UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU

Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Bydgoszcz 2024 r.

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Łukasz Jaworski

Apoptoza w przewlekłej tendinopatii ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia i jej związek ze zmianami degeneracyjnymi ścięgna oraz wynikami klinicznymi

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu

Promotor:
Dr hab. n. med. i n. o zdr. Jan Zabrzyński, prof. UMK

Bydgoszcz rok 2024

Wszyscy jesteśmy podróżnikami w czasie,

razem zdążającymi ku przyszłości.

Ale musimy zjednoczonym wysiłkiem

uczynić tę przyszłość miejscem,

w którym naprawdę chcielibyśmy być.

Bądźmy dzielni, bądźmy ciekawi,

bądźmy zdeterminowani, pokonajmy przeciwności.

Jesteśmy do tego zdolni.

Stephen Hawking

Podziękowania dla

Dr hab. n. med. Jana Zabrzyńskiego, prof. UMK, za nieoceniony wkład merytoryczny w trakcie prowadzenia badań, za poświęcony czas i nieocenioną pomoc w realizacji pracy.

Spis treści:

1. Wykaz skrótów 5
2. Wstęp 6
3. Histologia i patologia ścięgien 7
4. Apoptoza w ścięgnach 14
5. Cel pracy 16
6. Streszczenie artykułów oryginalnych 17
   Artykuł oryginalny I 17
   Artykuł oryginalny II 18
7. Wnioski 20
8. Streszczenie 21
9. Summary 23
10. Bibliografia 25
11. Publikacje będące przedmiotem rozprawy doktorskiej 30
12. Oświadczenia współautorów publikacji 61
13. Zgoda Komisji Bioetycznej 97

1. Wykaz skrótów

ASES – amerykańska skala oceny funkcjonalnej barku i łokcia (*ang. American Shoulder and Elbow Score*)

ECM - macierz zewnątrzkomórkowa (*ang. extracellular matrix*)

IL – interleukina (*ang. interleukin*)

H&E - hematoksylina i eozyna (*ang. hematoxylin and eosin*)

LHBT - ścięgno głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia (*ang. the long head of the biceps brachii tendon*)

PGE2 – prostaglandyna E2 (*ang. prostaglandin E2*)

RC - stożek rotatorów (*ang. rotator cuff*)

SSC - ścięgno mięśnia podłopatkowego (*ang. subscapularis tendon*)

SST - ścięgno mięśnia nadgrzebieniowego (*ang. supraspinatus tendon*)

TGF-β – transformujący czynnik wzrostu beta (*ang. transforming growth factor β*)

TNF-α – czynnik martwicy nowotworów alfa (*ang. tumor necrosis factor alfa*)

VAS - wizualna skala analogowa (*ang. visual analogue scale*)

VEGF - czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (*ang. vascular endothelial growth factor*)

2. Wstęp

Ścięgno to pomost łącznotkankowy pomiędzy mięśniem a kością, służący do transmisji siły i wprawiania stawu w ruch [1,2]. Ze względu na jego znikomą rozciągliwość oraz bardzo dużą wytrzymałość na obciążenia mechaniczne, vcmożliwe jest minimalne rozproszenie energii w trakcie procesu przenoszenia siły generowanej w trakcie skurczu mięśnia bezpośrednio na kość [1]. Ścięgno zbudowane jest głównie z hierarchicznie ułożonych włókien kolagenu typu I oraz komórek – tenocytów [1–3].

Tendinopatia jest przewlekłą patologią ścięgna spowodowaną głównie zaburzeniem pomiędzy balansu procesami regeneracji i degeneracji tkanki ścięgnistej [4]. Charakteryzuje się zaburzeniem architektury włókien kolagenowych, nagromadzeniem proteoglikanów w macierzy pozakomórkowej (ECM), patologiczną transformacją tenocytów oraz nadmiernym tworzeniem kapilar w tkance ścięgnistej [5,6]. Tendinopatia jest powszechnym problemem klinicznym i dotyka sporą część ogólnej populacji. Dodatkowo, może rozwinąć się w obrębie każdego ścięgna, często w pobliżu jego przyczepu do kości, gdzie dochodzi do kumulacji obciążeń [6,7].

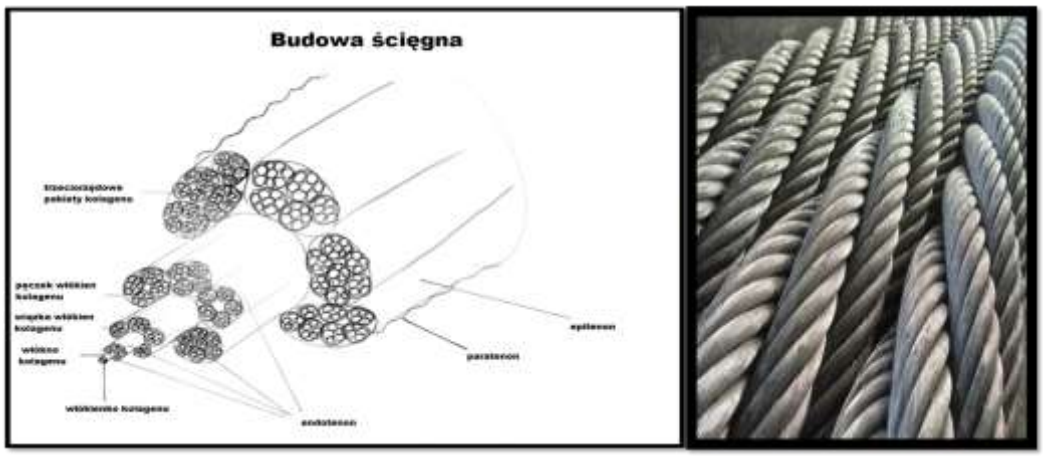
Ścięgno głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia jest istotnym generatorem bólu w obrębie barku [8–11]. Przyczep początkowy ścięgna zlokalizowany jest na guzku nadpanewkowym łopatki oraz górnej części obrąbka stawowego. Część proksymalna ścięgna położona jest śródstawowo i pozamaziówkowo [12,13]. Dalsza część ścięgna, podążając w dół, przez bruzdę ścięgna na kości ramiennej, pomiędzy guzkiem mniejszym i guzkiem większym, położona jest pozastawowo [14,15] Zapalenie, niestabilność oraz uszkodzenia degeneracyjne w następstwie urazów to zasadnicze patologie dotyczące tego ścięgna [13,14,16]. Schorzenia te mogą występować oddzielnie lub łącznie, w rezultacie prowadząc do rozwoju tendinopatii. Ponadto, tendinopatia LHBT często związana jest z patologią stożka rotatorów i obrąbka stawowego [8,13].

Apoptoza jest genetycznie zaprogramowaną śmiercią komórki [17]. Jest uważana za kluczową składową wielu fizjologicznych procesów takich jak embriogeneza, cykl komórkowy, starzenie się [18]. Rola apoptozy w tendinopatii wciąż nie jest dobrze poznana [17].

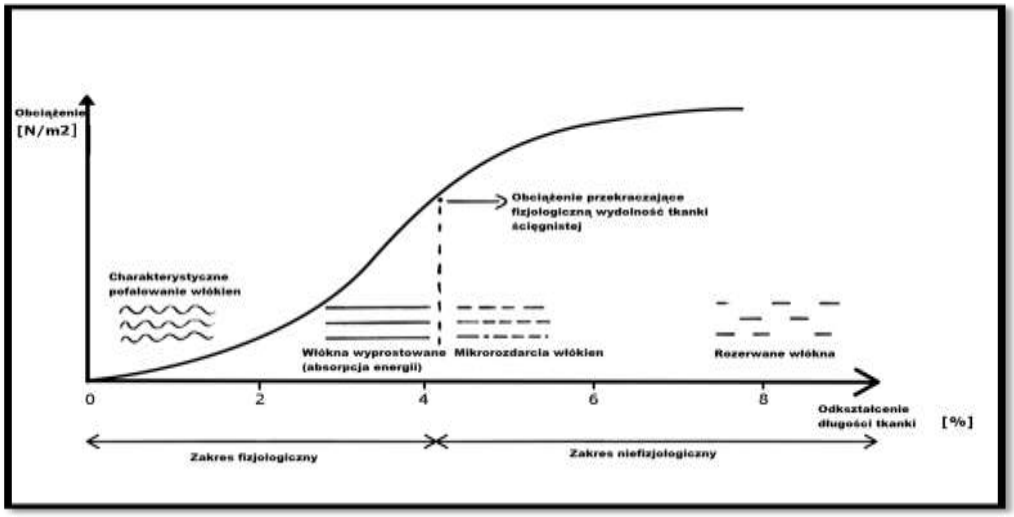
3. Histologia i patologia ścięgien

(Opracowane w oparciu o artykuł poglądowy pt. *Advances in Microscopic Studies of Tendinopathy: Literature Review and Current Trends, with Special Reference to Neovascularization Process. Jaworski, Ł.; Zabrzyńska, M.; Klimaszewska-Wiśniewska, A.; Zielińska, W.; Grzanka, D.; Gagat, M. J. Clin. Med. 2022, 11, 1572. https://doi.org/10.3390/jcm11061572*)

Ścięgna są strukturami niezbędnymi do transmisji siły generowanej przez mięśnie [1,2]. Poddawane są niezwykłym i ciągłym obciążeniom, które mogą prowadzić do rozwoju patologii[1,2]. Ścięgna mają za zadanie wspomagać ruchy ciała człowieka, stabilizować stawy i pochłaniać energię kinetyczną [19]. Struktura ścięgna jest mocna i włóknisto-elastyczna, o jaskrawobiałej barwie [20]. Istnieją różne typy morfologiczne ścięgien: płaskie, cylindryczne, wachlarzowe i wstęgowe [19]. Franchi i in. podkreślił, że krótkie i grube cięgna odpowiadają za przenoszenie dużych momentów obrotowych lub sił oporu [19]. Długie i cienkie ścięgna odpowiadają za subtelne i delikatne ruchy [19]. Właściwości adaptacyjne tkanki ścięgnistej wynikają z wysoce zorganizowanej struktury, którą można opisać morfologią przypominającą syntetyczną linę wspinaczkową [1] (Rys. 1). Ta specjalna konstrukcja ścięgien i podział na kolejne podjednostki zapewnia bardziej równomierne rozłożenie obciążeń i zmniejsza możliwość ich uszkodzenia [21] (Rys. 2).



Rys. 1. Szkic przestawiający hierarchiczną strukturę ścięgna w porównaniu z budową syntetycznej liny wpsonaczkowej.. Zmodyfikowano na podstawie: Zabrzyński J, Łapaj Ł, Paczesny Ł, Zabrzyńska A, Grzanka D. Tendon - function-related structure, simple healing process and mysterious ageing. Folia Morphol (Warsz) 2018;77:416–27. https://doi.org/10.5603/FM.a2018.0006.



Rys. 2. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy obciążeniem a deformacją struktury ścięgna. Konstrukcja ścięgien i podział na kolejne podjednostki zapewnia bardziej równomierne rozłożenie obciążeń i zmniejsza możliwość ich uszkodzenia W fizjologicznym zakresie dochodzi do absorpcji energii oraz elastycznego odkształcenia struktury ścięgna. Jesli obciążenie przekracza fizjologiczne granice, pojawiają się stopniowo mikrouszkodzenia. Krzywa zaczyna przechodzić w zakres niefizjologiczny i jeśli narastająca siła nie ulegnie redukcji, powoduje częściowe, a następnie kompletne uszkodzenie włókien ścięgna. *Zmodyfikowano na podstawie: Zabrzyński J, Łapaj Ł, Paczesny Ł, Zabrzyńska A, Grzanka D. Tendon - function-related structure, simple healing process and mysterious ageing. Folia Morphol (Warsz) 2018;77:416–27. https://doi.org/10.5603/FM.a2018.0006.*

W budowie ścięgna można wyróżnić dwa elementy: komórki i macierz zewnątrzkomórkową. Macierz pozakomórkowa pełni rolę rusztowania dla komórek, naczyń i nerwów oraz odpowiada za siłę ścięgna [20,22]. Zawiera ona cząsteczki kolagenu wraz z niektórymi substancjami niekolagenowymi, np. elastyną, glikozaminoglikanami, proteoglikanami, glikoproteinami i wodą [23]. Kolagen typu I stanowi około 60–90% suchej masy ścięgna. Jednakże w strukturze ścięgien występują także inne typy kolagenu, są to głównie typy III i V [20]. Kolagen typu I odpowiada za siły rozciągające ścięgien. Synergistycznie z typem III tworzy heterotypowe włókienka. Kolagen typu III bierze udział w gojeniu ścięgien i tworzy połączenia poprzeczne. Kolagen typu V tworzy rdzeń dla włókienek kolagenu typu I i kontroluje tzw. boczny wzrost ścięgna [24].

Ponadto włókienka kolagenowe otoczone są luźną tkanką łączną, z kolei każdy pęczek kolagenu otoczony jest inną osłonką tkanki łącznej. Te elementy tkanki łącznej zapewniają

dostęp do naczyń krwionośnych i limfatycznych oraz unerwienia. Całe ścięgno pokryte jest również osłonką, który stanowi dodatkową barierę tkanki łącznej [25].

Najczęstszymi białkami niewłóknistymi ścięgien są proteoglikany, które stanowią 1–5% suchej masy ścięgna [6,21,23]. Ich głównymi składnikami są białka rdzeniowe połączone łańcuchami polisacharydowymi, zwanymi łańcuchami bocznymi glikozaminoglikanów. Dzięki możliwości wiązania dużej ilości wody gwarantują silne nawodnienie ścięgna. W rezultacie 55–70% masy ścięgna stanowi woda. Najobficiej występującymi proteoglikanami są małe typy bogate w leucynę, z których najbardziej rozpowszechniona jest dekoryna. Dodatkowo niektóre inne białka, np. fibromodulina, biglykan, lumikan i keratokan, występują w mniejszych ilościach. Natłuszczają i rozdzielają elementy ścięgna, uczestniczą w fibrylogenezie i tworzeniu macierzy. Inne białka macierzy zewnątrzkomórkowej to glikoproteiny. Wśród nich najpowszechniejsze jest oligomeryczne białko macierzy chrząstki (COMP) [21,26]. Glikoproteiny kontrolują interakcje między komórkami, adhezję oraz przenoszą bodźce mechaniczne do cytoplazmy w procesie mechanotransdukcji [21]. Podczas procesu mechanotransdukcji ścięgna zbierają informacje o obciążeniu i sygnałach z lokalnego środowiska. Dzięki temu można łatwo regulować metabolizm tenocytów i wpływ na lokalne mediatory [1]. Schorzenia ścięgien można podzielić na ostre i przewlekłe [1,2]. Różne czynniki mogą zwiększać ryzyko patologii tkanki ścięgnistej. Należą do nich płeć, wiek, palenie tytoniu, choroby przewlekłe (np. cukrzyca typu 2, choroby tarczycy, choroby reumatologiczne, choroby dziedziczne, otyłość), odżywianie, zawód, hipertermia, antybiotyki fluorochinolonowe, kortykosteroidy, niestabilność stawów, urazy kości i przeciążenia ścięgien podczas ćwiczeń, sportu i innej aktywności fizycznej [1,6,7,20,27]. Zarówno ostre, jak i przewlekłe urazy mogą całkowicie lub częściowo przerwać ciągłość ścięgna. Jednak w przypadku ostrych urazów prawdopodobieństwo całkowitej regeneracji jest większe [28]. Z kolei urazy przewlekłe, które powstają na skutek przeciążenia i prowadzą do zwyrodnienia tkanek, nazywane są tendinopatią. Powodują dysfunkcję mechaniczną ścięgna [15]. Tendinopatia często wiąże się z wysiłkiem fizycznym i stanowi około 30–50% wszystkich urazów związanych ze sportem [2]. Urazy lub powtarzające się przeciążenia mogą prowadzić do bólu i obrzęków, które zwykle powodują trudności w poruszaniu się [29,30]. Joseph i wsp. zauważyli, że tendinopatia charakteryzuje się upośledzonym gojeniem macierzy zewnątrzkomórkowej, z ograniczoną liczbą komórek zapalnych, zwyrodnieniem kolagenu oraz podwyższonym poziomem

proteoglikanów i kolagenu typu III [31,32]. Włókna kolagenowe tracą swoją hierarchiczną strukturę i stają się bardziej nieregularne. Ponadto pojawiają się zmiany patologiczne w komórkach, niekolagenowej macierzy zewnątrzkomórkowej, nerwach i łożysku naczyniowym [5,15,33–35].

Podobnie ocena ultrastruktury tenocytów w tendinopatii ujawniła kilka charakterystycznych zmian [22,36]. Są one losowo rozproszone wokół komórek, z zaburzoną lokalizacją i morfologią jąder. Zmiana kształtu tenocytów na bardziej owalny może świadczyć o metaplazji i adaptacji chrząstki. Uważa się, że różnice w cytoplazmie i kształcie komórek odzwierciedlają stopniową transformację chondroidów [22,34]. Ponadto niektórzy autorzy zauważyli obecność w tenocytach cech przypominających apoptozę, takich jak zmiany w chromatynie i fragmentacja jąder [20].

W odniesieniu do ECM zaobserwowano zastąpienie włókienek kolagenowych przez niekolagenowe ECM, a co za tym idzie zmniejszenie charakterystycznego pofałdowania [21]. Tendinopatia to proces chaotycznej przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej i wzmożonego wydzielania enzymów, białek i mediatorów stanu zapalnego, takich jak metaloproteinazy, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-10, VEGF, TGF-β, i PGE2 [31]. Istnieje grupa ścięgien szczególnie podatnych na urazy ze względu na ich specyficzną biologię i lokalizację [2,30,37–40]. Zwykle ścięgna te są narażone na działanie zwiększonych sił o różnych wektorach działania, np. ścięgna stożka rotatorów, ścięgno głowy długiej mięśnia dwugłowego, ścięgno Achillesa, ścięgno mięśnia piszczelowego tylnego, ścięgno rzepki, ścięgno pośladkowe i ścięgno mięśnia piszczelowego przedniego [32,40–44]. Ponadto w ścięgnach tych występują obszary hiponaczyniowe lub jałowe, tzw. obszary wododziału, co dodatkowo predysponuje je do patologii [45].

Ocena histopatologiczna tkanki ścięgnistej jest kluczowa dla postawienia diagnozy i ustalenia stopnia zaawansowania zwyrodnienia ścięgna [34]. Niemniej jednak analiza mikroskopowa tkanki ścięgnistej jest często trudna i wymagająca. Istnieje kilka najpopularniejszych skal stosowanych w ocenie patologii ścięgien: skala Bonar, skala Movin, skala Astroma i Rausinga oraz skala Soslowsky'ego (Tab. 1).

Tab. 1. Najczęściej używane skale do oceny histopatologicznej ścięgien.

Skala	Składowe	Punkty
Movin	Struktura włókien	0–3
	Ułożenie włókien	0–3
	Kształt jadra komórkowego	0–3
	Komórkowość w danych obszarach	0–3
	Neowaskularyzacja	0–3
	Zaburzone barwienie kolagenu	0–3
	Hialinizacja	0–3
	Nagromadzenie glikozaminoglikanów	0–3
Bonar	Morfologia tenocytów	0–3
	Nagromadzenie substancji podstawowej	0–3
	Neowaskularyzacja	0–3
	Architektura kolagenu	0–3
Astrom and Rausing	Ułożenie włókien	0–3
	Struktura wlókien	0–3
	Morfologia jąder tenocytów	0–3
	Komórkowość w danych obszarach	0–3
	Neowaskularyzacja	0–3
Soslowsky	Komórkowość	0–3
	Zmiany fibroblastyczne	0–3
	Orientacja włókien kolagenu	0–3
	Dezorganizacja kolagenu	0–3

Zmodyfikowano na podstawie: Advances in Microscopic Studies of Tendinopathy: Literature Review and Current Trends, with Special Reference to Neovascularization Process. Jaworski, Ł.; Zabrzyńska, M.; Klimaszewska-Wiśniewska, A.; Zielińska, W.; Grzanka, D.; Gagat, M. J. Clin. Med. 2022, 11, 1572. https://doi.org/10.3390/jcm11061572)

W patologii ścięgien najczęściej stosuje się ocenę za pomocą systemów Movina i Bonara [34,35]. Zmienne w skali Movina to struktura włókien, rozmieszczenie włókien, morfologia jąder komórkowych, regionalne różnice w komórkowości, zwiększone unaczynienie, zmniejszona zdolność barwienia kolagenu, hialinizacja i zawartość glikozaminoglikanów. Każdy parametr jest oceniany w czteropunktowym systemie punktacji. Końcowy wynik mieści się w przedziale od 0 (zdrowe ścięgno) do 24 (poważnie zdegenerowane ścięgno). Tkankę można sklasyfikować jako nieznacznie nieprawidłową, jeśli końcowa ocena mieści się w przedziale od 1 do 8; umiarkowanie nieprawidłowe, gdy wynik końcowy osiąga wartości pomiędzy 9 a 16; wyraźnie nieprawidłowe, gdy ostateczny wynik mieści się w przedziale od 17 do 24. Z drugiej strony, zmiennymi w skali Bonara są zmiany w morfologii tenocytów, akumulacja substancji podstawowej, stopień neowaskularyzacji i architektura wiązek kolagenowych. Każda zmienna jest oceniana w czteropunktowej skali, gdzie 0 oznacza zdrową tkankę, a 3 oznacza tkankę poważnie zdegenerowaną. Całkowity wynik mieści się w zakresie od 0 (prawidłowe ścięgno) do 12 (najpoważniejsza nieprawidłowość).

Mniej popularne skale to Astrom i Rausing Score oraz Soslowsky'ego [46,47]. Skala Astroma i Rausinga jest także półilościową oceną służącą do oceny tendinopatii. Zawiera pięć parametrów ocenianych w czteropunktowej skali. Ostateczny wynik waha się od 0 (normalne ścięgno) do 20 (najcięższe zwyrodnienie). Skala Soslowsky'ego, stosowana do badania chorób stożka wirnika, uwzględnia cztery cechy histologiczne tendinozy, oceniane w czteropunktowej skali. Końcowy wynik osiąga wartości od 0 (ścięgno normalne) do 16 (najcięższe zwyrodnienie).

Te systemy punktacji wprowadzają podobne zmienne, ale nie determinują niektórych kluczowych kwestii. Należą do nich przygotowanie próbki, metody barwienia, dodatkowe reakcje immunohistochemiczne, liczba badaczy, doświadczenie badaczy, obszar badań i określone powiększenie. Cechy te nie są jeszcze dobrze ugruntowane i zazwyczaj dobierane są losowo przez autorów.

