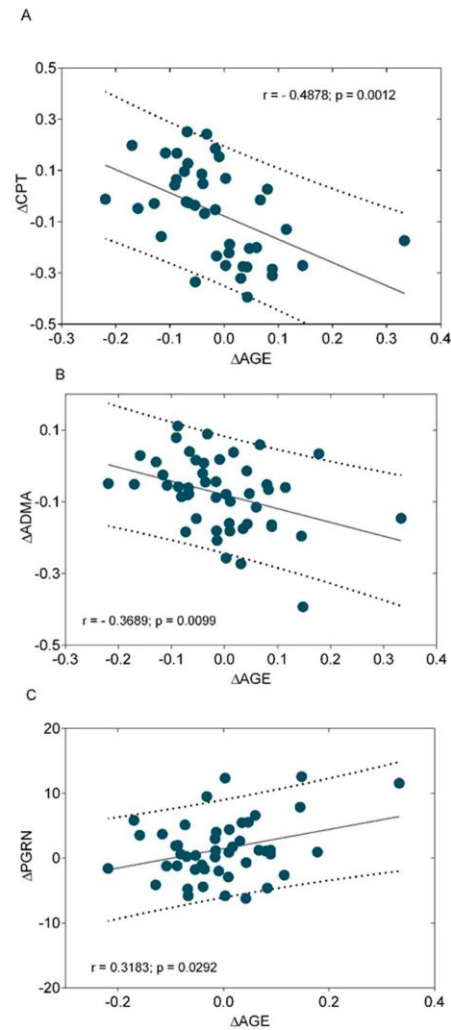


Figure 2. Correlations between the change of current perception threshold (Δ CPT) (A), the change of asymmetric dimethyl-arginine (Δ ADMA) (B), the change of progranulin (Δ PGRN) (C), and the change of plasma advanced end glycation product concentration (Δ AGE) after 6 months of alpha-lipoic acid treatment (600 mg daily on the oral route) in patients with type 2 diabetes mellitus with established neuropathy.

4. Discussion

4.1. Mechanistic Insights

Neuropathy is estimated to appear in half of the patients treated for diabetes in their lifetime, deteriorating their quality of life and increasing morbidity. A long-lasting hyperglycemic state leads to the initiation and propagation of non-enzymatic glycation of nucleic acids, proteins, and lipids in a classical Maillard reaction when reducing sugars

react non-enzymatically with an amino group of these macromolecules through a series of reactions forming a Schiff base, followed by an Amadori rearrangement and subsequent oxidative modifications (glycoxidation) to produce AGEs [32]. Indeed, glycemic control is fundamental in the prevention of neuropathy but ineffective in reducing neuropathic pain [33]. Preliminary data suggests that lifestyle intervention resulting in weight loss and increased physical activity might be helpful in managing pain in peripheral neuropathy [34], while lifestyle intervention can also reduce AGEs [35]. Patients with T2DM and components of metabolic syndrome are twice as likely to develop neuropathy compared to patients with T2DM without central obesity, hypertension, insulin resistance, or hyperlipidemia [36], and metabolic syndrome itself is associated with small fiber neuropathy [37].

AGEs have several membrane-bound cell surface receptors, which activate various signal transduction pathways. Some receptors, such as the advanced glycation product receptor 1 (AGER1), help to eliminate AGEs from the body, while others, like receptor of advanced glycation end products (RAGE) induce the activation of the nuclear factor kappa B (NF- κ B), mitogen-activated protein kinase (MAPK) and the phosphoinositide-3 kinase (PI-3K) pathways [38], and consequently increase the receptor expression and release of inflammatory cytokines, lead to formation of reactive oxygen species (ROS), activate NADPH oxidase, and induce oxidative stress. The increased oxidative stress itself can also lead to the formation of endogenous AGEs [39], resulting in a self-stimulating process that plays a key role in the appearance of chronic diseases and their complications. AGEs can form cross-links with proteins, thereby altering their function [38,40,41]. Due to cross-links and the irreversible nature of complexes compounding by glucose and tissue protein, AGEs are present for a long time in the tissues of diabetic patients even after glycemic balance is restored, contributing to the so-called “hyperglycemia memory” [10]. These processes induce neuronal damage and apoptosis, thus explaining the role of AGEs in the development of diabetic neuropathy [42].

