

**Dr hab. n. med. Ewelina Szczepanek-Parulska**  
**Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych**  
**Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**  
**ul. Przybyszewskiego 49**  
**60-355 Poznań**

Poznań, 27.02.2017

Ocena rozprawy doktorskiej **lek. Katarzyny Zawadzkiej**  
z Katedry i Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami  
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
na podstawie cyklu prac zatytułowanego:  
**„Wpływ zaburzeń hormonalnych na obwodowe stężenie iryzyny**  
**w aspekcie jej roli w regulacji homeostazy energetycznej”**  
**(Promotor: dr hab. n. med. Jacek Daroszewski)**

Fndc5 (ang. *fibronectintype III domain-containing protein 5*) jest białkiem błonowym kodowanym przez gen *FNDC5*. Jego zmodyfikowana, wydzielana do krwioobiegu forma - irisina - jest nowo odkrytą adipo-miokiną opisaną po raz pierwszy przez badaczy z Uniwersytetu Harvarda zaledwie 5 lat temu w *Nature*. W dotychczas opublikowanych doniesieniach podkreśla się jej znaczący wpływ na procesy związane z metabolizmem ustroju oraz termogenezą. Zaobserwowano, że zwiększenie ekspresji genu *FNDC5* następuje w tkance mięśniowej pod wpływem wysiłku fizycznego. Skutkuje to wydzielaniem do krwi irisiny, mogącej wpływać na pozostałe tkanki organizmu. Sugeruje się, że to właśnie irisina jest poszukiwaną substancją będącą mediatorem pozytywnego wpływu wysiłku fizycznego na organizm. Już w niewielkich stężeniach powoduje ona „brązowienie” białej tkanki tłuszczowej. Proces ten zachodzi poprzez zwiększenie ekspresji genów związanych z procesami termogenezy oraz rozwojem brązowej tkanki tłuszczowej. „Brązowienie” zostało zaobserwowane głównie w tkance tłuszczowej podskórnej, skutkując głównie zwiększeniem produkcji ciepła i wydatkowania energii. Wykazano, że głównym miejscem ekspresji genu *FNDC5* u ludzi jest nie tylko tkanka mięśniowa, ale również tkanka tłuszczowa. Irisina jest wydzielana do krwi z podskórnej, trzewnej a nawet okołozołądkowej tkanki tłuszczowej.



Proces ten jest pobudzany przez ćwiczenia fizyczne oraz zmniejszany przez głodzenie. Zwiększone wydzielanie irisiny zostało zaobserwowane u otyłych zwierząt. Opisano wyższy poziom irisiny u otyłych pacjentów w porównaniu z osobami z normalną bądź obniżoną masą ciała. Zwrócono uwagę na obniżenie stężenia irisiny u pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu II. Opisano także związek pomiędzy polimorfizmem pojedynczego nukleotydu w *locus* genu *FNDC5* a skłonnością do rozwoju zaburzeń metabolizmu glukozy i stopniem wrażliwości tkanek na insulinę. Zasugerowano, że poziom irisiny może być odpowiedzialny za różnice w wydatkowaniu energii u osób otyłych z taką samą beztłuszczową masą ciała. Wiele emocji budzi również potencjalne zastosowanie irisiny w terapii zaburzeń metabolicznych a perspektywa odkrycia substancji pełniącej rolę wysiłku fizycznego w pigułce i stanowiącej dla niego alternatywę, czyni badania istotnym nie tylko z naukowego ale również medycznego i społecznego punktu widzenia.

Pomimo wielu obiecujących doniesień, istnieje jednak wciąż wiele kontrowersji i sprzeczności, a także dotychczas niepoznanych zależności w odniesieniu do rzeczywistej fizjologicznej roli irisiny w homeostazie ustroju. Np. Timmons i wsp. nie udowodnili związku pomiędzy stężeniem irisiny a wysiłkiem fizycznym ale również zanegowali wcześniej opisywaną zależność pomiędzy stężeniem irisiny a występowaniem cukrzycy. Zwiększenie ekspresji genu *FNDC5* zaobserwowano jedynie u starszych, aktywnych pacjentów. Związek pomiędzy wysiłkiem a indukcją wydzielania irisiny, bez względu na wiek czy rodzaj ćwiczeń fizycznych neguje również Pekkala i wsp.