Jeśli chodzi o metody barwienia, złotym standardem jest metoda H&E, ale niektórzy autorzy popierają ją barwieniem Alcian Blue i Masson Trichrome w celu wizualizacji zmian ECM [15,34,48–50]. Ponadto niektórzy autorzy uwzględnili w ocenie tkanki ścięgnistej techniki IHC umożliwiające ocenę neowaskularyzacji z wykorzystaniem CD31 i CD34 [49,51], kolagenu typu I [52] czy procesu apoptozy [53].

Liczba badaczy mikroskopowych w różnych artykułach waha się od jednego do trzech obserwatorów[33,35,41,52]. W większości artykułów nie określono jednak liczby badaczy. Wskazane jest co najmniej dwóch obserwatorów doświadczonych w patologii MSK. Wiarygodność między obserwatorami w systemie Bonar została oceniona przez Fearona i wsp., autorzy pokazali, że po kilku modyfikacjach poprawiony wynik w oparciu o skalę Bonar charakteryzował się zadowalającą rzetelnością między testerami; r2 = 0,71 [35].

Ponadto autorzy zazwyczaj losowo wybierają oceniany obszar slajdu. W niektórych pracach wybierano obszar najbardziej zdegenerowany, w innych oceniano cały preparat [34,48,54]. Jeśli chodzi o modyfikacje systemów punktacji, najczęściej stosowano czterozmienną skalę Bonara. Niektórzy autorzy wprowadzili piątą zmienną, liczącą liczbę tenocytów [35,41,52,55]. Dodatkowo w niektórych badaniach włączono grupę kontrolną. Zmiany w przebiegu tendinopatii są zwykle podobne we wszystkich strukturach ścięgien. Charakterystyczne zmiany obejmują zaburzoną architekturę kolagenu, zmiany morfologiczne tenocytów, proces neowaskularyzacji i ekspansję substancji podstawowej. Dlatego też grupa kontrolna nie powinna być obowiązkowa, zwłaszcza gdy próbkę oceniają doświadczeni obserwatorzy układu mięśniowo-szkieletowego.

Podsumowując, tendinopatia to proces chaotycznej przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej, po którym następuje zwiększone wydzielanie enzymów i mediatorów stanu zapalnego. Ocena histopatologiczna tkanki ścięgnistej ma kluczowe znaczenie dla postawienia diagnozy i ustalenia stopnia zaawansowania zwyrodnienia ścięgna. System Bonar jest najczęściej stosowany w patologii ścięgien. Z literatury wynika, że zadowalające wyniki dają hematoksylina i eozyna z dodatkowym barwieniem błękitem alcianu. Ponadto do oceny mikroskopowej tendinopatii wystarczy dwóch obserwatorów doświadczonych w patologii układu mięśniowo-szkieletowego. Kontrola ze względu na podobne i typowe zmiany w tkance ścięgnistej nie jest konieczna. Neowaskularyzacja odgrywa niejednoznaczną rolę w chorobach ścięgien. Proces neowaskularyzacji ma kluczowe znaczenie w procesie gojenia ścięgien. Z drugiej strony jest także ważnym składnikiem zwyrodnienia tkanki ścięgnistej, gdy regeneracja jest niepełna i niewystarczająca.

4. Apoptoza w ścięgnach

Apoptoza jest fizjologicznym, aktywnym procesem zaprogramowanej śmierci komórki, towarzyszącym rozwojowi człowieka poprzez eliminację zbędnych komórek[17,56]. Charakteryzuje się występowaniem określonych cech: kondensacja i fragmentacja DNA, zmiana kształtu błony komórkowej z formowaniem pęcherzyków apoptotycznych, brak odpowiedzi zapalnej[17,57]. Nadmierna odpowiedź apoptotyczna w organizmie człowieka jest powiązana z niektórymi patologiami zwyrodnieniowymi, takimi jak choroba zwyrodnieniowa stawów i choroba Alzheimera[58].

Zaprogramowana śmierć komórki odgrywa kluczową rolę w kontrolowaniu proliferacji komórek poprzez regulację embriogenezy, organogenezy i morfogenezy tkanek [17]. Istnieją dwa główne szlaki apoptozy: szlak mitochondrialny (wewnętrzny) i szlak receptora śmierci (zewnętrzny). Istnieją połączenia pomiędzy tymi dwoma szlakami i cząsteczki z jednego szlaku mogą wpływać na drugi [59]. Szlak mitochondrialny jest wyzwalany przez różne czynniki (takie jak stres oksydacyjny, uszkodzenia genetyczne i wysokie stężenie jonów wapnia w cytozolu), które zwiększają przepuszczalność błony mitochondrialnej [17]. Szlak zewnętrzny jest aktywowany przez receptor przezbłonowy, z rodziny czynnika martwicy nowotworów (TNF) [60].

Zjawisko apoptozy stwierdzono również w tendinopatii różnych lokalizacji, lecz odgrywa nadal zagadkową rolę w patologii ścięgien, która niewątpliwie wymaga dogłębnego zbadania. W ostatniej dekadzie zaprogramowana śmierć tenocytów została zidentyfikowana jako ważny czynnik w procesie tendinopatii, ale dokładny patomechanizm tendinopatii pozostaje nieznany i jest raczej wieloczynnikowy[17,18,56,57,61].

Uważa się, że liczne patologiczne zmiany w ECM, widoczne w obrazie mikroskopowym, m.in. całkowicie zdezorganizowana mikrostruktura ścięgna i zaburzone interakcje tenocyt-ECM, indukują proces apoptotycznej śmierci komórki[56]. Nie jest do końca wyjaśnione, czy śmierć apoptotyczna komórek jest procesem pierwotnym, czy wtórnym, związanym z przebiegiem tendinopatii [3]. Ponadto nieznana jest dokładna korelacja między wynikami klinicznymi u pacjentów a stopniem procesu apoptozy, a także wpływem szkodliwych czynników, takich jak palenie tytoniu. Apoptoza może być wyzwalana przez różnorodne bodźce fizjologiczne i

stresujące, a utrata homeostatycznego napięcia komórkowego po mikroskopijnym uszkodzeniu poszczególnych włókienek ścięgnistych może być wyzwalaczem kaskady apoptotycznej [3,53].

Pomimo tego, iż nadekspresja bodźców może wywołać apoptozę w tkance ścięgna, brak obciążenia mechanicznego może również wywołać apoptozę w komórkach ścięgna [61,62]. Również hipoksja wywołana paleniem papierosów może aktywować i wzmacniać szlaki apoptotyczne [63]. Hipoksja powoduje zmniejszenie syntezy kolagenu przez tenocyty, upośledza homeostazę macierzy kolagenowej i spowalnia gojenie się tkanek. Korelacja między patologią w obrębie stożka rotatorów a stopniem apoptozy może być odzwierciedleniem adaptacji tenocytów do komórek podobnych do chondrocytów, które mogą przetrwać w środowiskach o niskiej perfuzji [63].

Stopień apoptozy obserwowany w nielicznych badaniach mikroskopowych ścięgien wynosił od 20% do 34% komórek [62,64,65]. Autorzy zbadali komórki apoptotyczne w ścięgnach pierścienia rotatorów, ścięgnach rzepki, ścięgnach Achillesa i ścięgnach prostowników krótkich nadgarstka [18,64,66]. W literaturze obecność zaprogramowanej śmierci komórkowej w obrębie ścięgien jest najczęściej opisywana w RCT [17,18,55,65,67]. Lundgreen i wsp. wykazali zwiększoną liczbę komórek apoptotycznych nie tylko w częściowo rozdartym SST, ale także w sąsiednim SSC, co może wskazywać na wczesny początek procesu patologicznego w obrębie ścięgien barku [55]. Tuoheti i wsp. donieśli również o zwiększonej apoptozie w patologicznych, niezerwanych ścięgnach nadgrzebieniowych, co potwierdza obecność apoptozy we wczesnych fazach patologii ścięgien [68].

5. Cel pracy

Celem pracy jest ocena procesu apoptozy w patologii ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia w przebiegu tendinopatii i korelacji ze zmianami degeneracyjnymi oraz klinicznymi.

Szczegółowe cele:

1. Zbadanie związku pomiędzy paleniem tytoniu, procesem apoptozy w tendinopatii LHBT oraz wynikami klinicznymi u pacjentów poddanych artroskopii barku.
2. Ocena związku apoptozy ze zmianami degeneracyjnymi ścięgna w pozyskanym materiale operacyjnym na podstawie analizy mikroskopowej wewnątrzstawowych fragmentów LHBT.

6. Streszczenie artykułów oryginalnych

Artykuł oryginalny I

„The association of tobacco smoking and level of apoptosis in the long head of the biceps chronic tendinopathy – an immunohistochemical study."

Cel: Celem pracy było zbadanie związku pomiędzy paleniem tytoniu, stopniem apoptozy w tendinopatii LHB a odległymi wynikami leczenia chirurgicznego.

Materiał i metody: Do badania włączono 22 pacjentów, których poddano artroskopowej tenodezie lub tenotomii ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia z powodu objawowej tendinopatii z lub bez współistniejącego uszkodzenia stożka rotatorów. Wewnątrzstawowe fragmenty ścięgna bicepsa zbadano histopatologicznie, mierząc poziom ekspresji markerów komórek apoptotycznych, takich jak BCL2, kaspaza 3 i białko p53. Przed- i pooperacyjne wyniki kliniczne analizowano, w oparciu o skale American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) i wizualną skalę analogową bólu (VAS).

Wyniki: W grupie palaczy średnia średnia wartość indeksu paczkolat wynosiła 13,12 (SD = 9,94), średnia liczba papierosów wypalanych dziennie 14,77 (SD = 4,64) i średni czas palenia 16,38 (SD = 10,1) lat. Wśród wskaźników palenia liczba wypalanych dziennie papierosów wykazywała dodatnią korelację z klasyfikacją Snydera patologii ścięgien stożka rotatorów (p=0,0459, rho=0,3682). Zarówno u osób niepalących jak i u palaczy, nie wykazano istotnej statystycznie różnicy we wskaźnikach ekspresji białek apoptotycznych: BCL2, kaspazy 3 i p53 (odpowiednio p=0,4216, p=0,5449, p=0,5613). Jednakże wskaźnik ekspresji kaspazy 3 wykazywał ujemną korelację z nasileniem zmian degeneracyjnych stożka rotatorów w populacji całkowitej (p=0,0193, rho=-0,4651).

Wnioski: Pomimo iż zaobserwowano procesy apoptotyczne w ścięgnie głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia, nie stwierdzono istotnego statystycznie związku pomiędzy paleniem tytoniu, stopniem apoptozy i wynikami klinicznymi. Ekspresja markera apoptozy kaspazy 3 korelowała ze stopniem zaawansowania patologii ścięgien stożka rotatorów. Co więcej,

wykazano, iż bycie aktywnym palaczem, wiąże się z gorszymi wynikami klinicznymi, szczególnie w zakresie dolegliwości bólowych po tenodezie lub tenotomii ścięgna bicepsa.

Artykuł oryginalny II

"Correlation between the long head of the biceps microscopic degeneration and extent of apoptotic process."

Cel: Celem pracy była ocena korelacji stopnia apoptozy ze zmianami degeneracyjnymi wewnątrzstawowych fragmentów ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia.

Materiał i metody: Do badania włączono 26 pacjentów, których poddano artroskopowej tenodezie lub tenotomii ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia z powodu objawowej tendinopatii z lub bez współistniejącego uszkodzenia stożka rotatorów. Wewnątrzstawowe fragmenty ścięgien bicepsa przygotowane w oparciu o barwienie hematoksyliną i eozyną oraz błękitem alcjanu. Stopień zwyrodnienia ścięgna oceniono przy pomocy mikroskopii świetlnej w oparciu o oryginalną skalę Bonar i zmodyfikowaną wersję tej skali. Wyniki skorelowano z wiekiem pacjentów oraz ekspresją białek apoptotycznych: aktywowanej kaspazy-3, białka p53 i BCL-2.

Wyniki: Do badanej grupy włączono 26 pacjentów. Ocena mikroskopowa ścięgien w oparciu o skalę Bonar dała średni wynik o wartości 8,65 (zakres 5-11), natomiast w oparciu o zmodyfikowaną skalę Bonar: 7,61 (zakres 4-11). Stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy wynik w zmodyfikowanej skali Bonar a wiekiem pacjentów (p=0,0022). Ponadto, zaobserwowano korelację z wiekiem w zakresie zmiennych pod postacią architektury kolagenu w ścięgnie i akumulacji substancji pozakomórkowej niekolagenowej (odpowiednio p=0,0036 i p=0,0166). Ekspresja białka p53 korelowała pozytywnie z rosnącym wiekiem pacjenta (p=0,0441). Ponadto nie zaobserwowano korelacji pomiędzy ekspresją białek apoptotycznych a oryginalną i zmodyfikowaną skalą Bonar.

Wnioski: W zaawansowanej tendinopatii ścięgna bicepsa ekspresja białek apoptotycznych nie koreluje bezpośrednio ze stopniem zwyrodnienia tkanki ścięgnistej. Zaobserwowane zmiany w architekturze kolagenu i substancji podstawowej pozakomórkowej, były skorelowane z

wiekiem, a także zwyrodnieniem tkanki ścięgnistej, ocenianym ilościowo według zmodyfikowanej skali Bonar. Wiek związany był także z ekspresją białka p53 i zwiększonym stopniem apoptozy w populacji osób starszych w badanej grupie.

7. Wnioski

1. Osoby z przewlekłą tendinopatią LHBT palące papierosy nie wykazują zwiększonego nasilenia procesu apoptozy, pomimo pogorszonych przed- i pooperacyjnych wyników klinicznych oraz towarzyszącej nasilonej patologii stożka rotatorów.
2. Wykazano brak korelacji między wskaźnikami palenia, wynikami klinicznymi i intensywnością apoptozy w przebiegu tendinopatii LHBT.
3. Stwierdzono związek pomiędzy stopniem nasilenia patologii ścięgien stożka rotatorów a poziomem ekspresji kaspazy 3 w ścięgnie bicepsa.
4. Bycie aktywnym palaczem wiąże się z gorszymi wynikami klinicznymi, szczególnie w zakresie dolegliwości bólowych po tenodezie lub tenotomii ścięgna bicepsa.
5. Wyniki sugerują, że apoptoza może nie odgrywać znaczącej roli w późnych stadiach tendinopatii i podkreślają znaczenie wczesnej interwencji i leczenia.
6. W zaawansowanej tendinopatii ścięgna bicepsa ekspresja białek apoptotycznych nie koreluje bezpośrednio ze stopniem zwyrodnienia tkanki ścięgnistej.
7. Zmiany w architekturze kolagenu i substancji podstawowej pozakomórkowej były skorelowane z wiekiem, a także stopniem zwyrodnienia tkanki ścięgnistej, ocenianym ilościowo według zmodyfikowanej skali Bonar.
8. Wiek związany był także z ekspresją białka p53 i zwiększonym stopniem apoptozy w populacji osób starszych w badanej grupie.
9. Biorąc pod uwagę znaczącą rolę apoptozy w regulacji lokalnej populacji fibroblastów w ścięgnach i jej udział w tendinopatii, konieczne może być ponowne rozważenie włączenia indeksu apoptozy jako kolejnej zmiennej w zmodyfikowanych systemach oceny patologii ścięgien.

8. Streszczenie

Tendinopatia jest przewlekłą patologią ścięgna spowodowaną głównie zaburzeniem pomiędzy balansu procesami regeneracji i degeneracji tkanki ścięgnistej. Jest to jedna z najczęstszych przyczyn przewlekłego bólu przedniego barku. Etiopatologia tendinopatii pozostaje nieznana i uważa się, że jest ona wieloczynnikowy. Mikroskopowo tendinopatia charakteryzuje się defektem w architekturze kolagenu, nagromadzeniem proteoglikanów, zmianami w morfologii i populacji tenocytów oraz ekspansją kapilar. Apoptoza, zwana także zaprogramowaną śmiercią komórki, odgrywa kluczową rolę w regulacji proliferacji komórek i jest odpowiedzialna za utrzymanie homeostazy w wielu tkankach. W kontekście ścięgien, apoptozę obserwowano zarówno w naturalnym procesie gojenia tkanki ścięgnistej, jak i w zmianach degeneracyjnych, dlatego nadal jej rola w procesie tendinopatii nie jest do końca klarowna.

Do badania włączono pacjentów poddanych artroskopowej tenodezie lub tenotomii ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia z powodu objawowej tendinopatii z lub bez współistniejącego uszkodzenia stożka rotatorów. Wewnątrzstawowe fragmenty ścięgien bicepsa przygotowane w oparciu o barwienie hematoksyliną i eozyną oraz błękitem alcjanu. Następnie zbadano je histopatologicznie, w oparcu o skalę Bonar i jej modyfikacje oraz mierząc poziom ekspresji markerów komórek apoptotycznych, takich jak BCL2, kaspaza 3 i białko p53. Przed- i pooperacyjne wyniki kliniczne analizowano, w oparciu o skale American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) i wizualną skalę analogową bólu (VAS).

Ocena mikroskopowa ścięgien w oparciu o skalę Bonar i jej modyfikacje wykazała zaawansowane zmiany degeneracyjne w ścięgnach, średni wynik o wartości 8,65 (zakres 5-11), natomiast w oparciu o zmodyfikowaną skalę Bonar: 7,61 (zakres 4-11). Zwyrodnienie tkanki ścięgnistej oceniane w zmodyfikowanej skali Bonar korelowało z wiekiem pacjentów (p=0,0022). Ponadto, zaobserwowano korelację wieku oraz zaburzenia architektury kolagenu w ścięgnie i akumulacji substancji pozakomórkowej niekolagenowej (odpowiednio p=0,0036 i p=0,0166). Ekspresja białka p53 również korelowała pozytywnie z rosnącym wiekiem pacjenta (p=0,0441). W grupie palaczy średnia średnia wartość indeksu paczkolat wynosiła 13,12 (SD = 9,94), średnia liczba papierosów wypalanych dziennie 14,77 (SD = 4,64) i średni czas palenia

16,38 (SD = 10,1) lat. Wśród wskaźników palenia liczba wypalanych dziennie papierosów wykazywała dodatnią korelację z klasyfikacją Snydera patologii ścięgien stożka rotatorów (p=0,0459, rho=0,3682). Wskaźnik ekspresji kaspazy 3 wykazywał ujemną korelację z nasileniem zmian degeneracyjnych stożka rotatorów w populacji całkowitej (p=0,0193, rho=-0,4651).

Osoby z przewlekłą tendinopatią LHBT palące papierosy nie wykazują zwiększonego nasilenia procesu apoptozy, pomimo słabszych przed- i pooperacyjnych wyników klinicznych oraz towarzyszącej nasilonej patologii stożka rotatorów. Stwierdzono związek pomiędzy stopniem nasilenia patologii ścięgien stożka rotatorów a poziomem ekspresji kaspazy 3 w ścięgnie bicepsa. Dodatkowo, bycie aktywnym palaczem wiąże się z gorszymi wynikami klinicznymi, szczególnie w zakresie dolegliwości bólowych po tenodezie lub tenotomii ścięgna bicepsa. W zaawansowanej tendinopatii ścięgna bicepsa ekspresja białek apoptotycznych nie koreluje bezpośrednio ze stopniem zwyrodnienia tkanki ścięgnistej. Zmiany w architekturze kolagenu i substancji podstawowej pozakomórkowej były skorelowane z wiekiem, a także stopniem zwyrodnienia tkanki ścięgnistej, ocenianym ilościowo według zmodyfikowanej skali Bonar. Biorąc pod uwagę znaczącą rolę apoptozy w regulacji lokalnej populacji fibroblastów w ścięgnach i jej udział w tendinopatii, konieczne może być ponowne rozważenie włączenia indeksu apoptozy jako piątej zmiennej w zmodyfikowanych systemach oceny patologii ścięgien.

9. Summary

Tendinopathy is a chronic pathology of the tendon caused mainly by a disturbance in the balance between the processes of regeneration and degeneration of tendon tissue. This is one of the most common causes of chronic anterior shoulder pain. The etiopathology of tendinopathy remains unknown and is believed to be multifactorial. Microscopically, tendinopathy is characterized by defects in collagen architecture, accumulation of proteoglycans, changes in tenocyte morphology and population, and capillary expansion. Apoptosis, also called programmed cell death, plays a key role in regulating cell proliferation and is responsible for maintaining homeostasis in many tissues. In the context of tendons, apoptosis has been observed both in the natural healing process of tendon tissue and in degenerative changes, therefore its role in the process of tendinopathy is still not entirely clear.

The study included patients who underwent arthroscopic tenodesis or tenotomy of the long head of the biceps tendon due to symptomatic tendinopathy with or without concomitant rotator cuff damage. Intra-articular fragments of biceps tendons prepared based on hematoxylin and eosin and Alcian blue staining. Then, they were examined histopathologically, based on the BOnar scale and its modifications, and measuring the expression level of apoptotic cell markers, such as BCL2, caspase 3 and p53 protein. Pre- and postoperative clinical outcomes were analyzed based on the American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) scales and the visual analogue scale (VAS).

Microscopic assessment of tendons based on the Bonar scale and its modifications showed advanced degenerative changes in tendons, the average score was 8.65 (range 5-11), and based on the modified Bonar scale: 7.61 (range 4-11). Tendon tissue degeneration assessed using the modified Bonar scale correlated with patient age ($p=0.0022$). Moreover, a correlation was observed between age and disturbances of collagen architecture in the tendon and accumulation of non-collagen extracellular substance ($p=0.0036$ and $p=0.0166$, respectively). The expression of p53 protein also correlated positively with increasing patient age ($p=0.0441$). In the group of smokers, the mean pack-year index was 13.12 (SD = 9.94), the mean number of cigarettes smoked per day was 14.77 (SD = 4.64) and the mean smoking duration was 16.38 (SD = 10.1) years. . Among smoking indicators, the number of cigarettes

smoked per day showed a positive correlation with the Snyder classification of rotator cuff tendon pathology (p=0.0459, rho=0.3682). The caspase 3 expression index showed a negative correlation with the severity of degenerative changes in the rotator cuff in the total population (p=0.0193, rho=-0.4651).

People with chronic LHBT tendinopathy who smoke cigarettes do not show an increased severity of the apoptosis process, despite poorer pre- and postoperative clinical results and the accompanying severe rotator cuff pathology. A relationship was found between the severity of rotator cuff tendon pathology and the level of caspase 3 expression in the biceps tendon. Additionally, being an active smoker is associated with worse clinical outcomes, especially pain after biceps tendon tenodesis or tenotomy. In advanced biceps tendinopathy, the expression of apoptotic proteins does not directly correlate with the degree of tendon tissue degeneration. Changes in the architecture of collagen and extracellular ground substance were correlated with age, as well as the degree of tendon tissue degeneration, quantified according to the modified Bonar scale. Given the significant role of apoptosis in regulating the local fibroblast population in tendons and its contribution to tendinopathy, it may be necessary to reconsider the inclusion of the apoptosis index as a fifth variable in modified tendon pathology scoring systems.

