

Prof. dr hab. med. Łukasz Matuszewski
Klinika Ortopedii i Rehabilitacji Dziecięcej
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
ul. Gębali 6, 21-093
tel: 81 817185,
email: lukasz.matuszewski@umlub.pl

Lublin, 14.06.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza medycyny Mariusza Nowakowskiego pt.: „Ocena markerów obrotu kostnego i markerów zapalnych oraz badania densytometrycznego u pacjentów z dolegliwościami bólowymi dolnego odcinka kręgosłupa w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów z towarzyszącą osteoporozą lub osteopenią”

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska dotyczy ważnego problemu z zakresu ortopedii jakim są dolegliwości bólowe dolnego odcinka kręgosłupa. Ich przewlekły charakter prowadzi do długotrwałej niepełnosprawności przez co stwarza poważny problem społeczny. Bóle krzyża są najczęstszym objawem zaburzenia struktury i funkcji narządu ruchu.

Osteoporoza, reumatoidalne zapalenie stawów, a także choroba zwyrodnieniowa stawów i kręgosłupa należą do grupy chorób przewlekłych, których jednym z objawów klinicznych są dolegliwości bólowe dolnego odcinka kręgosłupa. Omawiane jednostki chorobowe zwykle kojarzone są ze spadkiem tolerancji wysiłku, ograniczeniem sprawności fizycznej i dolegliwościami bólowymi. Osteoporoza jest chorobą dotykającą populacji całego świata w różnych grupach wiekowych z dominacją szczególnie pacjentek w okresie pomenopauzalnym. Pacjenci z reumatoidalnym zapaleniem stawów to chorzy, którzy również cierpią na osteoporozę będącą wynikiem samej choroby, a także leczenia sterydami, w szczególności prowadzonego w sposób przewlekły. W grupie chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów i chorobą zwyrodnieniową stawów, ból często staje się wykładnikiem przewodnim, a współistniejące dolegliwości wzajemnie przeplatające się w tych chorobach, stanowią podstawę do diagnostyki i podjęcia kroków terapeutycznych. Należy dodać, że choroba zwyrodnieniowa obejmuje dużą część społeczeństwa po 50 roku życia i w znaczący sposób upośledza codzienne funkcjonowanie.

Osteoporoza jest układową chorobą tkanki kostnej charakteryzującą się obniżoną gęstością kości pacjenta, co zwiększa ryzyko złamań. Jedną z najczęstszych lokalizacji złamań osteoporotycznych jest kręgosłup. Należy jednak pamiętać, że złamanie tego odcinka narządu ruchu jest objawem późnym i towarzyszy zaawansowanemu procesowi chorobowemu. Stąd tak ważny jest powszechny i usystematyzowany schemat badania przesiewowego, pozwalający na wczesne jej wykrycie i profilaktykę.

Przedstawiona do oceny praca doktorska posiada układ typowy dla rozpraw doktorskich. Spis treści w sposób przejrzysty prezentuje poszczególne jej części. Tekst liczy 122 stron maszynopisu. Piśmiennictwo jest prawidłowo dobrane i aktualne. Zawiera 236 pozycji krajowych i zagranicznych.

Wstęp. We wstępie Doktorant przybliży problem badawczy przedstawiając szczegółowo etiologię, epidemiologię oraz przebieg kliniczny osteoporozy. W rozdziale tym opisuje również reumatoidalne zapalenie stawów i chorobę zwyrodnieniową stawów kręgosłupa. Przedstawiając RZS podkreśla autoimmunologiczny charakter schorzenia, manifestujący się procesem zapalnym głównie w obrębie stawów, a także prowadzący do towarzyszących jednoczesnych zmian wielonarządowych. Doktorant podkreśla, że w patogenezie RZS ze współistniejącą osteoporozą, istotną rolę pełnią cytokiny prozapalne, których poziom jest znacznie podwyższony. Odpowiedzialne są one między innymi za aktywację osteoklastów. Doktorant zaznacza, że chorym na RZS towarzyszą dolegliwości bólowe. Dodatkowo stwierdza, że istnieje znamienna korelacja między postępem choroby ocenianym stopniem zaawansowania zmian, a obniżeniem gęstości mineralnej kości (BMD) w badaniu DEXA. Opisując zespoły bólowe odcinka lędźwiowo – krzyżowego kręgosłupa dokładnie omawia ich powody powstania wraz z diagnostyką i postaciami klinicznymi. Na zakończenie tego rozdziału Doktorant opisuje najczęściej stosowane sposoby leczenia uwytatniając interdyscyplinarny i zarazem przewlekły ich charakter.

