

AUTOREFERAT
OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Dr n. med. Agata Mulak

Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wrocław 2013

AUTOREFERAT

I. Imię i nazwisko

Agata Mulak

II. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- 1999 – Dyplom Lekarza – Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Lekarski, Dyplom nr 16090
- 2005 – Stopień Doktora Nauk Medycznych – Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego, Dyplom nr 4/2006/WLKP
Tytuł rozprawy doktorskiej: *Wpływ sumatryptanu, agonisty receptora 5-HT₁, na czynność zwieraczy odbytu w zespole jelita nadwrażliwego*
Promotor: prof. dr hab. Leszek Paradowski
- 2007 – Tytuł specjalisty w dziedzinie: choroby wewnętrzne – Państwowa Komisja Egzaminacyjna, Centrum Egzaminów Medycznych, Dyplom nr 0705/2007.2/379

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 1999 – 2001 Staż podyplomowy w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym nr 3 we Wrocławiu
- 2001 – 2005 Studia Doktoranckie, Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Akademia Medyczna we Wrocławiu
- 2004 – 2008 Asystent, Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Akademia Medyczna we Wrocławiu
- (2010 – 2011) Stanowisko *Postdoctoral Scholar*, University of California, Los Angeles
Center for Neurobiology of Stress & Women's Health
Division of Digestive Diseases, David Geffen School of Medicine at UCLA
- od 2008 Adiunkt, Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Akademia Medyczna we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, UMW)

IV. Osiągnięcie naukowe¹

IV.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Jednotematyczny cykl publikacji pt. „Mechanizmy czucia trzewnego w zakresie osi mózgowo-jelitowej” przedłożony jako rozprawa habilitacyjna

1. **Mulak A**, Kahane P, Hoffmann D, Minotti L, Bonaz B: *Brain mapping of digestive sensations elicited by cortical electrical stimulations*. Neurogastroenterol Motil. 2008; 20: 588-596. (IF: **3.480**)
2. **Mulak A**, Paradowski L: *Anorectal function and dyssynergic defecation in different subgroups of patients with irritable bowel syndrome*. Int J Colorect Dis. 2010; 25: 1011-1016. (IF: **2.645**)
3. **Mulak A**, Waszczuk E, Paradowski L: *Anorectal function and visceral hypersensitivity in celiac disease*. J Clin Gastroenterol. 2010; 44: e249-e252. (IF: **2.752**)
4. Larauche M*, **Mulak A***, Kim YS, Labus J, Million M, Taché Y: *Visceral analgesia induced by acute and repeated water avoidance stress in rats: sex difference in opioid involvement*. Neurogastroenterol Motil. 2012; 24: 1031-1040, e546-e547.
*Equal contribution (IF: **3.414**)

5. Larauche M, **Mulak A**, Yuan PQ, Kanauchi O, Taché Y: *Stress-induced visceral analgesia assessed non-invasively in rats is enhanced by prebiotic diet*. World J Gastroenterol. 2012; 18: 225-236. (IF: 2.471)
6. Larauche M, **Mulak A**, Taché Y: Stress and visceral pain: from animal models to clinical therapies. Exp Neurol. 2012; 233: 49-67. (IF: 4.699)

Łącznie:

IF: 19.461

Pkt MNiSW/KBN: 171

¹Oświadczenia współautorów określające ich indywidualny wkład w wymienionych publikacjach zawarto w załączniku 6.

IV.2 Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Przedstawiony cykl publikacji prezentuje wyniki prac badawczych dotyczących mechanizmów regulacji czucia trzewnego na różnych poziomach osi mózgowo-jelitowej u ludzi oraz w modelach doświadczalnych na zwierzętach. Interakcje w zakresie osi mózgowo-jelitowej stanowią przedmiot badań stosunkowo nowej, dynamicznie rozwijającej się dziedziny jaką jest neurogastroenterologia. Wokół tej dziedziny, z którą bezpośrednio wiąże się także tematyka zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego, skupiły się moje główne zainteresowania badawcze.