10. Bibliografia

[1] Zabrzyński J, Łapaj Ł, Paczesny Ł, Zabrzyńska A, Grzanka D. Tendon - function-related structure, simple healing process and mysterious ageing. Folia Morphol (Warsz) 2018;77:416–27. https://doi.org/10.5603/FM.a2018.0006.

[2] Andarawis-Puri N, Flatow EL, Soslowsky LJ. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing: TENDON DEVELOPMENT, INJURY, AND REPAIR. J Orthop Res 2015;33:780–4. https://doi.org/10.1002/jor.22869.

[3] Arnoczky SP, Lavagnino M, Egerbacher M. The mechanobiological aetiopathogenesis of tendinopathy: is it the over-stimulation or the under-stimulation of tendon cells?: *Mechanobiological aetiology of tendinopathy*. International Journal of Experimental Pathology 2007;88:217–26. https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2007.00548.x.

[4] Fu S-C, Rolf C, Cheuk Y-C, Lui PP, Chan K-M. Deciphering the pathogenesis of tendinopathy: a three-stages process. BMC Sports Sci Med Rehabil 2010;2:30. https://doi.org/10.1186/1758-2555-2-30.

[5] Zabrzynski J, Gagat M, Paczesny L, Grzanka D, Huri G. Correlation between smoking and neovascularization in biceps tendinopathy – a functional preoperative and immunohistochemical study. Therapeutic Advances in Chronic Disease n.d. https://doi.org/10.1177/2040622320956418.

[6] Riley G. The pathogenesis of tendinopathy. A molecular perspective. Rheumatology (Oxford) 2004;43:131–42. https://doi.org/10.1093/rheumatology/keg448.

[7] Abate M, Silbernagel KG, Siljeholm C, Di Iorio A, De Amicis D, Salini V, et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? Arthritis Res Ther 2009;11:235. https://doi.org/10.1186/ar2723.

[8] Ahrens PM, Boileau P. The long head of biceps and associated tendinopathy. The Journal of Bone and Joint Surgery British Volume 2007;89-B:1001–9. https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B8.19278.

[9] Alpantaki K, Mclaughlin D, Karagogeos D, Hadjipavlou A, Kontakis G. SYMPATHETIC AND SENSORY NEURAL ELEMENTS IN THE TENDON OF THE LONG HEAD OF THE BICEPS: The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume 2005;87:1580–3. https://doi.org/10.2106/00004623-200507000-00021.

[10] Belay ES, Wittstein JR, Garrigues GE, Lassiter TE, Scribani M, Goldner RD, et al. Biceps tenotomy has earlier pain relief compared to biceps tenodesis: a randomized prospective study. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2019;27:4032–7. https://doi.org/10.1007/s00167-019-05682-1.

[11] Benjamin M, Toumi H, Ralphs JR et al. Where Tendons and Ligaments Meet Bone: Attachment Sites (‘entheses’) in Relation to Exercise And/or Mechanical Load. Journal of Anatomy. 2006; 208(4);471–490. n.d.

[12] Krupp RJ, Kevern MA, Gaines MD, Kotara S, Singleton SB. Long Head of the Biceps Tendon Pain: Differential Diagnosis and Treatment. Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy 2009;39:55–70. https://doi.org/10.2519/jospt.2009.2802.

[13] Ditsios K, Agathangelidis F, Boutsiadis A, Karataglis D, Papadopoulos P. Long Head of the Biceps Pathology Combined with Rotator Cuff Tears. Advances in Orthopedics 2012. https://doi.org/10.1155/2012/405472.

[14] Zabrzyński J, Paczesny Ł, Zabrzyńska A, Grzanka D, Łapaj Ł. Sonography in the instability of the long head of the biceps tendon confronted with histopathologic and arthroscopic

findings. Folia Morphol (Warsz) 2018;77:583–90. https://doi.org/10.5603/FM.a2018.0012.
[15] Is the inflammation process absolutely absent in tendinopathy of the long head of the biceps tendon? Histopathologic study of the long head of the ... - PubMed - NCBI 2020. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29517202 (accessed January 3, 2020).
[16] Na Y, Zhu Y, Shi Y, Ren Y, Zhang T, Liu W, et al. A meta-analysis comparing tenotomy or tenodesis for lesions of the long head of the biceps tendon with concomitant reparable rotator cuff tears. J Orthop Surg Res 2019;14:370. https://doi.org/10.1186/s13018-019-1429-x.
[17] Osti L, Buda M, Del Buono A, Osti R, Massari L, Maffulli N. Apoptosis and rotator cuff tears: scientific evidence from basic science to clinical findings. Br Med Bull 2017;122:123–33. https://doi.org/10.1093/bmb/ldx008.
[18] Lundgreen K, Lian OB, Engebretsen L, Scott A. Tenocyte apoptosis in the torn rotator cuff: a primary or secondary pathological event? British Journal of Sports Medicine 2011;45:1035–9. https://doi.org/10.1136/bjsm.2010.083188.
[19] Franchi M, Trirè A, Quaranta M et al. Collagen Structure of Tendon Relates to Function. ScientificWorldJournal. 2007; 7:404-20. n.d.
[20] Xu Y, Murrell GAC. The Basic Science of Tendinopathy. Clinical Orthopaedics and Related Research. 2008; 466(7);1528-1538. n.d.
[21] Kjaer M. Role of Extracellular Matrix in Adaptation of Tendon and Skeletal Muscle to Mechanical Loading. Physiol Rev. 2004; 84(2):649-98. n.d.
[22] Zabrzyński J, Gagat M, Paczesny Ł, Łapaj Ł, Grzanka D. Electron microscope study of the advanced tendinopathy process of the long head of the biceps brachii tendon treated arthroscopically. Folia Morphol (Warsz) 2018;77:371–7. https://doi.org/10.5603/FM.a2017.0105.
[23] Vogel KG, Ordog A, Pogany G et al. Proteoglycans in the compressed region of human tibialis posterior tendon and in ligaments. J Orthop Res. 1993; 11:68–77. n.d.
[24] Birk DE, Mayne R. Localization of collagen types I, III and V during tendon development. Changes in collagen types I and III are correlated with changes in fibril diameter. Eur J Cell Biol. 1997; 72:352-361. n.d.
[25] Jozsa L, Kannus P, Balint JB et al. Three-dimensional ultrastructure of human tendons. Acta Anat (Basel). 1991; 142:306–12. n.d.
[26] Zhang D, Cheriyan T, Martin SD, Schmid TM, Spector M. Lubricin Distribution in the Menisci and Labra of Human Osteoarthritic Joints. CARTILAGE 2012;3:165–72. https://doi.org/10.1177/1947603511429699.
[27] Rees JD, Stride M, Scott A. Tendons – time to revisit inflammation. Br J Sports Med 2014;48:1553–7. https://doi.org/10.1136/bjsports-2012-091957.
[28] Wang JH-C. Mechanobiology of tendon. J Biomech 2006;39:1563–82. https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2005.05.011.
[29] Scott A, Backman LJ, Speed C. Tendinopathy: Update on Pathophysiology. J Orthop Sports Phys Ther 2015;45:833–41. https://doi.org/10.2519/jospt.2015.5884.
[30] Kaux J-F, Forthomme B, Goff CL, Crielaard J-M, Croisier J-L. Current opinions on tendinopathy. Journal of Sports Science & Medicine 2011;10:238–53.
[31] Joseph M, Maresh CM, McCarthy MB, Kraemer WJ, Ledgard F, Arciero CL, et al. Histological and molecular analysis of the biceps tendon long head post-tenotomy. J Orthop Res 2009;27:1379–85. https://doi.org/10.1002/jor.20868.

[32] Zabrzyński J, Huri G, Gryckiewicz S, Çetik RM, Szwedowski D, Łapaj Ł, et al. Biceps Tenodesis versus Tenotomy with Fast Rehabilitation Protocol-A Functional Perspective in Chronic Tendinopathy. J Clin Med 2020;9. https://doi.org/10.3390/jcm9123938.
[33] Cook JL, Feller JA, Bonar SF, Khan KM. Abnormal tenocyte morphology is more prevalent than collagen disruption in asymptomatic athletes' patellar tendons. J Orthop Res 2004;22:334–8. https://doi.org/10.1016/j.orthres.2003.08.005.
[34] Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and Bonar Scores Assess the Same Characteristics of Tendon Histology. Clin Orthop Relat Res 2008;466:1605–11. https://doi.org/10.1007/s11999-008-0261-0.
[35] Fearon A, Dahlstrom JE, Twin J, Cook J, Scott A. The Bonar score revisited: region of evaluation significantly influences the standardized assessment of tendon degeneration. J Sci Med Sport 2014;17:346–50. https://doi.org/10.1016/j.jsams.2013.07.008.
[36] Pingel J, Wienecke J, Kongsgaard M, Behzad H, Abraham T, Langberg H, et al. Increased mast cell numbers in a calcaneal tendon overuse model. Scand J Med Sci Sports 2013;23. https://doi.org/10.1111/sms.12089.
[37] Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions 2006;6:181–90.
[38] Grzelak P, Polguj M, Podgórski M et al. Patellar ligament hypertrophy evaluated by magnetic resonance imaging in a group of professional weightlifters. Folia Morphol. 2012; 71(4):240-4. n.d.
[39] Gruchow HW, Pelletier D. An epidemiologic study of tennis elbow. Incidence, recurrence, and effectiveness of prevention strategies. Am J Sports Med. 1979; 7(4):234-8. n.d.
[40] Albano D, Martinelli N, Bianchi A, Romeo G, Bulfamante G, Galia M, et al. Posterior tibial tendon dysfunction: Clinical and magnetic resonance imaging findings having histology as reference standard. Eur J Radiol 2018;99:55–61. https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2017.12.005.
[41] Docking SI, Cook J, Chen S, Scarvell J, Cormick W, Smith P, et al. Identification and differentiation of gluteus medius tendon pathology using ultrasound and magnetic resonance imaging. Musculoskeletal Science and Practice 2019;41:1–5. https://doi.org/10.1016/j.msksp.2019.01.011.
[42] De Marchi A, Pozza S, Cenna E, Cavallo F, Gays G, Simbula L, et al. In Achilles tendinopathy, the neovascularization, detected by contrast-enhanced ultrasound (CEUS), is abundant but not related to symptoms. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2018;26:2051–8. https://doi.org/10.1007/s00167-017-4710-8.
[43] Scott A, Lian Ø, Roberts C, Cook J, Handley C, Bahr R, et al. Increased versican content is associated with tendinosis pathology in the patellar tendon of athletes with jumper's knee. Scand J Med Sci Sports 2008;18:427–35. https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2007.00735.x.
[44] Gagat M, Zabrzyńska A, Zabrzyńska M, Zielińska W. The advances in diagnostic modalities of disorders of the long head of the biceps tendon – review. Sm 2021;37:83–90. https://doi.org/10.5114/ms.2021.105006.
[45] Zabrzyński J, Zabrzyńska A, Grzanka D. Tendinopathy–a disease of tendons. Orthop Trauma Surg Related Res 2016;3:024–30.
[46] Aström M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. Clinical Orthopaedics and Related Research 1995:151–64.

[47] Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. Journal of Shoulder and Elbow Surgery 1996;5:383–92. https://doi.org/10.1016/S1058-2746(96)80070-X.
[48] Sasaki Y, Ochiai N, Hashimoto E, Sasaki Y, Yamaguchi T, Kijima T, et al. Relationship between neuropathy proximal to the suprascapular nerve and rotator cuff tear in a rodent model. Journal of Orthopaedic Science 2018;23:414–9. https://doi.org/10.1016/j.jos.2017.12.005.
[49] Nuelle CW, Stokes DC, Kuroki K, Crim JR, Sherman SL. Radiologic and Histologic Evaluation of Proximal Bicep Pathology in Patients With Chronic Biceps Tendinopathy Undergoing Open Subpectoral Biceps Tenodesis. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery 2018;34:1790–6. https://doi.org/10.1016/j.arthro.2018.01.021.
[50] Sethi PM, Sheth CD, Pauzenberger L, McCarthy MBR, Cote MP, Soneson E, et al. Macroscopic Rotator Cuff Tendinopathy and Histopathology Do Not Predict Repair Outcomes of Rotator Cuff Tears. Am J Sports Med 2018;46:779–85. https://doi.org/10.1177/0363546517746986.
[51] Zabrzyński J, Paczesny Ł, Łapaj Ł, Grzanka D, Szukalski J. Process of neovascularisation compared with pain intensity in tendinopathy of the long head of the biceps brachii tendon associated with concomitant shoulder disorders, after arthroscopic treatment. Microscopic evaluation supported by immunohistochemical. Folia Morphol (Warsz) 2018;77:378–85. https://doi.org/10.5603/FM.a2017.0093.
[52] Okazaki Y, Furumatsu T, Maehara A, Miyazawa S, Kamatsuki Y, Hino T, et al. Histological alterations to the hamstring tendon caused by cleaning during autograft preparation. Muscle Ligaments and Tendons J 2019;09:217. https://doi.org/10.32098/mltj.02.2019.10.
[53] Lundgreen K, Lian ØB, Scott A, Fearon A, Engebretsen L. 58 Smokers Have Worse Rotator Cuff Teartendon Degeneration And Apoptosis. Br J Sports Med 2014;48:A37–8. https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-094114.58.
[54] Kurdziel MD, Moravek JE, Wiater BP, Davidson A, Seta J, Maerz T, et al. The impact of rotator cuff deficiency on structure, mechanical properties, and gene expression profiles of the long head of the biceps tendon (LHBT): Implications for management of the LHBT during primary shoulder arthroplasty: THE IMPACT OF ROTATOR CUFF DEFICIENCY. J Orthop Res 2015;33:1158–64. https://doi.org/10.1002/jor.22895.
[55] Lundgreen K, Lian Ø, Scott A, Engebretsen L. Increased levels of apoptosis and p53 in partial-thickness supraspinatus tendon tears. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2013;21:1636–41. https://doi.org/10.1007/s00167-012-2226-9.
[56] Li K, Deng Y, Deng G, Chen P, Wang Y, Wu H, et al. High cholesterol induces apoptosis and autophagy through the ROS-activated AKT/FOXO1 pathway in tendon-derived stem cells. Stem Cell Res Ther 2020;11:131. https://doi.org/10.1186/s13287-020-01643-5.
[57] Wu YF, Chen CH, Cao Y, Avanessian B, Wang XT, Tang JB. Molecular Events of Cellular Apoptosis and Proliferation in the Early Tendon Healing Period. The Journal of Hand Surgery 2010;35:2–10. https://doi.org/10.1016/j.jhsa.2009.10.021.
[58] Zhang L, Qian Y, Li J, Zhou X, Xu H, Yan J, et al. BAD-mediated neuronal apoptosis and neuroinflammation contribute to Alzheimer's disease pathology. iScience 2021;24:102942. https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102942.
[59] Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. Nat Rev Cancer 2002;2:277–88. https://doi.org/10.1038/nrc776.

[60] Satou T. [Warm drug solution injected into tumor vessel may enhance antitumor effect]. Gan To Kagaku Ryoho 1990;17:1763–7.
[61] Egerbacher M, Arnoczky SP, Caballero O, Lavagnino M, Gardner KL. Loss of Homeostatic Tension Induces Apoptosis in Tendon Cells: An In Vitro Study. Clin Orthop Relat Res 2008;466:1562–8. https://doi.org/10.1007/s11999-008-0274-8.
[62] Scott A, Khan KM, Heer J, Cook JL, Lian O, Duronio V. High strain mechanical loading rapidly induces tendon apoptosis: an ex vivo rat tibialis anterior model. Br J Sports Med 2005;39:e25–e25. https://doi.org/10.1136/bjsm.2004.015164.
[63] Benson RT, McDonnell SM, Knowles HJ, Rees JL, Carr AJ, Hulley PA. Tendinopathy and tears of the rotator cuff are associated with hypoxia and apoptosis. The Journal of Bone and Joint Surgery British Volume 2010;92-B:448–53. https://doi.org/10.1302/0301-620X.92B3.23074.
[64] Chen J, Wang A, Xu J, Zheng M. In chronic lateral epicondylitis, apoptosis and autophagic cell death occur in the extensor carpi radialis brevis tendon. J Shoulder Elbow Surg 2010;19:355–62. https://doi.org/10.1016/j.jse.2009.07.064.
[65] Yuan J, Murrell GAC, Wei A-Q, Wang M-X. Apoptosis in rotator cuff tendonopathy. J Orthop Res 2002;20:1372–9. https://doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00075-X.
[66] Pearce CJ, Ismail M, Calder JD. Is Apoptosis the Cause of Noninsertional Achilles Tendinopathy? Am J Sports Med 2009;37:2440–4. https://doi.org/10.1177/0363546509340264.
[67] Lundgreen K, Lian OB, Scott A, Nassab P, Fearon A, Engebretsen L. Rotator cuff tear degeneration and cell apoptosis in smokers versus nonsmokers. Arthroscopy 2014;30:936–41. https://doi.org/10.1016/j.arthro.2014.03.027.
[68] Tuoheti Y, Itoi E, Pradhan RL, Wakabayashi I, Takahashi S, Minagawa H, et al. Apoptosis in the supraspinatus tendon with stage II subacromial impingement. Journal of Shoulder and Elbow Surgery 2005;14:535–41. https://doi.org/10.1016/j.jse.2005.01.001.

11. Publikacje będące przedmiotem rozprawy doktorskiej

Publikacja I

Journal of Clinical Medicine

MDPI

Article

The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski [1], Jan Zabrzyn´ski [1,*], Peter J. Millett [2], Marco-Christopher Rupp [3], Filippo Familiari [4,5], Gazi Huri [6], Paulina Antosik [7], Michał Błachowski [1], Michał Wicin´ski [8] and Maciej Gagat [9,10]

check for updates

Citation: Jaworski, Ł.M.; Zabrzyn´ski, J.; Millett, P.J.; Rupp, M.-C.; Familiari, F.; Huri, G.; Antosik, P.; Błachowski, M.; Wicin´ski, M.; Gagat, M. The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 684. https://doi.org/10.3390/jcm13030684

Academic Editor: Marco Alessandro Minetto

Received: 12 December 2023
Revised: 8 January 2024
Accepted: 19 January 2024
Published: 24 January 2024

Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https:// creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[1] Department of Orthopaedics and Traumatology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun´, 85-092 Bydgoszcz, Poland; lukaszmjaworski@gmail.com (Ł.M.J.); blachowskiort@gmail.com (M.B.)

[2] The Steadman Clinic, Vail, CO 81657, USA; drmillett@thesteadmanclinic.com

[3] Department of Orthopedic Sports Medicine, Technical University of Munich, 81675 Munich, Germany; marco.rupp@tum.de

[4] Department of Orthopaedic and Trauma Surgery, Magna Graecia University, 88100 Catanzaro, Italy; filippofamiliari@unicz.it

[5] Research Center on Musculoskeletal Health, MusculoSkeletalHealth@UMG, "Magna Græcia" University, 88100 Catanzaro, Italy

[6] Orthopaedics and Traumatology Department, Hacettepe Universitesi, 06100 Ankara, Turkey; gazihuri@yahoo.com

[7] Department of Clinical Pathomorphology, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun´, 85-092 Bydgoszcz, Poland; paulinantosik@gmail.com

[8] Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun´, 85-092 Bydgoszcz, Poland; wicinski4@wp.pl

[9] Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun´, 85-092 Bydgoszcz, Poland; mgagat@cm.umk.pl

[10] Faculty of Medicine, Mazovian Academy in Płock, 09-402 Płock, Poland

* Correspondence: jan.zabrzynski@cm.umk.pl

Abstract: Background: The substances present in cigarette smoke have a negative impact on cellular integrity and metabolism, can reduce blood flow to tissues, and can disrupt collagen synthesis. Ultimately this can lead to cell death, which clinically may result in impaired tendon healing and the onset of chronic tendinopathy. Within the shoulder, the exact association between the extent of apoptosis in the long head of the biceps (LHB) tendon and harmful factors like cigarette smoke remains unclear. Objectives: The purpose of this study was to investigate the connection between smoking, the degree of apoptosis in LHB tendinopathy, and the long-term outcomes of surgical treatment. Design: Observational, retrospective study. Methods: This study included 22 consecutive patients who had undergone arthroscopic biceps tenodesis or tenotomy for symptomatic LHB tendinopathy with or without concomitant rotator cuff tears (RCT). The intra-articular LHB tendon remnants were histologically examined by measuring the level of expression of apoptotic cell markers such as BCL2, cleaved caspase 3, and p53. Pre- and postoperative clinical outcomes were analyzed by collecting patient report outcome measures such as the American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) score and the Visual Analogue Scale (VAS) for pain. Results: The smokers group had a mean pack-year history of 13.12 (SD = 9.94), mean number of cigarettes per day of 14.77 (SD = 4.64), and a mean smoking duration of 16.38 (SD = 10.1) years. Among the smoking indexes, the number of cigarettes per day showed a positive correlation with Snyder classification (p = 0.0459, rho = 0.3682). Non-smokers and smokers did not show a statistically significant difference in the expression indexes of BCL2, cleaved caspase 3, or p53 (p = 0.4216, p = 0.5449, p = 0.5613, respectively). However, the cleaved caspase 3 expression index showed a negative correlation with the severity of rotator cuff lesions in the total population (p = 0.0193, rho = −0.4651). Conclusions: While apoptotic processes in the LHB tendon were observed, no significant association was found between tobacco smoking, the extent of apoptosis, and clinical outcomes. However, the expression of the apoptotic marker cleaved.

caspase 3 correlated with the severity of rotator cuff pathology. Furthermore, active smoker status was associated with worse clinical outcomes in terms of pain following LHB tenodesis or tenotomy.

Keywords: apoptosis; tendon; tendinopathy; smoking; tobacco smoke

1. Introduction

Tobacco smoking is known to have a harmful effect on various human systems, including the musculoskeletal system [1–3]. Cigarette smoke contains over 4000 harmful substances, such as nicotine, aromatic hydrocarbons, carbon monoxide, nitrosamines, hydrogen cyanide, and aldehydes [4,5]. The impact of tobacco smoke on tendinous tissue is particularly damaging, as it impairs tenocyte metabolism, reduces blood flow to tissues, disrupts collagen synthesis, and accelerates tendinopathy [4,6,7]. In previous studies, correlations between smoking and the extent of degeneration of tendinous tissue in the long head of the biceps tendon (LHB) in tendinopathy, the severity of rotator cuff injury, and American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) score have been demonstrated [4,8,9].

