

**KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, DIABETOLOGII I
ENDOKRYNOLOGII**

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Małgorzata Myśliwiec

ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk
fax. 058/ 349/ 28 48
tel. 058/ 349 28 98

mail: pdiabend@gumed.edu.pl

Gdańsk,

Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

lek. Katarzyny Jakubek-Kipy

**pt. „Rola leptyny i chemeryny w patogenezie otyłości i cukrzycy typu 1 u
dzieci”**

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska pt.: “Rola leptyny i chemeryny w patogenezie otyłości i cukrzycy typu 1 u dzieci” rozpoczyna się od wstępu, w którym na kolejnych stronach Doktorantka wprowadza czytelnika w aktualny przegląd zagadnień związanych z tematyką pracy takich jak: rola leptyny w regulacji masy ciała, w przebiegu klinicznym cukrzycy typu 1 i typu 2 poprzez regulację metabolizmu lipidów oraz wpływ na kontrolę glikemii, Doktorantka na podstawie dostępnego piśmiennictwa podkreśla możliwą rolę leptyny poprzez pozytywny wpływ na aktywność limfocytów T, na regulację poziomów glikemii u osób z cukrzycą typu 1 i na zmniejszenie dawki insuliny w tej grupie pacjentów. Doktorantka wskazuje, że w przyszłości leptyna może mieć potencjał nie tylko jako dodatek do terapii insulinowej w leczeniu cukrzycy typu 1, ale również regulacji masy ciała. Jednocześnie podkreśla, że są konieczne dalsze badania w celu pełnego zrozumienia jej roli w praktyce klinicznej.

W dalszej części wstępu Doktorantka opisuje rolę chemeryny, która jest ważną adipokiną mającą wpływ na metabolizm glukozy poprzez regulację wrażliwości na insulinę, modulację glukoneogenezy w wątrobie oraz wpływ na adipogenezę. Podkreśla, że wysoki poziom chemeryny jest często obserwowany u osób otyłych, a jej podwyższone stężenie koreluje z insulinoopornością, cukrzycą typu 2 oraz zespołem metabolicznym. Dane z piśmiennictwa wskazują, że chemeryna może także mieć wpływ na metabolizm lipidów, a

modulacja poziomu chemeryny i jej szlaków sygnalizacyjnych może stanowić nowy kierunek w terapii zaburzeń metabolicznych. Inhibitory receptorów chemeryny lub jej antagoniści mogą być potencjalnymi lekami poprawiającymi wrażliwość na insulinę i regulującymi poziom glukozy. **W obliczu narastającego problemu otyłości wśród dzieci z DM1 podjęta przez Doktorantkę próba oceny hormonów wydzielanych przez tkankę tłuszczową, takich jak leptyna i chemeryna jest w pełni uzasadniona. Może przyczynić się do lepszego zrozumienia ich potencjalnego wpływu na patofizjologię DM1 i mieć implikacje kliniczne, terapeutyczne i rokownicze.** Zrozumienie tych zagadnień jak podkreśla Doktorantka jest kluczowe dla zapewnienia dzieciom zdrowego startu w dorosłe życie oraz minimalizacji ryzyka powikłań zdrowotnych w przyszłości.

Cykl prac, na podstawie którego powstała rozprawa doktorska składa się z 3 spójnych tematycznie artykułów opublikowanych w czasopismach z listy MNiSW (z listy *Journal Citation Reports - JCR*):

1. Bioleptin as a useful marker of metabolic status in children with diabetes mellitus type 1. Jakubek-Kipa K, Galiniak S, Łagowska K, Krupa I, Ludwin A, Tabarkiewicz J, Mazur A. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14:1235409. doi: 10.3389/fendo.2023.1235409.
IF=3,9; MEiN=100

2. Methylation status of leptin receptor gene promoter in obese children. Jakubek-Kipa K, Potocka P, Skrzypa M, Dembiński Ł, Zawlik I, Mazur A. *Pediatrica Polska*. 2020;95(2):86-91. doi: 10.5114/polp.2020.97117.
MEiN=100

3. Role of chemerin in the metabolic regulation of type I diabetes in children. Jakubek-Kipa K, Galiniak S, Mazur A. *Pediatrica i Medycyna Rodzinna*. 2024;20(2):209-214. doi: 10.15557/PiMR.2024.0030.
IF=3,6; MEiN=20

Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich pracach wchodzących w skład cyklu. Wartość naukowa i kliniczna zawartych w rozprawie doktorskiej doniesień nie pozostawia wątpliwości. Dwie z nich zostały opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej, co oznacza, że z powodzeniem przeszły gęste sito recenzji poszczególnych redakcji. Dla wymienionego cyklu publikacji łączna

wartość punktów według wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki wynosi 220 pkt, a sumaryczny Impact Factor wynosi 7,5.