Dwukierunkowa komunikacja między ośrodkowym i jelitowym układem nerwowym na drodze mechanizmów neurologicznych, neuroimmunologicznych i neuroendokrynych ma miejsce zarówno w stanie zdrowia, jak i choroby. Źródłem zaburzeń procesów regulacyjnych w zakresie osi mózgowo-jelitowej, uznawanych za główny czynnik patogenetyczny chorób czynnościowych układu pokarmowego, takich jak zespół jelita nadwrażliwego (*irritable bowel syndrome*, IBS), mogą być zmiany w zakresie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) (*top down model*), zmiany obwodowe (*bottom up model*) lub oba mechanizmy równocześnie (Mulak and Bonaz, Med Sci Monit 2004). Oś mózgowo-jelitowa jest stymulowana przez różnorodne bodźce oddziałujące na OUN lub układ pokarmowy. Z jednej strony stres psychiczny i napięcie emocjonalne mogą zaburzać czynności przewodu pokarmowego, z drugiej zaś strony bodźce trzewne, związane na przykład z odpowiedzią immunologiczną na zakażenie układu pokarmowego, mogą wpływać na reakcję bólową na poziomie OUN, na nastrój i zachowanie. Poznanie neuroanatomii i neurofizjologii osi mózgowo-jelitowej warunkuje zrozumienie istoty tych interakcji.

W prezentowanym cyklu prac można wyróżnić trzy główne zagadnienia badawcze:

- A. Lokalizacja ośrodków korowych związanych z odczuwaniem bodźców trzewnych na podstawie wyników głębokiej stymulacji mózgu u chorych na epilepsję (praca nr 1)
- B. Ocena czucia trzewnego i czynności zwieraczy odbytu u pacjentów z zespołem jelita nadwrażliwego (IBS) (praca nr 2) oraz u chorych z celiakią (praca nr 3)
- C. Wpływ stresu psychologicznego na czucie trzewne w eksperymentalnych modelach IBS u szczurów (prace nr 4-6).

Ad. A

W okresie ostatnich trzech dekad, badania wykorzystujące nieinwazyjne techniki obrazowania mózgu, takie jak pozytonowa tomografia komputerowa lub czynnościowy rezonans magnetyczny, umożliwiły wgląd w aktywację OUN w odpowiedzi na stymulację trzewną, np. podczas testu rozdęcia balonu rektalnego. Wyniki obrazowych badań mózgu prowadzonych m.in. w ośrodku w Grenoble (Bonaz et al., Am J Gastroenterol 2002) dostarczyły nowych dowodów potwierdzających występowanie zaburzeń na poziomie OUN w procesach odbioru, analizy i odpowiedzi na bodźce czuciowe u chorych z czynnościowymi zaburzeniami układu pokarmowego. Na podstawie systematycznej analizy wyników badań obrazowych mózgowia stworzono swoistą „mapę” obszarów aktywowanych podczas stymulacji trzewnej, na której znalazły się struktury kory somato-sensorycznej, motorycznej, przedczołowej, oczodołowo-czołowej, przedniej części zakrętu obręczy, kory wyspy, a także wzgórze i obszarów śródmózgowia.

W przedstawionym badaniu wykorzystano możliwość uzupełnienia wglądu w dwukierunkowe interakcje osi mózgowo-jelitowej poprzez analizę efektów bezpośredniej stymulacji elektrycznej ośrodków korowych związanych z odczuwaniem bodźców trzewnych. Uzyskanie stypendium Rządu Francuskiego w 2005 r. umożliwiło mi udział w projekcie badawczym: *Brain mapping of digestive sensations elicited by cortical electrical stimulations* pod opieką prof. Bruna Bonaza we współpracy z Kliniką Neurologii i Neurochirurgii Szpitala Uniwersyteckiego w Grenoble. Ośrodki te dysponują jedną z największych na świecie baz danych pacjentów z epilepsją poddawanych głębokiej stymulacji mózgu.

Głęboka stymulacja mózgu (*deep brain stimulation*, DBS) jest rutynową procedurą stosowaną u chorych z padaczką oporną na leczenie farmakologiczne w trakcie kwalifikacji do leczenia operacyjnego. DBS umożliwia dokładną lokalizację ogniska padaczkowego w celu jego resekcji. Stymulacje elektryczne mózgu wywołują szereg efektów, w tym także odczucia i objawy ze strony przewodu pokarmowego, które mogą być pomocne w mapowaniu kory mózgowej. Głównym celem badania było stworzenie mapy ośrodków korowych, których stymulacja elektryczna związana jest z odczuwaniem bodźców ze strony układu pokarmowego. Realizacja tego celu wiązała się z odpowiedzią na 3 podstawowe pytania: (1) Jaki rodzaj odczuć związanych z przewodem pokarmowym wywołuje elektryczna stymulacja mózgu u ludzi? (2) Które obszary kory mózgowej są szczególnie wrażliwe na stymulację elektryczną wywołującą tego typu objawy? (3) Czy istnieje związek pomiędzy rodzajem wywoływanych odczuć a lokalizacją stymulowanych obszarów mózgu?