Tendinopathy is a chronic tendon disorder caused by impaired regeneration, mainly characterized by the disruption of collagen bundles' architecture, the accumulation of proteoglycans in the extracellular matrix (ECM), tenocyte transformation, vascular bed expansion, and altered cell–matrix interactions [10]. The extensive pathological alterations in the ECM, characterized by a highly disorganized microstructure of the tendon and subsequent altered cell–matrix interactions, are believed to induce the process of apoptotic cell death. However, the role of apoptosis in tendinopathy is still not well understood. In the last decade, tenocyte apoptosis has been identified as an important factor in the tendinopathy process, but the exact pathomechanism of tendinopathy remains unknown and is considered to be multifactorial [11–15]. Specific to the LHB, tendinopathy is typically associated with repetitive, chronic traction and friction forces and is commonly associated with rotator cuff tears (RCTs) [16–18].

However, to date, it remains unknown whether harmful factors such as tobacco smoking are associated with the extent of the apoptotic process in the setting of tendinopathy of the LHB, and there remains a scarcity of evidence regarding the repercussions of these apoptotic changes on the clinical outcomes. While there are studies evaluating the apoptosis process in rotator cuff pathology, smoking, and clinical outcomes, evidence on the histological and clinical effects of tobacco consumption on the adjacent LHB tendon is rather limited [7,11,19]. Thus, the aim of this study was to investigate the association between smoking, the extent of the apoptotic process in LHB tendinopathy, and long-term surgical results. We hypothesized that there would be abundant evidence of apoptotic processes in the setting of LHB tendinopathy, which would be similar to the changes found in RCTs, and that tobacco consumption would be associated with poor clinical outcomes.

2. Material and Methods

This study was approved by the institutional Bioethics Committee (approval number KB 598/2016), including consecutive patients who underwent shoulder arthroscopic surgery for symptomatic LHB tendinopathy.

Patients diagnosed with an LHB tendinopathy that were treated by arthroscopic LHB tenodesis and tenotomy were assessed for eligibility. The inclusion criteria for the study were as follows: patients who did not respond to conservative treatment with a minimum of three months of physiotherapy and were aged over 18 years. Exclusion criteria included a history of systemic inflammatory or rheumatic diseases, previous shoulder surgical treatment, traumatic SLAP injuries, and corticosteroid injections in the year prior to surgery.

2.1. Preoperative Assessment

The diagnosis of LHB tendinopathy relied both on clinical examination, including the tenderness over bicipital groove test, as well as imaging, such as sonographic examination and non-contrast magnetic resonance scans (MRI) of the shoulder. Patient demographic data, smoking status, and preoperative American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) score were recorded. The patient population was categorized as smokers or non-smokers (those who had never used any nicotine supplement, such as nicotine gum or patch, oral snuff/moist snuff, cigars, or cigarettes). In addition, dose-dependent and time-dependent data about smoking habits were collected, including the period of cigarette smoking (smoking years), the mean number of cigarettes smoked per day, and pack-years index (one pack contains 20 cigarettes in our country). The surgeons were blinded to the smoking status of the patients.

2.2. Surgical Technique

All patients underwent shoulder arthroscopy (using a standard 30° arthroscope from Smith & Nephew, Memphis, TN, USA), which was performed with the patient in the beach chair position. A standard posterior portal was used, along with any additional necessary working portals. During the surgery, the intracapsular portion of the LHB tendon was examined for the presence of tears, starting from its insertion on the superior margin of the labrum, until its entrance into the bicipital groove. The condition of the biceps pulley, stability of the LHB tendon in the groove, and the extracapsular part of the tendon were also inspected by pulling the tendon with a probe inside the joint. The Lafosse classification was used to classify LHB tears into three grades: grade 0 (normal tendon), grade I (minor lesion), and grade II (major lesion).

All patients underwent either biceps tenodesis or tenotomy, depending on the surgeon's decision, which was based on clinical data; specifically, for tenodesis, patients who did not accept a possible Popeye deformity were qualified, as well as tenotomy patients who were older than 50 years and who accepted a possible arm deformity [20]. For the tenodesis procedure, the bicipital groove was prepared with a curette to encourage bonetendon healing, and the suture anchor (4.5 mm double-loaded suture anchor, Twinfix, Warrington, UK; Smith & Nephew, Memphis, TN, USA) was fixed in the center of the bicipital groove. Sutures were passed through the LHBT and tied; afterwards, the tendon was cut above the suture anchor. Subsequently, the LHBT was released near its insertion at the superior labrum, and the biceps stump was removed from the shoulder using a grasping tool. For tenotomy, the LHBT was cut near its insertion to the labral complex; subsequently, the superior labrum

was debrided. This technique provides an extensive biceps stump, which results in its entrapment in the area of the biceps pulley. The intraarticular portion of the LHB tendon was harvested and examined histopathologically. Concurrent rotator cuff pathology was classified according to the Snyder classification and treated accordingly [21,22].

The rehabilitation protocol after shoulder arthroscopy varied according to the surgical procedures performed and consisted of a six-week physiotherapy program. The rehabilitation protocol after tenotomy included wearing a sling for three weeks, with early passive range of motion exercises and active shoulder range of motion exercises. Active flexion of the elbow was allowed as of the third week post-surgery. On the other hand, the rehabilitation protocol after the tenodesis procedure included wearing a shoulder orthosis (medi SLK 90, Gliwice, Poland) for five weeks, along with passive shoulder range of motion exercises, followed by active exercise starting from the fourth to fifth week. Active elbow flexion and forearm supination against resistance was allowed from the eighth week. In the setting of a rotator cuff repair (RCR), a shoulder abduction orthosis was recommended.

2.3. Histopathological Assessment

The biceps tendon remnants from the intraarticular parts were fixed in 10% buffered formalin that was fresh and sterile. After 24 h, they were dehydrated, paraffin-embedded, and prepared for histologic evaluation using hematoxylin and eosin (H&E) staining. The 5 µm sections were examined under a light microscope (Olympus BX46, Tokyo, Japan) by two experienced observers who were blinded to the sample identity. For immunohistochemical staining, the sections were deparaffinized, rehydrated, and treated to block endogenous peroxidase with 3% hydrogen peroxide. The staining was performed using BenchMark Ultra (Ventana Medical Systems, Oro Valley, AZ, USA; Roche, Basel, Switzerland) as per the manufacturer's instructions. The apoptotic response in tendon samples was assessed by examining the density of apoptotic cells, specifically by assessing the presence of markers such as cleaved caspase 3, p53, and BCL2. The number of positive cells was counted per entire specimen, and a scoring system was established to allow for quantification and classification of the apoptotic response in the tendon samples. In this scoring system, points were assigned depending of the number of positive cells (0 points for no positive cells, 1 point for fewer than 10 positive cells per specimen—a moderate reaction, and 2 points for more than 10 cells per specimen—an abundant reaction). Two experienced observers (P.A. and M.G.) who were blinded to the sample identity evaluated the apoptotic response and immunohistochemical evaluation in the samples.

2.4. Clinical Evaluation

At final follow-up, the clinical assessment included a physical examination to assess functional outcomes, as well as assessment of the American Shoulder and Elbow Surgeons (ASES) score, the Visual Analog Scale (VAS) for pain, and reoperation rate.

2.5. Ethics Statement

The study was performed following the Declaration of Helsinki for experiments involving humans. All patients provided written informed consent before participating in the study.

2.6. Statistical Analysis

Descriptive statistics were used to summarize categorical and continuous variables, with categorical variables reported as counts and percentages, and continuous variables reported as mean ± standard deviation. The distributions of variables were assessed for normality using the Shapiro–Wilk test. Correlations between the parameters studied were assessed using the Spearman rho correlation coefficient. Intergroup comparisons were performed using non-parametric tests such as the Mann–Whitney U test and analysis of variance. A *p*-value of less than 0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using Graphpad Prism software (GraphPad 8.0.1 Software, Dotmatics, Bishop's Stortford, UK).

3. Results

Among the 25 patients included, 3 patients were excluded due to technical issues with the processing of material for microscopic examination. The remaining 22 patients were included in the final analysis. The participants were divided into two groups: smokers (13 patients) and non-smokers (9 patients). The smokers group had a mean pack-year history of 13.12 (SD = 9.94), mean number of cigarettes per day of 14.77 (SD = 4.64), and a mean smoking duration of 16.38 (SD = 10.1) years. The mean age in the studied population was 48.86 years; specifically, in the smokers group it was 44.8 years (range: 28–55 years), while in the non-smokers group it was 51.61 years (range: 33–62 years) (p = 0.058) (Figure 1A). The smoking parameters did not show any correlation with age in the entire studied group (Figure 1B–D) or the isolated group of smokers (Figure 1E,F).

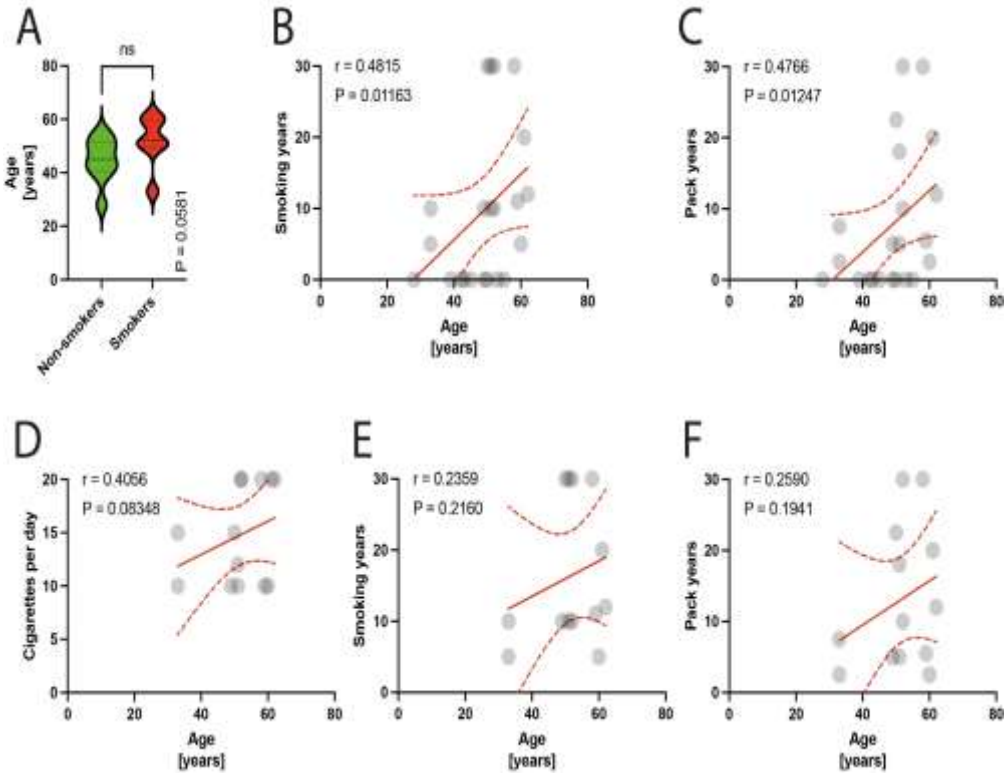


Figure 1. (**A**) Comparison of age in smokers/non-smokers group. (**B**–**D**) Correlation between the age and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**E**,**F**) Correlation between the age and smoking years, pack-years index in the smokers group. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals, 'ns' indicates lack of statistical significance.

3.1. Surgical technique

Within the patient population, the LHB tendon lesions could be graded as Lafosse type II lesions in 100% of the cases (n = 22). LHB tenodesis was performed in 18 patients, and tenotomy in 4 patients. Additionally, all of the patients underwent concomitant procedures, including RCR (C-2 according to Snyder classification) in six patients and massive RCR (C-4 according to Snyder classification) in nine patients. Seven patients had subacromial impingement with RC tendinopathy (B-1 and B-2 changes in the RC according to Snyder classification) and underwent acromion-clavicular joint (ACJ) joint resection, glenohumeral joint debridement, subacromial decompression, and coracohumeral ligament resection.

The grade of macroscopic RC tendon lesions according to Snyder classification positively correlated with the age of patients (p = 0.0044) (Figure 2A). Moreover, the number of cigarettes per day positively correlated with RC defect grade according to the Snyder classification (p = 0.0459) (Figure 2B,C). Specifically, within the smoker group, there was no significant correlations of smoking indexes with the RC defect state as classified by the Snyder classification (Figure 2F–H).

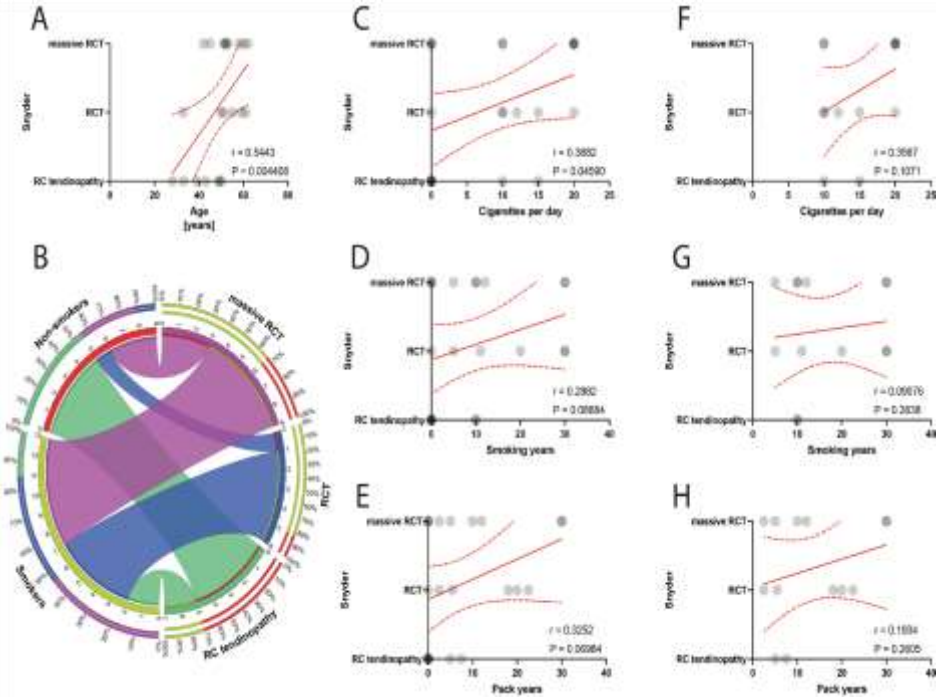


Figure 2. (**A**) Correlation between the Snyder classification and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and alterations in Snyder classification. (**C**–**E**) Correlation between the Snyder classification and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**F**–**H**) Correlation between the Snyder classification and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals.

3.2. Clinical Outcomes

The average follow-up period after surgery was 40.91 months, ranging from 24 to 65 months, and there were no case of reoperations during this time. The mean preoperative ASES score in the studied group was 44.18 (SD = 7.34), and specifically in the nonsmokers group, the preoperative ASES score was higher than in the smoking group (48.33; SD = 8.54 versus 41.31; SD = 4.88) (Figure 3). The mean postoperative ASES score in the studied group was 72.50 (SD

= 9.79; specifically, in the non-smoking group 75.22, SD = 6.92; and in the smoking group 70.62, SD = 11.24). (Figure 4). The preoperative VAS score was mean 7.52 (SD = 1.02); for smokers it was 7.38, SD = 1.12, and for non-smokers it was 7.83, SD = 0.75. There was a statistically significant improvement in the ASES between preoperative and postoperative scores in entire population ($p < 0.0001$), as well in the smoking and non-smoking populations ($p < 0.0001$). Moreover, the surgical technique of biceps management did not bias the clinical outcomes measured using the ASES score (mean 69.6, SD = 12.15 for tenotomy; and mean 73.17, SD = 9.47 for tenodesis technique, $p = 0.6355$).

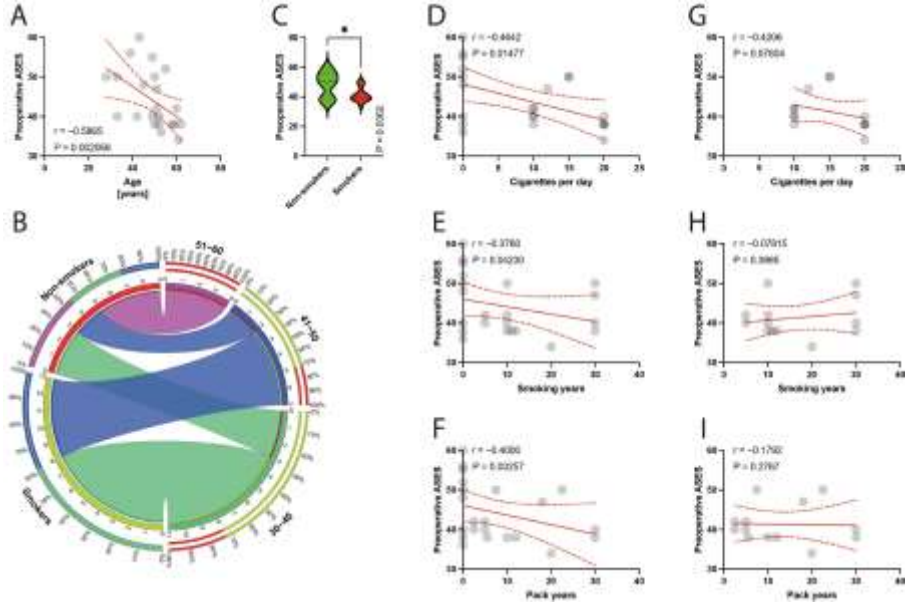


Figure 3. (**A**) Correlation between the preoperative ASES and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and age variable (30–60 years). (**C**) Comparison between smokers/non-smokers and preoperative ASES. (**D**–**F**) Correlation between the preoperative ASES and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**G**–**I**) Correlation between the preoperative ASES and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals, '*' represents $p < 0.05$.

The preoperative ASES score was negatively correlated with age ($p = 0.0021$) (Figure 3A) and with smoking parameters, such as the number of cigarettes per day ($p = 0.0148$) (Figure 3D), smoking years ($p = 0.0423$) (Figure 3E), and pack years ($p = 0.0326$) (Figure 3F). Within the isolated smokers group, there were no such significant correlations (Figure 3G–I).

The postoperative ASES score was negatively correlated with the age of patients ($p = 0.0076$) (Figure 4A). There were statistically significant negative correlations between the postoperative ASES score and smoking parameters, including the number of cigarettes per day ($p = 0.0135$, rho = −0.4707) (Figure 4D), smoking years ($p = 0.0236$, rho = −0.4273) (Figure 4E), and pack years index ($p = 0.0174$, rho = −0.4518) (Figure 4F), in the total population. Within the smokers group, a significant correlation with the number of cigarettes per day ($p = 0.0074$, rho = −0.6765) (Figure 4G), smoking years ($p = 0.0489$, rho = −0.4803) (Figure 4H), and pack years index ($p = 0.0285$, rho = −0.5443) (Figure 4I) was found.

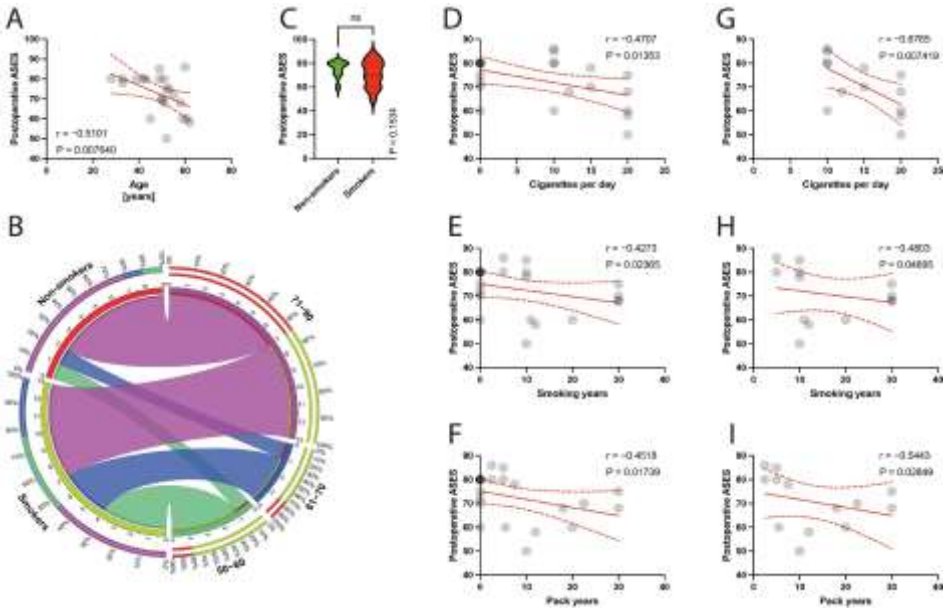


Figure 4. (**A**) Correlation between the postoperative ASES and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and age variable (50–90 years). (**C**) Comparison between smokers/non-smokers and postoperative ASES. (**D**–**F**) Correlation between the postoperative ASES and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**G**–**I**) Correlation between the postoperative ASES and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals. 'ns' indicates lack of statistical significance.

The preoperative VAS score was negatively correlated with the mean age of patients. (p = 0.0067) (Figure 5A), and there was no significant difference between non-smokers and smokers in terms of VAS scores (p = 0.2629) (Figure 5C). Smoking parameters were negatively correlated with the VAS score, including the number of cigarettes per day (p = 0.0344) (Figure 5D), smoking years (p = 0.0446) (Figure 5E), and pack years (p = 0.0327) (Figure 5F), in the total population. Within the smoker groups, a significant correlation with the number of cigarettes per day (p = 0.0314) (Figure 5G), smoking years (p = 0.0356) (Figure 5H), and VAS score was demonstrated.

