

Załącznik 1.

## Autoreferat

---

1. Imię i Nazwisko: **Mariusz Korkosz**

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

- a. Dyplom ukończenia Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej im. Mikołaja Kopernika w Krakowie; 1991
- b. Dyplom pierwszego stopnia specjalizacji w zakresie chorób wewnętrznych, Kraków; 1996
- c. Dyplom drugiego stopnia specjalizacji w zakresie reumatologii (z wyróżnieniem), Lublin; 1999
- d. Dyplom doktora nauk medycznych – Wydział Lekarski Collegium Medicum UJ, Kraków; 2002. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Diagnostyka osteoporozy w zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa”

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

- a. Międzywydziałowa Katedra Patofizjologii Collegium Medicum UJ, Kraków; 1992-1995, asystent
- b. Zakład Reumatologii i Balneoterapii Collegium Medicum UJ, Kraków; 1995-2003, asystent
- c. Zakład Reumatologii i Balneoterapii Collegium Medicum UJ, Kraków; 2003-2007 adiunkt
- d. Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii Collegium Medicum UJ, Kraków; 2007-2013, adiunkt
- e. Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii Collegium Medicum UJ, Kraków; od 2013 starszy wykładowca
- f. Oddział Reumatologii Zespołu Klinik Chorób Wewnętrznych Szpitala Uniwersyteckiego, Kraków; od 2007, kierownik oddziału

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego: **Przebudowa tkanki kostnej w zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa oraz wpływ leczenia farmakologicznego na ten proces**

b) autorzy/tytuł/nazwa wydawnictwa/rok/strony

1. **Korkosz M**, Gąsowski J, Grzanka P, Gorczowski J, Pluskiewicz W, Jeka S, Grodzicki T. Baseline new bone formation does not predict bone loss in ankylosing spondylitis as

- assessed by quantitative computed tomography (QCT): 10-year follow-up. **BMC Musculoskelet Disord**. 2011 May 31;12:121.
2. **Korkosz M**, Gąsowski J, Leszczyński P, Pawlak-Buś K, Jeka S, Kucharska E, Grodzicki T. High disease activity in ankylosing spondylitis is associated with increased serum Sclerostin level and decreased Wingless protein-3a signaling but is not linked with greater structural damage. **BMC Musculoskelet Disord**. 2013 March 19;14:99.
  3. **Korkosz M**, Gąsowski J, Leszczyński P, Pawlak-Buś K, Jeka S, Siedlar M, Grodzicki T. Effect of Tumour Necrosis Factor-alpha inhibitor on serum level of Dickkopf-1 protein and bone morphogenetic protein-7 in ankylosing spondylitis patients with high disease activity. **Scandin J Rheuma**; 2013 in press; DOI:10.3109/03009742.2013.805241.
  4. **Korkosz M**, Telesińska-Jasiówka D, Siedlar M, Lenart M. Otwarte badanie wpływu etydronianu na markery obrotu kostnego, wskaźniki zapalenia i układ RANKL/OPG w aktywnym zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa (ZZSK). Pilotowe badanie wpływu etydronianu na liczbę i aktywność metaboliczną prozapalnej subpopulacji monocytów CD14+CD16+ we krwi pacjentów z ZZSK. **Reumatologia**, 2009; 47, 4:212-222.
- c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK) jest chorobą reumatologiczną charakteryzującą się: (1) przewlekłym zapaleniem, i (2) przebudową tkanki kostnej (tzw. remodelowaniem).

W chorobie tej dochodzi do interakcji komórek układu immunologicznego z komórkami tkanki kostnej. W rezultacie tej interakcji przewlekłe zapalenie wpływa niekorzystnie na fizjologiczną przebudowę tkanki kostnej. Z jednej strony dochodzi do nadmiernej osteosyntezy (osteoproliferacji, osteogenezy), tj. tworzenia syndesmofitów i zrostu kostnego w stawach, a z drugiej do zmniejszenia gęstości tkanki kostnej, tj. osteopenii i osteoporozy. Paradoksalnie, oba te przeciwstawne procesy toczą się jednocześnie w sąsiedztwie anatomicznym, tj. głównie w szkielecie osiowym – trzonach kręgow, stawach krzyżowo-biodrowych i międzywyrostkowych, prowadząc do charakterystycznego fenotypu choroby – zeszywnienia kręgosłupa ze zwiększonym ryzykiem złamań trzonów kręgow.

