Recenzja rozprawy doktorskiej
lek. Anny Zielińskiej- Maciulewskiej
pt." Ocena stężenia betatrofiny, hormonów tarczycy oraz parametrów insulinooporności u zdrowych kobiet w ciąży i po porodzie".

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek Anny Zielińskiej- Maciulewskiej oparta jest na cyklu, składającym się z dwóch publikacji, jednej oryginalnej zatytułowanej „Levels of betatrofin decrease during pregnancy despite increased insulin resistance,beta-cell function and triglyceride levels", w czasopiśmie Diabetes and metabolism 42 (2016) 409-415 oraz pracy poglądowej zatytułowanej „ Insulin resistance and adaptation of pancreatic beta cells during pregnancy" opublikowanej w czasopiśmie Clinical Diabetology2018; 7: 5: 222-229. W obu tych pracach Kandydatka jest pierwszym autorem. Łączna punktacja ministerialna tych prac wynosi 40 p. MNiSW, a współczynnik IF pracy oryginalnej wynosi 4,101.

Zagadnienie przedstawione w omawianej rozprawie, czyli insulinooporność w ciąży budzi nieprzerwanie olbrzymie zainteresowanie naukowców, m.in. z uwagi na fakt, że w III trymestrze ciąży osiąga ona stopień porównywalny do chorych z cukrzycą typu 2. Wynika to z faktu, że ciągle nie do końca poznane są mechanizmy regulujące to zjawisko, jak również nie do końca wiemy, co bardziej wpływa na rozwój insulinooporności, metabolizm ciężarnej, czy funkcja łożyska??

W związku z tym rozprawa lek. Zielińskiej- Maciulewskiej wpisuje się swoją tematyką w pełni w to zagadnienie.

Autorka we wstępie rozprawy wyjaśnia na czym polega zjawisko insulinooporności, dalej omawia zmiany zachodzące w ciąży, które przyczyniają się do jej narastania. Zwraca uwagę, że u zdrowych kobiet w czasie trwania ciąży dochodzi do stopniowego wzrostu insulinooporności pod wpływem działania hormonów produkowanych przez łożysko: laktogenu łożyskowego, estrogenów, progestagenów, gonadotropiny kosmówkowej, hormonu wzrostu, prolaktyny i kortyzolu, a także z uwagi na fakt, że produkuje ono znaczne ilości cytokin, które produkowane są również przez tkankę tłuszczową, czyli adipokin jak np. leptyna, czy czynnik martwicy nowotworów α (TNFα). Ciążowej insulinooporności towarzysza tez zmiany w stężeniach lipidów, określane mianem zmian aterogennych;

W stosunku do typowego zespołu metabolicznego nie obserwuje się w ciąży spadku stężenia frakcji HDL-cholesterolu.

Innym zagadnieniem, na które zwróciła uwagę Doktorantka we wstępie są zmiany stężeń hormonów tarczycy wynikające z aktywności gonadotropowej kosmówkowej gonadotropiny. Pod wpływem wysokich stężeń gonadotropiny kosmówkowej u niektórych kobiet pod koniec pierwszego trymestru może dochodzić nawet do objawów do tyreotoksykozy ciążowej. Doktorantka zwraca uwagę, że pojawiły się doniesienia, sugerujące, że mogą one wpływać również na rozwój insulinooporności w ciąży.

W kolejnej części wstępu Doktorantka pisze o betatrofinie, o niedawno odkrytym hormonie, mającym silną zdolność do indukcji produkcji insuliny przez komórki beta trzustki, należącej do rodziny ANGPTL (angiopoietin-like protein family). Produkowana jest ona głównie w wątrobie i w tkance tłuszczowej. Zwiększone jej stężenie stwierdzono u pacjentów z cukrzycą typu 2, otyłością oraz cukrzycą ciążową. Doktorantka pisze, że w badaniach eksperymentalnych wykazano, że betatrofina poprawia funkcję komórek beta, poprawia tolerancję glukozy i jest związana z insulinooprnością, a także że wpływa ona na metabolizm lipidów, a w szczególności triglicerydów.

W swojej rozprawie doktorskiej lek. Anny Zielińskia- Maciulewska postawiła hipotezę, że ponieważ betatrofina poprawia funkcję komórek beta podczas narastania insulinooporności, to jej stężenie będzie wzrastało w kolejnych trymestrach ciąży i obniżało się po porodzie. Z tej hipotezy wyniknęły dwa cele badawcze:

1. Ocena związku pomiędzy stężeniem betatrofiny a insulinoopornością, stężeniem lipidów i hormonów tarczycy u zdrowych kobiet w każdym trymestrze ciąży i po porodzie.