Publikacja 1 i 3 zawierała wyniki badań prowadzonych w II Klinice Pediatrii Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 2 w Rzeszowie. Badaniem objęto 94 dzieci w wieku $11,53 \pm 4,37$ lat (58 chłopców i 36 dziewczynek z DM1 oraz 14 dzieci zdrowych). W grupie dzieci z cukrzycą 40 pacjentów miało nowo rozpoznaną cukrzycę, 40 długotrwałą DM1 (długotrwałą zdefiniowano jako trwającą dłużej niż rok). W grupie pacjentów z długotrwałą DM1, 20 dzieci miało dobrą kontrolę metaboliczną, co oznaczało poziom HbA1c $<7\%$, 20 złą – poziom HbA1c $>7\%$. Rozpoznanie DM1 oparto na kryteriach International Society of Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD). Cukrzycę u dzieci leczono analogami insuliny w schemacie intensywnej insulinoterapii penowej lub za pomocą osobistej pompy insulinowej.

W publikacji 2 do badania włączono 50 dzieci z nadwagą i otyłością (26 dziewcząt i 24 chłopców) hospitalizowanych w tej samej Klinice.

Wspólnym celem cyklu trzech publikacji była analiza roli leptyny i chemeryny w patogenezie otyłości i cukrzycy typu 1 u dzieci.

Celami przedstawionego cyklu prac były:

1. Celem szczegółowym publikacji 1 była ocena stężenia leptyny i bioleptyny w surowicy krwi dzieci z DM1 oraz określenie korelacji między ich poziomem a wybranymi parametrami kontroli cukrzycy, takimi jak: ciężkość kwasicy ketonowej przy rozpoznaniu choroby, poziom hemoglobiny glikowanej (HbA1c), profil lipidowy oraz wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*, BMI).
2. Celem szczegółowym publikacji 2 była ocena statusu metylacji promotora genu receptora leptyny u dzieci z otyłością.
3. Celem szczegółowym publikacji 3 była ocena stężenia chemeryny w surowicy krwi dzieci z DM1 oraz określenie korelacji jej poziomu z wybranymi parametrami kontroli cukrzycy, takimi jak: poziom HbA1c, profil lipidowy oraz BMI.

Doktorantka słusznie podkreśla, że w dostępnym piśmiennictwie nieliczne są badania poświęcone roli adipokin w rozwoju, przebiegu i progresji cukrzycy typu 1 u dzieci w odniesieniu do ich roli w regulacji metabolizmu, odpowiedzi immunologicznej oraz stanów zapalnych. Tym bardziej, że dostępne badania wykazują, że leptyna i chemeryna może wpływać na funkcje limfocytów T oraz makrofagów, co może jak słusznie Doktorantka zaznacza być istotne w kontekście autoimmunologicznych mechanizmów destrukcji komórek β trzustki, mając na uwadze obecność receptorów leptyny w komórkach β trzustki.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego (nr 2018/03/08 oraz nr 22/04/2016).

Wyznaczone cele Doktorantka realizowała dzięki dokładnie opisanej przemyślanej metodyce badań oraz przeprowadzonej adekwatnej, wnikliwej analizie statystycznej przedstawionych w artykułach stanowiących cykl prac. We wszystkich trzech głównych artykułach składających się na dysertację do analiz statystycznych wykorzystano pakiet oprogramowania STATISTICA (wersja 13.3, StatSoft Inc. 2017, Tulsa, OK, USA). Dane zostały przedstawione jako średnia i odchylenie standardowe (SD) wraz z zakresem. Należy zauważyć, że większość zmiennych nie była zgodna z rozkładem normalnym, co potwierdził test Shapiro-Wilka, co wymagało zastosowania testów nieparametrycznych. Wielokrotne porównania przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA Kruskala-Wallisa. Istotność statystyczną określono przy wartości $p < 0,05$.