Osteoproliferacja dotyczy wyłącznie kości korowej trzonów kręgow i wynika ze zwiększonej aktywności osteoblastów w odpowiedzi na wzmożoną ekspresję białek morfogenetycznych kości (BMP) oraz białek Wingless (Wnt). Natomiast zmniejszenie gęstości masy kostnej dotyczy głównie kości beleczkowej trzonów kręgow i jest wynikiem przesunięcia równowagi obrotu kostnego na korzyść resorpcji spowodowanej wzmożoną aktywnością osteoklastów pod wpływem mediatorów zapalenia, głównie TNF alfa, IL-1 i IL-6.

Obserwacja, że w przewlekłej chorobie zapalnej dochodzi do nadmiernej osteogenezy nadal wymaga wyjaśnienia na płaszczyźnie molekularnej, ponieważ udowodniono, że TNF alfa, główna cytokina prozapalna w ZZSK ma niekorzystny wpływ na kościotworzenie. TNF alfa zwiększa stężenie we krwi białek, sklerostyny i Dickkopf-1 (Dkk-1), które są silnymi inhibitorami białek promujących osteogenezę, BMP i Wnt. Wobec powyższego postuluje się,



że w ZZSK kość beleczkowa i korowa są tkankami, które w odmienny sposób odpowiadają na działanie przewlekłego zapalenia. O ile dochodzi do zaniku kości beleczkowej pod wpływem zapalenia, to w remodelowaniu kości korowej, w której zachodzi nadmierna osteosynteza, muszą brać udział również inne, poza prozapalnymi, czynniki.

W analizie interakcji układu immunologicznego i tkanki kostnej w ZZSK wykorzystuje się trzy grupy metod badawczych: (1) biochemiczne – mediatorów zapalenia i przebudowy tkanki kostnej, (2) obrazowe – klasyczną radiografię i rezonans magnetyczny, oraz densytometrię rentgenowską i ilościową tomografię komputerową, oraz (3) histologiczne. W pracach będących podstawą osiągnięcia naukowego wykorzystaliśmy metody biochemiczne i obrazowe.

Interesującym nurtem badań jest możliwość potencjalnej ingerencji farmakologicznej w remodelowanie tkanki kostnej w ZZSK, zarówno przy pomocy leków przeciwzapalnych jak i wpływających na osteoklasty i osteoblasty, do czego odniosę się w każdej z omawianych prac osiągnięcia naukowego.

#### d) Omówienie prac składających się na osiągnięcie naukowe

1. **Korkosz M**, Gąsowski J, Grzanka P, Gorczowski J, Pluskiewicz W, Jeka S, Grodzicki T. Baseline new bone formation does not predict bone loss in ankylosing spondylitis as assessed by quantitative computed tomography (QCT): 10-year follow-up. **BMC Musculoskelet Disord**. 2011 May 31;12:121.

Celem pracy było zbadanie, czy w ZZSK istnieje zależność pomiędzy dwoma przeciwstawnymi procesami: osteogenezą i osteoporozą, oraz czy większe zaawansowanie radiologiczne osteogenezy w kręgosłupie koreluje z większego stopnia obniżeniem gęstości kości beleczkowej trzonów kręgów.

Dostępne dane nie dawały jednoznacznej odpowiedzi, a częściowo przemawiały za zwiększeniem ryzyka osteoporozy u pacjentów z bardziej zaawansowaną osteogenezą w kręgosłupie. Gęstość kości beleczkowej trzonów kręgów zmierzona przez nas metodą ilościowej tomografii komputerowej (QCT) była obniżona w większym stopniu u pacjentów z bardziej zaawansowaną radiologicznie syndesmofitozą – wyjściowo i po 10 latach. Jednakże model regresji wieloczynnikowej zbudowany w celu oceny 10-letniej interakcji pomiędzy osteoproliferacją a obniżeniem gęstości kości nie wykazał wpływu wyjściowego zaawansowania radiologicznego na gęstość masy kostnej po 10 latach.