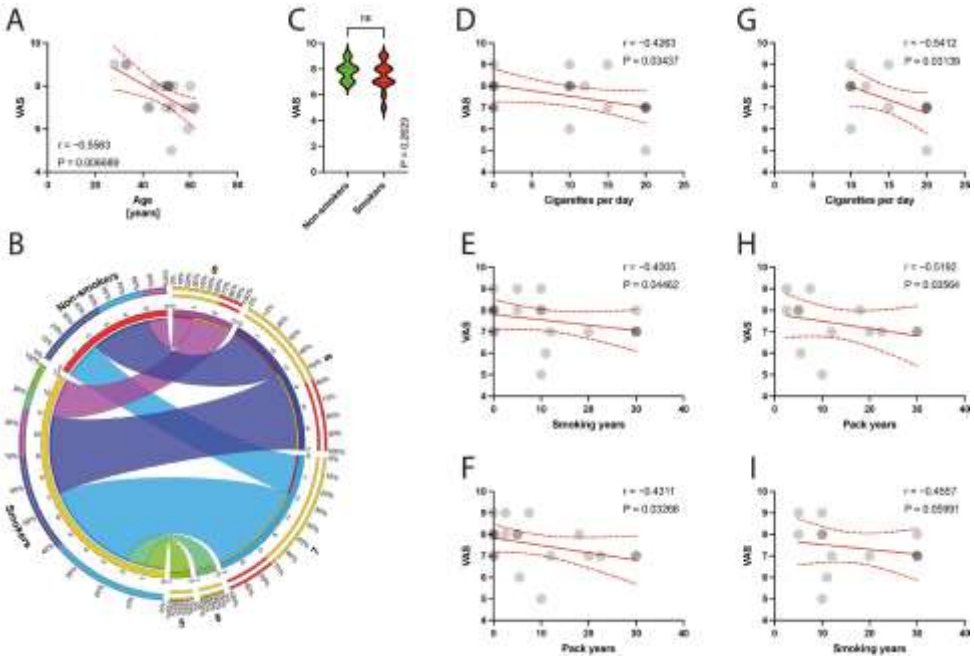


Figure 5. (**A**) Correlation between the VAS and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and VAS variable. (**C**) Comparison between smokers/non-smokers and VAS score. (**D**–**F**) Correlation between the VAS and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**G**–**I**) Correlation between the VAS and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals. 'ns' indicates lack of statistical significance.

3.3. Immunohistochemical Examination

The histological examination of the specimens under a light microscope revealed degeneration of the tendinous tissue in all cases. Additionally, immunohistochemical analysis showed positive expression for BCL2 in 11 patients, cleaved caspase 3 in 14 patients, and p53 in 9 patients. Moderate reactions (1 point) were observed in 8 out of 10 BCL2 reactions, 3 out of 14 cleaved caspase 3 reactions, and in all 9 reactions for p53. Abundant reactions (2 points) were observed in 3 BCL2 reactions, 11 cleaved caspase 3 reactions, and no p53 reactions. There was no correlation between the age of patients and the expression indexes of BCL2, casp3, or p53 (p = 0.3387, p = 0.4622, p = 0.0938, respectively) (Figures 6A, 7A and 8A). Non-smokers and smokers did not show a statistically significant difference in the expression indexes of BCL2, cleaved caspase 3, or p53 (p = 0.4216, p = 0.5449, p = 0.5613, respectively) (Figures 6B,C, 7B,C and 8B,C). Additionally, there was no correlation between smoking indexes and the expression indexes of BCL2, cleaved caspase 3, or p53 (Figures 6D–I, 7D–I and 8D–I). The apoptotic indexes did not correlate with the pre- and postoperative ASES in the entire population (Figures S1A,C, S2A,C and S3A,C), nor in the smoking population (Figures S1B,D, S2B,D and S3B,D). The BCL2 and p53 expression indexes did not correlate with the Snyder system of cuff lesions (Figures S1E,F and S3E,F). However, the cleaved caspase 3 expression index showed a negative correlation with the severity of rotator cuff lesions in the total population according to the Snyder lesion type (p = 0.0194) (Figure S2E), but not within the smoking group of patients (p = 0.0787) (Figure S2F). Additionally, the apoptotic indexes were not associated with the intensity of pain according to the VAS score in the entire population (Figures S1G, S2G and S3G), nor in isolated smokers (Figures S1H, S2H and S3H).

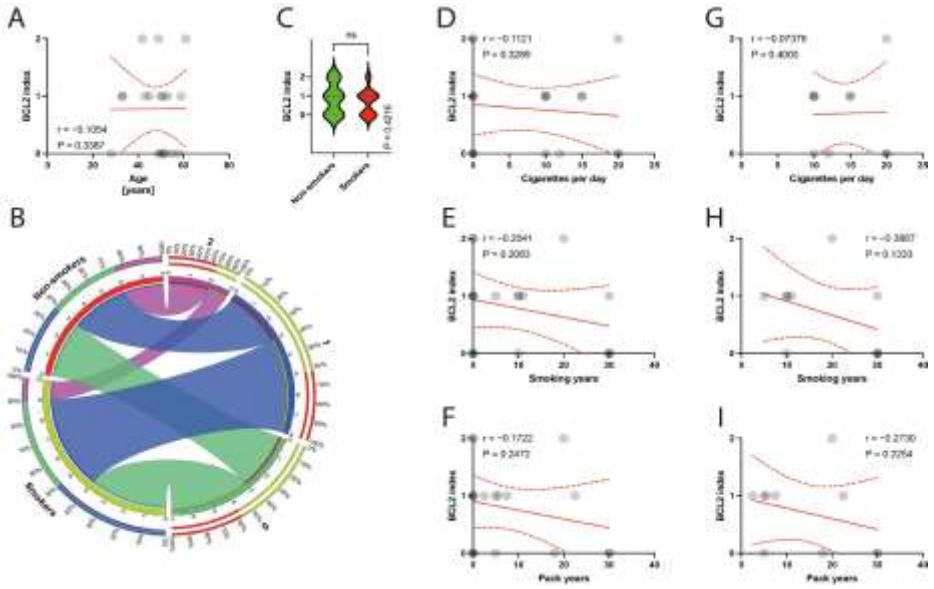


Figure 6. (**A**) Correlation between the BCL2 and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and BCL2 index. (**C**) Comparison between smokers/non-smokers and BCL2 index. (**D**–**F**) Correlation between the BCL2 and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**G**–**I**) Correlation between the BCL2 and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals. 'ns' indicates lack of statistical significance.

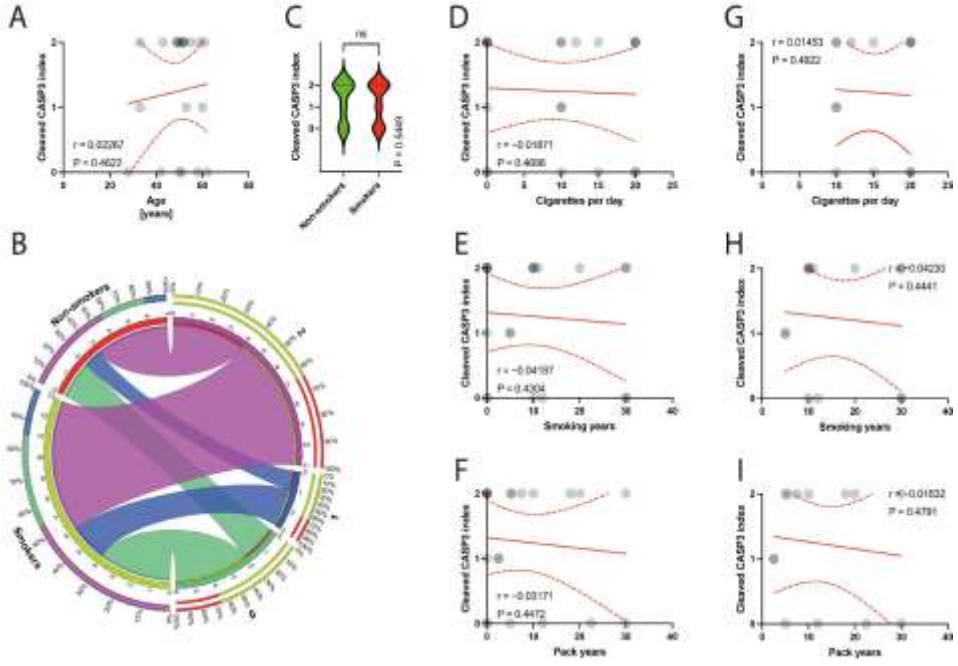


Figure 7. (**A**) Correlation between the cleaved caspase 3 and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and cleaved caspase 3 index. (**C**) Comparison between smokers/non-smokers and cleaved caspase 3 index. (**D**–**F**) Correlation between the cleaved caspase 3 and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**G**–**I**) Correlation between the cleaved caspase 3 and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals. 'ns' indicates lack of statistical significance.

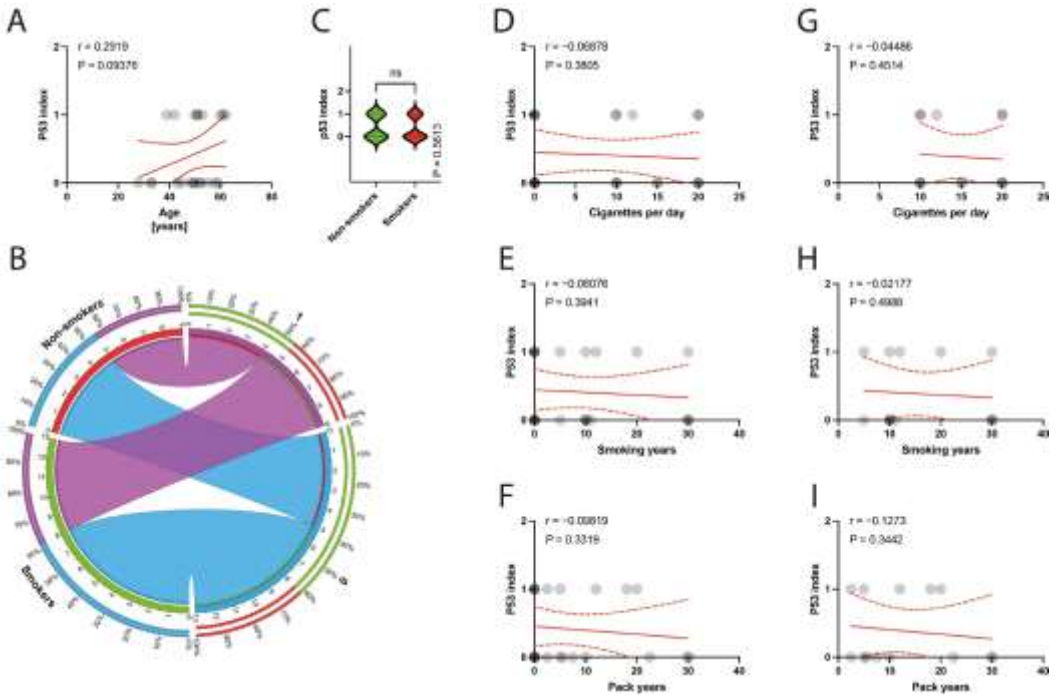


Figure 8. (**A**) Correlation between the p53 index and the age of patients. (**B**) Comparison of smoking and the p53 index. (**C**) Comparison between smokers/non-smokers and the p53 index. (**D**–**F**) Correlation between the p53 index and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the total population. (**G**–**I**) Correlation between the p53 index and smoking years, pack-years index, and cigarettes per day in the smokers population. Colors represent distinct groups of patients, while ribbons connecting various regions of the plot signify relationships between different data elements. Circles represent values; red lines represent simple linear regressions, dotted lines represent 95% confidence intervals. 'ns' indicates lack of statistical significance.

4. Discussion

The most important finding of this study was that despite the detection of apoptotic processes in the LHB tendon, the primary hypothesis had to be rejected, since no statistically significant connection between tobacco smoking, level of apoptosis, and clinical outcomes was demonstrated, except for the cleaved caspase 3 index, which showed an association with the extent of rotator cuff pathology. The secondary hypothesis was confirmed, as it could be shown that smokers had poorer pre- and postoperative results, as well as higher levels of pain. Given the scarcity of evidence, this study contributes by exploring the link between smoking and apoptosis in LHBT tendinopathy.

Programmed cell death plays a crucial role in controlling cell proliferation by regulating tissue morphogenesis and proliferation [11]. There are two main apoptotic pathways: the mitochondrial (intrinsic) and death receptor (extrinsic) pathways [23]. Recent research has shown that these two pathways are interconnected and exhibit reciprocal molecular interaction [24]. The mitochondrial pathway is triggered by various factors (such as oxidative stress, genetic damage, and high cytosolic calcium ion concentrations) that increase mitochondrial membrane permeability [11]. The extrinsic pathway, on the other hand, is activated by transmembrane receptors, such as members of the tumor necrosis factor (TNF) family [25].

The substances present in cigarette smoke have a negative impact on cellular integrity and metabolism, can reduce blood flow to tissues, and can disrupt collagen synthesis, ultimately impairing tendon healing [1,2,4,19].In 2002, Yuan et al. reported on elevated levels of

apoptosis in the supraspinatus tendon in elderly patients, initiating an ongoing discussion about the role of apoptosis in the tendinopathic process of the rotator cuff [26].

Whitin the multifactorial etiology of apoptosis, hypoxia induced by cigarette smoking can activate and enhance apoptotic pathways [11,27]. The hypoxic environment reduces collagen synthesis by tenocytes, impairs the homeostasis of the collagen matrix, and reduces tissue healing. The correlation between rotator cuff pathology and the extent of apoptotic cells may be a reflection of tenocyte adaptation into chondrocyte-like cells, which can survive in low-perfusion environments [27]

Data from previous studies on LHB tendinopathy suggested a correlation between the severity of tendinous tissue degeneration, smoking, clinical outcomes, and the severity of rotator cuff injury [4,8,9]. In this context, the current study could only confirm this association for the relationship between smoking intensity and the severity of rotator cuff pathology classified according to Snyder, but not for the LHB tendon. It is worth noting that LHBT and RCT pathologies can exacerbate each other, and their connection is very strong [28]. Higher stages within the Snyder classification usually reflect more severe rotator cuff tendon pathology, characterized by advanced degeneration of the tissue and a late phase of tendinopathy, often resulting in a tendon tear. Therefore, the extent of the apoptotic process in the neighboring tendons could be reduced due to advanced degeneration. The role of apoptosis in tendinopathy is known to be crucial in the early phase of the pathology, but its role in the late phase is still unclear and inconsistent [11,14]. Our study observed patients with advanced rotator cuff pathology as well as chronic tendinopathy, which could explain the reduced apoptotic population.

In contrast, Chen et al. found a correlation between the age of patients and the extent of the apoptotic process in chronic lateral epicondylitis [29]. They also examined BCL2 19 kDA interacting protein expression, a pro-apoptotic member of the BCL2 family induced by hypoxic conditions as well as inflammation. However, their study included patients who underwent corticosteroid injection, which could bias the biological environment of the tendon specimens [30]. In our study, patients who underwent corticosteroid injection within one year before surgery were excluded to avoid such a bias. Interestingly, Chen et al. noted that in advanced tendon pathology, the apoptotic process was reduced, but still higher than in the control group [29]. This finding is consistent with our findings that the severity of RCT pathology classified by Snyder negatively correlated with cleaved caspase 3.

The extent of apoptosis was observed in several immunohistochemical studies of tendons and ranged from 20% to 34% of cells [20,26,29]. Previous investigations have demonstrated the presence of apoptotic cells in rotator cuff tendons, patellar tendon, Achilles tendon, and extensor carpi brevis tendons [13,29,31]. Specifically, the average apoptotic rate was found to be 28.7% in degenerated ERCB tendons [29], 34% in chronically torn rotator cuff tendons [26], and 24% in supraspinatus tenocytes of patients with stage II subacromial impingement syndrome [32]. In our study, we observed positive immunoreactivity of cleaved caspase 3 with more than 10 cells per specimen in 11 out of 14 patients, while 8 patients did not show any positive reaction. However, the population of tenocytes and apoptotic cells may vary depending on the stage of extracellular matrix transformation during tendinopathic processes [29]. Furthermore, the occurrence of chondrocyte-like transformation may complicate the interpretation of these findings.

In the literature, the presence of programmed cell death is mostly studied in RCT [11, 13,19,26,33]. Lundgreen et al. demonstrated an increased number of apoptotic cells not only in partially torn supraspinatus tendons but also in neighboring subscapularis tendon, which could indicate the early onset of a pathological process across the shoulder tendons [33]. Conversely, Benson et al. investigated different stages of rotator cuff tendinopathy and found that apoptosis was only increased in full-thickness tears [27]. Tuoheti et al. also reported increased apoptosis in tendinopathic, non-torn supraspinatus tendons, which supports the presence of apoptosis in the early phases of tendon pathology [32]. Our study also suggests that a lack of apoptotic processes reflects the late stages of LHBT tendinopathy, which is associated with an increased pathology of RCTs. However, Lundgreen et al., in their study on the harmful effects of tobacco smoke on RCTs, showed advanced degeneration and apoptosis in smoking group as compared to healthy patients [19]. The non-smoking population in our study was younger than that in Lundgreen et al.'s study (mean age 44 years vs. mean age 58 years), which may have biased the findings on the presence of apoptotic alterations.

This study include patients into non-smokers group from those, who had never used any nicotine supplement, such as nicotine gum or patch, oral snuff/moist snuff, cigars, or cigarettes. However, the patients called passive smokers were not included. Important fact is, that exposure to environmental tobacco smoke can happen either as inhalation of direct cigarette smoke (second-hand smoke) or its associated residue particles (third-hand smoke), especially when living with a smoker in the same family. It is the reason for approximately 1% of global mortality [34]. It should be accented that exclusion of passive smokers from the non-smokers can be difficult and challenging. Moreover, the type of consumed cigarettes by smokers is an important issue [35]. The present study included patients who smoked conventional cigarettes, however, the impact of smoking may be different in liquid or heating e-cigarettes form.

The main limitation of our study was the small sample size, which may be underpowered to detect certain significant interactions but reflects the exploratory character of the present study. Furthermore, studies focusing on tendinous tissue pathology often have similar patient numbers [19,29,33]. The findings should be also interpreted with caution due to the concurrent presentation of disorders in both LHB and RC tendons, which is a common limitation. Moreover, during the arthroscopic procedure, we were unable to obtain a complete proximal tendon of the biceps. Nevertheless, we attempted to obtain the part that was most exposed to pathological forces. It is important to note that due to the observational study design, there is a limitation in estimating the dose-dependency rate of smoke and histological limitations, reflecting a common limitation in this field. In our study, establishing a control group was not indicated, as obtaining an LHBT specimen from a healthy person may raise ethical concerns. The complexity of LHBT tendinopathy makes it difficult to separate influencing factors such as work or sport, although patients included in the protocol were a non-athletic population and non-heavy workers to minimize risk of distortion of the result, but that may be considered as a study limitation. Finally, three patients were ultimately excluded from the final assessment due to flaws in the processing of the preparation for histological analyses.

5. Conclusions

While apoptotic processes in the LHB tendon were observed, no significant association was found between tobacco smoking, the extent of apoptosis, and clinical outcomes. However, expression of the apoptotic marker cleaved caspase 3 correlated with severity of rotator cuff pathology. Furthermore, active smoker status was associated with worse clinical outcomes in terms of pain following LHB tenodesis or tenotomy.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https: //www.mdpi.com/article/10.3390/jcm13030684/s1, Figure S1. (Supplementary). (A) Correlation between the BCL2 and the preoperative ASES—entire population. (B) Correlation between the BCL2 and the preoperative ASES—smoking population. (C) Correlation between the BCL2 and the postoperative ASES—entire population. (D) Correlation between the BCL2 and the preoperative ASES—smoking population. (E) Correlation between the BCL2 and Snyder classification—entire population. (F) Correlation between the BCL2 and Snyder classification—smoking population. (G) Correlation between the BCL2 and VAS—entire population. (H) Correlation between the BCL2 and
VAS—smoking population. Figure S2. (Supplementary). (A) Correlation between the cleaved caspase 3 and the preoperative ASES—entire population. (B) Correlation between the cleaved caspase 3 and the preoperative ASES—smoking population. (C) Correlation between the cleaved caspase 3

and the postoperative ASES—entire population. (D) Correlation between the cleaved caspase 3 and the preoperative ASES—smoking population. (E) Correlation between the cleaved caspase 3 and Snyder classification—entire population. (F) Correlation between the cleaved caspase 3 and Snyder classification—smoking population. (G) Correlation between the cleaved caspase 3 and VAS—entire population. (H) Correlation between the cleaved caspase 3 and VAS—smoking population. Figure S3. (Supplementary). (A) Correlation between the p53and the preoperative ASES—entire population. (B) Correlation between the p53and the preoperative ASES—smoking population. (C) Correlation between the p53 and the postoperative ASES—entire population. (D) Correlation between the p53 and the preoperative ASES—smoking population. (E) Correlation between the p53 and Snyder classification—entire population. (F) Correlation between the p53 and Snyder classification—smoking population. (G) Correlation between the p53 and VAS—entire population. (H) Correlation between the p53 and VAS—smoking population.

Author Contributions: Methodology, Ł.M.J. and J.Z.; Validation, M.G.; Formal analysis, P.A. and M.W.; Investigation, Ł.M.J., J.Z. and M.-C.R.; Data curation, P.A., M.W. and M.G.; Writing—original draft, Ł.M.J. and J.Z.; Writing—review & editing, P.J.M., G.H. and M.B.; Supervision, F.F. and G.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.
Institutional Review Board Statement: This study was approved by the institutional Bioethics Committee (approval number KB 598/2016), including consecutive patients who underwent shoulder arthroscopic surgery for symptomatic LHB tendinopathy.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to patient research permit.

Conflicts of Interest: Dr. Millett receives royalties, consultant payments, and research support from Arthrex which is not related to the subject of this work. Dr. Millett owns stock options with VuMedi.
Dr. Millett's research is supported by the Steadman Philippon Research Institute (SPRI), which is a 501(c)(3) non-profit institution supported financially by private donations and corporate support.
During the past calendar year, SPRI has received grant funding or in-kind donations from Arthrex, Canon, DJO, Icarus Medical, Medtronic, Ossur, Smith & Nephew, SubioMed, Stryker & Wright Medical. Other authors did not declare any conflicts of interest.