Istotnym wątkiem prac badawczych jest również ocena stężenia i roli irisiny w zaburzeniach hormonalnych, a w nurt tych badań wpisują się prace badawcze prowadzone przez Doktorantkę. W badaniach Ruchały i wsp. z ośrodka poznańskiego wykazano istotny związek pomiędzy stanem tyreometabolicznym a stężeniem irisiny - stężenie irisiny jest niższe w niedoczynności tarczycy w porównaniu do osób w eutyreozy czy z nadczynnością. Na świecie podejmuje się również próby oceny stężenia i znaczenia irisiny w innych chorobach endokrynologicznych. Badania prowadzone przez Doktorantkę nad hormonalną regulacją stężenia irisiny u pacjentek z zaburzeniami wydzielania hormonów płciowych i zaburzeniami metabolicznymi mają zatem charakter oryginalny i nowatorski. Ponadto, wpisują się one zarówno w światowe trendy badawcze ale także świetnie korespondują z doświadczeniem zarówno ośrodka, w którym praca powstała jak i tematyką działalności naukowo-badawczej Promotora pracy. Biorąc pod uwagę powyższe argumenty, pozytywnie oceniam dobór tematu rozprawy doktorskiej.



Przedstawione mi do oceny opracowanie liczy łącznie 33 strony i zawiera: stronę tytułową, podziękowania, spis treści, wykaz trzech publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, z uwzględnieniem ich danych bibliometrycznych a także streszczenie w języku polskim (5 stron) i angielskim (4 strony), w sposób zwięzły podsumowujące najważniejsze założenia, wyniki i wnioski płynące z trzech publikacji, których przedruk załączony jest na końcu rozprawy. Na pozytywną ocenę zasługuje nadzwyczaj estetyczna oprawa i staranne opracowanie edytorskie rozprawy.

Podstawą do ubiegania się o tytuł doktora nauk medycznych przez lek. Katarzynę Zawadzką jest cykl trzech prac dotyczących oceny stężenia irisiny w zaburzeniach hormonalnych i jej roli w utrzymaniu energetycznej homeostazy. Prace opublikowano w czasopismach o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) 4,211 i łącznej punktacji Ministerstwa Nauki na poziomie 50 punktów. W skład tego cyklu wchodzi dwie prace oryginalne oraz jedna praca przeglądowa, wszystkie opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej. Wartość publikacji i sposób ich opracowania zostały już pozytywnie ocenione przez recenzentów artykułów przed ich akceptacją do druku w czasopismach o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Wszystkie trzy publikacje w cyklu stanowią spójną całość i spełniają kryteria cyklu prac będącego podstawą nadania tytułu doktora nauk medycznych na Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

Pierwsza praca zatytułowana „Iryzyna - nowy mediator homeostazy energetycznej” opublikowana została w czasopiśmie Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (IF 0,769) w 2015 r. i jest polskojęzycznym artykułem przeglądowym, którego Doktorantka jest pierwszym autorem. Choć nie jest ona prezentacją oryginalnego dorobku Doktorantki, stanowi w mojej ocenie cenne i bardzo dydaktyczne 10-stronicowe kompendium wiedzy na temat roli irisiny jako mediatora homeostazy energetycznej. Kwestią budzącą pewne kontrowersje natury językowej jest polski odpowiednik omawianej adipo-miokiny. Doktorantka używa w polskojęzycznej pracy oraz streszczeniu w języku polskim pojęcia „iryzyny”, podczas gdy w innych językach funkcjonuje ona jako *irisin* (angielski) czy *irisina* (hiszpański, włoski). W mojej ocenie należy rozważyć czy nazwa „irisina” nie byłaby nieco bardziej naturalnym odpowiednikiem w języku polskim. Nazwa tej adipo-miokiny pochodzi bowiem, jak podkreśla Doktorantka w jednej ze swoich prac, od greckiej bogini Iris, która pełniła funkcję posłanki bogów. Jest to jednak wyłącznie dylemat natury semantycznej a czas pokaże, która z tych form zostanie szerzej rozpowszechniona. Przechodząc do oceny samej pracy, zaproponowana przez doktorantkę kolejność opracowania informacji czyni ją czytelną i logiczną. Praca jest napisana poprawnym naukowym językiem i stanowi doskonałe



