

Opinia

O rozprawie doktorskiej mgr Mateusza Karni pt. "Wpływ endogennych glikokortykoidów na metabolizm tlenowy i atrofię mięśnia szkieletowego".

Promotorem jest dr hab. Jan Kaczor, prof. AWFIS,

Promotorem pomocniczym jest dr Dorota Myślińska

W skład dokumentacji wchodzi „Autoreferat” oraz trzy publikacje. Autoreferat przygotowano starannie. Publikacje są zwarte tematycznie. Wszystkie zostały opublikowane w jęz. angielskim, w czasopismach międzynarodowych. Ich łączny IF wynosi 14.178 a punktacja MEiN 380. Jest to punktacja bardzo wysoka. Celem rozprawy jest (cytuję Autora):

1. Ocena wpływu podwyższonego poziomu endogennych glikokortykoidów na parametry metabolizmu tlenowego oraz stresu oksydacyjnego w mięśniu szkieletowym.
2. Ocena wpływu chronicznej reakcji stresowej na parametry atrofii mięśnia szkieletowego.

Doktorant sformułował też hipotezę badawczą, a mianowicie zamierzał zbadać czy podwyższony poziom endogennych glikokortykoidów:

- a) zaburza funkcjonowanie metabolizmu tlenowego,
- b) indukuje stres oksydacyjny
- c) przyczynia się do atrofii mięśnia szkieletowego

Zdawałoby się, że zagadnienia stresu a także różnic pomiędzy typami mięśni szkieletowych zostały przebadane tak dokładnie, że trudno jest cokolwiek dodać. A jednak mgr Karnia wykazał, że można dodać dużo i to bardzo ważnych danych.

Kluczem „Rozprawy” są słowa: „endogenne glikokortykoidy”. Autor słusznie twierdzi, że dotychczas stosowany sposób podwyższania stężenia kortyzolu/kortykosteronu we krwi polegał najczęściej na podawaniu jednego z preparatów tego hormonu. Hormon wywoływał stosowne wpływy na tkanki obwodowe, lecz równocześnie hamował wydzielanie ACTH. A więc uzyskanych danych nie można przenosić na sytuację stresową. Stres, bowiem, aktywuje oś: podwzgórze - przedni płat przysadki mózgowej - kora nadnerczy - tkanka docelowa. Doktorant wybrał inną, w moim przekonaniu bardzo słuszną drogę, a mianowicie zastosował model ciągłej (28 dni) stymulacji jądra łożyskowego prążka krańcowego (BST). Prowadzi to do aktywacji wzmiankowanej osi w sposób, który najlepiej odzwierciedla zaangażowanie całej drogi fizjologicznej. Model ten zastosował w pracach 1 i 2 z cyklu. Jego skuteczność sprawdzał przez pomiar stężenia kortykosteronu (jest to główny glikokortykoid u szczurów) we krwi. Po dwóch tygodniach stymulacji poziom kortykosteronu w osoczu zwiększył się nieistotnie zaś po czterech tygodniach zwiększył się około pięciokrotnie w stosunku do wartości kontrolnej (szczury operowane lecz bez stymulacji). W publikacji nr 3 zastosowano inny model przewlekłej sytuacji stresowej (28 dni). Polegał on na zmuszaniu zwierząt do przebywania 1godz/dobę w szklanej klatce, na podłodze której znajdowała się warstwa wody o grubości 1cm i temperaturze 1-4°C. Do działania zimna dołączał się w tym modelu stres psychiczny, którym była niewątpliwie niemożność wydostania się z zimnej wody. O skuteczności zastosowanego modelu stresu świadczy znaczący wzrost poziomu kortykosteronu we krwi.

Pierwsza praca cyklu nosi tytuł: „The electrical stimulation of the bed nucleus of the stria terminalis causes oxidative stress in skeletal muscle of rats”. Praca ukazała się w czasopiśmie: „Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2018: 4671213” (IF - 5.076, MEiN - 100 punktów). Do badań pobierano krew, mięsień płaszczkowaty (m. soleus) oraz mięsień prostownik palców długi (EDL). Mięsień płaszczkowaty jest mięśniem wolno-kurczącym się tlenowym. Wytwarza on ATP na drodze przemian tlenowych. Mięsień EDL jest mięśniem szybko-kurczącym się, który wytwarza ATP głównie na drodze przemian beztlenowych. Wykazano, że stymulacja BST przez okres czterech tygodni zwiększyła kilkakrotnie, w obu mięśniach, poziom dwóch markerów wolno-rodnikowego uszkodzenia lipidów, a mianowicie aldehydu malonowego oraz 8-izoprostanów. Stymulacja trwająca dwa tygodnie nie wywarła żadnego wpływu na poziom tych związków. Poziom grup sulfhydrylowych (jako miernika