Wstęp jest napisany starannie i ma przejrzystą strukturę. Doktorant poprawnie dobrał informacje przybliżające podstawowe problemy kliniczne i naukowe, niezbędne dla dalszej części pracy. Jedyna moja uwaga dotyczy wielkości tej części pracy. Wstęp bowiem zajmuje aż 57 stron i z powodzeniem mógłby stanowić oddzielną monografię naukową.

Cel pracy. Głównym celem pracy jest ocena korelacji markerów obrotu kostnego, badania densytometrycznego i markerów zapalnych z dolegliwościami bólowymi odcinka lędźwiowo-krzyżowego kręgosłupa.

Szczegółowe cele pracy Doktorant sformułował jako: zbadanie zależności pomiędzy nasileniem bólu, a stopniem nasilenia procesu zapalnego wyrażonego markerami zapalnymi, wykazanie czy istnieje zależność pomiędzy nasileniem bólu, a stopniem zaawansowania osteoporozy wyrażonej poprzez markery obrotu kostnego. Ostatnim sformułowanym szczegółowym celem pracy jest ocena zależności między markerami zapalnymi, będącymi wyrazem zaawansowania RZS i gęstością masy kostnej mierzonej metodą DXA, będącej wyrazem osteoporozy oraz wykazanie związku pomiędzy

markerami zapalnymi, a markerami obrotu kostnego u pacjentów chorych na RZS. Doktorant formułując powyższe zagadnienia według mojej opinii postąpił prawidłowo. Potwierdzenie bowiem głównych hipotez pracy stwarza możliwość szerokiego i dogłębnego spojrzenia na podjętą problematykę. Usprawnienie procesu diagnostyczno-terapeutycznego i zastosowanego leczenia skutkują zmniejszeniem dolegliwości u chorych a tym samym poprawą ich jakości życia. W związku z powyższym uważam sformułowanie przedstawionych celów pracy za trafne. Dotyczy to jakości podjętego problemu naukowego jak i potencjalnej przydatności praktycznej spodziewanych wyników.

Material i metody. Wszyscy uczestnicy badań przeprowadzonych przez Doktoranta byli pacjentami Poradni Reumatologicznej Centrum Medycznego „Vadimed” w Krakowie. Badania zostały przeprowadzone po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Krakowie 323/KBL/OIL/2021 z dnia 5.11.2021 r. Do badania Doktorant włączył 50 kobiet z reumatoidalnym zapaleniem stawów, rozpoznanym wg kryteriów ACR/EULAR 2010, u których występowały dolegliwości bólowe dolnego odcinka kręgosłupa lędźwiowo-krzyżowego z jednoczesnymi zaburzeniami markerów obrotu kostnego i dolegliwościami klinicznymi pozwalającymi rozpoznać osteoporozę. Grupę kontrolną stanowiło 25 kobiet zdrowych, u których nie stwierdzono chorób tkanki łącznej, chorób autoimmunologicznych, innych chorób o podłożu zapalnym ani osteopenii bądź osteoporozy.