Analizę retrospektywną danych przeprowadzono na podstawie wyników procedur DBS wykonanych u 339 chorych z padaczką oporną na leczenie farmakologiczne, hospitalizowanych w Uniwersyteckim Szpitalu w Grenoble w okresie 16 lat, od stycznia 1990 do grudnia 2005 r. Ocenę przedoperacyjną wykonywano przy użyciu śródmózgowych elektrod implantowanych na stałe podczas zabiegu stereotaktycznego oraz systemu monitorującego audio-video-EEG. Implantację elektrod przeprowadzano przy użyciu sterowanego komputerowo robota. U każdego

pacjenta wszczepiono od 5 do 16 elektrod w różnych obszarach kory mózgowej, w zależności od podejrzewanej lokalizacji ogniska padaczkowego. Przedoperacyjną topografię ognisk epileptogennych, jak i położenie elektrod przedstawiono na schemacie stereotaktycznym na podstawie obrazów uzyskanych w badaniu rezonansu magnetycznego mózgu.

Analiza lokalizacji, charakteru oraz nasilenia wywołanych objawów i wrażeń związanych z odczuwaniem bodźców ze strony przewodu pokarmowego opierała się na szczegółowym wywiadzie zarejestrowanym podczas trwania procedury DBS. Objawy, które odnoszono do odczuć ze strony przewodu pokarmowego wystąpiły podczas DBS w 723 różnych lokalizacjach anatomicznych u 172 badanych (51%). W oparciu o restrykcyjne kryteria wykluczenia w ostatecznej analizie uwzględniono 174 stymulacje związane z odczuwaniem bodźców ze strony przewodu pokarmowego (24%), które wystąpiły u 87 pacjentów (26%).

Większość zgłaszanych objawów dotyczących przewodu pokarmowego zlokalizowana była w nadbrzuszu i śródbrzuszu, okolicy zamostkowej, gardłowej oraz w jamie ustnej. Zarejestrowane doznania w zakresie nadbrzusza i śródbrzusza miały charakter bólu, dyskomfortu, ściskania, uczucia ciepła lub pieczenia. Objawy zamostkowe pacjenci charakteryzowali jako uczucie zgagi, nudności, cofania treści pokarmowej, ściskania lub nawet bólu w klatce piersiowej, wiążącego się prawdopodobnie ze skurczami przełyku. W analizie uwzględniono także różnorodne odczucia w okolicy ustno-gardłowej takie jak ściskanie, uczucie ciepła, a także zaburzenia smaku. Odczucie silnego bólu w nadbrzuszu i okolicy zamostkowej wystąpiło w przypadku zaledwie kilku stymulacji, wyłącznie u kobiet i głównie podczas stymulacji w zakresie lewej półkuli. Podczas 50 stymulacji (29%) u chorych wystąpiły różnorodne objawy towarzyszące ze strony układu autonomicznego, takie jak tachykardia, zaczerwienienie skóry twarzy, drżenie, czy niepokój.

Na podstawie przeprowadzonej analizy udokumentowano rozległą dystrybucję punktów w zakresie płatów korowych prawej i lewej półkuli, których stymulacja wywołała objawy ze strony przewodu pokarmowego. Największa liczba powyższych miejsc stymulacji zlokalizowana była w płacie skroniowym, czołowym, ciemieniowym, korze zakrętu obręczy oraz korze wyspy. Najwyraźniejsza korelacja anatomo-kliniczna dotyczyła odczuć z okolicy zamostkowej i ustno-gardłowej. Około 70% objawów zamostkowych wywołano podczas stymulacji części wieczkowej zakrętu przed- i zaśrodkowego oraz kory wyspy. Około 40% wrażeń zamostkowych związane było ze stymulacją przedniej części zakrętu obręczy. Biegun skroniowy (pole Brodmanna 38), hipokamp, ciało migdałowate oraz przednia część zakrętu obręczy były typowymi lokalizacjami związanymi z objawami w okolicy nadbrzusza. Obserwacja ta zgodna jest z danymi klinicznymi, potwierdzającymi wyraźny związek napadów w przebiegu padaczki skroniowej z objawami brzuszными. Wskazuje się nawet, że obecność aury brzusznej może być pomocna we wstępnej lokalizacji ogniska padaczkowego w zakresie płata skroniowego.