In the study of Papachristou et al., skin AGEs measured by skin autofluorescence correlated with the presence and severity of DSPN [43]. AGEs might act as early predictors of not only neuropathy, but also macrovascular complications, even in type 1 diabetes [44]. Besides their effect on complications, the accumulation of AGEs also deteriorates insulin sensitivity in adipose tissue and skeletal muscle. The natural route of decrementing AGEs is low ingestion of AGEs, while physical activity acts beneficially through sRAGE increment [45–47]. On the other hand, obesity decreases sRAGE, which might contribute to cardiovascular risk [9,48]. Our result regarding similar sRAGE levels in T2DM patients with and without neuropathy is different from earlier data reported in the literature, as Aubert et al. found sRAGE to be positively associated with the presence of peripheral neuropathy [49]. The use of AGEs and the determination of sRAGE generation might serve as potential biomarkers of disease risk and adverse outcomes [50]. Further studies are necessary to clarify these processes.

4.2. Clinical Implications

Diabetic neuropathy contributes to healthcare burden cost substantially, not only through medical costs and foot ulcer treatment but also indirectly due to the decline in quality of life and productivity, and even fractures due to neuropathy-caused imbalance [33].

Diabetic neuropathy treatment is largely focused on glycemic control and pain management. After lifestyle alteration, including diet and regular exercise, a significant improvement in the quality of life can be achieved [34]. Regarding the pathogenesis of the disease, it is important to reduce the level of oxidative stress and the formation of AGEs.

Lower ingestion of dietary AGEs, consuming low-processed and antioxidant-rich food, can also have a beneficial effect on the AGE-RAGE axis [51]. In our study, we demonstrated first the AGE-reducing effect of ALA in T2DM patients, which has well-known antioxidant properties.

In a previous study of our group, AGEs were 10.7 AU/ μ g (mean), while sRAGE was 923 pg/mL (mean) among non-diabetic patients with Hashimoto-thyroiditis, and they were 11.4 AU/ μ g and 755 pg/mL, respectively, in healthy subjects, which is comparable to our present results of diabetic subjects. Furthermore, in the earlier study, patients treated for hypothyroidism by levothyroxine, which seems to reduce oxidative stress, had lower AGEs than the healthy controls in that study. Furthermore, Quade-Lyssy et al. demonstrated that statins increase sRAGE levels, which might explain the anti-inflammatory effect attributable to statins [52]. In the present study, our patients were taking metformin and statin according to the guidelines, so their AGEs and sRAGE, and thereby their AGEs/sRAGE ratio, might have already been ameliorated by the effect of the abovementioned medicines, similar to the beneficial effect observed among levothyroxine-treated non-diabetic Hashimoto patients [41]. It also seems plausible that the beneficial effect of different pharmacological treatments, and even lifestyle changes like the decrement of dietary AGEs on oxidative stress, might be advantageous in an additive synergetic way. However, the effect of ALA alone on AGEs in the diabetic population is challenging to evaluate, as antihyperglycemic treatment and proper correction of lipid parameters are obligatory early steps of treatment to avoid the development and progression of complications. With enhanced expression of RAGE, low sRAGE levels are described in diabetes, which might cause a change in the redox status in diabetic subjects [53]. In our study, we could not find a difference between subject groups regarding sRAGE.