U pacjentek biorących udział w badaniu monitorowane były wartości markerów zapalnych, markerów obrotu kostnego, oraz wyniki rozszerzonych badań laboratoryjnych. Zwracano uwagę na objawy kliniczne pacjentek i dolegliwości bólowe kręgosłupa w odcinku krzyżowo-lędźwiowym. Z badań laboratoryjnych u każdej osoby wykonano: morfologię krwi, określono poziom OB, CRP, IL-6, osteokalcyny i dezoksyrydynoliny, wapnia, fosforu, witaminy D, mocznika, kreatyniny i kwasu moczowego. Ponadto oznaczane były markery obrotu kostnego, a więc marker tworzenia - osteokalcyna i marker resorpcji – dezoksyrydynolina. U każdej pacjentki wykonano badanie densytometryczne z dwóch miejsc pomiaru: kręgosłupa lędźwiowo-krzyżowego i szyjki kości udowej. Na podstawie badania densytometrycznego u 38% pacjentek zdiagnozowano osteoporozę, natomiast u 62% osteopenię. Osteoporoza w badaniu densytometrycznym została rozpoznana u osób, u których wartość T-score była mniejsza lub równa 2,5. U każdej pacjentki wykonano również badanie radiologiczne kręgosłupa odcinka L-S w projekcji przednio-tylnej i bocznej. U 92% pacjentek stwierdzono zmiany dyskopatyczno-zwyrodnieniowe, mające zapewne wpływ na dolegliwości bólowe kręgosłupa. Do oceny zaburzeń funkcjonowania spowodowanych dolegliwościami bólowymi kręgosłupa lędźwiowego Doktorant zastosował kwestionariusz ODI. Pozwalał on na ocenę stopnia niepełnosprawności, która spowodowana była dolegliwościami bólowymi kręgosłupa lędźwiowego.

Analiza statystyczna w badaniu została przeprowadzona przy pomocy pakietu statystycznego Statistica 13.1. Analizowane wyniki zostały wyrażone w przypadku zmiennych ciągłych jako średnie odchylenie standardowe, a w przypadku zmiennych kategorycznych w postaci liczb i procentów. Ocenę normalności rozkładu badanych parametrów ilościowych wykonano za pomocą testu W Shapiro-Wilka. Wykonane porównania wydzielonych grup pacjentów w badaniu zostały przeprowadzone w przypadku zmiennych ciągłych za pomocą testu t-Studenta lub testu Mann-Whitney'a. Korelacje badano za pomocą testu Pearsona lub korelacji rang Spearmana. We wszystkich analizach wartość prawdopodobieństwa testowego, tak zwaną wartość p (ang. probability) $< 0,05$, Doktorant uznał za istotną statystycznie. Rozdział „Materiał i metody” recenzowanej pracy został przedstawiony zgodnie z wymogami stawianymi rozprawom doktorskim.

W kolejnym rozdziale Doktorant w 3 tabelach oraz na 19 wykresach przedstawił **wyniki** swoich **badania**. Otrzymane rezultaty potwierdziły celowość podjętych analiz. Doktorant wykazał, że 24-miesięczna terapia skutecznie obniżyła aktywność choroby ocenianą za pomocą skali DAS. Powyższa terapia miała charakter skojarzony, a więc obejmowała leki podstawowe z grupy DMARDs, a także okresowo NLPZ i glikokortykosteroidy oraz fizyko- i kinezyterapię. Doktorant wskazał na istotny wpływ tej terapii na stopień natężenia choroby, identyfikowany markerami zapalnymi i stanem klinicznym pacjenta. W kolejnych analizach Doktorant porównał markery zapalne wraz z wpływem nasilenia dolegliwości bólowych kręgosłupa mierzonym kwestionariuszem ODI na codzienne funkcjonowanie pacjenta. W tym przypadku również zaobserwował On istotną statystycznie korelację między wartościami OB i CRP a wartością z kwestionariusza ODI.