W pracy wykazaliśmy, że elektryczna stymulacja kory mózgowej związana jest z indukcją różnorodnych odczuć ze strony przewodu pokarmowego oraz towarzyszących objawów ze strony

układu autonomicznego, co wskazuje na istnienie bogato rozwiniętej sieci ośrodków korowych uczestniczących w procesach związanych z odczuwaniem bodźców trzewnych. Szczególna rola struktur limbicznych i paralimbicznych w tej sieci, takich jak biegun skroniowy, hipokamp, ciało migdałowate, kora wyspy i przednia część zakrętu obręczy potwierdza udział czynników emocjonalnych oraz układu autonomicznego w modulacji odpowiedzi na bodźce trzewne. Przeprowadzona analiza umożliwiła dodatkowy wgląd w czynnościową organizację ośrodków korowych związanych z funkcjami autonomicznymi. Uzyskane obserwacje są w dużej mierze zgodne z wynikami badań obrazowych mózgu u chorych z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego podczas stymulacji trzewnej. Modulacja aktywności wybranych ośrodków korowych przy zastosowaniu centralnie działających leków lub metod psychologicznych może mieć interesujące implikacje terapeutyczne u osób z zaburzeniami czucia trzewnego.

Komunikat z przedstawionych wyników został zakwalifikowany do prezentacji ustnej na sesji neurogastroenterologicznej podczas *Digestive Disease Week* (Waszyngton 2007) oraz *14th United European Gastroenterology Week* (Berlin 2006), gdzie abstrakt został wyróżniony "*Best Abstract*" *Travel Grant Award*.

Ad. B

Celem drugiej pracy zawartej w cyklu była charakterystyka funkcji anorektalnych z uwzględnieniem progów czucia trzewnego w różnych podgrupach chorych z IBS w zależności od dominującego rytmu wypróżnień. Nadwrażliwość trzewną uważaną za jeden z głównych czynników patogenetycznych czynnościowych zaburzeń układu pokarmowego stwierdza się u około 50-70% chorych z IBS. Zespół ten ze względu na wysoką częstość występowania sięgającą do 20% populacji, trudności diagnostyczne i terapeutyczne oraz skutki ekonomiczne pretenduje do rangi choroby społecznej. Chorzy z IBS poza dolegliwościami bólowymi jamy brzusznej i zmiennym rytmem wypróżnień często zgłaszają objawy ze strony dystalnego odcinka przewodu pokarmowego w postaci konieczności silnego parcia w celu wypróżnienia, nagłej potrzeby oddania stolca lub uczucia niepełnego wypróżnienia. W związku z częstym występowaniem tych dolegliwości zostały one uwzględnione w kryteriach diagnostycznych Rzymskich III, jako dodatkowe objawy potwierdzające rozpoznanie. Objawy te mogą sugerować zaburzenia funkcji anorektalnych i w niektórych przypadkach wymagają przeprowadzenia dodatkowych badań w celu wykluczenia organicznej przyczyny dolegliwości. Trwa polemika czy ocena nadwrażliwości trzewnej w zakresie odbytnicy może być przydatna w diagnostyce IBS.