Wynikiem tej pracy – najdłuższej opublikowanej obserwacji wykorzystującej QCT, było udowodnienie, że u pacjentów, u których nie stosowano leków wpływających na metabolizm tkanki kostnej, gęstość kości beleczkowej trzonów kręgów obniżyła się istotnie w ciągu 10 lat. Ponadto, stopień tego obniżenia nie zależał od wyjściowego zaawansowania zmian radiologicznych kręgosłupa. Wnioskowaliśmy więc, że zaawansowanie radiologiczne osteoproliferacji nie ma wartości predykcyjnej dla zaniku tkanki kostnej, oraz że procesy te nie oddziałują ze sobą w prosty, korelatywny sposób.



Brak takiego prostego sprzężenia przemawia za udziałem w tej interakcji różnych, wzajemnie ze sobą powiązanych systemów komórkowych i molekularnych wpływających na remodelowanie tkanki kostnej oraz przeciwko uznaniu zapalenia za jedyny mechanizm spustowy dla obu tych procesów.

Wnioskiem praktycznym, wypływającym ze stwierdzenia tego funkcjonalnego rozprężenia zaniku kostnego z osteoproliferacją, jest potrzeba stosowania w tej chorobie leków, które powinny wpływać na każdy z tych procesów z osobna. Nie wydaje się aby skuteczne leczenie przeciwzapalne mogło równocześnie hamować osteoporozę i osteogenezę, na co dowodów dostarczyły badania kliniczne z wykorzystaniem inhibitorów TNF alfa. Leki te, pomimo skutecznego hamowania zapalenia nie wpłynęły korzystnie na zahamowanie postępu osteoproliferacji w kręgosłupie.

2. **Korkosz M**, Gąsowski J, Leszczyński P, Pawlak-Buś K, Jeka S, Kucharska E, Grodzicki T. High disease activity in ankylosing spondylitis is associated with increased serum Sclerostin level and decreased Wingless protein-3a signaling but is not linked with greater structural damage. **BMC Musculoskelet Disord.** 2013 March 19;14:99.

Celem pracy była analiza związku pomiędzy białkami kontrolującymi przebudowę tkanki kostnej a aktywnością kliniczną i zaawansowaniem osteosyntezy, tj. zmian radiologicznych w kręgosłupie. Ponieważ dotychczas nie wyjaśniono jednoznacznie, czy aktywność ZZSK wpływa na układy komórkowe i molekularne sterujące tworzeniem nowej tkanki kostnej (syndesmofitów), dlatego podjęliśmy próbę wyjaśnienia czy zwiększona aktywność kliniczna ZZSK powoduje przekierowanie remodelowania tkanki kostnej w kierunku tworzenia. Powszechną wśród klinicystów opinią jest, że im większa aktywność choroby tym większego stopnia zesztywnienie kręgosłupa w wyniku nasilonej osteoproliferacji.

U pacjentów z wysoką aktywnością choroby (m.in. wskaźnik BASDAI  $\geq 4$ ) stwierdzono istotnie wyższe stężenie sklerostyny niż w grupie kontrolnej, a niższe Wnt-3a niż u pacjentów z niską aktywnością choroby i grupy kontrolnej. Sklerostyna jest białkiem, którego stężenie w surowicy zwiększa się pod wpływem TNF alfa, i które hamuje dwa najbardziej dystalne układy pobudzające osteoblast do kościotworzenia, tj. grupę białek morfogenetycznych kości (BMP) oraz grupę białek Wingless (Wnt).