Podczas weryfikacji pierwszej hipotezy Doktorant dokonał oceny zależności pomiędzy nasileniem bólu, a stopniem nasilenia procesu zapalnego wyrażonego markerami zapalnymi. Doktorant odnotował istotną statystycznie dodatnią korelację między wartościami OB i CRP, a natężeniem bólu wyrażonym za pomocą skali VAS. Oceniając drugą hipotezę Doktorant wykazał zależność między markerem obrotu kostnego, osteokalcyną, a nasileniem bólu wyrażonego w skali VAS. Wykazał On również dodatnią korelację pomiędzy nasileniem bólu wyrażonego skalą VAS, a stopniem zaawansowania osteoporozy, wyrażonej poziomem dezoksypirydynoliny. W przypadku analizy stopnia niepełnosprawności wyrażonego skalą ODI, a markerami obrotu kostnego zaobserwowano podobne zależności: dodatnią, istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem dezoksypirydynoliny a wynikiem kwestionariusza ODI oraz brak zależności między poziomem osteokalcyny i wskaźnikiem ODI. Doktorant nie stwierdził związku między nasileniem bólu a stopniem zaawansowania osteoporozy wyrażonej metodą DEXA (wskaźnikiem T-score), zarówno dla odczytu z kręgosłupa L2-L4 jak i szyjki kości udowej. Natomiast pomiędzy wartością T-score dla kręgosłupa L2-L4 oraz szyjki kości udowej, a stopniem nasilenia niepełnosprawności w skali ODI

Doktorant odnotował zauważalny trend ujemnej korelacji, jednak bez istotności statystycznej. W trakcie weryfikacji trzeciej hipotezy Doktorant stwierdził zależność pomiędzy wartością CRP, a wskaźnikiem T-score. Wraz ze wzrostem wartości CRP zaobserwował On mniejsze wartości T-score dla kręgosłupa i szyjki kości udowej. Nie udowodnił natomiast istotności statystycznej tej korelacji.

Odpowiadając na czwarty problem badawczy Doktorant przeanalizował zależność pomiędzy nasileniem procesu zapalnego wyrażonego markerami zapalnymi (CRP, OB i IL-6), a stopniem zaawansowania osteoporozy wyrażonej markerami obrotu kostnego, a więc markerem kościotworzenia, jakim jest osteokalcyna i markerem resorpcji, jakim jest dezoksypirydynolina. Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorant stwierdził istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy OB a poziomem osteokalcyny. W przypadku markerów CRP i IL-6 zaobserwował podobny trend jednak bez istotności statystycznej. Analizując marker procesu resorpcyjnego kości, dezoksypirydynolinę, wraz z parametrem OB Doktorant nie stwierdził istotnej statystycznie dodatniej korelacji. W przypadku pozostałych markerów zapalnych (CRP i IL-6), a dezoksypirydynoliną analiza przeprowadzona przez Doktoranta wykazała brak zależności statystycznej.

Kolejnym rozdziałem rozprawy doktorskiej jest **dyskusja**. Została ona napisana w sposób zwięzły i staranny. Autor odniósł się w niej do wszystkich istotnych wyników swojej pracy. Zarówno w dyskusji jak i całej pracy zwraca uwagę biegłość Doktoranta w ocenie zagadnień klinicznych rozpatrywanego problemu.

Doktorant podkreśla, że dane uzyskane z dostępnego piśmiennictwa wykazują współistnienie nasilonej resorpcji tkanki kostnej u chorych z RZS, i wtórnych zaburzeń w jej odnowie. Skutkiem tego jest zwiększone ryzyko złamań zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Proces zapalny toczący się aktywnie w przebiegu RZS związany jest bezpośrednio z podwyższonym poziomem cytokin prozapalnych szczególnie TNF- α oraz IL-1. TNF- α i IL-1 mogą z kolei stymulować produkcję innych cytokin prozapalnych, takich jak IL-6. TNF- α stymuluje różnicowanie osteoklastów w mechanizmie bezpośrednim, jak i pośrednim przez ligand RANK, prowadząc do systematycznej utraty masy kostnej. Utrata masy kostnej jest więc wprost proporcjonalna do aktywności choroby, a także upośledzenia sprawności funkcjonalnej chorych oraz do stopnia zaawansowania zmian radiologicznych w RZS. Miało to odzwierciedlenie w badaniach przeprowadzonych przez Doktoranta w niniejszej pracy.