W badaniu uczestniczyło 66 chorych z IBS zakwalifikowanych zgodnie z III Kryteriami Rzymskimi oraz 20 osób w grupie kontrolnej. Chorych z IBS podzielono na trzy podgrupy – 27% stanowili chorzy z zaparciową postacią IBS (IBS-C), 27% chorzy z postacią biegunkową choroby (IBS-D), a 46% chorzy z mieszanym rytmem wypróżnień (IBS-M). Organiczna przyczyna dolegliwości została wykluczona na podstawie szczegółowego badania podmiotowego i

fizykalnego oraz prawidłowych wyników podstawowych badań laboratoryjnych i prawidłowego wyniku kolonoskopii w okresie ostatnich 5 lat. Dolegliwości brzuszne i objawy anorektalne oceniane były na podstawie ankiety. Badanie manometryczne z oceną progów czucia trzewnego przeprowadzono w Pracowni Motoryki Przewodu Pokarmowego w Klinice Gastroenterologii i Hepatologii AM we Wrocławiu przy użyciu czterokanałowej przepływowej sondy anorektalnej z umieszczonym na jej szczycie lateksowym balonem. Sonda połączona była z przetwornikiem ciśnienia oraz układem rejestracji i analizy danych. Oceniano następujące parametry: maksymalne ciśnienie w strefie zwieraczy odbytu w stanie spoczynku, podczas skurczu i kaszlu, progową objętość wywołującą odbytniczo-odbytowy odruch hamowania (*recto-anal inhibitory reflex*, RAIR) oraz progi odbytniczego czucia trzewnego, tj. próg czucia, próg parcia i próg bólu. Badano także zmiany ciśnienia w kanale odbytu podczas próby parcia. Progi czucia trzewnego oraz RAIR oceniano stosując technikę fazowego rozciągania balonu przymocowanego do końca sondy. Wszystkie badania manometryczne wykonywałam osobiście co zapewniało powtarzalność procedury.

Analizując parametry wolumetryczne wykazano, że progowa objętość wywołująca anorektalny odruch hamowania (RAIR) nie jest cechą różnicującą poszczególne podgrupy chorych z IBS oraz grupę kontrolną. Porównując próg pierwszego odczucia i próg parcia nie stwierdzono istotnych różnic między podgrupami chorych i grupą kontrolną. Nie stwierdzono także korelacji między odbytniczym progiem czucia a nasileniem dolegliwości bólowych jamy brzusznej. Wykazano natomiast niższy próg bólu trzewnego (≤ 100 ml) u pacjentów z biegunkową i mieszaną postacią IBS (odpowiednio u 39% i 30% chorych). Nie wykazano korelacji pomiędzy wartościami anorektalnych parametrów manometrycznych charakteryzujących czynność zwieraczy odbytu a dominującym rytmem wypróżnień u chorych z IBS. Stwierdzono natomiast, że znamienne częściej we wszystkich podgrupach chorych, w porównaniu do grupy kontrolnej, występowały objawy dyssynergii dna miednicy (*pelvic floor dyssynergia*, PFD) wskazujące na uogólnione zaburzenia kurczliwości mięśni dna miednicy. Charakterystyczny dla PFD brak relaksacji lub paradoksalny skurcz zwieracza zewnętrznego odbytu podczas próby parcia stwierdzono u 33% chorych z IBS-C, 39% chorych z IBS-D oraz 47% chorych z IBS-M. Podczas gdy konieczność silnego parcia w celu wypróżnienia najczęściej występowała u chorych z C-IBS, uczucie niepełnego wypróżnienia mogące sugerować nadwrażliwość trzewną zgłaszali pacjenci we wszystkich 3 podgrupach. Objawy te często nakładają się z symptomami PFD. Nadwrażliwość trzewna w zakresie odbytnicy powszechnie obserwowana u pacjentów z IBS, nie występuje jednak u wszystkich chorych, co ogranicza jej znaczenie w diagnostyce różnicowej tego schorzenia.

Anorektalne zaburzenia sensoryczno-motoryczne występujące u chorych z IBS za pośrednictwem odruchów odbytniczo-jelitowych mogą wpływać na funkcje jelit i uczestniczyć w patogenezie ich zaburzeń czynnościowych. W niektórych przypadkach może to uzasadniać

stosowanie terapii *biofeedback* w celu przywrócenia prawidłowych funkcji anorektalnych u pacjentów z IBS.