wprowadzenie do prezentacji dwóch kolejnych prac oryginalnych Doktorantki. W omawianej pracy Doktorantka podsumowuje aktualny stan wiedzy na temat funkcji hormonalnej białej i brązowej tkanki tłuszczowej oraz fizjologii tkanki mięśniowej. Następnie, podsumowuje dostępną wiedzę na temat budowy i funkcji irisiny od momentu jej odkrycia, płynącą z badań eksperymentalnych ale również badań klinicznych. Należy podkreślić, że Doktorantka równie swobodnie porusza się w obu tych obszarach. Opisuje dotychczasowe doniesienia na temat stężenia irisiny w warunkach aktywności fizycznej oraz w zespole metabolicznym a także potencjalnej roli irisiny w patogenezie i terapii chorób neurodegeneracyjnych. Doktorantka w sposób kompleksowy podsumowuje aktualną wiedzę na temat roli tego peptydu w warunkach fizjologii i patologii, ale także wskazuje na braki w aktualnej wiedzy i właściwie uzasadnia konieczność podjęcia dalszych badań w tej dziedzinie a także wskazuje ich kierunek. Doktorantka wykazała się w pracy umiejętnością dogłębnej analizy danych piśmiennictwa i trafnością spostrzeżeń. Zawarte w pracy rozważania oparte są o imponującą bibliografię i stanowią pełne podsumowanie aktualnej wiedzy dotyczącej omawianego tematu. Dobór i opracowanie piśmiennictwa jest bardzo staranne i dokładne, a powiązanie z tekstem prawidłowe. Tym samym Autorka wykazała się w pracy świetnym teoretycznym przygotowaniem do prowadzenia badań w tym zakresie. Należy docenić również, że praca ta jest pierwszym opracowaniem poświęconym temu zagadnieniu pochodzącym z polskiego ośrodka.

Druga praca zatytułowana „Irisin plasma concentration in PCOS and healthy subjects is related to body fat content and android fat distribution” opublikowana została w czasopiśmie *Gynecological Endocrinology* (IF 1,413) w 2015 r. Praca jest napisana w języku angielskim a doktorantka jest jej pierwszym autorem. W pracy zaprezentowano dorobek oryginalny autorki a jej celem była analiza związku pomiędzy stężeniem irisiny a wskaźnikami zaburzeń metabolicznych w grupie pacjentek z zespołem policystycznych jajników (PCOS) jak i w grupie kontrolnej osób zdrowych. W pracy analizie poddano imponującą grupę 179 pacjentek z rozpoznaniem PCOS a uzyskane w tej grupie wyniki porównano z uzyskanymi w trakcie oceny 122 osobowej grupy kontrolnej kobiet zdrowych. Spośród badanych wyłoniono następnie podgrupę pacjentek spełniających kryteria zespołu metabolicznego. Pomiary stężenia peptydu wykonano metodą immunoenzymatyczną. Wyniki zaprezentowane są w sposób czytelny a ich interpretację ułatwia ujęcie najistotniejszych z nich w formę graficzną (dwie ryciny i jedna tabela). W pracy nie wykazano różnicy pomiędzy stężeniem irisiny pomiędzy grupą pacjentek z PCOS a grupą kontrolną. Natomiast wykazano istnieje dodatniej korelacji pomiędzy występowaniem zespołu metabolicznego a osoczowym