Concerning vascular parameters, AGE-induced endothelial expression of VCAM-1 and monocyte attachment to the endothelium were reduced by ALA treatment in an in vitro study [15]. VCAM-1 and ICAM-1 mediate inflammation and promote leukocyte migration during inflammation, playing a crucial role in atherosclerosis as they facilitate the occurrence of cardiac events [54]. In our study, sVCAM-1 was similar among patients with and without neuropathy, and we could not detect a change in sVCAM-1 levels before and after ALA treatment. Because of the favorable effect of ALA treatment on adhesion molecule expression in vascular endothelium [55], we expected lower levels of inflammatory markers after the 6-month ALA treatment compared to baseline. Although a significant reduction was observed in this study regarding TNF α levels, the follow-up period is likely too short to observe changes in sVCAM1, sICAM1, and VEGF concentrations. However, there was a correlation between AGE and sVCAM-1 and a moderate non-significant correlation between sRAGE and sVCAM-1 after ALA treatment, while the AGE/sRAGE ratio correlated negatively with sVCAM-1 before ALA treatment in patients with neuropathy. In our study, sVCAM-1 seems to have a stronger correlation with AGEs when the beneficial effects of ALA treatment are present. In our former study, there was a negative correlation between sRAGE and sVCAM-1 described in patients with myocardial infarction [56]. In a recently published work by Sabbatinelli et al., sRAGE was associated with major adverse cardiovascular events in T2DM [57]. AGE-RAGE interaction increases VCAM-1, and GLP-1 inhibits AGE-induced up-regulation of VCAM-1 mRNA levels in endothelial cells by suppressing RAGE expression [58,59]. In our study, we could detect a correlation between sRAGE and sVCAM-1 or between sICAM-1 and VEGF, an inducer of vascular and blood-nerve barrier permeability. In in vitro models, AGEs upregulate and sRAGE downregulate the expression of VEGF [60,61]. In contrast, among our patient groups, we could not detect an association between VEGF and AGEs, but there was a correlation between VEGF and sRAGE, while AGE/sRAGE correlated negatively with VEGF in the neuropathy group before ALA, which seems to strengthen the hypothesis that among T2DM patients, sRAGE

might be a risk factor of endothelial dysfunction and consequent vascular events. According to the *in vitro* findings of Dedert et al., PGRN can help in the clearance of AGEs from cells [62], which is somewhat supported by our findings regarding the correlation between the changes of progranulin and AGEs. With ALA increasing PGRN, the clearance of AGEs is promoted, which results in lower levels of AGEs in 6 months in human subjects, according to our work. It seems plausible that sRAGE might have been higher in the first months of treatment, but this hypothesis needs confirmation.

NO exerts a vasoprotective effect on the vascular wall, and this beneficial effect contributes to the improvement of endothelial function in ACE inhibitor and statin-treated patients [63]. In our study, we found elevated NO levels in neuropathy patients after ALA treatment. We found a correlation between NO and sRAGE in the intervention group before ALA treatment. Besides that, progranulin increased and ADMA decreased after ALA treatment; the beneficial change of both correlated with the change of AGEs. AGEs were found to decrease the expression of the endothelial nitric oxide synthase in human coronary artery endothelial cells in the work of Ren et al. [64], while ADMA is an endogenous inhibitor of nitric oxide production. Progranulin, a new adipokine at the crossroads of metabolic syndrome, diabetes, dyslipidemia, and hypertension, enhances endothelial nitric oxide synthase phosphorylation [65]. All the above-mentioned data support our findings and seem to suggest that ALA exerts a complex effect on nitric oxide synthase through diversified but unidirectional routes.

The detailed effect of AGEs on chronic inflammation and atherosclerosis needs to be further clarified, and the beneficial effect of ALA through neuroprotective and endothelial function improving pathways and their complex relations also need further investigations. Our findings clearly reflect the presence of synergistic neuro- and atheroprotective effects of ALA, in which its AGE-decrementing impact might be fundamental.

4.3. Limitations

Some limitations should be mentioned. Despite the appropriate effect size, confirmed by sample size calculation, a larger patient population may improve the statistical power of the study. Our study focused on the Caucasian population; therefore, interpretation of findings for other ethnic groups is only possible to a limited extent. Because of the cross-sectional and prospective nature of our study, any causal relationships should be approached with caution. Moreover, the cause of unchanged sRAGE levels during the ALA treatment is partly unknown. We measured the soluble form of RAGE from human sera, but the exact mechanism of sRAGE generation should be verified during further *in vitro* studies.

Future research is necessary, as ALA seems to be promising in patients without neuropathy in the prevention of the development of complications in a preclinical state. Our hypothesis should be confirmed on a broader patient group. It would be useful to enroll patients in future research at the diagnosis of T2DM to test the effect of ALA more clearly as a supplementation of dietary changes and physical exercise. To clarify the exact mechanisms of action of ALA on AGEs and endothelium, further *in vitro* research is needed, where RAGE expression can also be evaluated.

