

Bieruń, 24.05.2022 r.

**dr hab. Krzysztof Ficek, prof. AWF Katowice**

Katedra Fizjoterapii w Dysfunkcjach Narządu Ruchu i Medycyny Sportowej

Instytut Nauk o Sporcie

Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

### **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**Mgr Jakuba Młosta**

#### **Role of the endocannabinoid system in osteoarthritis pathophysiology: peripheral and central mechanisms of action of novel drugs with therapeutic potential**

Przedstawiona do recenzji rozprawa porusza tematykę zmian zwyrodnieniowych narządu ruchu oraz skuteczność wybranego postępowania terapeutycznego. Powszechność procesu zwyrodnienia stawów jest przypisana egzystencji ludzkiej, ale to jego narastająca dokuczliwość jest najtrafniejszym uzasadnieniem wyboru tematu pracy.

Pomimo medialnego dowartościowania aktywności fizycznej z podkreśleniem jej prozdrowotnych zalet wciąż obserwuje się narastanie liczby pacjentów z osteoartrozą dużych stawów z prymatem stawów kolanowych. Zwłaszcza po okresie pandemicznej (COVID 19) nauki i pracy zdalnej. Arbitralnie wskazuje to w większości przypadków na znaczenie zaniedbania ruchowego prowadzącego lokalnie do atrofii chrząstki, deformacji kości podchrzęstnej i sztywności tkanek miękkich aparatu lokomocji, a globalnie do zmniejszenia jakości życia przez utratę samodzielności ruchowej, niezależności oraz samoobsługi, zwłaszcza osób starszych w czynnościach życia codziennego. Często temu towarzyszy nadwaga lub otyłość, insulinooporność, zaburzenia kardiologiczne, naczyniowe i endokrynologiczne. Wszystko to powoduje że naturalnie powstaje podzbiór pacjentów za zmianami zwyrodnieniowymi stawów nazywany ortopedią metaboliczną.

Mimo koncentracji Doktoranta na najbardziej dojmującym aspekcie choroby zwyrodnieniowej narządu ruchu jakim jest ból będący najczęstszą przyczyną zgłaszania się

pacjentów po pomoc do instytucji ochrony zdrowia, podkreślono znaczenie stanu zdrowia psychicznego pacjentów i kondycji mentalnej, jako czynników mających istotne znaczenie w oczekiwaniu na efekty terapii.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana Jakuba Młosta składa się z cyklu 4 oryginalnych monotematycznych artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach, których łączny Impact Factor wynosi 21,10 punktów. Załączone artykuły poprzedzone zostały spisem treści, wyjaśnieniem skrótów oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim, a także 17 stronicowym wstępem, w którym autor wskazuje na najważniejsze zagadnienia poruszane w swojej pracy. Rozprawa zwieńczona jest dyskusją oraz podsumowaniem ze sformułowanymi wnioskami. Układ pracy spełnia wymagania stawiane rozprawie doktorskiej stworzonej na podstawie cyklu publikacji. Całość pracy jest spójna, a przedstawione manuskrypty ukazują logiczną kontynuację prowadzonych przez Doktoranta badań. W rozprawie umieszczono także informacje o zgodach współautorów artykułów w sprawie wykorzystanie ich w pracy doktorskiej mgr J. Młosta, a także deklaracji, że zawarte w nich wyniki nie zostaną przez nich wykorzystane do uzyskania stopni naukowych.

Wszystkie prezentowane w rozprawie doświadczenia wykonano na stawach kolanowych szczurów. Osteoartrozę prowokowano poprzez dostawową iniekcję jodooctanu monosodowego, a przeprowadzenie wszystkich doświadczeń poprzedzone było uzyskaniem zgody Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach.

**Zasadniczy nurt badań** był skierowany na opracowanie różnych strategii terapeutycznych opierających się na aktywacji ECS. W tym celu skupiono się na związkach zwiększających poziom endogennych kanabinoidów, selektywnych agonistach receptora CB2 oraz fitokannabinoidach. W przeprowadzonych badaniach wykorzystano testy behawioralne określające wrażliwość na ból, analizę biochemiczną *ex vivo* określającą poziom ekspresji mRNA, lub poziom przekaźników monoaminowych w mózgu, barwienia histologiczne, oraz mikrotomografię komputerową stawu kolanowego a także metody bioinformatyczne.

Badania przedstawione w rozprawie przeprowadzone w zwierzęcym modelu OA wykazały istotne zaburzenia transmisji dopaminergicznej. Dodatkowo, wykazano, że zahamowanie rozkładu endokannabinoidów prowadzi do przywrócenia prawidłowej transmisji dopaminergicznej w zwierzęcym modelu osteoartrozy, jednak nie ma ona wpływu u zwierząt zdrowych. Powiązanie mechanizmów bólowych z mezolimbicznym układem nagrody,



a szczególnie z przewodnictwem dopaminergicznym, jak i istotne podobieństwo mechanizmów bólowych i depresji wskazują na układ endokannabinoidowy dla skutecznych poszukiwań idealnego leku analgetycznego.