Doświadczenia i wnioski z przeprowadzonych badań u chorych z IBS oraz własne obserwacje kliniczne skłoniły do podjęcia kolejnych prac badawczych, których celem była ocena wrażliwości trzewnej i funkcji anorektalnych u pacjentów z celiakią wywołaną nietolerancją glutenu (praca nr 3). Zaburzenia motoryki przewodu pokarmowego i nawracające dolegliwości bólowe jamy brzusznej w przebiegu choroby trzewnej często imitują objawy należące do kryteriów diagnostycznych IBS mogąc prowadzić to niewłaściwego rozpoznania. Z tego powodu u pacjentów z podejrzeniem IBS zalecane są rutynowe testy przesiewowe w kierunku celiakii. Podczas dokładnego wywiadu chorzy z celiakią często zgłaszają typowe dla IBS objawy anorektalne, takie jak nagłe parcie na stolec lub uczucie niepełnego wypróżnienia. Podobne dolegliwości u pacjentów z IBS wiążą się z zaburzeniami motoryki przewodu pokarmowego oraz z nadwrażliwością trzewną. Jednocześnie wykazano związek nietolerancji glutenu z wieloma objawami pozajelitowymi, a w szczególności z szerokim spektrum objawów neurologicznych, takich jak ataksja mózdkowa, padaczka, migrena, zaburzenia układu autonomicznego czy obwodowa polineuropatia. Jest wysoce prawdopodobne, że nietolerancja glutenu może także bezpośrednio wpływać na jelitowy układ nerwowy powodując zaburzenia funkcji sensoryczno-motorycznych przewodu pokarmowego. W dotychczasowej literaturze brak było doniesień dotyczących funkcji anorektalnych oraz wrażliwości trzewnej w zakresie odbytnicy w chorobie trzewnej.

W badaniu uczestniczyło 25 chorych z celiakią oraz 20 osób w grupie kontrolnej. Również w tej pracy badania manometrii anorektalnej z testem rozdzęcia balonu rektalnego przeprowadziłam osobiście według opisanego powyżej protokołu. U badanych chorych stwierdzono częste występowanie objawów anorektalnych. Nagłe parcie na stolec zgłosiło 13 chorych (52%), a konieczność silnego parcia w celu wypróżnienia 7 pacjentów (28%). Najczęstszą dolegliwością było uczucie niepełnego wypróżnienia występujące u 84% badanych. U pacjentów z chorobą trzewną stwierdzono obniżony próg czucia w zakresie odbytnicy. Cechy nadwrażliwości trzewnej (próg bólu ≤ 100 ml) stwierdzono u 36% chorych i u ani jednej osoby z grupy kontrolnej. U pacjentów z chorobą trzewną nie stwierdzono korelacji pomiędzy dolegliwościami bólowymi jamy brzusznej a funkcjami anorektalnymi. Ponadto, chorzy z celiakią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej charakteryzowali się znacząco wyższymi wartościami maksymalnego ciśnienia spoczynkowego w strefie zwieraczy odbytu. Parametr ten charakteryzuje głównie czynność wewnętrznego zwieracza odbytu, pozostającego pod kontrolą układu autonomicznego. Ponadto mniejsza objętość wywołująca RAIR u chorych z celiakią w porównaniu do grupy kontrolnej, wskazuje na wzmożoną reaktywność wewnętrznego zwieracza odbytu.

Wyniki przedstawionych badań dostarczyły nowych dowodów na powszechne występowanie anorektalnych zaburzeń sensoryczno-motorycznych w przebiegu celiakii.

Przeprowadzone obserwacje wskazują na znaczne nakładanie się nie tylko objawów jelitowych, ale także anorektalnych u chorych z celiakią i IBS. Uczucie niepełnego wypróżnienia może wiązać się z nadwrażliwością trzewną uważaną za czynnik patogenetyczny IBS. Nadwrażliwość trzewna, najintensywniej badana u pacjentów ze schorzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego, może wynikać z zaburzeń na każdym poziomie osi mózgowo-jelitowej, z uwzględnieniem jelitowego, autonomicznego i ośrodkowego układu nerwowego. Wszystkie te mechanizmy mogą również odgrywać rolę w patogenezie zaburzeń anorektalnych i nadwrażliwości trzewnej u chorych z celiakią. Na szczególne znaczenie interakcji neuro-immunologicznych w zakresie jelitowego układu nerwowego wskazuje uogólniona aktywacja limfocytów T zarówno w błonie śluzowej jelita cienkiego, jak i w odbytnicy, obserwowana w przebiegu nietolerancji glutenu (Cellier et al., *Am J Gastroenterol* 1998). Długoterminowe badania wpływu diety bezglutenowej na sensoryczno-motoryczne funkcje przewodu pokarmowego mogą umożliwić lepsze poznanie mechanizmów związanych z powikłaniami neurologicznymi w przebiegu celiakii oraz zmianami w jelitowym układzie nerwowym.