5. Conclusions

The precise subcellular effect of AGEs in the development and progression of different neuropathy subtypes needs to be further evaluated and remains to be clarified. However, the fact that ALA improved the perception threshold and composite autonomic score, along with the reduction of AGEs after 6 months of oral ALA treatment without a difference in lifestyle intervention, strongly suggests that ALA alleviates neuropathy signs and symp-

toms, at least in part, through AGE decrement. The decrease in AGEs also correlated with beneficial changes in ADMA and progranulin, which may indicate the complex clinical effect of ALA, including antiatherogenic, vasculo-, and neuroprotective properties.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biomedicines13020438/s1>, Table S1: Correlations of AGE, sRAGE, and AGE/sRAGE ratio with anthropometric and routine laboratory parameters in neuropathic patients before and after ALA treatment.

Author Contributions: Conceptualization, F.S. and E.B.; methodology, S.C., Á.M., H.L. and M.K.; validation, S.C. and H.L.; investigation, M.H. (Marcell Hernyák); writing—original draft preparation, S.C.; writing—review and editing, E.B., M.H. (Mariann Harangi), F.S., G.P., M.B. and M.K.; visualization, S.C.; supervision, E.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Research, Development and Innovation Office—NKFIH, grant number: K142273 project and supported by the EKÖP-24-3-II-DE-303 University Research Scholarship Program of the Ministry for Culture and Innovation from the Source of the National Research, Development and Innovation Fund.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Regional and Institutional Ethics Committee, University of Debrecen, Clinical Center (UDCC REC/IEC; 4775-2017) and by the Medical Research Council of Hungary, National Scientific and Ethical Committee (5287-2/2019/EÜIG).

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

Data Availability Statement: The original contributions presented in this study are included in the article/Supplementary Materials. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

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

References

- Zhou, B.; Rayner, A.W.; Gregg, E.W.; Sheffer, K.E.; Carrillo-Larco, R.M.; Bennett, J.E.; Shaw, J.E.; Paciorek, C.J.; Singleton, R.K.; Pires, A.B.; et al. Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: A pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *Lancet* **2024**, *404*, 2077–2093. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Chandrasekaran, P.; Weiskirchen, R. The Role of Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus-An Overview. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 1882. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Li, S.; Wang, J.; Zhang, B.; Li, X.; Liu, Y. Diabetes Mellitus and Cause-Specific Mortality: A Population-Based Study. *Diabetes Metab. J.* **2019**, *43*, 319–341. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Nowotny, K.; Jung, T.; Höhn, A.; Weber, D.; Grune, T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules* **2015**, *5*, 194–222. [[CrossRef](#)]
- Cole, J.B.; Florez, J.C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nat. Rev. Nephrol.* **2020**, *16*, 377–390. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Mohammedi, K.; Woodward, M.; Marre, M.; Colagiuri, S.; Cooper, M.; Harrap, S.; Mancia, G.; Poulter, N.; Williams, B.; Zoungas, S.; et al. Comparative effects of microvascular and macrovascular disease on the risk of major outcomes in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc. Diabetol.* **2017**, *16*, 95. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Dal Canto, E.; Ceriello, A.; Rydén, L.; Ferrini, M.; Hansen, T.B.; Schnell, O.; Standl, E.; Beulens, J.W. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications. *Eur. J. Prev. Cardiol.* **2019**, *26*, 25–32. [[CrossRef](#)]
- Sloan, G.; Shillo, P.; Selvarajah, D.; Wu, J.; Wilkinson, I.D.; Tracey, I.; Anand, P.; Tesfaye, S. A new look at painful diabetic neuropathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2018**, *144*, 177–191. [[CrossRef](#)]
- Prasad, K. AGE-RAGE Stress and Coronary Artery Disease. *Int. J. Angiol.* **2021**, *30*, 4–14. [[CrossRef](#)]
- Mengstie, M.A.; Chekol Abebe, E.; Behaile Teklemariam, A.; Tilahun Mulu, A.; Agidew, M.M.; Teshome Azezew, M.; Zewde, E.A.; Agegnehu Teshome, A. Endogenous advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic diabetic complications. *Front. Mol. Biosci.* **2022**, *9*, 1002710. [[CrossRef](#)]

