

Streszczenie

Rozpowszechnienie problemu otyłości i chorób metabolicznych zwiększyło intensywność prac mających na celu zidentyfikowanie czynników odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy energetycznej organizmu. Korzystny wpływ wysiłku fizycznego na zapobieganie otyłości jest bezsporny. Wykazano także inne niezależne funkcje wysiłku fizycznego – zapobieganie cukrzycy typu 2, chorobom sercowo-naczyniowym, chorobom neurologicznym i psychiatrycznym. Poszukiwania łączące skurcz mięśni szkieletowych z tak plejotropowym działaniem przyniosł odkrycie cząsteczek o właściwościach cytokin zwanych miokinami. Wśród białek regulatorowych wytwarzanych i wydzielanych z kurczących się mięśni opisano m.in. iryzynę (Ir). Zidentyfikowana w 2012 r. Ir budzi zainteresowanie z uwagi na swą właściwość zwiększania ilości metabolicznie korzystnej, brunatnej tkanki tłuszczowej, wydaje się być więc ważnym czynnikiem w aspekcie zwalczania chorób związanych z otyłością.

Tkanka tłuszczowa wraz z tkanką mięśniową biorą udział w utrzymaniu równowagi energetycznej. Biała tkanka tłuszczowa (WAT) spełnia rolę magazynującą oraz wydziela szereg adipokin. Innym rodzajem tkanki tłuszczowej, która w ostatnim czasie, ze względu na swoją funkcję stanowi przedmiot wielu prac jest brunatna tkanka tłuszczowa (BAT). Charakterystyczny dla BAT jest wykorzystanie procesu termogenezy bezdrzeniowej, dzięki któremu energia przekierowana jest z łańcucha oddechowego w kierunku wytwarzania ciepła. Jednym z regulatorów różnicowania i aktywności BAT jest iryzyna.

Celem podjętej pracy było zbadanie hormonalnej regulacji stężenia Ir w stanach patologii, wpływu zaburzeń metabolicznych na regulacje jej wydzielania oraz możliwości zastosowania Ir jako wskaźnika zaburzeń metabolicznych.

W pracy pogładowej opublikowanej w czasopiśmie Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Pukajło K. et al. Iryzyna – nowy mediator homeostazy energetycznej. PHiMD, 2015) przedstawiono szczegółowo budowę i funkcję nowoodkrytej miokiny – iryzyny. Ir jest 112 - 123 aminokwasowym fragmentem domeny zewnątrzkomórkowej białka FNDC5 (FRCP2 i PeP) o masie cząsteczkowej szacowanej na 12 kDa. W warunkach fizjologicznych Ir uwalniana jest z FNDC5 pod wpływem aktywności fizycznej i PGC-1 α , odpowiada za proces brązowienia WAT, a dokładniej na pojawienie się komórek BAT między adipocytami WAT. Przedyskutowano niejednoznaczne dane na temat wpływu wysiłku fizycznego na zwiększenie stężenia Ir w różnych grupach pacjentów zwracając uwagę na rolę modelu treningu oraz wcześniejszego poziomu wytrenowania. W tym aspekcie powstaje pytanie o wyłonienie tych grup osób, którym aktywność fizyczna przyniesie korzyść w zakresie parametrów

metabolicznych. Przedstawiono także liczne doniesienia na temat roli Ir w redukcji masy ciała, jej obecności w otyłości i zaburzeniach metabolicznych. Z jednej strony wykazano negatywny związek Ir z BMI oraz mniejsze stężenie Ir u osób otyłych i z cukrzycą typu 2, co może wskazywać utratę przez te osoby możliwości związanych z „brązowieniem” tkanki tłuszczowej. Z drugiej strony zwiększone stężenie Ir u osób otyłych, z większą zawartością tkanki tłuszczowej i z zespołem metabolicznym może sugerować istnienie iryzynooporności. Ponadto zarysowano inne możliwe korzyści związane z pozytywnym wpływem Ir na układ nerwowy.

Wpływ zaburzeń metabolicznych, związanych z jednym z częstszych endokrynopatii – zespołem policystycznych jajników (PCOS), na stężenie Ir został przedstawiony w pracy opublikowanej w *Gynecological Endocrinology* (Pukajlo et al. Irisin plasma concentration in PCOS and healthy subjects is related to body fat content and android fat distribution. *Gynecol Endocrinol*, 2015). Badana grupa składała się z 179 pacjentek z PCOS i grupy kontrolnej 122 zdrowych kobiet w wieku od 20 do 35 lat. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w stężeniu Ir u pacjentek z PCOS i w grupie kontrolnej.