Autor zaznacza, że procesem o dominującym znaczeniu w utracie masy kostnej w RZS jest aktywacja osteoklastów. Kluczową rolę odgrywa tutaj osteoprotegeryna, której stężenie wrasta w stanach zapalnych. OPG zaś jest receptorem dla RANKL, wykazano jej korelację z ryzykiem złamań osteoporotycznych szyjki kości udowej i spadkiem BMD. U chorych na RZS obserwuje się wysokie

stężenie OPG i RANK. Doktorant w swoich badaniach odnotował większe stężenie osteokalcyny u kobiet z RZS w porównaniu z grupą kontrolą, którą stanowiły zdrowe kobiety, co potwierdzają badania innych naukowców. Autor rozprawy w dyskusji podkreśla zwiększony obrót kostny u pacjentów chorych na RZS. Co więcej, stwierdza istotną korelację między stężeniem CRP u pacjentów z RZS a poziomem IL-6, ale nie poziomem RANKL. Doktorant dodaje, że CRP stymuluje produkcję RANKL i indukuje różnicowanie osteoklastów z monocytów oraz resorpcję kości przy braku RANKL. Wnioski płynące z analizy cytowanej w dyskusji literatury pozostają w zgodzie z uzyskanymi przez Doktoranta wynikami badań, w których zaobserwował On aktywność procesu zapalnego wyrażoną zwiększeniem stężenia markerów zapalnych u pacjentów z RZS, a także wzrost poziomu osteokalcyny i dezoksypirydynoliny. Autor zaobserwował pozytywną korelację między poziomem osteokalcyny a wartością OB. Jednocześnie dodaje, że brak istotnego związku między poziomem dezoksypirydynoliny a stężeniem markerów zapalnych może wynikać z uprzedniego leczenia chorych z powodu współistniejącej osteoporozy, co wpłynęło na spadek poziomu dezoksypirydynoliny. Zdaniem Autora, należy domniemywać, iż doszło do aktywacji wtórnej osteoblastów z jednoczesnym większym uwalnianiem markerów obrotu kostnego. Podobnie, wykazany brak istotnego statystycznie związku z IL-6 może wskazywać na fakt, iż pacjentki znajdowały się na różnym etapie terapii, oraz zostały uprzednio leczone lekami z grupy DMARDs i NLPZ.

W dalszej części dyskusji Autor dodaje, że analiza uzyskanych wyników badań wskazuje, że istnieje związek pomiędzy poziomem osteokalcyny a gęstością masy kostnej mierzonej metodą DEXA. Nie stwierdza On natomiast istotnej zależności pomiędzy nasileniem bólu w skali VAS a stopniem zaawansowania osteoporozy wyrażonej metodą DEXA w 2 miejscach pomiaru, a więc w kręgosłupie i szyjce kości udowej. Brak istotności statystycznej w badaniach związany jest prawdopodobnie z obecnością dużej liczby osteofitów i wyrośli kostnych, które zwiększając gęstość masy kostnej uniemożliwiają jednoznaczną ocenę osteoporozy w zakresie odcinka LS kręgosłupa, co znamienne zaburza wynik T-score z tego miejsca pomiaru. Zmiany zwyrodnieniowe, podnosząc gęstość masy kostnej, uniemożliwiają więc obiektywną ocenę stopnia osteoporozy. Doktorant stwierdza, że ból oceniany skalą VAS w RZS związany jest z aktywnością procesu zapalnego, a więc poziomem cytokin prozapalnych, a tym samym także obecnością wysokich wskaźników obrotu kostnego. Zahamowanie procesu zapalnego poprzez stosowanie leków innowacyjnych, wpływa wyraźnie na zahamowanie aktywności markerów obrotu kostnego i miejscowe zmniejszenie aktywności metabolicznej osteoklastów w przebiegu RZS. W przeprowadzonych przez Doktoranta badaniach istnieje istotna statystycznie zależność między natężeniem bólu w skali VAS oraz stopniem niepełnosprawności w skali ODI, a nasileniem procesu zapalnego wyrażonego parametrami laboratoryjnymi takimi jak OB i CRP. Podobną zależność stwierdza On w przypadku pacjentek