11. Ghelani, H.; Razmovski-Naumovski, V.; Pragada, R.R.; Nammi, S. (R)- α -Lipoic acid inhibits fructose-induced myoglobin fructation and the formation of advanced glycation end products (AGEs) in vitro. *BMC Complement. Altern. Med.* **2018**, *18*, 13. [CrossRef] [PubMed]
12. McIllduff, C.E.; Rutkove, S.B. Critical appraisal of the use of alpha lipoic acid (thioctic acid) in the treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy. *Ther. Clin. Risk Manag.* **2011**, *7*, 377–385. [CrossRef] [PubMed]
13. Bierhaus, A.; Chevion, S.; Chevion, M.; Hofmann, M.; Quehenberger, P.; Illmer, T.; Luther, T.; Berentshtein, E.; Tritschler, H.; Müller, M.; et al. Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes* **1997**, *46*, 1481–1490. [CrossRef]
14. Kowluru, R.A. Effect of advanced glycation end products on accelerated apoptosis of retinal capillary cells under in vitro conditions. *Life Sci.* **2005**, *76*, 1051–1060. [CrossRef] [PubMed]
15. Kunt, T.; Forst, T.; Wilhelm, A.; Tritschler, H.; Pfoetzner, A.; Harzer, O.; Engelbach, M.; Zschaebitz, A.; Stofft, E.; Beyer, J. Alpha-lipoic acid reduces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and endothelial adhesion of human monocytes after stimulation with advanced glycation end products. *Clin. Sci.* **1999**, *96*, 75–82. [CrossRef]
16. Wong, A.; Dukic-Stefanovic, S.; Gasic-Milenkovic, J.; Schinzel, R.; Wiesinger, H.; Riederer, P.; Münch, G. Anti-inflammatory antioxidants attenuate the expression of inducible nitric oxide synthase mediated by advanced glycation endproducts in murine microglia. *Eur. J. Neurosci.* **2001**, *14*, 1961–1967. [CrossRef]
17. Gasic-Milenkovic, J.; Loske, C.; Münch, G. Advanced glycation endproducts cause lipid peroxidation in the human neuronal cell line SH-SY5Y. *J. Alzheimer's Dis.* **2003**, *5*, 25–30. [CrossRef] [PubMed]
18. Yin, Q.Q.; Dong, C.F.; Dong, S.Q.; Dong, X.L.; Hong, Y.; Hou, X.Y.; Luo, D.Z.; Pei, J.J.; Liu, X.P. AGEs induce cell death via oxidative and endoplasmic reticulum stresses in both human SH-SY5Y neuroblastoma cells and rat cortical neurons. *Cell Mol. Neurobiol.* **2012**, *32*, 1299–1309. [CrossRef] [PubMed]
19. Chen, S.A.; Chen, H.M.; Yao, Y.D.; Hung, C.F.; Tu, C.S.; Liang, Y.J. Topical treatment with anti-oxidants and Au nanoparticles promote healing of diabetic wound through receptor for advanced glycation end-products. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2012**, *47*, 875–883. [CrossRef]
20. Nádró, B.; Lőrincz, H.; Molnár, Á.; Szentpéteri, A.; Zöld, E.; Seres, I.; Páll, D.; Paragh, G.; Kempler, P.; Harangi, M.; et al. Effects of alpha-lipoic acid treatment on serum progranulin levels and inflammatory markers in diabetic neuropathy. *J. Int. Med. Res.* **2021**, *49*, 3000605211012213. [CrossRef] [PubMed]
21. Sztanek, F.; Lőrincz, H.; Molnár, Á.; Szentpéteri, A.; Zöld, E.; Seres, I.; Páll, D.; Harangi, M.; Kempler, P.; Paragh, G. The effect of α -lipoic acid treatment on plasma asymmetric dimethylarginine, a biomarker of endothelial dysfunction in diabetic neuropathy. *Arch. Med. Sci.* **2020**. [CrossRef]
22. Hwang, H.J.; Jung, T.W.; Hong, H.C.; Choi, H.Y.; Seo, J.A.; Kim, S.G.; Kim, N.H.; Choi, K.M.; Choi, D.S.; Baik, S.H.; et al. Progranulin protects vascular endothelium against atherosclerotic inflammatory reaction via Akt/eNOS and nuclear factor- κ B pathways. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e76679. [CrossRef]
23. Rungratanawanich, W.; Qu, Y.; Wang, X.; Essa, M.M.; Song, B.J. Advanced glycation end products (AGEs) and other adducts in aging-related diseases and alcohol-mediated tissue injury. *Exp. Mol. Med.* **2021**, *53*, 168–188. [CrossRef] [PubMed]
24. Davies, M.J.; Aroda, V.R.; Collins, B.S.; Gabbay, R.A.; Green, J.; Maruthur, N.M.; Rosas, S.E.; Del Prato, S.; Mathieu, C.; Mingrone, G.; et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2022. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia* **2022**, *65*, 1925–1966. [CrossRef] [PubMed]
25. Münch, G.; Keis, R.; Wessels, A.; Riederer, P.; Bahner, U.; Heidland, A.; Niwa, T.; Lemke, H.D.; Schinzel, R. Determination of advanced glycation end products in serum by fluorescence spectroscopy and competitive ELISA. *Eur. J. Clin. Chem. Biochem.* **1997**, *35*, 669–677. [CrossRef] [PubMed]
26. Spallone, V.; Morganti, R.; D'Amato, C.; Greco, C.; Cacciotti, L.; Marfia, G.A. Validation of DN4 as a screening tool for neuropathic pain in painful diabetic polyneuropathy. *Diabet. Med.* **2012**, *29*, 578–585. [CrossRef] [PubMed]
27. Bastyr, E.J.; Price, K.L.; Bril, V.; Group, M.S. Development and validity testing of the neuropathy total symptom score-6: Questionnaire for the study of sensory symptoms of diabetic peripheral neuropathy. *Clin. Ther.* **2005**, *27*, 1278–1294. [CrossRef] [PubMed]
28. Matsumoto, R.; Takebayashi, K.; Aso, Y. Assessment of peripheral neuropathy using measurement of the current perception threshold with the neurometer in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Int. Med. Res.* **2005**, *33*, 442–453. [CrossRef] [PubMed]
29. Ewing, D.J.; Clarke, B.F. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* **1982**, *285*, 916–918. [CrossRef]
30. Masson, E.A.; Boulton, A.J. The Neurometer: Validation and comparison with conventional tests for diabetic neuropathy. *Diabet. Med.* **1991**, *8*, S63–S66. [CrossRef]