References

1. Abate, M.; Vanni, D.; Pantalone, A.; Salini, V. Cigarette Smoking and Musculoskeletal Disorders. *Muscles Ligaments Tendons J.* **2013**, *3*, 63–69. [CrossRef] [PubMed]
2. Baumgarten, K.M.; Gerlach, D.; Galatz, L.M.; Teefey, S.A.; Middleton, W.D.; Ditsios, K.; Yamaguchi, K. Cigarette Smoking Increases the Risk for Rotator Cuff Tears. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2010**, *468*, 1534–1541. [CrossRef] [PubMed]
3. Ho, S. Adverse Effects of Smoking on Outcomes of Orthopaedic Surgery. *J. Orthop. Trauma Rehabil.* **2017**, *23*, 54–58. [CrossRef]
4. Zabrzynski, J.; Gagat, M.; Paczesny, L.; Grzanka, D.; Huri, G. Correlation between Smoking and Neovascularization in Biceps Tendinopathy—A Functional Preoperative and Immunohistochemical Study. *Ther. Adv. Chronic Dis.* **2020**, *11*. [CrossRef] [PubMed]
5. Roemer, E.; Stabbert, R.; Rustemeier, K.; Veltel, D.J.; Meisgen, T.J.; Reininghaus, W.; Carchman, R.A.; Gaworski, C.L.; Podraza, K.F. Chemical Composition, Cytotoxicity and Mutagenicity of Smoke from US Commercial and Reference Cigarettes Smoked under Two Sets of Machine Smoking Conditions. *Toxicology* **2004**, *195*, 31–52. [CrossRef] [PubMed]
6. Cheema, A.N.; Newton, J.B.; Boorman-Padgett, J.F.; Weiss, S.N.; Nuss, C.A.; Gittings, D.J.; Farber, D.C.; Soslowsky, L.J. Nicotine Impairs Intra-substance Tendon Healing after Full Thickness Injury in a Rat Model. *J. Orthop. Res.* **2019**, *37*, 94–103. [CrossRef]
7. Lundgreen, K.; Lian, Ø.B.; Scott, A.; Fearon, A.; Engebretsen, L. 58 Smokers Have Worse Rotator Cuff Teartendon Degeneration and Apoptosis. *Br. J. Sports Med.* **2014**, *48*, A37–A38. [CrossRef]
8. Zabrzyn´ski, J.; Huri, G.; Gagat, M.; Łapaj, Ł.; Yataganbaba, A.; Szwedowski, D.; Askin, M.; Paczesny, Ł. The Impact of Smoking on Clinical Results Following the Rotator Cuff and Biceps Tendon Complex Arthroscopic Surgery. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 599. [CrossRef]
9. Zabrzyn´ski, J.; Gagat, M.; Łapaj, Ł.; Paczesny, Ł.; Yataganbaba, A.; Szwedowski, D.; Huri, G. Relationship between Long Head of the Biceps Tendon Histopathology and Long-Term

Functional Results in Smokers. A Time to Reevaluate the Bonar Score? *Ther. Adv. Chronic Dis.* **2021**, *12*, 204062232199026. [CrossRef]

10. Zabrzyn´ski, J.; Łapaj, Ł.; Paczesny, Ł.; Zabrzyn´ska, A.; Grzanka, D. Tendon—Function-Related Structure, Simple Healing Process and Mysterious Ageing. *Folia Morphol.* **2018**, *77*, 416–427. [CrossRef]

11. Osti, L.; Buda, M.; Del Buono, A.; Osti, R.; Massari, L.; Maffulli, N. Apoptosis and Rotator Cuff Tears: Scientific Evidence from Basic Science to Clinical Findings. *Br. Med. Bull.* **2017**, *122*, 123–133. [CrossRef] [PubMed]

12. Egerbacher, M.; Arnoczky, S.P.; Caballero, O.; Lavagnino, M.; Gardner, K.L. Loss of Homeostatic Tension Induces Apoptosis in Tendon Cells: An In Vitro Study. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2008**, *466*, 1562–1568. [CrossRef] [PubMed]

13. Lundgreen, K.; Lian, O.B.; Engebretsen, L.; Scott, A. Tenocyte Apoptosis in the Torn Rotator Cuff: A Primary or Secondary Pathological Event? *Br. J. Sports Med.* **2011**, *45*, 1035–1039. [CrossRef] [PubMed]

14. Wu, Y.F.; Chen, C.H.; Cao, Y.; Avanessian, B.; Wang, X.T.; Tang, J.B. Molecular Events of Cellular Apoptosis and Proliferation in the Early Tendon Healing Period. *J. Hand Surg.* **2010**, *35*, 2–10. [CrossRef]

15. Li, K.; Deng, Y.; Deng, G.; Chen, P.; Wang, Y.; Wu, H.; Ji, Z.; Yao, Z.; Zhang, X.; Yu, B.; et al. High Cholesterol Induces Apoptosis and Autophagy through the ROS-Activated AKT/FOXO1 Pathway in Tendon-Derived Stem Cells. *Stem Cell Res. Ther.* **2020**, *11*, 131. [CrossRef] [PubMed]

16. Ditsios, K.; Agathangelidis, F.; Boutsiadis, A.; Karataglis, D.; Papadopoulos, P. Long Head of the Biceps Pathology Combined with Rotator Cuff Tears. Available online: https://www.hindawi.com/journals/aorth/2012/405472/ (accessed on 7 November 2018).

17. Santiago-Torres, J.; Flanigan, D.C.; Butler, R.B.; Bishop, J.Y. The Effect of Smoking on Rotator Cuff and Glenoid Labrum Surgery: A Systematic Review. *Am. J. Sports Med.* **2015**, *43*, 745–751. [CrossRef] [PubMed]

18. Belay, E.S.; Wittstein, J.R.; Garrigues, G.E.; Lassiter, T.E.; Scribani, M.; Goldner, R.D.; Bean, C.A. Biceps Tenotomy Has Earlier Pain Relief Compared to Biceps Tenodesis: A Randomized Prospective Study. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* **2019**, *27*, 4032–4037. [CrossRef]

19. Lundgreen, K.; Lian, O.B.; Scott, A.; Nassab, P.; Fearon, A.; Engebretsen, L. Rotator Cuff Tear Degeneration and Cell Apoptosis in Smokers versus Nonsmokers. *Arthroscopy* **2014**, *30*, 936–941. [CrossRef]

20. Zabrzyn´ski, J.; Huri, G.; Gryckiewicz, S.; Çetik, R.M.; Szwedowski, D.; Łapaj, Ł.; Gagat, M.; Paczesny, Ł. Biceps Tenodesis versus Tenotomy with Fast Rehabilitation Protocol-A Functional Perspective in Chronic Tendinopathy. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 3938. [CrossRef]

21. Vaishnav, S.; Millett, P.J. Arthroscopic Rotator Cuff Repair: Scientific Rationale, Surgical Technique, and Early Clinical and Functional Results of a Knotless Self-Reinforcing Double-Row Rotator Cuff Repair System. *J. Shoulder Elb. Surg.* **2010**, *19*, 83–90. [CrossRef]

22. Rossi, L.A.; Chahla, J.; Verma, N.N.; Millett, P.J.; Ranalletta, M. Rotator Cuff Retears. *JBJS Rev.* **2020**, *8*, e0039. [CrossRef] [PubMed]

23. Scott, A.; Khan, K.M.; Heer, J.; Cook, J.L.; Lian, O.; Duronio, V. High Strain Mechanical Loading Rapidly Induces Tendon Apoptosis: An Ex Vivo Rat Tibialis Anterior Model. *Br. J. Sports Med.* **2005**, *39*, e25. [CrossRef] [PubMed]
24. Igney, F.H.; Krammer, P.H. Death and Anti-Death: Tumour Resistance to Apoptosis. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 277–288. [CrossRef] [PubMed]
25. Satou, T. Warm drug solution injected into tumor vessel may enhance antitumor effect. *Gan Kagaku Ryoho* **1990**, *17*, 1763–1767.
26. Yuan, J.; Murrell, G.A.C.; Wei, A.-Q.; Wang, M.-X. Apoptosis in Rotator Cuff Tendonopathy. *J. Orthop. Res.* **2002**, *20*, 1372–1379. [CrossRef] [PubMed]
27. Benson, R.T.; McDonnell, S.M.; Knowles, H.J.; Rees, J.L.; Carr, A.J.; Hulley, P.A. Tendinopathy and Tears of the Rotator Cuff Are Associated with Hypoxia and Apoptosis. *J. Bone Jt. Surg. Br. Vol.* **2010**, *92*, 448–453. [CrossRef] [PubMed]
28. Wu, P.-T.; Jou, I.-M.; Yang, C.-C.; Lin, C.-J.; Yang, C.-Y.; Su, F.-C.; Su, W.-R. The Severity of the Long Head Biceps Tendinopathy in Patients with Chronic Rotator Cuff Tears: Macroscopic versus Microscopic Results. *J. Shoulder Elb. Surg.* **2014**, *23*, 1099–1106. [CrossRef]
29. Chen, J.; Wang, A.; Xu, J.; Zheng, M. In Chronic Lateral Epicondylitis, Apoptosis and Autophagic Cell Death Occur in the Extensor Carpi Radialis Brevis Tendon. *J Shoulder Elb. Surg* **2010**, *19*, 355–362. [CrossRef]
30. Puzzitiello, R.N.; Patel, B.H.; Forlenza, E.M.; Nwachukwu, B.U.; Allen, A.A.; Forsythe, B.; Salzler, M.J. Adverse Impact of Corticosteroids on Rotator Cuff Tendon Health and Repair: A Systematic Review of Basic Science Studies. *Arthrosc. Sports Med. Rehabil.* **2020**, *2*, e161–e169. [CrossRef]
31. Pearce, C.J.; Ismail, M.; Calder, J.D. Is Apoptosis the Cause of Noninsertional Achilles Tendinopathy? *Am. J. Sports Med.* **2009**, *37*, 2440–2444. [CrossRef]
32. Tuoheti, Y.; Itoi, E.; Pradhan, R.L.; Wakabayashi, I.; Takahashi, S.; Minagawa, H.; Kobayashi, M.; Okada, K.; Shimada, Y. Apoptosis in the Supraspinatus Tendon with Stage II Subacromial Impingement. *J. Shoulder Elb. Surg.* **2005**, *14*, 535–541. [CrossRef] [PubMed]
33. Lundgreen, K.; Lian, Ø.; Scott, A.; Engebretsen, L. Increased Levels of Apoptosis and P53 in Partial-Thickness Supraspinatus Tendon Tears. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* **2013**, *21*, 1636–1641. [CrossRef] [PubMed]
34. Yang, J.; Hashemi, S.; Han, W.; Song, Y.; Lim, Y. Exposure and Risk Assessment of Second- and Third-Hand Tobacco Smoke Using Urinary Cotinine Levels in South Korea. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 3746. [CrossRef] [PubMed]
35. Yang, J.; Hashemi, S.; Kim, T.; Park, J.; Park, M.; Han, W.; Park, D.; Lim, Y. Risk Assessment and Estimation of Controlling Safe Distance for Exposure to Particulate Matter from Outdoor Secondhand Tobacco Smoke. *Air Qual. Atmos. Health.* **2023**, 1–16. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Publikacja II

Journal of Clinical Medicine

MDPI

Article

Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski [1], Jan Zabrzyn´ski [1], Peter J. Millett [2], Marco-Christopher Rupp [3], Filippo Familiari [4], Gazi Huri [5], Jakub Erdmann [1,*], Michał Błachowski [1], Przemysław Pe˛kala [6] and Maciej Gagat [7,8]

check for updates

Citation: Jaworski, Ł.; Zabrzyn´ski, J.; Millett, P.J.; Rupp, M.-C.; Familiari, F.; Huri, G.; Erdmann, J.; Błachowski, M.; Pe˛kala, P.; Gagat, M. Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 4520. https://doi.org/10.3390/jcm13154520

Academic Editor: Marco Alessandro Minetto

Received: 9 July 2024
Revised: 29 July 2024
Accepted: 30 July 2024
Published: 2 August 2024

Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https:// creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[1] Department of Orthopaedics and Traumatology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun´, 85-092 Bydgoszcz, Poland; lukaszmjaworski@gmail.com (Ł.J.); zabrzynski@gmail.com (J.Z.); blachowskiort@gmail.com (M.B.)

[2] Steadman Philippon Research Institute, The Steadman Clinic, Vail, CO 81657, USA; drmillet@thesteadmanclinic.com

[3] Department of Sports Orthopaedics, Technical University of Munich, 80333 Munich, Germany; marco.rupp@tum.de

[4] Department of Orthopaedic and Trauma Surgery, "Mater Domini" University Hospital, "Magna Græcia" University, 88100 Catanzaro, Italy; filippofamiliari@unicz.it

[5] Department of Orthopaedics and Traumatology, Hacettepe Universitesi, Ankara 06800, Turkey; gazihuri@yahoo.com

[6] International Evidence-Based Anatomy Working Group, Department of Anatomy, Jagiellonian University Medical College, 31-008 Krakow, Poland; pekalapa@gmail.com

[7] Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Nicolaus Copernicus University in Torun, 87-100 Torun, Poland; mgagat@cm.umk.pl

[8] Collegium Medicum, Mazovian Academy in Płock, 09-402 Płock, Poland * Correspondence: erdmann.jakub@gmail.com; Tel.: +48-501-705-652

Abstract: Objectives: The purpose of this study was to determine the correlation between microscopic degeneration in the long head of the biceps tendon (LHBT) and the apoptotic process. **Methods:** This study included 26 consecutive patients who had undergone arthroscopic biceps tenodesis or tenotomy for symptomatic LHBT with or without concomitant rotator cuff tears (RCTs). Histological examination of the specimens under a light microscope was conducted after staining with hematoxylin, eosin, and the Alcian blue. Histopathological changes were assessed using the original Bonar score and the modified Bonar score and then correlated with the expression of the subsequent apoptosis markers: activated caspase-3 (casp3), tumor protein p53 (p53), and B-cell lymphoma 2 (BCL-2). **Results:** The mean original Bonar score was 8.65 (range 5–11), while the modified Bonar score was 7.61. There was no correlation between the original Bonar score and the age of the patients, but a positive correlation was found between the modified Bonar score and the age of the patients (p = 0.0022). There was no correlation between the age of patients and the expression indexes of BCL-2 and casp3. However, the expression of the p53 index showed a positive correlation with patient aging (p = 0.0441). Furthermore, there was no correlation observed between the expression of apoptotic indexes and both the original and modified Bonar scale. **Conclusions:** In LHB tendinopathy, the expression of apoptosis does not

seem to directly correlate with the extent of degeneration, particularly in the late stages of tendinopathy. However, the transformations observed in collagen and ground substance were significantly associated with age, as well as tendinous tissue degeneration quantified according to modified Bonar score. The age of patients was also linked with the expression of the p53 index, as an increased apoptosis in the studied population.

Keywords: LHBT; tendon; tendinopathy; Bonar score; apoptotic process; caspase-3; protein p53; BCL-2

1. Introduction

Tendinopathy is a chronic disorder affecting tendons, characterized by an immune response dysregulation with an early-phase inflammatory response phenotype which clinically manifests in impaired tendon healing and excessive degeneration [1–3]. Despite recent advancements in understanding tendinous tissue, the exact causes of tendinopathy are still a subject of debate. Microscopically, tendinopathy is marked by disruptions in collagen architecture, the accumulation of proteoglycans, changes in tenocyte morphology and population, and the expansion of neovessels [4–7]. In the setting of tendon metabolism, apoptosis has been observed both in the natural healing process of tendinous tissue and in pathological tendinopathy [8,9]. Following a tendon lesion, the healing process is marked by a brief inflammatory phase that typically lasts for 7–10 days. Increased apoptosis during tendon healing may serve as a mechanism to restore tissue homeostasis after the repair process [9]. Conversely, Yuan et al. proposed that excessive apoptosis is the primary cause of tendinopathy which leads to tendon lesions as a secondary manifestation of degeneration [10], reflecting the homogeneity in the literature on the role of apoptosis in the setting of tendinopathy. Specific to tendinopathy, the process of apoptosis can be triggered by multiple external and internal stimuli [11].

LHB tendinopathy typically arises due to repetitive and chronic traction and friction forces that impact the tendinous tissue, resulting in microtrauma during movement of the shoulder joint. In particular, the intra-articular portion, which runs beneath the rotator cuff and attaches to the superior labrum and glenoid, is prone to injury, especially in conjunction with the degeneration of adjacent structures like the rotator cuff tendons and biceps reflection pulley. Such co-existing damage can exacerbate the pathological processes at play [12]. Despite these observations, the apoptotic profile in the setting LHBT and its role remains enigmatic and has not been thoroughly explored in comparison to the rotator cuff tendons [11,13,14].

The aim of this study was to investigate the correlation between the degree of microscopic degeneration in the long head of the biceps tendon during chronic tendinopathy and the apoptotic process. Our hypothesis proposed that the degeneration of the tendinous tissue, as evaluated using both the original Bonar score and the modified Bonar score, would correspond to the extent of the apoptotic process [15].

2. Materials and Methods

2.1. Ethics and General Characteristics

The study was conducted in accordance with the principles outlined in the Declaration of Helsinki for experiments involving human subjects. Prior to the commencement of the study, approval was obtained from the Nicolaus Copernicus Bioethics Committee (approval number KB 598/2016; the approved date 20 September 2016). A total of 26 patients who had undergone shoulder arthroscopy were included in the study cohort due to symptomatic LHB tendinopathy and associated shoulder lesions between 2016 and 2017. Long head of the biceps surgery was typically performed as part of arthroscopic surgery. All participants included in the study were preoperative diagnosed with LHBT tendinopathy, which was based on a clinical examination including tests such as tenderness over the bicipital groove, Speed test, Yergason test, Abbot-Saunders test, as well as non-contrast magnetic resonance scans (MRI) of the shoulder. The inclusion criteria required a lack of response to conservative treatment, which included a minimum of three months of physiotherapy, and a minimum age of 18 years. Exclusion criteria encompassed a history of systemic inflammatory or rheumatic diseases, previous shoulder surgical treatment, or corticosteroid injections within the year prior to the surgery. Written informed consent was obtained from all patients prior to their participation in the study.

2.2. Operative Treatment

All patients underwent shoulder arthroscopy using a standard 30° arthroscope from Smith & Nephew while positioned in the beach chair position, under general anesthesia or brachial plexus anesthesia. The intracapsular portion of the LHBT was evaluated by probe from its insertion to the bicipital groove to assess for tears and swelling. The condition of the biceps pulley, stability of the LHBT in the groove, and the extracapsular part of the tendon were also examined. The arthroscopic examination and diagnosis of LHBT tears were made based on the Lafosse classification, which includes grade 0 (normal tendon), grade I (minor lesion), and grade II (major lesion). Subsequently, all patients underwent either arthroscopic tenodesis or tenotomy procedures, depending on the surgeon's decision, followed by the excision of the intracapsular portion of the LHBT to obtain a sample for further histological study. All patients underwent either biceps tenodesis or tenotomy, depending on the surgeon's decision, which was based on clinical data; specifically, those for tenodesis were qualified patients who did not accept a possible Popeye deformity, and those for tenotomy were patients who were older than 50 years and who accepted a possible arm deformity. Any concurrent lesions were addressed through arthroscopic techniques. Concomitant rotator cuff tears were classified according to the Snyder classification. The letter indicates the location of the rotator cuff tear (A—articular side; B—bursal side; C—full-thickness tear connecting A and B), while the number indicates the severity of tear. The following were included in partial tears (A and B): grade 0 (normal cuff), grade 1 (minimal, superficial), grade 2 (moderate, fraying fibers < 2 cm), grade 3 (more severe, fraying and fragmentation of the fibers < 3 cm), and grade 4 (very severe, fraying and fragmentation of the fibers with a sizable flap tear). The following were

included in complete tears (C): grade 1 (small, but complete tear), grade 2 (moderate tear < 2 cm), grade 3 (large tear with minimal retraction, 3–4 cm), and grade 4 (massive tear, associated with retraction and scarring of remaining tendon).

2.3. Microscopic Examination of the LHBT Specimens

The resected tendon fragment was preserved in a fresh and sterile 10% buffered formalin solution. After 24 h, it was dehydrated and embedded in paraffin, enabling further histological evaluation. The samples were prepared using the hematoxylin and eosin (H&E) staining method, as well as the Alcian blue protocol, and were examined under light microscopy using 5 µm sections. Alcian blue staining was employed to specifically assess the presence of ground substance glycosaminoglycans. The microscopic evaluation was carried out by two experienced observers who specialize in tendinous tissue and were blinded to the identity of the samples. The extent of histopathological changes was assessed based on the original assumptions of the original Bonar score [16]. This scoring system evaluates four main variables: tenocyte morphology, accumulation of ground substance elements, neovascularity, and collagen architecture. An ascending scoring range of 0 to 3 points was assigned to each variable, with 0 indicating normal tissue and 3 representing extreme pathology. A completely normal tendon would have a score of 0, while a severely degenerated tendon would score 12. Additionally, in the second step of the examination, LHBT specimens were evaluated using the modified Bonar score developed by Zabrzyn´ski et al. [15]. In this modified scoring system, the attributes of the neovascularization variable in the original Bonar scale were reversed. A score of three points was assigned to a normal tendon with a minimal occurrence of blood vessels (absent neovascularization), two points for the incidental presence of capillary clusters of less than one per 10 high-power fields (HPFs; mild neovascularization), one point for 1–2 clusters per 10 HPFs (moderate neovascularization), and zero points for more than two clusters per 10 HPFs (abundant neovascularization). This modified scoring system acknowledges the complex role of neovascularization in tendinopathy [15].

For immunohistochemical staining, the sections were deparaffinized, rehydrated, and the activity of endogenous peroxidase was blocked using 3% hydrogen peroxide.

Staining was performed using the BenchMark Ultra system from Ventana Medical Systems

(Roche) from Risch-Rotkreuz, Switzerland, following the manufacturer’s instructions. The apoptotic response in tendon samples was assessed by evaluating the density of apoptotic cells, specifically examining antibodies such as activated caspase-3, protein p53, and BCL-2. The evaluation of apoptotic response and immunohistochemical analysis was conducted by two experienced observers specialized in tendinous tissue, who were blinded to the identity of the samples. The density of apoptotic cells was classified based on the number of positive cells observed in the specimen, with 0 points indicating no positive cells, 1 point denoting less than 10 positive cells per specimen, and 2 points representing more than 10 positive cells per specimen.

2.4. Correlation Analyses

The results of the original as well as modified Bonar scores were correlated to patient age as well as the expression of the apoptosis markers activated caspase-3, protein p53, and BCL-2.

2.5. Statistical Analysis

All group comparisons and statistical analyses were conducted by two independent investigators using GraphPad Prism software (GraphPad 8.0.1 Software, Dotmatics, UK). A *p*-value less than 0.05 was considered statistically significant. The normality of variables was assessed using the Shapiro–Wilk test. Relationships between the studied parameters were evaluated using the Spearman's rank correlation coefficient. According to the non-normal distribution of the data, intergroup comparisons were performed using nonparametric tests, specifically the Mann–Whitney U test for comparing two groups.