Wyłoniono 90 osobową grupę spełniającą kryteria zespołu metabolicznego. Stwierdzono pozytywny związek między stężeniem Ir a zespołem metabolicznym w całej badanej grupie oraz w grupie kontrolnej. Opisano także dodatni związek między stężeniem glukozy na czczo i Ir w całej badanej grupie oraz u kobiet z PCOS. W całej badanej grupie stężenie Ir w surowicy krwi otyłych kobiet (BMI > 29) różniło się znacząco w porównaniu do grupy osób z prawidłową masą ciała (BMI < 25). Pacjentki z wysoką zawartością tkanki tłuszczowej (> 40%) wykazywały istotnie statystycznie wyższe stężenie Ir w porównaniu do kobiet z niską zawartością tkanki tłuszczowej (< 30%) w całej grupie, podobną zależność odnotowano także w grupie kontrolnej.

Wyniki opublikowanych badań potwierdzają hipotezę o ochronnym wpływie Ir w otyłości, z drugiej strony mogą także sugerować istnienie zjawiska iryzynooporności. Stężenie Ir w surowicy krwi ma związek z zawartością tkanki tłuszczowej co może potwierdzać przypuszczenia, że uwalniana jest także z WAT, w związku z tym traktowana jest jako adipomiokina. Ponadto, wyniki badań wskazują, że pod względem stężenia Ir w surowicy krwi pacjentki z PCOS nie różnią się od populacji zdrowych kobiet.

W celu zbadania wpływu GH na regulację wydzielania Ir w aspekcie jej roli w procesach metabolicznych przeprowadzono badania w 36-osobowej grupie dziewcząt z zespołem Turnera (TS- Turner syndrome) w wieku od 3.2 do 16.07 lat (średnia wieku 8.2 lata) leczonych rekombinowanym hormonem wzrostu w dawkach suprafizjologicznych (rhGH; 0.05

mg/kg/dobę). U pacjentek leczonych rhGH wystąpił istotny statystycznie wzrost stężenia IGF-1, stwierdzono także wzrost stężenia Ir. Nie wykazano natomiast zależności między stężeniem Ir i IGF-1 przed ani w trakcie leczenia rhGH. Terapia rhGH miała wpływ na wzrost HOMA-IR oraz stężeniem insuliny na czczo (FIC). Na koniec obserwacji wykazano ujemną korelację Ir z FIC, glukozą na czczo (FPG) oraz HOMA-IR. Stężenie LDL-cholesterolu uległo obniżeniu, zanotowano jednak wzrost stężenia. Zmniejszenie stężenia całkowitego cholesterolu zbliżało się do istotności statystycznej. Przeprowadzone badania ujawniły istotną poprawę funkcji komórki β .

Wyniki powyższych badań, które opublikowano w czasopiśmie *Hormone and Metabolic Researches* (Wikiera B., Zawadzka K. et al. Growth hormone treatment increases plasma irisin concentration in patients with Turner syndrome. *Horm Metab Res*) wskazują na pośredni wpływ leczenia hormonem wzrostu na zwiększenie stężenia Ir. Mimo, że terapia rhGH skutkuje zwiększeniem insulinooporności ma pozytywny wpływ na regulację stężenia iryzyny, przywraca warunki fizjologicznej regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej.

Summary

Due to the prevalence of obesity and metabolic diseases, the intensity of research aimed at identifying the factors responsible for maintaining energy homeostasis of the organism has significantly increased recently. The beneficial effect of physical activity to prevent obesity was found to be indisputable. Research also revealed other independent health benefits of exercising, such as the prevention of type 2 diabetes, cardiovascular diseases, or neurological and psychiatric disorders. The study linking skeletal muscle contraction with its pleiotropic effect brought the discovery of molecules exhibiting the properties of cytokines called myokines. Numerous regulatory proteins produced and secreted from shrinking the muscles have been described, including the angiopoietin-related protein 4 (ANGPTL4), fibroblast growth factor 21 (FGF21), IL-6, IL-7, IL-15, myonectin, myostatin (MSTN), vascular endothelial growth factor (VEGF), follistatin and many others. Irisin (Ir), identified in 2012, is of particular interest due to its property of increasing the amount of metabolically favorable brown adipose tissue, and as such is considered an important factor in the control of diseases associated with obesity.