Wyciągnęliśmy wniosek, że wysoka aktywność kliniczna choroby powoduje zwiększenie stężenia sklerostyny a ta z kolei obniża stężenia Wnt-3a. Z drugiej strony analizując zaawansowanie zmian strukturalnych w kręgosłupie, m.in. liczbę syndesmofitów, w grupie z wysoką i niską aktywnością choroby, nie stwierdziliśmy istotnej różnicy we wskaźniku radiologicznym mSASSS (modified Stoke's ankylosing spondylitis spine score), który jest obecnie najlepszym narzędziem pomiaru zaawansowania zmian strukturalnych w kręgosłupie. W związku z powyższymi zaproponowaliśmy wniosek końcowy, że wysoka aktywność choroby nie przekłada się *per se* na zwiększone uszkodzenie strukturalne kręgosłupa, tj. nasiloną osteogenezę.

Przyjęte w praktyce założenie, że zwiększona aktywność choroby powoduje szybszy postęp zmian radiologicznych jest zatem wątpliwe. Co ciekawe, jest coraz więcej dowodów, że osteogeneza nabiera przyspieszenia właśnie w okresach samoistnego, cyklicznego zmniejszania się aktywności choroby, co zakłada nie udowodniona jeszcze hipoteza „hamulca TNF alfa”. Według niej, malejące stężenie TNF alfa „zwalnia” hamujący wpływ



sklerostyny, a także innego silnego inhibitora osteogenezy, Dkk-1, na białka promujące kościotworzenie, Wnt i BMP.

W tym świetle interesujące są wyniki badań inhibitorów TNF alfa, które hamując zapalenie obniżają stężenie inhibitorów osteogenezy. O ile nie można postawić znaku równości pomiędzy niską aktywnością choroby spowodowaną leczeniem inhibitorem TNF alfa a samoistnymi okresami remisji, o tyle wydaje się prawdopodobne, że w obu tych sytuacjach osteogeneza nabiera przyspieszenia, przynajmniej na poziomie molekularnym, co wykazaliśmy w omawianej pracy.

3. **Korkosz M**, Gąsowski J, Leszczyński P, Pawlak-Buś K, Jeka S, Siedlar M, Grodzicki T. Effect of Tumour Necrosis Factor-alpha inhibitor on serum level of Dickkopf-1 protein and bone morphogenetic protein-7 in ankylosing spondylitis patients with high disease activity. **Scandin J Rheuma**; 2013 in press

Celem pracy – w nawiązaniu do pracy 2, była analiza 6-miesięcznego wpływu antagonistów TNF alfa na dwa przeciwstawne układy białek regulujące osteogenezę w ZZSK: (1) białko morfogenetyczne kości-7 (BMP-7) i białko Wingless-3a (Wnt-3a) pobudzające osteogenezę, oraz (2) sklerostynę i Dickkopf-1 (Dkk-1) produkowane pod wpływem TNF alfa i hamujące aktywność BMP i Wnt.

Ze względu na nie do końca rozstrzygnięty związek zapalenia z osteogenezą, tj. niewyjaśnione pytanie czy procesy te są ze sobą molekularnie związane czy nie, przyjęto dwie hipotezy robocze: (1) leczenie anty-TNF alfa spowoduje zmniejszenie stężenia w surowicy sklerostyny i Dkk-1, a w konsekwencji zwiększenie stężenia Wnt i BMP – jeżeli zapalenie jest związane z osteogenezą, i (2) leczenie anty-TNF alfa zmniejszy wprawdzie stężenie sklerostyny i Dkk-1, ale nie wpłynie istotnie na stężenie Wnt i BMP – jeżeli nie ma związku zapalenia z osteogenezą.

W grupie leczonej przez 6 miesięcy inhibitorem TNF alfa stwierdzono istotne zmniejszenie w surowicy stężenia Dkk-1 i zwiększenie stężenia BMP-7. Istotność wpływu leczenia na obserwowane w ciągu 6 miesięcy zmiany stężeń tych białek potwierdziła analiza metodą regresji nieparametrycznej, uwzględniająca szereg zmiennych, m.in. czas trwania choroby, wyjściowe stężenie CRP i wskaźnik uszkodzenia strukturalnego, mSASSS. Ponadto, po 6 miesiącach leczenia stężenia Dkk-1 i BMP-7 korelowały wzajemnie istotnie ujemnie ( $r=-0.64$ ;  $p=0.004$ ).