stężeniem irisiny (w całej grupie badanej i grupie kontrolnej). Opisano także dodatni związek między stężeniem glukozy na czczo i irisiny w całej badanej grupie oraz u kobiet z PCOS. W całej badanej grupie stężenie irisiny w surowicy krwi otyłych kobiet różniło się znacząco w porównaniu do grupy osób z prawidłową masą ciała. Pacjentki z wysoką zawartością tkanki tłuszczowej (>40%) wykazywały istotnie statystycznie wyższe stężenie irisiny w porównaniu do kobiet z niską zawartością tkanki tłuszczowej (<30%) w całej grupie, podobną zależność odnotowano także w grupie kontrolnej. Dodatkowo wyszczególniono ciekawą podgrupę 16 pacjentek metabolicznie otyłych z prawidłową masą ciała, w której zaobserwowano negatywny związek pomiędzy stężeniem irisiny a zawartością tkanki tłuszczowej brzusznej. Stężenie irisiny w tej podgrupie było niższe w porównaniu z pozostałymi pacjentkami w całej badanej grupie jak i w grupie pacjentek z PCOS. Wyniki tych badań pogłębiają naszą wiedzę na temat potencjalnego związku wydzielania irisiny a otyłością, mogą wskazywać na ochronny wpływ irisiny w otyłości, a także sugerować istnienie postulowanego przez niektórych autorów zjawiska oporności na irisinę.

Trzecia i ostatnia z prac składających się na cykl zatytułowana jest „Growth hormone treatment increases plasma irisin concentration in patients with Turner syndrome” i opublikowana została w wersji online w grudniu 2016 r. a w wersji drukowanej ukazała się w lutym 2017r. w czasopiśmie *Hormone and Metabolic Research* (IF 2,029). Praca jest opublikowana w języku angielskim a doktorantka jest jej drugim autorem. Zawiera ona oryginalny dorobek Doktorantki i jej celem była ocena stężenia irisiny oraz jej związku z parametrami opisującymi składowe zespoły metabolicznego w szczególnej grupie 36 pacjentek z zespołem Turnera przed i po zastosowaniu leczenia ponadfizjologicznymi dawkami rekombinowanego hormonu wzrostu (rhGH). Tematyka badania wydaje się o tyle istotna, że hormon wzrostu jest regulatorem szeregu procesów fizjologicznych, związanych z gospodarką węglowodanową i tłuszczową a także akumulacją tkanki tłuszczowej. W pracy zaplanowanej prospektywnie wykonano oznaczenia irisiny, glukozy na czczo (FPG), insuliny na czczo (FIC), hemoglobiny glikowanej (HbA1c), IGF-1, IGFBP-3, cholesterolu, oceniono także oporność na insulinę (wskaźnik HOMA-IR), funkcję komórki  $\beta$  (wskaźnik HOMA- $\beta$ ) i insulinowrażliwość (wyrażoną jako wskaźnik Matsuda). Czytelność wyników podnosi zaprezentowanie ich w formie graficznej w postaci trzech rycin i dwóch tabel. U pacjentek leczonych rhGH wystąpił istotny statystycznie wzrost stężenia irisiny i IGF-1, jednak nie wykazano istotnej korelacji pomiędzy tymi dwoma parametrami. Terapia rhGH miała wpływ na wzrost HOMA-IR oraz FIC. Natomiast po leczeniu obserwowano ujemną korelację irisiny z FIC, FPG oraz HOMA-IR. Stężenie LDL-cholesterolu uległo obniżeniu, nastąpił jednak



wzrost stężenia trójglicerydów. Przeprowadzone badania ujawniły istotną poprawę funkcji komórki  $\beta$  mierzoną za pośrednictwem indeksu HOMA- $\beta$ . Wyniki badania wskazują na pośredni wpływ leczenia rhGH na zwiększenie stężenia irisiny. Wyciągnięto ciekawe wnioski, iż terapia rhGH skutkuje zwiększeniem insulinooporności, ma jednak pozytywny wpływ na regulację stężenia irisiny oraz przywraca warunki fizjologicznej regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej.