Adipose tissue and skeletal muscle are involved in maintaining the energy homeostasis. White adipose tissue (WAT) acts as an energy storage and releases a variety of adipokines, including leptin, adiponectin, resistin, visfatin, vaspin, omentin, tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and the peroxisome proliferation activator receptor γ (PPAR- γ). Another type of fat tissue which, due of its function, has been the subject of numerous publications recently, is the brown adipose tissue (BAT). A mechanism characteristic for BAT is the nonshivering thermogenesis process, in which the energy is diverted from the respiratory chain as heat.

One of the regulators of differentiation and activity of BAT is irisin.

The aim of the study was to examine the hormonal regulation of Ir concentration in pathological states, the impact of metabolic disorders on the control of its secretion and the possibility of using Ir as an indicator of metabolic disturbances.

In terms of preventing obesity and metabolic disorders, the discovery of beige adipose tissue was deemed promising. It turned out that under certain environmental factors (such as exposure to low temperatures) and Ir released from the muscle tissue, beige fat cells (brite, brown-in-white) appear among the WAT cells. Beige fat cells are structurally similar to brown

adipocytes and perform similar functions. In the beige fat cells, the expression of the BAT genes (UCP1, Cide, PGC1) can be observed, although they stem from a different cell precursor.

In the review paper published in the *Advances in Hygiene and Experimental Medicine* journal (Pukajło K. et al. Irisin - a new mediator of energy homeostasis. PHMD, 2015), the structure and function of irisin, the newly discovered myokine, was shown in detail. This is the first work on the subject coming from a Polish scientific institution.

Irisin is the 112 - 123 amino acid fragment of the extracellular domain of the FNDC5 protein (FRCP2 and PEP) with an estimated molecular weight of 12 kDa. Under physiological conditions, Ir is released from FNDC5 as the result of physical activity with PGC-1 α as the coactivator of the process. It is responsible for the “browning” process of WAT, namely the appearance of BAT cells between the WAT adipocytes.

Ambiguous data regarding the impact of physical activity on increasing the Ir concentration in different groups of patients were discussed. The role of the training model and previous activity level were taken into account. In this aspect, the question arises about selecting such groups of people, for whom physical activity will benefit in the terms of metabolic parameters.

Numerous reports on the role of Ir in weight reduction, its presence in obesity and metabolic disorders were also presented. On the one hand, a negative relationship between Ir and BMI and lower Ir concentration in obese patients and with type 2 diabetes were shown, which may indicate the loss of beneficial effects associated with the "browning" of adipose tissue in these individuals. On the other hand, increased concentrations of Ir in obese subjects exhibiting a higher content of fat and the metabolic syndrome may suggest the emergence of irisin-resistance. Furthermore, other possible benefits associated with a positive effect of Ir on the nervous system were outlined.

The impact of metabolic disorders associated with one of the most common endocrinopathies, the polycystic ovary syndrome (PCOS), on Ir concentration was presented in a paper published in *Gynecological Endocrinology* (Pukajło et al. Irisin plasma concentration in PCOS and healthy subjects is related to body fat content and android fat distribution. *Gynecol Endocrinol*, 2015). PCOS may incline towards the development of metabolic syndrome and related diseases, such as coronary heart disease or type 2 diabetes. The study group consisted of 179 patients with PCOS and a control group of 122 healthy

women aged 20 through 35. Measurements of irisin were performed using an enzyme immunoassay (Phoenix Pharmaceutical, USA). Fasting concentrations of glucose, insulin, testosterone, estradiol, lipids and liver enzymes were measured. The content of fat tissue was described by the means of densitometry. No statistically significant difference in Ir concentration was observed between the PCOS patients and the control group (544 ± 767 ng / ml vs. 508 ± 522 ng / ml).