31. Bouhassira, D.; Attal, N.; Alchaar, H.; Boureau, F.; Brochet, B.; Bruxelle, J.; Cunin, G.; Fermanian, J.; Ginies, P.; Grun-Overdyking, A.; et al. Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4). *Pain* **2005**, *114*, 29–36. [\[CrossRef\]](#)
32. Singh, R.; Barden, A.; Mori, T.; Beilin, L. Advanced glycation end-products: A review. *Diabetologia* **2001**, *44*, 129–146. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Hicks, C.W.; Selvin, E. Epidemiology of Peripheral Neuropathy and Lower Extremity Disease in Diabetes. *Curr. Diab Rep.* **2019**, *19*, 86. [\[CrossRef\]](#)
34. Zilliox, L.A.; Russell, J.W. Physical activity and dietary interventions in diabetic neuropathy: A systematic review. *Clin. Auton. Res.* **2019**, *29*, 443–455. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Santos, H.O.; Penha-Silva, N. Translating the advanced glycation end products (AGEs) knowledge into real-world nutrition strategies. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2022**, *76*, 922–928. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Costa, L.A.; Canani, L.H.; Lisbôa, H.R.; Tres, G.S.; Gross, J.L. Aggregation of features of the metabolic syndrome is associated with increased prevalence of chronic complications in Type 2 diabetes. *Diabet. Med.* **2004**, *21*, 252–255. [\[CrossRef\]](#)
37. Smith, A.G.; Rose, K.; Singleton, J.R. Idiopathic neuropathy patients are at high risk for metabolic syndrome. *J. Neurol. Sci.* **2008**, *273*, 25–28. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Zeng, C.; Li, Y.; Ma, J.; Niu, L.; Tay, F.R. Clinical/Translational Aspects of Advanced Glycation End-Products. *Trends Endocrinol. Metab.* **2019**, *30*, 959–973. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Monnier, V.M.; Sell, D.R.; Genuth, S. Glycation products as markers and predictors of the progression of diabetic complications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, *1043*, 567–581. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Chen, J.H.; Lin, X.; Bu, C.; Zhang, X. Role of advanced glycation end products in mobility and considerations in possible dietary and nutritional intervention strategies. *Nutr. Metab.* **2018**, *15*, 72. [\[CrossRef\]](#)
41. Csiha, S.; Molnár, I.; Halmi, S.; Hutkai, D.; Lőrincz, H.; Somodi, S.; Katkó, M.; Harangi, M.; Paragh, G.; Nagy, E.V.; et al. Advanced glycation end products and their soluble receptor (sRAGE) in patients with Hashimoto's thyroiditis on levothyroxine substitution. *Front. Endocrinol.* **2023**, *14*, 1187725. [\[CrossRef\]](#)
42. Galiero, R.; Caturano, A.; Vetrano, E.; Beccia, D.; Brin, C.; Alfano, M.; Di Salvo, J.; Epifani, R.; Piacevole, A.; Tagliaferri, G.; et al. Peripheral Neuropathy in Diabetes Mellitus: Pathogenetic Mechanisms and Diagnostic Options. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 3554. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Papachristou, S.; Pafili, K.; Trypsianis, G.; Papazoglou, D.; Vadikolias, K.; Papanas, N. Skin Advanced Glycation End Products among Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus with or without Distal Sensorimotor Polyneuropathy. *J. Diabetes Res.* **2021**, *2021*, 6045677. [\[CrossRef\]](#)