2. Pogłębienie wiedzy dotyczącej patogenezy insulinooporności u kobiet w ciąży.

Pierwsza praca w cyklu, zatytułowana **„Levels of betatrophin decrease during pregnancy despite increased insulin resistance, beta-cell function and triglyceride levels"**, autorstwa: A. Zielińskiej, i wsp. jest pracą zespołową, w której z oświadczeń współautorów wynika, że Doktorantka miała 72% wkład w jej powstanie, brała udział w

koncepcji badania, we wszystkich etapach badania, prowadziła analizę statystyczną i przygotowała manuskrypt. Wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie zarówno tej, jak i kolejnej pracy w rozprawie doktorskiej Doktorantki.

Należy podkreślić, że przedstawiona w rozprawie praca miała charakter badania prospektywnego, kliniczno-kontrolnego. Do badania włączono 80 zdrowych kobiet w ciąży i 30 zdrowych kobiet niebędących w ciąży, dobranych pod względem wieku i BMI, które zgłosiły się na badanie dobrowolnie do Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych USK w Białymstoku. Kryterium wykluczającym były: ciąża mnoga, rozpoznanie cukrzycy ciążowej, zaburzenia funkcji tarczycy.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku nr R-I-002/264/2015. Każda pacjentka podpisała świadomą zgodę na udział w badaniu, po zapoznaniu się z informacją o badaniu i rozmowie z lekarzem prowadzącym badanie.

Kobiety w ciąży były badane w każdym trymestrze, a 45 z nich zgłosiło się również 3 miesiące po porodzie. U wszystkich kobiet w ciąży pomiędzy 24 a 28 tygodniem ciąży wykonano doustny test obciążenia 75g glukozy (OGTT) wg kryteriów WHO. Do badania włączono tylko ciężarne z prawidłowym wynikiem Ponownie OGTT wykonano 3 miesiące po porodzie. Wskaźnik insulinooporności - HOMA-IR i wskaźnik czynności komórek beta trzustki - HOMA%β zostały wyliczone za pomocą odpowiednich wzorów. Stężenie betatrofiny było oznaczone metodą ELISA, stężenie glukozy metodą hexokinazy, insuliny metodą IRMA, peptyd-C metodą EASIA, hemoglobina glikowana (HbA1c) metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Stężenie cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL, triglicerydów, TSH, FT3, FT4 oznaczone zostało na analizatorze Architect. Badania statystyczne zostały przeprowadzone przy pomocy odpowiednich narzędzi statystycznych.

Myślę, że ku zaskoczeniu samej Autorki stężenie betatrofiny podczas ciąży istotnie obniżało się pomimo obserwowanej narastającej insulinooporności i wzrostu stężenia parametrów lipidowych, a po porodzie jej stężenie istotnie wzrastało i było porównywalne do kobiet nie będących w ciąży.

Zgodnie z oczekiwaniami stężenie insuliny na czczo, peptydu-C, HOMA-IR, HOMA%β istotnie zwiększały się w trakcie ciąży, osiągając najwyższe wartości w ostatnim trymestrze

ciąży i istotnie obniżyły się trzy miesiące po porodzie. W okresie ciąży Autorka stwierdziła istotny wzrost stężenia cholesterolu całkowitego, LDL-cholesterolu oraz triglicerydów. Natomiast nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji stężenia betatrofiny ze stężeniem lipidów. Również nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w stężeniu betatrofiny, HOMA-IR, HOMA%β, lipidów, glukozy i HbA1c pomiędzy położnicami i kobietami z grupy kontrolnej.

W celu określenia wpływu hormonów tarczycy na stężenie betatrofiny Autorka oznaczyła stężenie TSH, FT3, FT4 i stwierdziła dodatnią korelację stężenia betatrofiny z TSH w pierwszym trymestrze ciąży oraz ujemną korelację ze stężeniem FT4 w drugim trymestrze ciąży.

Autorka w dyskusji odnosi się bardzo umiejętnie do uzyskanych wyników, odnosząc się do bardzo aktualnego piśmiennictwa. Większość z cytowanych 32 prac zostało opublikowanych po 2010 roku. Opisane zmiany w stężeniach glikemii, insuliny i parametrów lipidowych w przebiegu ciąży są bardzo ciekawym studium zmian, jakie toczą się w organizmie kobiety w czasie ciąży. Ciekawa choć dla mnie nie do końca łatwa do wytłumaczenia jest obserwacja, że zmiana stężenia betatrofiny korelowała pozytywnie ze zmianą masy ciała ciężarnej między pierwszym a drugim trymestrem ciąży, a takiej korelacji nie wykazano między drugim, a trzecim trymestrem, kiedy przyrost masy ciała był większy. W mojej ocenie może to mieć związek z faktem, że w drugiej połowie ciąży przyrost masy ciała jest bardziej zależny od masy ciężarnej, a nie od zmiany funkcji łożyska. Może stężenie betatrofiny zależy od stężenia gonadotropiny kosmówkowej. Nie umiem znaleźć też wyjaśnienia dlaczego stężenie betatrofiny korelowało negatywnie z wiekiem badanych ciężarnych i w dyskusji nie znalazłam odniesienia się Autorki do tego faktu.