Uzyskane wyniki potwierdziły naszą pierwszą hipotezę, chociaż nie wykazano istotnych zmian stężeń sklerostyny i Wnt-3a. Wynikiem badania było pokazanie, że w grupie pacjentów z ZZSK o wysokiej aktywności, których średni czas trwania choroby wynosił 8.8 lat, zapalenie jest sprzężone z osteogenezą na poziomie molekularnym, ponieważ zahamowanie zapalenia inhibitorem TNF alfa powoduje zmniejszenie stężenia Dkk-1, a to z kolei powoduje wzrost stężenia BMP-7, silnie promującego osteogenezę.

Wyniki naszego badania w pewnym stopniu tłumaczą, dlaczego w kilku badaniach z antagonistami TNF alfa w ZZSK nie wykazano oczekiwanego hamowania osteogenezy i progresji radiologicznej zmian w kręgosłupie. Należy jednak podkreślić, że molekularne przyczyny postępu osteogenezy w trakcie takiego leczenia – co sygnalizowaliśmy w pracy 2., nie zostały jeszcze dokładnie poznane i wymagają dalszych badań.



4. **Korkosz M**, Telesińska-Jasiówka D, Siedlar M, Lenart M. Otwarte badanie wpływu etydronianu na markery obrotu kostnego, wskaźniki zapalenia i układ RANKL/OPG w aktywnym zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa (ZZSK). Pilotowe badanie wpływu etydronianu na liczbę i aktywność metaboliczną prozapalnej subpopulacji monocytów CD14+CD16+ we krwi pacjentów z ZZSK. **Reumatologia**, 2009; 47, 4:212-222.

Celem badania była odpowiedź na pytanie czy etydronian, bisfosfonian działający antyresorpcyjnie na tkankę kostną, działa również przeciwzapalne w ZZSK – a jeżeli tak, to czy jest to rezultatem hamowania prozapalnych monocytów krwi obwodowej. Innymi słowy – czy możliwe jest zahamowanie resorpcji kości i przewlekłego zapalenia poprzez zastosowanie jednego leku o udowodnionym działaniu antyresorpcyjnym i prawdopodobnym, na podstawie wcześniejszych badań autora, przeciwzapalnym – w chorobie charakteryzującej się zanikiem tkanki kostnej i przewlekłym zapaleniem.

Poddano analizie wpływ etydronianu na markery obrotu kostnego i składowe najbardziej dystalnego układu regulującego aktywność osteoklasta, RANKL-OPG (rozpuszczalny ligand receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa beta - osteoprotegeryna) u pacjentów z ZZSK, z podwyższonymi wskaźnikami zapalenia, OB i(lub) CRP. Stwierdzono istotne zmniejszenie stężenia CRP, oraz jak zakładano, telopeptydu CTX, wskaźnika kościoreorpcji, i osteokalcyny, wskaźnika kościotworzenia. Nie zaobserwowano istotnych korelacji pomiędzy stężeniem CRP a markerami obrotu kostnego, RANKL i OPG.

Wyniki sugerują przeciwzapalne działanie etydronianu oraz brak sprzężenia pomiędzy zapaleniem a obrotem kostnym w ZZSK, a to z kolei wpisuje się we wnioski uprzednich prac, że złożoność interakcji przewlekłego zapalenia z remodelowaniem tkanki kostnej w ZZSK nie da się ująć w proste zależności. Taka analiza musi uwzględnić, że sieci wzajemnych pętli sprzężenia zwrotnego, działające na różne punkty uchwytu, np. układy TNF alfa/DKK-1/sklerostyna czy Wnt/BMP jak i badany RANKL/OPG są regulowane przez złożone i oddziałujące na siebie mechanizmy.