90 patients who met the criteria of metabolic syndrome were selected. A positive relationship was found between the Ir concentration and the presence of metabolic syndrome in both, the whole group ($p = 0.035$) and in the control group ($p = 0.049$). A positive relationship between Ir and fasting glucose levels in the whole group ($p = 0.016$) and in women with PCOS ($p = 0.027$) was also described. In the whole group, Ir concentration in the serum of obese women ($BMI > 29$) differed significantly compared with a group with a normal body weight ($BMI < 25$; $p = 0.0035$). Patients with a high content of fat ($> 40\%$) showed a significantly higher concentration of Ir (1004 ± 1003 ng/ml) in comparison with women with low fat content ($< 30\%$) (618 ± 782 ng/ml) in the whole group, similar relationship was noted in the control group (1148 ± 1068 ng/ml vs. 492 ± 338 ng/ml).

Additionally, a group of 16 metabolically obese but normal weight (MONW) patients was selected according to the criteria for the Polish population (android fat $> 30.2\%$). 13 of the MONW patients belonged to the group with PCOS, where Ir concentration was negatively associated with abdominal fat. The concentration of Ir in MONW patients was lower in comparison with non-MONW patients in the whole group and in the group of patients with PCOS.

The results of published studies confirm the hypothesis of a protective impact of Ir in the case of obesity, on the other hand it may also suggest the existence of an irisin-resistance phenomenon. Ir concentration in the serum is associated with body fat, possibly supporting the hypothesis that it is also released from WAT, and is therefore regarded as an adipomyokine. In addition, the results indicate that in terms of Ir concentration, patients with PCOS do not differ from the population of healthy women.

Growth hormone (GH) is a regulator of numerous physiological functions. To examine the effect of GH on the regulation of Ir secretion in terms of its role in metabolic processes, a research in the group of 36 girls with Turner syndrome (TS) was conducted. The patients age ranged from 3.2 to 16.07 years (average age 8.2 years). They were treated with supraphysiological doses of recombinant growth hormone (rhGH, 0.05 mg / kg / day).

Anthropometric measurements and determination of concentrations of Ir, fasting plasma glucose (FPG), fasting insulin (FIC), glycosylated hemoglobin (HbA1c), IGF-1, IGFBP-3 and cholesterol were performed before and after the treatment. Insulin resistance (HOMA- IR), β cell function (HOMA- β) and insulin sensitivity (Matsuda index) were evaluated. The rhGH therapy revealed a statistically significant increase in the concentrations of IGF-1 (average of 119.4 ± 62.46 to 413.37 ± 204.38 ng/ml, $p = 0.000$). Increase in the concentration of Ir was also observed (an average of 2.1 ± 1.03 to 2.47 ± 0.79 mg/ml, $p = 0.035$). No relationship was observed between the concentration of Ir and IGF-1 before or during treatment with rhGH. RhGH therapy had a positive impact on HOMA-IR (before $0.64 [0.45-1.30]$ vs. $0.92 [0.67-2.36]$ after the treatment, $p = 0.021$) and FIC $2.49 [2.00-5.10]$ μ IU/ml vs. $4.23 [2.43-9.66]$ μ IU/ml, $p = 0.007$). At the end of the observation, the Ir concentration correlated negatively with FIC, FPG and HOMA-IR. LDL-cholesterol level was reduced ($101.60 [29.47]$ vs. $86.39 [25.02]$, $p = 0.011$), although an increase in the concentration of triglycerides was observed ($60.89 [19.17]$ vs $83.34 [27.46]$, $p = 0.002$). The reduction in total cholesterol approached the statistical significance ($p = 0.051$). The study revealed a significant improvement in β cell function (HOMA- β before $45.00 [27.69-72.00]$ and $81.53 [51.43-132.00]$ during therapy, $p = 0.045$).

The results of this research, which were published in the *Hormone and Metabolic Researches* journal (Wikiera B., Zawadzka K. et al. Growth hormone treatment increases plasma irisin concentration in patients with Turner syndrome. *Horm Metab Res*, 2016) indicate indirect effects of growth hormone treatment on increasing the Ir concentration. Although rhGH therapy results in rise of the insulin resistance, it has a positive impact on the normalization of the Ir concentration and restores the physiological conditions of the carbohydrate and lipid metabolism regulation.

The studies indicated the important role of Ir in energy homeostasis and indicated the need to continue the research in other aspects. Taking into account the enormous interest in the issue of hormonal activity of muscles (251 articles in the PubMed search located under the keyword “myokines”), continuation of work in this area of research is planned.