44. Diallo, A.M.; Jaisson, S.; Barriquand, R.; Lukas, C.; Barraud, S.; Decoudier, B.; Francois, M.; Ly, S.; Mahmoudi, R.; Arndt, C.; et al. Association Between the Tissue and Circulating Advanced Glycation End-Products and the Micro- and Macrovascular Complications in Type 1 Diabetes: The DIABAGE Study. *Diabetes Ther.* **2022**, *13*, 1531–1546. [\[CrossRef\]](#)
45. Magalhães, P.M.; Appell, H.J.; Duarte, J.A. Involvement of advanced glycation end products in the pathogenesis of diabetic complications: The protective role of regular physical activity. *Eur. Rev. Aging Phys. Act.* **2008**, *5*, 17–29. [\[CrossRef\]](#)
46. Kotani, K.; Caccavello, R.; Sakane, N.; Yamada, T.; Taniguchi, N.; Gugliucci, A. Influence of Physical Activity Intervention on Circulating Soluble Receptor for Advanced Glycation end Products in Elderly Subjects. *J. Clin. Med. Res.* **2011**, *3*, 252–257. [\[CrossRef\]](#)
47. Legaard, G.E.; Feineis, C.S.; Johansen, M.Y.; Hansen, K.B.; Vaag, A.A.; Larsen, E.L.; Poulsen, H.E.; Almdal, T.P.; Karstoft, K.; Pedersen, B.K.; et al. Effects of an exercise-based lifestyle intervention on systemic markers of oxidative stress and advanced glycation endproducts in persons with type 2 diabetes: Secondary analysis of a randomised clinical trial. *Free Radic. Biol. Med.* **2022**, *188*, 328–336. [\[CrossRef\]](#)
48. Kanikowska, D.; Kanikowska, A.; Strojny, Z.; Kawka, E.; Zawada, A.; Rutkowski, R.; Litwinowicz, M.; Sato, M.; Grzymislawski, M.; Bręborowicz, A.; et al. Assessment of EN-RAGE, sRAGE, and its isoforms: cRAGE, esRAGE in obese patients treated by moderate caloric restriction combined with physical activity conducted in hospital condition. *Cytokine* **2024**, *180*, 156665. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Aubert, C.E.; Michel, P.L.; Gillery, P.; Jaisson, S.; Fonfrede, M.; Morel, F.; Hartemann, A.; Bourron, O. Association of peripheral neuropathy with circulating advanced glycation end products, soluble receptor for advanced glycation end products and other risk factors in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2014**, *30*, 679–685. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Erusalimsky, J.D. The use of the soluble receptor for advanced glycation-end products (sRAGE) as a potential biomarker of disease risk and adverse outcomes. *Redox Biol.* **2021**, *42*, 101958. [\[CrossRef\]](#)
51. Koyama, H.; Tanaka, S.; Monden, M.; Shoji, T.; Morioka, T.; Fukumoto, S.; Mori, K.; Emoto, M.; Fukui, M.; Fujii, H.; et al. Comparison of effects of pioglitazone and glimepiride on plasma soluble RAGE and RAGE expression in peripheral mononuclear cells in type 2 diabetes: Randomized controlled trial (PioRAGE). *Atherosclerosis* **2014**, *234*, 329–334. [\[CrossRef\]](#)