Publikacja 1

1. Bioleptin as a useful marker of metabolic status in children with diabetes mellitus type 1. Jakubek-Kipa K, Galiniak S, Łagowska K, Krupa I, Ludwin A, Tabarkiewicz J, Mazur A. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14:1235409. doi: 10.3389/fendo.2023.1235409.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono niższe stężenie leptyny u dzieci z cukrzycą niż u dzieci zdrowych. Pacjenci z grupy z nowo rozpoznaną cukrzycą wykazywali statystycznie wyższy poziom leptyny w porównaniu z pacjentami z długotrwałą cukrzycą źle wyrównaną. Uzyskane wyniki Doktorantka tłumaczy większym niedoborem insuliny w tej drugiej grupie chorych. Złe wyrównanie metaboliczne u tych dzieci mogło być konsekwencją stosowania nieodpowiedniej, czyli zbyt małej dawki dobowej insuliny.

Stwierdzono silną dodatnią korelację między poziomem leptyny a masą ciała i BMI w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą. Zaobserwowano umiarkowaną dodatnią korelację między poziomem leptyny a poziomem cholesterolu całkowitego i frakcji LDL w grupie dzieci z długotrwałą cukrzycą źle wyrównaną. Doktorantka na podstawie wyników dostępnego piśmiennictwa tłumaczy ten fakt tym, że dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą mają procentowo najmniej tkanki tłuszczowej, a każde zwiększenie jej ilości, które ma wpływ na wartość BMI powoduje wzrost ilości wydzielanej leptyny, co staje się bardziej zauważalne w tej grupie pacjentów w porównaniu do dzieci dłużej chorujących na cukrzycę.

Bardzo interesujące były uzyskane wyniki oceny poziomu bioleptyny, który był statystycznie wyższy w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą w porównaniu do dzieci z cukrzycą długotrwałą źle wyrównaną, ale niższy niż u dzieci zdrowych. W grupie pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą poziom bioleptyny był istotnie wyższy u dzieci z prawidłową masą ciała, nadwagą i otyłością niż w grupie dzieci z niedowagą. Stwierdzono silną dodatnią

korelację między poziomem bioleptyny a masą ciała i BMI w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą. Doktorantka bardzo dobrze wyjaśnia uzyskane wyniki swoich badań właściwościami leptyny, która zwiększa wrażliwość na insulinę w tkankach obwodowych, takich jak mięśnie i wątroba, co nasila transport glukozy do komórek i jej metabolizm. Ponadto redukuje produkcję glukozy w wątrobie poprzez hamowanie glukoneogenezy i działa na poziomie transkrypcji genów kodujących kluczowe enzymy tego procesu. Dodatkowo, poprzez hamowanie apetytu może pośrednio wpływać na poziom glukozy we krwi.

Doktorantka słusznie sugeruje, że leptyna u osób z cukrzycą typu 1 może wspierać metabolizm glukozy i pomagać w utrzymaniu odpowiedniej masy ciała, co wydaje się istotne dla pacjentów zwłaszcza tych, którzy mogą być podatni na przyrost masy ciała z powodu terapii insulinowej. Wyniki przeprowadzonych badań mogą wskazywać, że leptyna może mieć potencjalne zastosowanie terapeutyczne w leczeniu DM1, ale wymaga to dalszych badań również na poziomie molekularnym.

Publikacja 2

Methylation status of leptin receptor gene promoter in obese children. Jakubek-Kipa K, Potocka P, Skrzypa M, Dembiński Ł, Zawlik I, Mazur A. *Pediatrics Polska*. 2020;95(2):86-91. doi: 10.5114/polp.2020.97117.

Przeanalizowano próbki krwi pobrane od 50 dzieci z otyłością. W badanym materiale nie stwierdzono różnic w metylacji w dwóch badanych wyspach CpG w regionie promotora genu receptora leptyny. Doktorantka wyjaśnia, że brak tych różnic może wynikać z faktu, że materiałem badanym była krew, a nie tkanka tłuszczowa, która jest materiałem trudnym do pozyskania szczególnie u dzieci. Brak obecności metylacji być może wynika również z faktu, iż badaniu poddano populację pediatryczną a pojawienie się zmian epigenetycznych może wymagać dłuższego czasu stosowanie nieprawidłowej diety. Zdanie Recenzenta jest spójne ze zdaniem Doktorantki, że chociaż w przeprowadzonych badaniach nie wykazano obecności metylacji to należy prowadzić dalsze badania w tym kierunku w celu zrozumienia mechanizmów metylacji genu *LEPR* oraz czynników wpływających na ten proces, co w przyszłości może pomóc w opracowaniu nowych strategii terapeutycznych w leczeniu otyłości.