wolno-rodnikowego uszkodzenia białek) uległ obniżeniu jedynie w m. EDL i nie uległ zmianie w m. soleus. Poziom dwusiarczku glutationu (GSSG) w m. soleus uległ zwiększeniu jedynie po czterech tygodniach stymulacji. Natomiast poziom tego związku w m. EDL uległ zwiększeniu po dwóch tygodniach stymulacji i nie uległ dalszej zmianie po czterech tygodniach. Stres zwiększył całkowitą aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) jedynie w m. EDL. Aktywność Cu/Zn SOD uległa zwiększeniu w m. EDL zaś aktywność izoformy mitochondrialnej (MnSOD) tego enzymu wzrosła w obu mięśniach. Aktywność katalazy oraz peroksydazy glutationowej uległa zwiększeniu w obu mięśniach. Autorzy wnioskują, że mięsień o glikolitycznym torze przemian jest bardziej podatny na uszkadzające działanie stresu niż mięsień o tlenowym torze przemian. Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę Autorów, że chroniczna stymulacja BST wywołuje odpowiedź ze strony bariery antyoksydacyjnej i produktów stresu oksydacyjnego w mięśniach szkieletowych. Wskazują też, że zastosowany model może być użyteczny do badania stanów przewlekłego stresu.

W pracy zatytułowanej: „BST stimulation induces atrophy and changes in aerobic energy metabolism in rat skeletal muscles-the biphasic action of endogenous glucocorticoids”. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 2787. (IF 4.556, MEiN 140). Celem tej pracy było zbadanie wpływu przewlekłego stresu na mechanizm atrofii mięśni szkieletowych oraz jego wpływu na tlenowy tor przemian w tych mięśniach. Poziomy receptorów: glikokortykoidowego (GR) i mineralokortykoidowego (MR) w każdym z typów mięśni w grupie kontrolnej były podobne do siebie. Z tym, że poziomy w m. soleus były kilkakrotnie wyższe niż w m. EDL. Wpływ stresu zależał zarówno od czasu jego trwania jak też od typu receptora. Stres dwutygodniowy zwiększył istotnie poziomy obu receptorów w m. soleus i nie wpłynął na ich poziomy w m. EDL. Stres trwający cztery tygodnie nie zmienił poziomu receptorów GR w stosunku do wartości po dwóch tygodniach w m. soleus i spowodował ich znaczne zmniejszenie w m. EDL. Jeśli chodzi o receptor MR to stres trwający 2 tyg. nie zmienił jego poziomu w żadnym z mięśni, natomiast stres trwający 4 tyg. zwiększył ten poziom, z tym, że wzrost w m. EDL był ponad dwukrotnie wyższy niż w m. soleus. Badano też wpływ stresu na poziom obu izoenzymów HSD11B1. Enzym ten katalizuje przemianę nieczynnego kortyzonu do kortyzolu lub kortykosteronu. Stres trwający 2 tyg. nie wpłynął poziom żadnego tych izoenzymów w żadnym z mięśni. Uległy one znacznemu wzrostowi po 4 tyg. stresu. Poziom atroginy 1, markera atrofii mięśnia, zwiększył się w m. soleus po 4 tyg. stymulacji. Podobnie

zachował się poziom IGF-1. Aktywność syntazy cytrynianowej uległa niewielkiemu, chociaż istotnemu wzrostowi w m. soleus po 4 tyg. stresu. Poziom irisyny we krwi wzrastał stopniowo w miarę przedłużania stresu. Przedstawiono też dwa własne, klarowne schematy mechanizmu działania endogennego kortykosteronu uwalnianego w czasie długotrwałego stresu. Jeden wspólny dla obu typów mięśni zaś drugi tylko dla m. soleus. Jest to kompleksowa praca. Wydaje mi się, że najważniejszymi wynikami tej pracy są dane o zachowaniu się poziomu receptorów GR i MR w obu typach mięśni w czasie długotrwałego stresu.