W kolejnej części rozprawy wskazano na potencjał terapeutyczny związków selektywnie atakujących receptory kanabinoidowe typu 2 (CB2), których głównie obwodowa ekspresja ograniczyłaby pojawianie się działań niepożądanych (związanych z aktywacją ośrodków CB1). W badaniach wykazano, że wielokrotne podania agonistów CB2 hamują rozwój choroby oraz działają przeciwbólowo. Wyniki badań behawioralnych zakładały potwierdzenie w obrazach kości podchrzęstnej stawu kolanowego wykonanych za pomocą mikrotomografii komputerowej. Co więcej, przy pomocy sekwencjonowania RNA oraz RT-qPCR udało się wykazać, że długotrwała terapia ukierunkowana na aktywację CB2 obniża ekspresję genów kodujących czynniki prozapalne i enzymy proteolityczne, które przyczyniają się do rozwoju zmian zwyrodnieniowych stawów. Jednakże, przewlekłe podanie leków często prowadzi do rozwoju tolerancji na efekty terapeutyczne nie wspominając o niepożądanych działaniach ubocznych. W badaniach wykazano także właściwości farmakodynamiczne promujące rozwój tolerancji, tj. preferencyjną aktywację ścieżki  $\beta$ -arestymy oraz wysoką skuteczność w hamowaniu ścieżki cAMP.

Niestety, pomimo szeregu obiecujących badań przedklinicznych, próby z zastosowaniem leków kanabinoidowych w leczeniu osteoartrozy nie przyniosły do tej pory oczekiwanych rezultatów. Może to mieć związek ze skomplikowaną etiologią zmian oraz specyficznym działaniem kanabinoidów. Ułatwieniem w zrozumieniu tego procesu może być wykorzystanie w badaniach umiejętności korzystania z analiz dużych baz danych w przypadku wielości celów molekularnych, aby zbadać potencjał terapeutyczny kanabidiolu (CBD). CBD, to występujący w marihuanie w największej ilości niepsychoaktywny kanabinoid, zdolny do interakcji z ponad 60 różnymi celami molekularnymi. Analiza bioinformatyczna pozwoliła zidentyfikować heterogenne mechanizmy działania CBD, odpowiadające zarówno za pro- jak i przeciwbólowe działanie tego związku.

Ostatni przedstawiony artykuł jest zwięźczeniem przeprowadzonych w ten sposób analiz molekularnych, metabolicznych i strukturalnych ukazując skuteczność zastosowania metod bioinformatyczno – matematycznych w celu wypracowania na podstawie zbiorów danych prospektywnej strategii leczenia pacjentów z osteoartrozą.

Słowo osteoartroza (osteo – temat słowotwórczy mający związek z kością, arthrosis to choroba zwyrodnieniowa stawów i ich otoczenia) wskazuje na dwa zasadnicze podmioty rozważań w przypadku zmian zwyrodnieniowych. Konsekwentnym zatem dopełnieniem i rozszerzeniem dotychczas dokonanych analiz w obszarach kostno – chrzęstnych może być w przyszłych pracach Doktoranta i współpracującego z nim zespołu równoległe zbadanie zmian w strukturze pozostałych elementów budujących stawy czyli więzadeł, ścięgien, mięśni oraz włókien torebkowych, które są metabolicznie związane z obszarem chrzęstno – podchrzęstnym i oddziałują na nie aktywnie mechanicznie przez miejsca swoich przyczepów do kości w mechanizmie przenoszenia obciążeń podczas ruchu.

Pomimo wysokiej specyficzności recenzowanej pracy Doktorant zwraca uwagę w częściach opisowych na wielowymiarowość procesu osteoartrozy. Jest to zwiastun możliwości praktycznego zastosowania wypracowanych przez Doktoranta i zespół wyników i wdrożenia wniosków.

Zanim jednak to nastąpi proszę o udzielenie odpowiedzi na nurtujące recenzenta pytania:

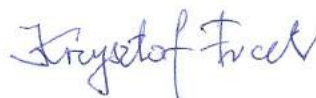
1. Obserwacja możliwości przywrócenia prawidłowej transmisji dopaminergicznej w modelu osteoartrozy przy pomocy endokannabinoidów, może mieć szersze znaczenie. Szczególnie interesujący jest jednak brak działania u zwierząt w grupie kontrolnej. Na jakim poziomie efekt ten może mieć swoisty, oddzielny mechanizm regulacji? Czy zagadnienie to mogłoby zostać zweryfikowane przy pomocy narzędzi farmakologicznych?

2. Podejście do systemowej farmakologii endokannabinoidów zostało zrealizowane w ostatniej fazie badań. Czy element ten nie powinien zostać wykonany wcześniej i uzupełniony poprzez uwzględnienie wyników profilowania genów, tak aby możliwe było podjęcie prób eksperymentalnego potwierdzenia nowych celów molekularnych?

3. Uzyskane wyniki potwierdzają, że endokannabinoidy mogą stanowić obszar dla poszukiwań leków analgetycznych. Czy potwierdzają również, że endokannabinoidy mogą posiadać cechy “idealnego leku przeciwbólowego”? Czy i jak prezentowane wyniki mogą zostać wykorzystane w procesie rozwoju nowego leku i czy nie kryje się za tym niebezpieczeństwo odejścia od leczniczych metod synergistycznych, w tym najważniejszej jaką jest ruch?

4. Czy można się spodziewać zachodzenia podobnych procesów, jak opisane, po sprowokowaniu zmian zwyrodnieniowych w innych stawach np. biodrowych, zważywszy na ich odmienną biomechanikę?

Oceniana praca to efekt imponującej wiedzy Doktoranta i umiejętności pracy zespołowej pod kierunkiem prof. Katarzyny Starowicz – Bubak, wnikliwych analiz wraz z zastosowaniem metod badawczych opartych o wysokie standardy. Przedstawienie wyników i przeprowadzenie w oparciu o nie dyskusji wraz ze spełnieniem wymogów formalnych upoważnia mnie do wnioskowania do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie mgr Jakuba Młosta do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej.



**dr hab. Krzysztof Ficek prof. nadzw.**  
Specjalista ortopeda traumatolog  
Specjalista medycyny sportowej  
ID ZUS 6712460