Nie stwierdzono wprawdzie wpływu etydronianu na liczbę i skład odsetkowy klasycznych i prozapalnych monocytów krwi obwodowej niemniej jednak stymulowanie *in vitro* ich aktywność spowodowało dwukrotnie większe wytwarzanie cytokiny przeciwzapalnej (IL-10) niż zapalnej (TNF alfa). Uwzględniając relatywnie małą liczbę pacjentów oraz dawkowanie etydronianu zarejestrowane do leczenia osteoporozy pomenopauzalnej, przypuszczalnie za małe do uzyskania pełnego efektu przeciwzapalnego, nie ma mocnych podstaw do określenia leku mianem przeciwzapalnego, chociaż daje obraz złożoności interakcji pomiędzy zapaleniem a remodelowaniem tkanki kostnej w ZZSK. Warto zauważyć, że o ile wpływ etydronianu na markery obrotu kostnego był największy po pierwszym 14-dniowym cyklu leczenia, o tyle stężenie CRP wykazało istotny trend obniżania również po drugim cyklu, co może sugerować, że wpływ na prozapalne komórki docelowe, głównie monocyty, charakteryzuje się mniejszą odwracalnością niż na osteoklasty.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Moje zainteresowania naukowe koncentrują się w kilku obszarach tematycznych.

Przede wszystkim dotyczą przebudowy tkanki kostnej w zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa (ZZSK) oraz efektów ingerencji farmakologicznej w ten proces, co zostało przedstawione powyżej jako zasadnicze osiągnięcie naukowe w postępowaniu awansowym i wiąże się z tematem pracy doktorskiej.

Drugim obszarem zainteresowań jest udział prozapalnej subpopulacji monocytów w podtrzymywaniu zapalenia, co łączy się z uszkodzeniem tkanki kostnej w chorobach zapalnych. Wyniki badania pilotowego w ZZSK przedstawiłem w omówieniu osiągnięcia naukowego (**Reumatologia, 2009**). Natomiast u pacjenta z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS), u którego w ramach badania klinicznego stosowaliśmy przeciwciało monoklonalne przeciwko czynnikowi stymulującemu dojrzewanie kolonii makrofagów, anty-M-CSF, potwierdziliśmy jako pierwsi, że dojrzewanie monocytów klasycznych (CD14++CD16-) do pośrednich (CD14++CD16+) i prozapalnych (CD14+CD16++) wymaga stałej obecności M-CSF we krwi (**Blood, 2012**).

Trzecim obszarem moich zainteresowań, są markery uszkodzenia śródbłonna w zapalnych chorobach reumatycznych, głównie w ZZSK i RZS, co zaowocowało dwoma publikacjami. Pierwszej, w której stwierdziliśmy, że inhibitory TNF alfa w aktywnym ZZSK nie wpływają na stężenie markera uszkodzenia śródbłonna, asymetrycznej dimetylargininy, ADMA, w surowicy lub ten wpływ nie udaje się przełożyć na spadek stężenia ADMA w surowicy (**Pharmacol Review, 2013**). Wyniki drugiej, wzmacniają rosnącą liczbę dowodów na związek patofizjologiczny ADMA z autoprzeciwciałami, w naszym przypadku czynnikiem reumatoidalnym, co zwiększa ryzyko sercowo-naczyniowe w chorobach reumatycznych (**Scandin J Rheuma, 2012**).

Kolejnym obszarem badań jest zastosowanie sztucznej inteligencji w jakościowym i ilościowym wykrywaniu objawów radiologicznych chorób reumatycznych na klasycznych radiogramach, który jest możliwy dzięki współpracy z Instytutem Informatyki UJ, i który zaowocował szeregiem związanych ze sobą publikacji. Udowodniliśmy, że jest możliwe opracowanie półilościowej analizy komputerowej dla oceny geometrii stawów i analizy niektórych objawów radiologicznych, charakterystycznych dla chorób reumatycznych, tj. zwężenia szpary stawowej (**Pattern Recognition, 2008**), nadżerek (**Lect Notes Comp Sci, 2011**) i osteofitów (**Adv Intellig Soft Comp, 2011**).