z RZS z wysoką aktywnością choroby oraz niepełnosprawnością, gdzie wykazał istnienie korelacji między poziomem niepełnosprawności i nasileniem bólu w skali VAS a stężeniem CRP. Autor niniejszej rozprawy w końcowej części dyskusji deklaruje chęć kontynuowania badań i przeprowadzenia oznaczeń po 24 miesiącach celem porównania efektu terapeutycznego w RZS wyrażonego poziomem markerów zapalnych, markerów obrotu kostnego i technikami obrazowymi. Doktorant uważa, że ma to ogromne znaczenie w kontekście wyboru najlepszych cykli terapeutycznych dla takiej grupy pacjentów. Stawia tezę, że w przyszłości rozszerzenie zakresu badań obrazowych kręgosłupa w odcinku LS pozwoli na próbę znalezienia głębszego związku pomiędzy niepełnosprawnością wyrażoną wskaźnikiem ODI a stanem klinicznym pacjenta.

Sześć **wniosków** kończących pracę są jej krótkim i zwięzłym podsumowaniem. Otrzymane przez Doktoranta wyniki wykazują celowość podjętych badań i pozwalają na uzyskanie odpowiedzi na postawione główne hipotezy rozprawy. Według mnie najważniejsze są trzy pierwsze:

1. Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy poziomem markerów zapalnych w tym OB oraz CRP a stopniem nasilenia bólu określonym przy pomocy skali VAS oraz wskaźnika niepełnosprawności ODI.
2. Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy poziomem dezoksypirydynoliny a stopniem nasilenia bólu określonym przy pomocy skali VAS oraz wskaźnika niepełnosprawności ODI.
3. Istnieje ujemna korelacja pomiędzy poziomem osteokalcyny a gęstością masy kostnej mierzonej metodą DEXA.

Końcowe części pracy to **streszczenie** w języku polskim i angielskim oraz starannie opracowane i aktualne **piśmiennictwo**. Jako recenzent pozwoliłem sobie na wyszczególnienie drobnych błędów odnalezionych w recenzowanym tekście. Doktorant w tabeli 2 użył zwrotu „zniszczeniem” zamiast „ze zniszczeniem”. Na stronie 18 w 4-tym wierszu od dołu napisał: „funkcji stawowych” zamiast „prawidłowej funkcji stawów”. Z kolei na stronie 42 w 3-cim wierszu od góry zastosował sformułowanie „patologii kości”. Patologia to nauka o chorobach - także nie można mówić o patologii stawu kolanowego czy biodrowego. Radziłbym również w opracowaniach naukowych stosować wyrażenie „leczenie bezoperacyjne” zamiast zachowawcze lub „pacjent” a nie „przypadek”. Powyższe uwagi nie wpływają w jakimkolwiek stopniu na merytoryczną ocenę pracy, a są jedynie subiektywnymi odczuciami recenzenta w trakcie czytania niniejszej rozprawy doktorskiej.

Podsumowując pragnę podkreślić, że całość pracy doktorskiej lekarza medycyny Mariusza Nowakowskiego oceniam pozytywnie. Dowodzi ona dobrego przygotowania Doktoranta do przeprowadzenia badań, które zostały prawidłowo zaplanowane i zrealizowane, a ich wyniki są

zinterpretowane z wymaganą do tego wnikliwością i starannością. Praca napisana jest w sposób zwięzły i logiczny.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lekarza medycyny Mariusza Nowakowskiego pt. **„Ocena markerów obrotu kostnego i markerów zapalnych oraz badania densytometrycznego u pacjentów z dolegliwościami bólowymi dolnego odcinka kręgosłupa w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów z towarzyszącą osteoporozą lub osteopenią”** spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie lekarza medycyny Mariusza Nowakowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lubor Kotisek