Autorka wysunęła ciekawa hipotezę, że być może hormony tarczycy mogą mieć wpływ na stężenie betatrofiny, co mogłoby mieć uzasadnienie również w fakcie najwyższego jej stężenia w pierwszym trymestrze i zależności od stężenia gonadotropiny kosmówkowej, jednak w tym okresie obserwujemy raczej objawy tyreotoksykozy a nie niedoczynności tarczycy. Tak więc rola hormonów tarczycy w metabolizmie betatrofiny w tym względzie pozostaje nadal niejasna.

W dyskusji pracy zabrakło mi próby odniesienia się do faktu, że po porodzie znamiennie spadło stężenie triglicerydów u badanych kobiet, podczas gdy żaden inny parametr, ani masa ciała, ani glikemia, czy pozostałe parametry lipidowe nie uległy obniżeniu, a nawet nieco ich stężenie się podniosło.

W podsumowaniu pracy Autorka postawiła trzy wnioski, które odpowiadają postawionemu celowi:

1. Stężenie betatrofiny istotnie obniża się podczas ciąży pomimo narastającej insulinooporności i czynności komórek beta, ocenianej za pomocą wskaźnika HOMA-IR oraz HOMA%β.
2. Nasze wyniki sugerują, że betatrofina prawdopodobnie nie wpływa istotnie na funkcję komórek beta podczas narastającej insulinooporności w ciąży.
3. Istotne korelacje betatrofiny z hormonami tarczycy w naszym badaniu mogą sugerować, że to one mogą mieć również wpływ na stężenie betatrofiny.

Drugiemu celowi rozprawy służy praca poglądowa, zatytułowana: **Insulin Resistance and adaptation of pancreatic beta cells during pregnancy''**, autorstwa A. Zielińskiej - Maciulewskiej i wsp., opublikowana w czasopiśmie Clinical Diabetology 2018; 7, 5: 222-229. Udział Doktorantki, zgodnie z jej deklaracją i deklaracją współautorów jest 80% i polegał na przeglądzie piśmiennictwa i przygotowaniu manuskryptu. Autorka postawiła sobie za cel w tej pracy omówienie piśmiennictwa zajmującego się insulinoopornością w ciąży, a szczególnie kwestią czynników nasilających insulinooporność i wpływających na modyfikacje funkcji komórek beta trzustki oraz omówieniem metod pozwalających badać insulinooporność w ciąży. Autorka w swoim artykule opiera się na 98 publikacjach z najlepszych ośrodków na świecie, zajmujących się problemami insulinoopornosci zarówno u ludzi, jak i u zwierząt.

W pracy tej omówiona została patogeneza cukrzycy ciążowej, jako przykładu zespołu insulinooporności, dalej Doktorantka omawia metody badania insulinooporności, zwracając uwagę, że dla badania insulinowrażliwości w ciąży najbardziej przydatnym wydaje się być obliczenie NEFA-index. W kolejnej części pracy Doktorantka omawia czynniki wpływające na stopień insulinooporności w ciąży, zwracając uwagę na rolę szeregu adipocytokin w modulacji tego zespołu.

Praca ta zawiera 8 stron, a kończy ją 98 pozycji piśmiennictwa, które autorka umiejętnie cytuje. Z pozycji recenzenta chciałabym zwrócić uwagę, że szkoda iż Doktorantka tak rzadko cytuje polskich autorów, a jest ich niemało w dostępnym piśmiennictwie.

Uwagi recenzenta dotyczą kilku kwestii edytorskich:

1. W pracy oryginalnej (w jej polskim omówieniu) są trzy wnioski, a w streszczeniu rozprawy tylko jeden

2. Doktorantka osługuje się w omówieniu polskim często żargonem naukowym, typu badano TSH, FT3,FT4, korelcję batatrofiny z TSH, czy medianę betatrofiny, zamiast badano stężenia, obliczono korelacje stężenia betatrofiny ze stężeniem TSH, czy wyliczono medianę stężenia betatrofiny.
3. Niespójny jest też sposób cytowania piśmiennictwa w omówieniu (str. 14), pozycja 1,2, 5, 8, itd.

Podsumowując recenzję pragnę stwierdzić, że przedstawione mi dwie prace do recenzji stanowiące cykl prac będący rozprawą doktorską lek. Anny Zielińskiej- Maciulewskiej spełniają wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Doktorantka wykazała się umiejętnością stawiania sobie celów badawczych, ich rozwiązania, dokonania analiz statystycznych i wyciagnięcia wniosków, a także umiejętnością dyskutowania wyników z dostępnym piśmiennictwem.

Kilka uwag edytorskich nie umniejszają wartości rozprawy i w związku z tym pozwalam sobie wnosić do Rady Wydziału, Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim w Białymstoku o dopuszczenie lek. Anny Zielińskiej- Maciulewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 26.04. 2019

Prof. dr hab. Ewa Wender- Ożegowska