3. Results

A total of 26 patients who had undergone shoulder arthroscopy were included in the study cohort due to chronic LHB tendinopathy and associated shoulder lesions. Among the patients examined, arthroscopic LHB tenodesis was performed on 19 patients, while tenotomy was performed on 7 patients. Furthermore, all of the patients underwent other arthroscopic procedures, including rotator cuff tear repairs (Snyder classification C-2) in seven patients and repairs for massive rotator cuff tears (Snyder classification C-4) in nine patients. Ten patients were diagnosed with a subacromial impingement with rotator cuff tendinopathy (Snyder classification B-1 and B-2 changes in rotator cuff), and they underwent arthroscopic debridement with subacromial decompression. All of the LHB tendon lesions were classified as grade II according to the Lafosse classification. The average follow-up period after surgery was 40.9 months, ranging from 24 to 65 months, and no reoperations were reported during this period. The mean age of the patients included in the study cohort was 51.5 years, ranging from 28 to 74 years. The summary of population characteristics and results is shown in Table 1.

Population	Mean Age (Years)	Mean Follow-Up Period (Months)	Mean Bonar Score	Mean Modified Bonar Score	LHBT Arthroscopic Procedure	Macroscopic LHBT Classification According to Lafosse	Macroscopic RC Classification According to Snyder
n = 26	51. 8 (range from 28 to 74)	40.9 (range from 24 to 65)	8.65 (range 5–11)	7.61 (range 4–11)	LHB tenodesis in 19 patients LHB tenotomy in 7 patients	Grade II—26 patients	C-2 in 7 patients C-4 in 9 patients B-1 and B-2 in 10 patients

Table 1. Table presenting population characteristics and histological results.
LHBT—long head of the biceps tendon; LHB—long head of the biceps; RC—rotator cuff.

3.1. Histological Examination

Histological examination of the specimens under a light microscope revealed degeneration of the tendinous tissue in all cases. The mean original Bonar score was 8.65 (range 5–11), while

the modified Bonar score developed by Zabrzyn´ski et al. [15] was 7.61 (range 4–11). There was no correlation between the original Bonar score and the age of the patients (Figure 1A). However, a positive correlation was found between the modified Bonar score and the age of the patients (p = 0.0022) (Figure 1B). Furthermore, when analyzing the individual components of the original and modified Bonar scales, a statistically significant correlation with age was observed in terms of collagen and ground substance accumulation variables (p = 0.0036 and p = 0.0166, respectively) (Figure 1E,F).

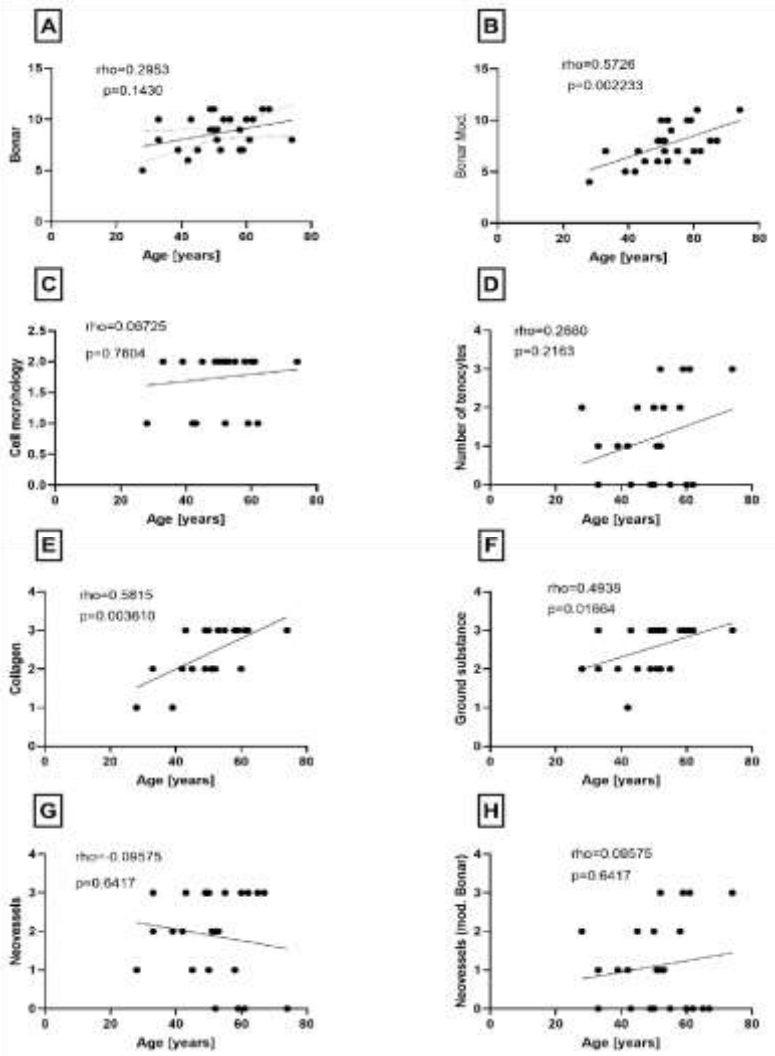


Figure 1. (**A**) Correlation between Bonar and (**B**) modified Bonar scores and age. Correlation between (**C**) tenocyte morphology, (**D**) number of tenocytes, (**E**) transformations observed in collagen, (**F**) transformations observed in ground substances and age. Correlation between (**G**) expansion of neovessels, (**H**) and neovessels according to modified Bonar scale and age.

3.2. Immunohistochemical Analysis

Immunohistochemical analysis revealed positive reactions for BCL-2 in 12 patients, cleaved caspase 3 in 16 patients, and p53 in 12 patients. Among the BCL-2 reactions, moderate reactions (1 point) were observed in 8 out of 12 cases. For cleaved caspase 3 reactions, moderate reactions were seen in 5 out of 16 cases, while for p53 reactions,

moderate reactions were observed in 10 out of 12 cases. Abundant reactions (2 points) were observed in 4 cases for BCL2, 11 cases for cleaved caspase 3, and 2 cases for p53.

Further analysis of the relationship between age and apoptotic marker expression revealed no correlation between the age of patients and the expression indexes of BCL-2 and casp3 (Figure 2A,B). However, the expression of the p53 index showed a positive correlation with patient aging (p = 0.0441) (Figure 2C). Furthermore, there was no correlation observed between the expression of apoptotic indexes (BCL-2, cleaved caspase 3, p53) and both the original and modified Bonar scores (Figure 3). While the separated components of the Bonar scale (tenocyte morphology, collagen architecture, ground substance accumulation, and neovascularization) were analyzed for correlation with the studied apoptotic indexes, no statistically significant dependencies were found in the entire comparison.

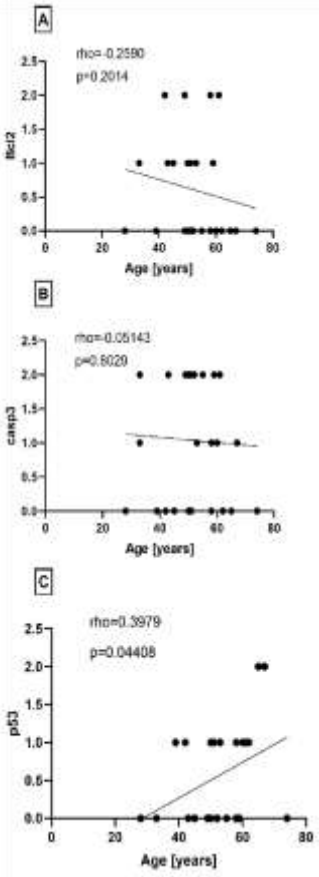


Figure 2. Correlation between the (**A**) BCL2, (**B**) cleaved caspase 3 index, and (**C**) p53 index and the

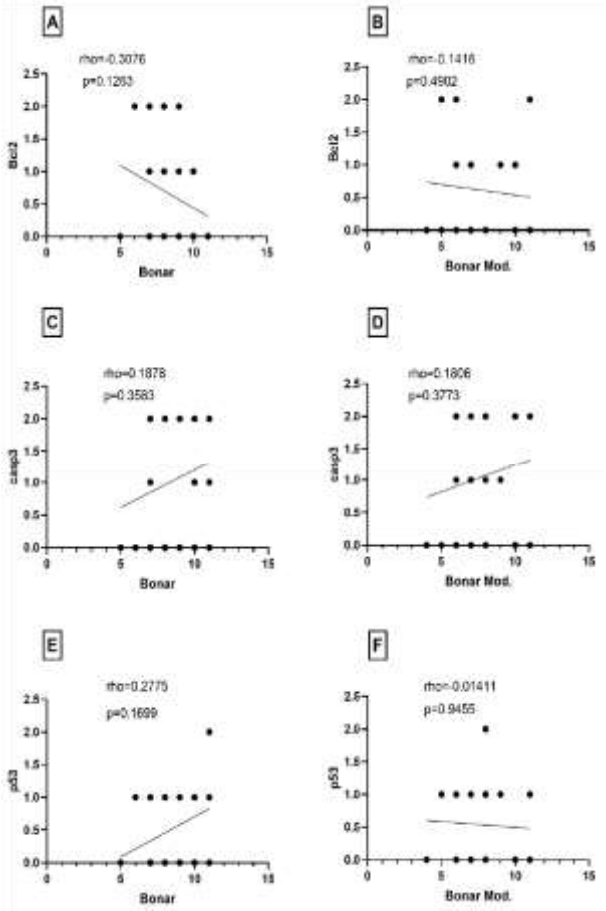


Figure 3. Correlation between the (**A**) BCL2 index, (**C**) cleaved caspase 3 index, and (**E**) p53 index and Bonar scale. Correlation between the (**B**) BCL2, (**D**) cleaved caspase 3 index, (**F**) p53 index and modified Bonar scale.

4. Discussion

The most important finding of this study was that the primary hypothesis of this study was refuted. The level of tendinous tissue degeneration assessed by the commonly used Bonar score and its modification developed by Zabrzyn´ski et al. [15] did not correlate with the expression of apoptotic markers such as casp3, p53, and BCL-2. However, the data indicate that modified Bonar score seemed to correlate with patient age better than the original version of this score. What is more, the rate of the apoptotic index of p53 was positively linked to age.

Although apoptosis is a natural physiological process that maintains tissue homeostasis, excessive apoptosis is often observed and associated with orthopedic degenerative disorders such as osteoarthritis, osteonecrosis of the femoral head, hip dysplasia and tendinopathies [8,17,18]. Numerous studies have reported that increased apoptotic cell death may be a feature of many tendinopathies such as LHB tendinopathy, rotator cuff tears, lateral epicondylitis, patellar tendinosis, and Achilles tendinopathy [6,8,10,19–22]. Hypoxia, excessive load, inflammation, and genetic predisposition are the main causes and risk factors for apoptosis in tendinous tissue [8,18]. The role of tenocytes in maintaining the balance of the extracellular matrix (ECM) and the bilateral dependencies involved are well established. Excessive and uncontrolled programmed cell death of tenocytes can disrupt the structure of

the ECM, resulting in the loss of mechanical resistance in tendinous tissue. The amount of cells that undergo apoptosis or autophagic cell death increases with elevated levels of ECM disruption, which may indicate the creation of a self-amplifying cycle [6].

It is widely recognized that LHBT is a multifactorial process and there are different etiological theories, such as mechanical, vascular, apoptosis, and other [23]. Since programmed cell death seems to be a constant element of tendinopathy [6,8,10,19–21], it is logical to assume that the more advanced the tendinopathy is, the more apoptosis markers should be observed. Although, in this study, the relationship between the expression of apoptosis markers and the level of tendon degeneration does not appear to follow a positive correlation in the setting of LHB tendinopathy. This finding contradicts the conclusions drawn by Wu et al. [21]. They examined a group of patients of similar age and demonstrated that increased apoptotic index was positively correlated with a worsening histologic grade [21]. However, the method of measuring the intensity of apoptosis differed between their and our study. In their research, apoptotic cells were identified by labeling nuclear DNA fragments, while in this study, apoptosis markers were analyzed. There are no specific recommendations in the assessment of apoptosis and it may be advised to apply both methods in future studies [24]. Furthermore, in a study of Wu et al. [21], histological grading was based on a semiquantitative method that differs from the Bonar score. Based on our knowledge, no further studies have investigated the relationship between the level of induction of apoptosis and severity of tendinopathy. Available studies mainly focus on whether excessive apoptosis occurs in tendinopathy and do not investigate whether apoptosis intensity is associated with a worse histological degeneration [6,8,10,19,20].

In the present study, patients who had undergone prior corticosteroid injections were excluded. Interestingly, Puzzitello et al., in their systematic review, highlighted the potentially detrimental role of corticosteroid usage in increasing the number of apoptotic cells and decreasing cellular viability and metabolism [25]. They found that cellular viability was reduced 14 days after exposure to steroids, but not at 21 days after a single dose. Additionally, if a second application was administered within 7 or 14 days of the first, cellular viability did not return to normal levels. Moreover, exposure to steroids resulted in the loss of normal tenocyte and collagen morphology, as well as decreased vascular proliferation. From a biochemical standpoint, it was presented that glucocorticoid treatment may induce tenocytes' senescence by inducing p53 expression and inhibition of sirtuin-1 [26]. What is more, glucocorticoids may stimulate the damage and death of rotator cuff tendon cells by inducing glutamate receptor NMDAR1 [27]. It is important to note that the abovementioned previous studies did not take into account whether glucocorticoids were injected in examined subjects, which could have introduced bias in the morphology and apoptosis rate of the tendinous tissue.

It is worth mentioning that p53 expression was observed in LHBT and was positively correlated with age. Activation of p53 due to various cellular stress (i.e., oxidative stress, DNA damage,

and oncogenes activation) can inhibit cell proliferation by inducing senescence, apoptosis, or cell cycle arrest [28]. As age increases, oxidative stress accumulates in soft tissues which stimulates p53 activity and induces apoptosis-promoting tendon pathology. This simplified biochemical mechanism may be a hint explaining why many studies have proven that increased age affects physiological healing of the ruptured tendon and is correlated with tendon retears [29]. In this study, the activity of casp3 and BCL-2 did not correlate with age. Caspases' activity remains a subject of debate, varies during aging, and differs between the tissues that are examined [30].

The Bonar score is commonly used to assess histopathological alterations in tendinous tissue across various tendons. The specific area of the tendon specimen to be investigated is not clearly defined, leading to variation in assessment methods among different authors. Some scientists assess the entire tendon sample, while others focus only on the most degenerated region [16,31]. In our study, we investigated the entire area of the tendon sample.
Several authors have attempted to modify the Bonar system by incorporating additional variables such as the number of inflammatory cells, cellularity/number of tenocytes, presence of calcifications, and cytoplasmic alterations in tenocytes [16,31,32]. The extent or level of the apoptotic process has not been previously incorporated into the Bonar system, which indicates a potential for expansion of this score, given the central role of apoptosis in the tendinopathy process. The apoptotic rate appears to be an independent variable that could enhance the existing morphological scoring systems. However, this study has not found an association between apoptosis markers and the severity of tendon pathology that may indicate no necessity of adding this parameter in the Bonar score. Another attempt to modify the Bonar scale focused on vascularization. For instance, a complete lack of vascularity is graded with zero points in the classical Bonar score, while in the modified Bonar score proposed by Zabrzyn´ski et al., this microscopic finding is scored with 3 points [15]. They introduced the NDS (Neovascularization Degenerative Score), which was calculated based on the original Bonar system. In this modified scoring system, avascular tissue in pathological samples was assigned the highest grade of NDS (three points), rather than the lowest (zero points) [15]. Tendon degeneration primarily occurs in areas with poor blood supply, and hypoxia serves as a significant regulator of apoptosis. Regardless of the type of Bonar score used, we did not observe a clear link between vascularity and apoptotic rates in the examined samples. It is worth mentioning that in the current study, the correlation between age and Bonar score was not found, which is consistent with the results obtained by other authors [33,34]. Longo et al. presented histological evidence of minimal degenerative changes in LHBT at an advanced age who did not suffer from any LHB tendinopathy [35]. On the contrary, modified Bonar score was positively correlated with the age of the patients. There are studies that indicate reduced angiogenic potential associated with aging that may impair tendon healing and lead to more severe tendinopathy according to modified Bonar score [36].

This study has several limitations. First, the sample size was small, but comparable to previous similar studies [13,37,38]. Second, the age differences among individuals in our study may have influenced the expression of apoptotic indexes. Third, the presence of concomitant

rotator cuff injuries of different severities and etiologies could introduce bias into the results. Fourth, a control group could not be included due to ethical considerations in our country.

5. Conclusions

In LHB tendinopathy, the expression of apoptosis does not seem to directly correlate with the extent of degeneration, particularly in the late stages of tendinopathy. However, the transformations observed in collagen and ground substance were significantly associated with age, as well as tendinous tissue degeneration quantified according to the modified Bonar score. The age of patients was also linked with the expression of the p53 index, as increased apoptosis in the studied population.

Author Contributions: Ł.J., J.Z. and M.G., formal analysis, resources, manuscript writing and editing; P.J.M., M.-C.R. and F.F., supervision, funding acquisition, critical revision of the article and final approval; J.E. and G.H., manuscript writing and editing; M.B. and P.P., critical revision of the article and final approval. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Nicolaus Copernicus Bioethics Committee (approval number KB 598/2016, approval date 20 September 2016).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Data are unavailable due to privacy and ethical restrictions.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Abate, M.; Gravare Silbernagel, K.; Siljeholm, C.; Di Iorio, A.; De Amicis, D.; Salini, V.; Werner, S.; Paganelli, R. Pathogenesis of Tendinopathies: Inflammation or Degeneration? *Arthritis Res. Ther.* **2009**, *11*, 235. [CrossRef] [PubMed]
2. Fu, S.-C.; Rolf, C.; Cheuk, Y.-C.; Lui, P.P.; Chan, K.-M. Deciphering the Pathogenesis of Tendinopathy: A Three-Stages Process. *BMC Sports Sci. Med. Rehabil.* **2010**, *2*, 30. [CrossRef]
3. Jomaa, G.; Kwan, C.-K.; Fu, S.-C.; Ling, S.K.-K.; Chan, K.-M.; Yung, P.S.-H.; Rolf, C. A Systematic Review of Inflammatory Cells and Markers in Human Tendinopathy. *BMC Musculoskelet. Disord.* **2020**, *21*, 78. [CrossRef] [PubMed]
4. Andarawis-Puri, N.; Flatow, E.L.; Soslowsky, L.J. Tendon Basic Science: Development, Repair, Regeneration, and Healing.
J. Orthop. Res. **2015**, *33*, 780–784. [CrossRef] [PubMed]
5. Järvinen, T.A. Neovascularisation in Tendinopathy: From Eradication to Stabilisation? *Br. J. Sports Med.* **2020**, *54*, 1–2. [CrossRef] [PubMed]
6. Wu, B.; Chen, J.; Rosa, T.D.; Yu, Q.; Wang, A.; Xu, J.; Zheng, M.-H. Cellular Response and Extracellular Matrix Breakdown in Rotator Cuff Tendon Rupture. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* **2011**, *131*, 405–411. [CrossRef] [PubMed]
7. Zabrzynski, J.; Gagat, M.; Paczesny, L.; Grzanka, D.; Huri, G. Correlation between Smoking and Neovascularization in Biceps Tendinopathy: A Functional Preoperative and Immunohistochemical Study. *Ther. Adv. Chronic Dis.* **2020**, *11*, 2040622320956418. [CrossRef] [PubMed]

8. Benson, R.T.; McDonnell, S.M.; Knowles, H.J.; Rees, J.L.; Carr, A.J.; Hulley, P.A. Tendinopathy and Tears of the Rotator Cuff Are Associated with Hypoxia and Apoptosis. *J. Bone Jt. Surg. Br. Vol.* **2010**, *92*, 448–453. [CrossRef]
9. Wu, Y.F.; Chen, C.H.; Cao, Y.; Avanessian, B.; Wang, X.T.; Tang, J.B. Molecular Events of Cellular Apoptosis and Proliferation in the Early Tendon Healing Period. *J. Hand Surg.* **2010**, *35*, 2–10. [CrossRef]
10. Yuan, J.; Murrell, G.A.C.; Wei, A.-Q.; Wang, M.-X. Apoptosis in Rotator Cuff Tendonopathy. *J. Orthop. Res.* **2002**, *20*, 1372–1379. [CrossRef]
11. Osti, L.; Buda, M.; Del Buono, A.; Osti, R.; Massari, L.; Maffulli, N. Apoptosis and Rotator Cuff Tears: Scientific Evidence from Basic Science to Clinical Findings. *Br. Med. Bull.* **2017**, *122*, 123–133. [CrossRef] [PubMed]
12. Ditsios, K.; Agathangelidis, F.; Boutsiadis, A.; Karataglis, D.; Papadopoulos, P. Long Head of the Biceps Pathology Combined with Rotator Cuff Tears. *Adv. Orthop.* **2012**, *2012*, 405472. [CrossRef] [PubMed]
13. Lundgreen, K.; Lian, Ø.; Scott, A.; Engebretsen, L. Increased Levels of Apoptosis and P53 in Partial-Thickness Supraspinatus Tendon Tears. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* **2013**, *21*, 1636–1641. [CrossRef] [PubMed]
14. Lundgreen, K.; Lian, Ø.B.; Scott, A.; Fearon, A.; Engebretsen, L. 58 Smokers Have Worse Rotator Cuff Teartendon Degeneration And Apoptosis. *Br. J. Sports Med.* **2014**, *48*, A37–A38. [CrossRef]
15. Zabrzyn´ski, J.; Gagat, M.; Łapaj, Ł.; Paczesny, Ł.; Yataganbaba, A.; Szwedowski, D.; Huri, G. Relationship between Long Head of the Biceps Tendon Histopathology and Long-Term Functional Results in Smokers. A Time to Reevaluate the Bonar Score? *Ther. Adv. Chronic Dis.* **2021**, *12*, 2040622321990262. [CrossRef] [PubMed]
16. Maffulli, N.; Longo, U.G.; Franceschi, F.; Rabitti, C.; Denaro, V. Movin and Bonar Scores Assess the Same Characteristics of Tendon Histology. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2008**, *466*, 1605. [CrossRef] [PubMed]
17. Hwang, H.S.; Kim, H.A. Chondrocyte Apoptosis in the Pathogenesis of Osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 26035–26054. [CrossRef]
18. Wu, P.-T.; Su, W.-R.; Li, C.-L.; Hsieh, J.-L.; Ma, C.-H.; Wu, C.-L.; Kuo, L.-C.; Jou, I.-M.; Chen, S.-Y. Inhibition of CD44 Induces Apoptosis, Inflammation, and Matrix Metalloproteinase Expression in Tendinopathy. *J. Biol. Chem.* **2019**, *294*, 20177–20184. [CrossRef]
19. Lian, Ø.; Scott, A.; Engebretsen, L.; Bahr, R.; Duronio, V.; Khan, K. Excessive Apoptosis in Patellar Tendinopathy in Athletes. *Am. J. Sports Med.* **2007**, *35*, 605–611. [CrossRef]
20. Pearce, C.J.; Ismail, M.; Calder, J.D. Is Apoptosis the Cause of Noninsertional Achilles Tendinopathy? *Am. J. Sports Med.* **2009**, *37*, 2440–2444. [CrossRef]
21. Wu, P.-T.; Jou, I.-M.; Yang, C.-C.; Lin, C.-J.; Yang, C.-Y.; Su, F.-C.; Su, W.-R. The Severity of the Long Head Biceps Tendinopathy in Patients with Chronic Rotator Cuff Tears: Macroscopic versus Microscopic Results. *J. Shoulder Elb. Surg.* **2014**, *23*, 1099–1106. [CrossRef] [PubMed]
22. Chen, L.; Zheng, J.J.Y.; Li, G.; Yuan, J.; Ebert, J.R.; Li, H.; Papadimitriou, J.; Wang, Q.; Wood, D.; Jones, C.W.; et al. Pathogenesis and Clinical Management of Obesity-Related Knee Osteoarthritis: Impact of Mechanical Loading. *J. Orthop. Transl.* **2020**, *24*, 66–75. [CrossRef] [PubMed]
23. Raney, E.B.; Thankam, F.G.; Dilisio, M.F.; Agrawal, D.K. Pain and the Pathogenesis of Biceps Tendinopathy. *Am. J. Transl. Res.* **2017**, *9*, 2668–2683. [PubMed]
24. Martinez, M.M.; Reif, D.R.; Pappas, D. Detection of Apoptosis: A Review of Conventional and Novel Techniques. *Anal. Methods* **2010**, *2*, 996–1004. [CrossRef]
25. Puzzitiello, R.N.; Patel, B.H.; Forlenza, E.M.; Nwachukwu, B.U.; Allen, A.A.; Forsythe, B.; Salzler, M.J. Adverse Impact of Corticosteroids on Rotator Cuff Tendon Health and Repair: A Systematic Review of Basic Science Studies. *Arthrosc. Sports Med. Rehabil.* **2020**, *2*, e161–e169. [CrossRef] [PubMed]