Publikacja 3

Role of chemerin in the metabolic regulation of type I diabetes in children. Jakubek-Kipa K, Galiniak S, Mazur A. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*. 2024;20(2):209-214. doi: 10.15557/PiMR.2024.0030.

W analizowanym materiale nie obserwowano różnic statystycznych w poziomie chemeryny w badanych grupach dzieci. Nie stwierdzono różnic w poziomie chemeryny w zależności od percentyla BMI. Zaobserwowano ujemną korelację między stężeniem chemeryny a wiekiem w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą i długotrwałą dobrze wyrównaną. Nie stwierdzono korelacji między stężeniem chemeryny a stężeniem HbA1c, cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, HDL i trójglicerydów w badanych grupach pacjentów.

Przedłożona mi do ocena rozprawa doktorska zawiera wyniki badań, które dostarczają nowych informacji na temat leptyny, bioleptyny i chemeryny wśród dzieci z cukrzycą typu 1 z różnym stopniem kontroli cukrzycy oraz metylacji w zakresie *LEPR* wśród dzieci z chorobą otyłościową należy wspomnieć o kilku ograniczeniach przeprowadzonych badań. Tak jak Doktorantka słusznie wyjaśnia było to spowodowane pojawieniem się w trakcie rekrutacji pacjentów pandemii COVID-19, która uniemożliwiła zebranie większych grup pacjentów, bardziej jednorodnych pod względem wieku, metod leczenia, poziomu wyrównania metabolicznego i długości trwania choroby. **Należy jednak podkreślić, że dużą wartością przeprowadzonych badań jest podjęcie próby zrozumienia indywidualnych predyspozycji genetycznych i epigenetycznych w chorobie otyłościowej oraz mechanizmów molekularnych zaangażowanych w działanie leptyny, bioleptyny i chemeryny, które w niedalekiej przyszłości może prowadzić do opracowania nowych strategii terapeutycznych w leczeniu cukrzycy typu 1. Odwracalny charakter modyfikacji epigenetycznych jest obiecujący dla przyszłych strategii terapeutycznych w otyłości. Personalizacja leczenia na podstawie profilu epigenetycznego pacjenta mogłaby poprawić skuteczność interwencji, dobierając odpowiednią dietę, aktywność fizyczną i leczenie farmakologiczne.** Doktorantka podkreśla, że obecnie trwają badania nad lekami, które mogą modulować aktywność enzymów odpowiedzialnych za metylację DNA (np. metylotransferaz DNA). Inhibitory tych enzymów mogłyby przywrócić normalny wzorzec metylacji, co w rezultacie daje szansę na poprawę funkcjonowania genów związanych z metabolizmem i może zmniejszyć masę ciała. Co więcej będzie możliwe opracowanie bardziej precyzyjnych i spersonalizowanych terapii opartych na profilach epigenetycznych pacjentów.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Jakubek-Kipy, którą przedstawiła w cyklu 3 publikacji spełnia formalne wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych, w tym prezentuje wysoką wiedzę w zakresie

diabetologii Doktorantki oraz Jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Pragnę ponadto podkreślić, że przedstawione w nich wyniki badań mają dużą wartość kliniczną. Uznanie recenzenta budzi duża wiedza, wnikliwość naukowa i kliniczna, umiejętność działania w zespołach lekarskich, które pozwoliły na prawidłowo zaplanowane i przeprowadzone badania przy bardzo dobrym wykorzystaniu metod badawczych. Wyniki badań lek. Katarzyny Jakubek-Kipy mają także duże implikacje kliniczne, terapeutyczne i prognostyczne.

Przedstawiona rozprawa doktorska mgr Sabiny Krzyżowskiej spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2023 r., poz. 742 z późn. zm.), dlatego wnioskuję do Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej, według stosownych wymagań i przepisów prawa.

Wykazane przez Doktorantkę w czasie realizacji pracy doktorskiej prawidłowe myślenie, wysoce profesjonalne wykorzystanie dostępnych badań biochemicznych, immunologicznych dla rozwiązywania postawionych sobie zadań badawczych oraz poprawność merytoryczna i rzetelność ich wykonania, uzasadniają wniosek o wyróżnienie wyżej wymienionej pracy.