Podsumowując, wymienione wyżej prace cechują się odpowiednim doбором grup badanych oraz zastosowaniem właściwych i adekwatnych do celu pracy metod badania. Wnikliwa analiza wyników, właściwy dobór metod statystycznych, krytyczny charakter prowadzonej dyskusji, oryginalność badań i prawidłowość wyciąganych wniosków upoważniają do stwierdzenia, że Doktorantka jest przygotowana do planowania i prowadzenia badań naukowych. Szczegółowe dyskusje wyników badań i odniesienia do istotnych pozycji literatury oraz prezentacja wyników w formie tabel i wykresów pozwalają wykorzystać te prace również w celach dydaktycznych. Doktorantka umiejętnie wykorzystuje piśmiennictwo i potrafi krytycznie ocenić wyniki innych autorów jak i własne, co wskazuje na dużą dojrzałość naukową. Opublikowane prace mają nie tylko pionierski charakter, ale i wyraźnie wskazują na dalsze perspektywy badań nad rolą irisiny w różnych zaburzeniach endokrynologicznych.

Na koniec chciałabym jednak zwrócić uwagę na kilka niedociągnięć natury technicznej. Do przesłanego mi zbioru prac nie dołączono informacji o wkładzie pracy poszczególnych Autorów. Dokument ten pozwoliłby w pełniejszy sposób ocenić możliwości badawcze Doktorantki. Nie znalazłam też kopii zgody lub zgód lokalnej komisji bioetycznej. Nieco zamieszania wprowadza niezgodność pomiędzy chronologią prac podaną w wykazie bibliotecznym, a kolejnością prezentacji prac przez autorkę.

Pragnę jednak podkreślić, że przedstawione przeze mnie uwagi wynikają wyłącznie z obowiązku recenzenta, jednak w żadnym stopniu nie umniejszają wartości merytorycznej prac przedłożonych mi do recenzji. Jednocześnie nie wnoszę uwag krytycznych co do kluczowych kwestii jak zasadność podejmowanych badań, tok ich przeprowadzenia, dobór metod badawczych, wyników oraz ich opracowania, interpretacji i dyskusji oraz wniosków końcowych. Stwierdzam, że przedstawiony mi do oceny cykl publikacji składający się na rozprawę doktorską został bardzo dobrze zaplanowany i konsekwentnie zrealizowany. Całość pracy świadczy o tym, że Doktorantka potrafi postawić trudne pytania badawcze i konsekwentnie przeprowadzić badania naukowe w celu kompleksowego ich wyjaśnienia. Dogłębna analiza prac wskazuje na doskonałe opanowanie warsztatu naukowego przez



Doktorantkę. Wyniki pracy uważam za bardzo wartościowe w świetle najnowszego piśmiennictwa, zarówno z poznawczego jak i klinicznego punktu widzenia.

Pozytywnie oceniając przedstawioną mi rozprawę stwierdzam, iż odpowiada ona wymogom stawianym do uzyskania stopnia doktora nauk medycznych i w związku z tym mam zaszczyt wnieść do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego i do publicznej dyskusji nad rozprawą. Jednocześnie zapoznawszy się z kryteriami nadawania wyróżnienia pracom doktorskim obowiązującymi na Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa te kryteria spełnia, i tym samym wnioskuję o wyróżnienie pracy.



Poznań, 27.02.2017r.

dr hab. n. med. Ewelina Szczepanek-Parulska



2506296  
dr hab. n. med.  
Ewelina Szczepanek-Parulska  
SPECJALISTA CHOROZOB WEWNETRZNYCH  
tel. 602 36 26 11