Tytuł trzeciej pracy brzmi: „The positive impact of vitamin D on glucocorticoids-dependent skeletal muscle atrophy”. „Nutrition” 2021, 13, 936 (IF 4.546, MEIN 380). Witamina D wywiera silne działanie anty-kataboliczne. Istnieją przekonujące dane, że hormon ten zapobiega sarkopenii i hamuje rozwój atrofii mięśnia. Celem ocenianej pracy jest zbadanie roli tej witaminy w prewencji atrofii powodowanej przez długotrwałe podawanie deksametazonu a także przez przewlekły stres. Doświadczenia przeprowadzono na szczurach. W ocenianej pracy użyto innej metody do wywoływania stresu. Wzmiankowałem o niej na początku „Opinii”. Przewlekłe (28 dni) działanie stresu spowodowało kilkakrotny wzrost poziomu kortykosteronu we krwi zarówno w grupie otrzymującej placebo jak też w grupie otrzymującej witaminę D₃. Oznaczano stężenie metabolitów witaminy D₃ we krwi tak w grupie poddanej działaniu zimna jak też deksametazonu. Przewlekły stres, pomimo znacznego zwiększenia poziomu kortykosteronu, nie wpłynął ani na masę ciała ani też na masę poszczególnych mięśni. Doktorant sądzi, że ten zaskakujący fakt można częściowo wyjaśnić nasileniem lipogenezy i zwiększeniem masy tkanki tłuszczowej brunatnej. Wydaje się jednakże, że należy uwzględnić też fakt, że zimna woda wymuszać mogła zwiększanie termogenezy poprzez mimowolną aktywność skurczową mięśni. A aktywność skurczowa jest silnym stymulatorem syntezy białka. Gdyby ta wersja była prawdziwa to zwiększone działanie proteolityczne kortykosteronu mogło być równoważone przez zwiększoną syntezę białka. Deksametazon zmniejszał masę szeregu mięśni, lecz szczury przebywały w temperaturze pokojowej a więc aktywność skurczowa mięśni nie ulegała zmianie. Suplementacja witaminą D₃ zapobiegła zmniejszeniu masy jedynie w m. soleus i nie wpłynęła na wielkość spadku masy kilku innych badanych mięśni. Zwraca uwagę, że witamina D₃ nie wpłynęła na wielkość spadku masy m. czworogłowego uda po podawaniu deksametazonu.

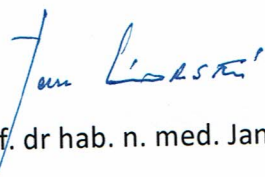
Jest to wprawdzie mięsień szybko-kurczący się lecz o dużej zdolności do przemian tlenowych.

Podsumowanie

Jednoznacznie popieram wniosek o nadanie mgr Mateuszowi Karni stopnia doktora nauk w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauk o kulturze fizycznej. Mgr Mateusz Karnia przedłożył rozprawę doktorską zatytułowaną: „Wpływ endogennych glikokortykoidów na metabolizm tlenowy i atrofię mięśnia szkieletowego”. Na rozprawę składa się Autoreferat oraz trzy publikacje w czasopismach międzynarodowych. Łączny IF tego zbioru wynosi 14.178 a liczba punktów MEiN wynosi 380. Jest to wysoka punktacja i świadczy ona o bardzo wysokim poziomie naukowym tych publikacji. W pierwszych dwóch publikacjach cyklu zastosowano, po raz pierwszy, przewlekłą stymulację jądra łożyskowego prążka krańcowego (BST) do badania skutków przewlekłej aktywacji osi: podwzgórze, przedni płat przysadki mózgowej, kora nadnerczy, tkanki docelowe. Jest to model fizjologiczny przewlekłego stresu. Potwierdzeniem tego jest znaczny wzrost stężenia endogenego kortykosteronu we krwi zwierząt po 28 dniach stymulacji tego jądra. Model ten ma znaczną przewagę nad stosowanym najczęściej stosowaniem egzogenego glikokortykoidu do badania wpływu skutków tkankowych działania przewlekłego stresu. Wykazano m.in., że przewlekła stymulacja tego jądra wywołuje rozległe zmiany w funkcjonowaniu bariery antyoksydacyjnej oraz zachowaniu się poziomów produktów stresu oksydacyjnego w mięśniach. Z tym, że zmiany w mięśniu o glikolitycznym torze przemian są mniejsze niż w mięśniu o tlenowym torze przemian. Stwierdzono, że stymulacja BST wpływa na liczbę receptorów glikokortykoidowych i mineralokortykoidowych w mięśniach a wielkość zmian zależy od typu mięśnia oraz czasu działania stresora. Wykazano, że suplementacja witaminą D₃ przeciwdziała atrofii mięśnia płaszczkowego po chronicznym podawaniu deksametazonu. Uważam, że wyniki przedstawione w każdej z prac cyklu wnoszą nowe, ważne dane do naszej wiedzy o mechanizmach i skutkach działania przewlekłego stresu na ustrój. Wysoka wartość naukowa rozprawy uzasadnia całkowicie powyższy wniosek.

Wnoszę również o wyróżnienie rozprawy. Za tym wnioskiem przemawia przedstawiona wyżej bardzo wysoka ocena jej wartości naukowej. Podkreślić też należy, że Doktorant jest

pierwszym autorem w każdej z prac cyklu. Świadczy to najlepiej o Jego wiodącym wkładzie w powstanie tych publikacji.

A handwritten signature in blue ink, reading "Jan Górski". The signature is written in a cursive style, with the first letter "J" being particularly large and stylized.

Prof. dr hab. n. med. Jan Górski