26. Poulsen, R.C.; Watts, A.C.; Murphy, R.J.; Snelling, S.J.; Carr, A.J.; Hulley, P.A. Glucocorticoids Induce Senescence in Primary Human Tenocytes by Inhibition of Sirtuin 1 and Activation of the P53/P21 Pathway: In Vivo and in Vitro Evidence. *Ann. Rheum. Dis.* **2014**, *73*, 1405–1413. [CrossRef] [PubMed]
27. Dean, B.J.F.; Franklin, S.L.; Murphy, R.J.; Javaid, M.K.; Carr, A.J. Glucocorticoids Induce Specific Ion-Channel-Mediated Toxicity in Human Rotator Cuff Tendon: A Mechanism Underpinning the Ultimately Deleterious Effect of Steroid Injection in Tendinopathy? *Br. J. Sports Med.* **2014**, *48*, 1620–1626. [CrossRef]
28. Papazoglu, C.; Mills, A. P53: At the Crossroad between Cancer and Ageing. *J. Pathol.* **2007**, *211*, 124–133. [CrossRef] [PubMed]
29. Itoigawa, Y.; Yoshida, K.; Nojiri, H.; Morikawa, D.; Kawasaki, T.; Wada, T.; Koga, A.; Maruyama, Y.; Ishijima, M. Association of Recurrent Tear After Arthroscopic Rotator Cuff Repair and Superoxide-Induced Oxidative Stress. *Am. J. Sports Med.* **2021**, *49*, 2048–2055. [CrossRef]
30. Zhang, J.-H.; Zhang, Y.; Herman, B. Caspases, Apoptosis and Aging. *Ageing Res. Rev.* **2003**, *2*, 357–366. [CrossRef]
31. Fearon, A.; Dahlstrom, J.E.; Twin, J.; Cook, J.; Scott, A. The Bonar Score Revisited: Region of Evaluation Significantly Influences the Standardized Assessment of Tendon Degeneration. *J. Sci. Med. Sport* **2014**, *17*, 346–350. [CrossRef] [PubMed]
32. Jaworski, Ł.; Zabrzyn´ska, M.; Klimaszewska-Wis´niewska, A.; Zielin´ska, W.; Grzanka, D.; Gagat, M. Advances in Microscopic Studies of Tendinopathy: Literature Review and Current Trends, with Special Reference to Neovascularization Process. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 1572. [CrossRef] [PubMed]
33. Sethi, P.M.; Sheth, C.D.; Pauzenberger, L.; McCarthy, M.B.R.; Cote, M.P.; Soneson, E.; Miller, S.; Mazzocca, A.D. Macroscopic Rotator Cuff Tendinopathy and Histopathology Do Not Predict Repair Outcomes of Rotator Cuff Tears. *Am. J. Sports Med.* **2018**, *46*, 779–785. [CrossRef] [PubMed]
34. Sethi, P.M.; Miller, S.R.; Sheth, C.D.; McCarthy, M.B.R.; Cote, M.P.; Mazzocca, A.D. Tendonopathy Does Not Predict Rotator Cuff Healing: Macroscopic Tendon Appearance and Histologic Tendon Scores Do Not Correlate. *J. Shoulder Elb. Surg.* **2017**, *26*, e145–e147. [CrossRef]
35. Longo, U.G.; Franceschi, F.; Ruzzini, L.; Rabitti, C.; Morini, S.; Maffulli, N.; Denaro, V. Characteristics at Haematoxylin and Eosin Staining of Ruptures of the Long Head of the Biceps Tendon. *Br. J. Sports Med.* **2009**, *43*, 603–607. [CrossRef] [PubMed]
36. Riggin, C.N.; Weiss, S.N.; Rodriguez, A.B.; Raja, H.; Chen, M.; Schultz, S.M.; Sehgal, C.M.; Soslowsky, L.J. Increasing Vascular Response to Injury Improves Tendon Early Healing Outcome in Aged Rats. *Ann. Biomed. Eng.* **2022**, *50*, 587–600. [CrossRef]
[PubMed]
37. Glait, S.A.; Mahure, S.; Loomis, C.A.; Cammer, M.; Pham, H.; Feldman, A.; Jazrawi, L.M.; Strauss, E.J. Regional Histologic Differences in the Long Head of the Biceps Tendon Following Subpectoral Biceps Tenodesis in Patients with Rotator Cuff Tears and SLAP Lesions. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* **2018**, *26*, 2481–2489. [CrossRef]
38. Lundgreen, K.; Lian, Ø.B.; Engebretsen, L.; Scott, A. Tenocyte Apoptosis in the Torn Rotator Cuff: A Primary or Secondary Pathological Event? *Br. J. Sports Med.* **2011**, *45*, 1035–1039. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

12. Oświadczenia współautorów publikacji

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Prof. Gazi Huri, MD, PhD
Hacettepe University School of Medicine
Orthopaedics and Traumatology Dep.
06-320, Ankara, Turkey

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Title: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na ostatecznej akceptacji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r. w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Prof. Filippo Familiari, MD PhD

Department of Orthopaedic and Trauma Surgery,

Magna Graecia University, 88100 Catanzaro, Italy

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Title: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na ostatecznej akceptacji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

……
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia ...01.09.2024

Marco-Christopher Rupp
Department of Orthopedic Sports Medicine,
Technical University of Munich, 81675 Munich,
Germany

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Title: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na korekcie i edycji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia ...01.09.2024

Prof. Peter J. Millett, MD, PhD
Chief Medical Officer
Director of Shoulder Surgery
Shoulder, Knee, Elbow and Sports Medicine
Orthopaedic Surgery
The Steadman Clinic
181 West Meadow Drive
Vail, CO 81657 USA

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Title: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na ostatecznej akceptacji manuskryptu i uwagach

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK

Katedra Histologii i Embriologii

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

ul. Karłowicza 24

85-094 Bydgoszcz

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

mój udział polegał na przygotowaniu projektu badawczego.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia ...01.09.2024

Dr n. med. Michał Błachowski

Klinika Ortopedii i Traumatologii Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy,

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

85-092 Bydgoszcz, Polska

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

mój udział polegał na pomocy w przygotowaniu projektu badawczego oraz przygotowaniu pracy do wysyłki do czasopisma.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia ...01.09.2024

..... dr hab. n. med. Jan Zabrzyński, prof. UMK
Klinika Ortopedii i Traumatologii Wydziału
Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, Polska

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

mój udział polegał na koncepcji i przygotowaniu projektu badawczego oraz na ostatecznej akceptacji manuskryptu i uwagach.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 5 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Prof. Gazi Huri, MD, PhD
Hacettepe University School of Medicine
Orthopaedics and Traumatology Dep.
06-320, Ankara, Turkey

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na ostatecznej akceptacji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Prof. Filippo Familiari, MD PhD

Department of Orthopaedic and Trauma Surgery,

Magna Graecia University, 88100 Catanzaro, Italy

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na ostatecznej akceptacji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Marco-Christopher Rupp
Department of Orthopedic Sports Medicine,
Technical University of Munich, 81675 Munich,
Germany

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na korekcie i edycji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Prof. Peter J. Millett, MD, PhD
Chief Medical Officer
Director of Shoulder Surgery
Shoulder, Knee, Elbow and Sports Medicine
Orthopaedic Surgery
The Steadman Clinic
181 West Meadow Drive
Vail, CO 81657 USA

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

mój udział polegał na finalnej akceptacji pracy.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Dr hab. Maciej Gagat, prof. UMK

Katedra Histologii i Embriologii

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

ul. Karłowicza 24

85-094 Bydgoszcz

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na ostatecznej akceptacji manuskryptu

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

……(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Dr hab. n. med. Przemysław Pękala, prof. UJ

Department of Anatomy,
Jagiellonian UniversityMedical College,
31-008 Krakow, Poland

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

mój udział polegał na ostatecznej akceptacji pracy i uwagach.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

Dr n. med. Michał Błachowski

Klinika Ortopedii i Traumatologii Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy,

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

85-092 Bydgoszcz, Polska

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

mój udział polegał na pomocy w przygotowaniu projektu badawczego oraz przygotowaniu pracy do wysyłki do czasopisma.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia ...01.09.2024

..... dr Jakub Erdmann
Klinika Ortopedii i Traumatologii Wydziału
Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, Polska

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

mój udział polegał na przygotowaniu projektu badawczego.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 2 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia

Toruń, dnia …01.09.2024

..... dr hab. n. med. Jan Zabrzyński, prof. UMK
Klinika Ortopedii i Traumatologii Wydziału
Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, Polska

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: Correlation between the Long Head of the Biceps Microscopic Degeneration and Extent of Apoptotic Process

Łukasz Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1 , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4 , Gazi Huri 5, Jakub Erdmann 1, Michał Błachowski 1, Przemysław Pekala 6 and Maciej Gagat 7,8

mój udział polegał na przygotowaniu projektu badawczego.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 5 %.

.....
(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia doktora
na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu

Toruń, dnia …01.09.2024

Dr n. med. Paulina Antosik

Katedra Patomorfologii Klinicznej

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

ul. Karłowicza 24

85-094 Bydgoszcz

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Title: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

Oświadczam, że mój wkład w powstanie publikacji polegał na udziale w części doświadczalnej, częściowej interpretacji wyników.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 2 %.

(podpis)

Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Paulina Antuk

Załącznik nr 5 do uchwały Nr 38 Senatu UMK z dnia 26 września 2023 r.
w sprawie postępowania o nadanie stopnia doktora
na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu

Toruń, dnia ...01.09.2024

Prof. Michał Wiciński

Katedra Farmakologii Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy,

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

85-092 Bydgoszcz, Polska

Rada Dyscypliny Nauki Medyczne
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy

Tytuł publikacji: The Association of Tobacco Smoking and Level of Apoptosis in the Long Head of the Biceps Chronic Tendinopathy—An Immunohistochemical Study

Łukasz M. Jaworski 1, Jan Zabrzynski 1,* , Peter J. Millett 2, Marco-Christopher Rupp 3, Filippo Familiari 4,5 ,Gazi Huri 6, Paulina Antosik 7 , Michał Błachowski 1 , Michał Wicinski 8 and Maciej Gagat 9

mój udział polegał na ostatecznej akceptacji pracy i uwagach.

Mój udział w powstaniu pracy wynosi 1 %.

Kierownik
Katedry Farmakologii i Terapii
prof. dr hab. Michał Wiciński
.....
(podpis)

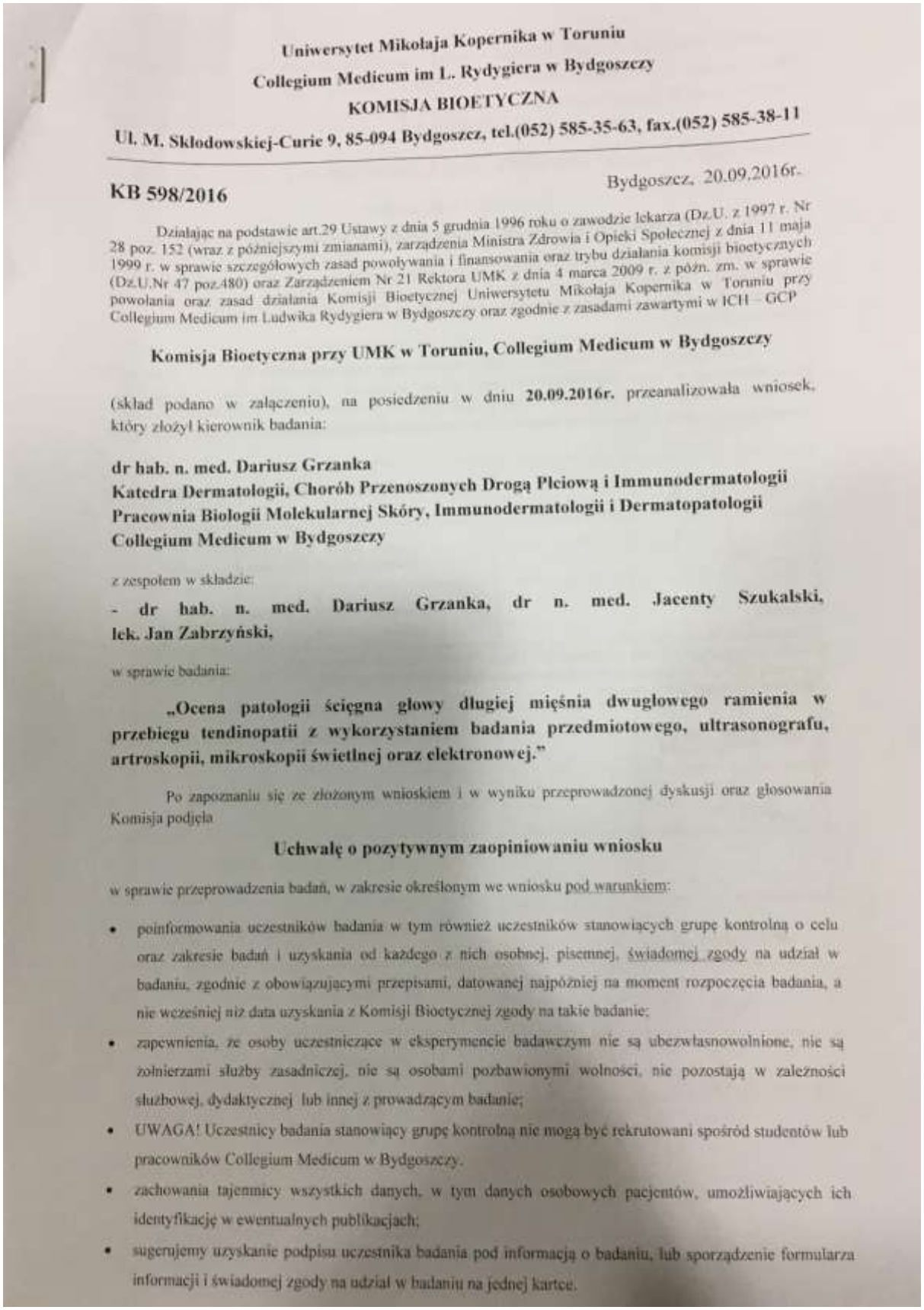
Informacja o przetwarzaniu danych osobowych

Na podstawie Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE, zwanego dalej „RODO", informujemy, że:

1. Administratorem Pana/Pani danych osobowych będzie Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu z siedzibą przy ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń (dalej: Uczelnia, ADO).
2. Pana/Pani dane osobowe w związku w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego będą przetwarzane:
   a. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. c) RODO – obowiązek prawny wynikający z przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020, poz. 85);
   b. na podstawie art. 6 ust. 1 lit. f) RODO – prawnie uzasadniony interes ADO:
      - do ustalenia, obrony lub dochodzenia roszczeń – przez okres do przedawnienia roszczeń, lub przez okres prowadzenia postępowania przez właściwe organy lub sądy w przypadku dochodzenia roszczeń,
      - na potrzeby wewnętrzne tworzenia zestawień, analiz i statystyk – przez okres obowiązywania umowy,
      - na potrzeby prowadzenia ewidencji korespondencji przychodzącej i wychodzącej – wieczyście,
      - na potrzeby marketingu produktów i usług ADO.
3. Z zastrzeżeniem przepisów powszechnie obowiązującego prawa przysługują Panu/Pani prawa, które zrealizujemy na wniosek o:
   a. Żądanie dostępu do danych osobowych oraz prawo ich sprostowania,
   b. Żądanie usunięcia lub ograniczenia przetwarzania.
4. Przysługuje Panu/Pani również prawo wniesienia sprzeciwu na przetwarzanie danych osobowych.
5. Podanie przez Pana/Panią danych osobowych jest niezbędne do wykonania celu wymienionego w pkt 2 lit. a i b., a brak ich podania uniemożliwi otwarcie i przeprowadzenie postępowania.
6. Przysługuje Panu/Pani prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych.
7. Pana/Pani dane osobowe mogą być udostępnione recenzentom lub organom administracji publicznej, sądom, komornikom w zakresie sytuacji przewidzianych w przepisach prawa.
8. Na dzień zbierania Pana/Pani danych osobowych nie planujemy przekazywać ich poza EOG (obejmujący Unię Europejską, Norwegię, Lichtenstein i Islandię), nie wykluczając tego w przyszłości, o czym zostanie Pan/Pani poinformowania ze stosownym wyprzedzeniem.
9. W stosunku do Pana/Pani nie będą prowadzone działania polegające na podejmowaniu decyzji w sposób zautomatyzowany, nie będą one również podlegały zautomatyzowanemu profilowaniu.
10. Jeżeli chce Pan/Pani skontaktować się z Uczelnią w sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych, w szczególności w związku z wniesieniem wniosku o realizację przysługujących praw prosimy o kontakt pod adresem e-mail: iod@umk.pl lub adresem korespondencyjnym: UMK w Toruniu, ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń, z dopiskiem „IOD", dostępny jest również kontakt telefoniczny: 56 611 27 42.

Kierownik
Katedry Farmakologii i Terapii
prof. dr hab. Michał Wiliński

13. Zgoda komisji bioetycznej



Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy
KOMISJA BIOETYCZNA
Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63, fax.(052) 585-38-11

KB 598/2016

Bydgoszcz, 20.09.2016r.

Działając na podstawie art.29 Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza (Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152 (wraz z późniejszymi zmianami), zarządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U.Nr 47 poz.480) oraz Zarządzeniem Nr 21 Rektora UMK z dnia 4 marca 2009 r. z późn. zm. w sprawie powołania oraz zasad działania Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy oraz zgodnie z zasadami zawartymi w ICH – GCP

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

(skład podano w załączeniu), na posiedzeniu w dniu **20.09.2016r.** przeanalizowała wniosek, który złożył kierownik badania:

dr hab. n. med. Dariusz Grzanka
Katedra Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii
Pracownia Biologii Molekularnej Skóry, Immunodermatologii i Dermatopatologii
Collegium Medicum w Bydgoszczy

z zespołem w składzie:

- dr hab. n. med. Dariusz Grzanka, dr n. med. Jacenty Szukalski, lek. Jan Zabrzyński,

w sprawie badania:

„Ocena patologii ścięgna głowy długiej mięśnia dwugłowego ramienia w przebiegu tendinopatii z wykorzystaniem badania przedmiotowego, ultrasonografu, artroskopii, mikroskopii świetlnej oraz elektronowej."

Po zapoznaniu się ze złożonym wnioskiem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania Komisja podjęła

Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu wniosku

w sprawie przeprowadzenia badań, w zakresie określonym we wniosku pod warunkiem:

- poinformowania uczestników badania w tym również uczestników stanowiących grupę kontrolną o celu oraz zakresie badań i uzyskania od każdego z nich osobnej, pisemnej, świadomej zgody na udział w badaniu, zgodnie z obowiązującymi przepisami, datowanej najpóźniej na moment rozpoczęcia badania, a nie wcześniej niż data uzyskania z Komisji Bioetycznej zgody na takie badanie;
- zapewnienia, że osoby uczestniczące w eksperymencie badawczym nie są ubezwłasnowolnione, nie są żołnierzami służby zasadniczej, nie są osobami pozbawionymi wolności, nie pozostają w zależności służbowej, dydaktycznej lub innej z prowadzącym badanie;
- UWAGA! Uczestnicy badania stanowiący grupę kontrolną nie mogą być rekrutowani spośród studentów lub pracowników Collegium Medicum w Bydgoszczy.
- zachowania tajemnicy wszystkich danych, w tym danych osobowych pacjentów, umożliwiających ich identyfikację w ewentualnych publikacjach;
- sugerujemy uzyskanie podpisu uczestnika badania pod informacją o badaniu, lub sporządzenie formularza informacji i świadomej zgody na udział w badaniu na jednej kartce.

Lista obecności

na posiedzeniu Komisji Bioetycznej

w dniu 20.09.2016 r.

Lp.	Imię i nazwisko	Funkcja	Podpis
1.	Prof. dr hab. med. Karol Śliwka	przewodniczący	
2.	Prof. dr hab. Adam Buciński	z-ca przewodniczącego	
3.	Prof. dr hab. med. Anna Balcar-Boroń		
4.	Prof. dr hab. med. Mieczysława Czerwionka-Szaflarska		
5.	Prof. dr hab. med. Marek Grabiec		
6.	Prof. dr hab. med. Zbigniew Włodarczyk		
7.	Dr hab. n. med. Katarzyna Pawlak-Osińska, prof. UMK		
8.	Ks. dr hab. Wojciech Szukalski, prof. UAM		
9.	Dr n. med. Radosława Staszak-Kowalska		
10.	Dr hab. n med. Maria Kłopocka		
11.	Mgr prawa Patrycja Brzezicka		
12.	Mgr prawa Joanna Poletek-Żygas		
13.	Mgr piel. Hanna Ziemniarska		