52. Quade-Lyssy, P.; Kanarek, A.M.; Baiersdörfer, M.; Postina, R.; Kojro, E. Statins stimulate the production of a soluble form of the receptor for advanced glycation end products. *J. Lipid Res.* **2013**, *54*, 3052–3061. [[CrossRef](#)]
53. Tam, X.H.; Shiu, S.W.; Leng, L.; Bucala, R.; Betteridge, D.J.; Tan, K.C. Enhanced expression of receptor for advanced glycation end-products is associated with low circulating soluble isoforms of the receptor in Type 2 diabetes. *Clin. Sci.* **2011**, *120*, 81–89. [[CrossRef](#)]
54. Singh, V.; Kaur, R.; Kumari, P.; Pasricha, C.; Singh, R. ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clin. Chim. Acta* **2023**, *548*, 117487. [[CrossRef](#)]
55. Tayebati, S.K.; Tomassoni, D.; Di Cesare Mannelli, L.; Amenta, F. Effect of treatment with the antioxidant alpha-lipoic (thioctic) acid on heart and kidney microvasculature in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Hypertens.* **2016**, *38*, 30–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. McNair, E.D.; Wells, C.R.; Qureshi, A.M.; Basran, R.S.; Pearce, C.; Orvold, J.; Devilliers, J.; Prasad, K. Low levels of soluble receptor for advanced glycation end products in non-ST elevation myocardial infarction patients. *Int. J. Angiol.* **2009**, *18*, 187–192. [[CrossRef](#)]
57. Sabbatinelli, J.; Castiglione, S.; Macri, F.; Giuliani, A.; Ramini, D.; Vinci, M.C.; Tortato, E.; Bonfigli, A.R.; Olivieri, F.; Raucci, A. Circulating levels of AGEs and soluble RAGE isoforms are associated with all-cause mortality and development of cardiovascular complications in type 2 diabetes: A retrospective cohort study. *Cardiovasc. Diabetol.* **2022**, *21*, 95. [[CrossRef](#)]
58. Ishibashi, Y.; Matsui, T.; Takeuchi, M.; Yamagishi, S. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of VCAM-1 mRNA levels in endothelial cells by suppressing AGE receptor (RAGE) expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *391*, 1405–1408. [[CrossRef](#)]
59. Schmidt, A.M.; Hori, O.; Chen, J.X.; Li, J.F.; Crandall, J.; Zhang, J.; Cao, R.; Yan, S.D.; Brett, J.; Stern, D. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J. Clin. Investig.* **1995**, *96*, 1395–1403. [[CrossRef](#)]
60. Zhang, H.; Tang, L.; Chen, S.; Yang, Y.; Chen, M.; Luo, J. Effect of advanced glycation end products on the expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor proteins in RF/6A cells. *Exp. Ther. Med.* **2013**, *5*, 1519–1522. [[CrossRef](#)]
61. Wang, B.; Wang, J.; Liu, Y.; Wang, L.; Du, M.; Zhang, Z.; Guan, Y. sRAGE downregulates the VEGF expression in OHSS ovarian granulosa cells. *Gynecol. Endocrinol.* **2021**, *37*, 836–840. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Dedert, C.; Mishra, V.; Aggarwal, G.; Nguyen, A.D.; Xu, F. Progranulin Preserves Autophagy Flux and Mitochondrial Function in Rat Cortical Neurons Under High Glucose Stress. *Front. Cell. Neurosci.* **2022**, *16*, 874258. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Gewaltig, M.T.; Kojda, G. Vasoprotection by nitric oxide: Mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc. Res.* **2002**, *55*, 250–260. [[CrossRef](#)]
64. Ren, X.; Ren, L.; Wei, Q.; Shao, H.; Chen, L.; Liu, N. Advanced glycation end-products decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Cardiovasc. Diabetol.* **2017**, *16*, 52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Korolczuk, A.; Beltowski, J. Progranulin, a New Adipokine at the Crossroads of Metabolic Syndrome, Diabetes, Dyslipidemia and Hypertension. *Curr. Pharm. Des.* **2017**, *23*, 1533–1539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.