Wyniki tych badań były pierwszym w literaturze doniesieniem na temat nadwrażliwości trzewnej i funkcji anorektalnych w celiakii. Pionierski charakter tych badań został doceniony przez przyznanie nagrody „*Best Abstract*” *Travel Grant Award* podczas 15th *United European Gastroenterology Week* (Paryżu 2007) oraz nagrody za najlepszą pracę oryginalną podczas XIII Kongresu Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego (Gdańsk 2008). Ponadto prace nr 2 i 3 zostały wyróżnione nagrodą indywidualną I stopnia JM Rektora UMW przyznaną w 2012 r.

Ad. C

Kolejne dwie prace przedstawiają wyniki badań eksperymentalnych dotyczących zaburzeń czucia trzewnego w warunkach stresu psychologicznego na modelu zwierzęcym IBS u szczurów. W badaniach tych uczestniczyłam podczas pobytu na podoktorskim stypendium naukowym w jednym z wiodących na świecie ośrodków zajmującym się tą problematyką – *Center for Neurobiology of Stress* na Uniwersytecie Kalifornijskim w Los Angeles (UCLA).

Stres oraz wzmożona reaktywność na czynniki stresowe odgrywają istotną rolę w patofizjologii zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego. Obserwacje kliniczne potwierdzają, że u 50-80% chorych z IBS istnieje wyraźna zależność między stresem a wystąpieniem oraz nasileniem objawów IBS. Wyniki badań eksperymentalnych potwierdzają także modulacyjny wpływ stresu na wrażliwość trzewną. Ponadto, liczne dane wskazują na wzmożoną reaktywność na bodźce stresowe u płci żeńskiej, a wyniki badań epidemiologicznych potwierdzają również częstsze występowanie IBS u kobiet. Pomimo tych spostrzeżeń, większość dotychczasowych badań doświadczalnych nad wpływem przewlekłego stresu psychologicznego na zmiany wrażliwości trzewnej przeprowadzono u osobników płci męskiej. Jednym z podstawowych modeli stresu psychologicznego u gryzoni jest ekspozycja na stres związany z unikaniem wody (*water avoidance stress, WAS*). W modelu tym zwierzę stojące na małej

platformie stara się unikać kontaktu z otaczającą go wodą. Czas ekspozycji wynosi 60 min. Model ten pierwotnie powstał w celu oceny indukowanych stresem zaburzeń motoryki przewodu pokarmowego zależnych od kortykoliberyny (*corticotropin-releasing factor*, CRF) (Bonaz et al., Brain Res 1994). Następnie WAS znalazł szerokie zastosowanie w badaniach nad modulacją czucia trzewnego w doświadczalnych modelach IBS u gryzoni.

W omawianych badaniach do oceny bólu trzewnego w odpowiedzi na rozdęcie odbytnicy wykorzystano nowoczesną, nieinwazyjną metodę manometryczną opisaną i zweryfikowaną w laboratorium UCLA (Larauche et al., Stress 2010). Badania bólu trzewnego w modelach doświadczalnych wykorzystują zjawisko rozdęcia jelita grubego podczas insuflacji balonu co wywołuje reakcję bólową związaną z odruchowymi skurczami mięśni brzusznych. Siła skurczu mięśni jest proporcjonalna do nasilenia bólu trzewnego. Klasyczna metoda oceny wrażliwości trzewnej u myszy i szczurów opiera się na analizie siły skurczów mięśni na podstawie zapisu elektromiograficznego uzyskanego z elektrod wszczepionych do mięśni brzucha. Wykazano jednak, że szereg czynników związanych z metodą klasyczną, takich jak stres będący konsekwencją implantacji elektrod, konieczność odizolowania zwierząt po zabiegu oraz antybiotykoterapia, istotnie wpływają na uzyskane wyniki, maskując m.in. zjawisko trzewnej analgezji. Zastosowanie nowej metody manometrycznej do oceny odpowiedzi trzewno-motorycznej umożliwia eliminację tych czynników. Nowa metoda nie polega na bezpośrednim pomiarze siły skurczów mięśni brzusznych, lecz na rejestracji zmian ciśnienia wewnątrz światła jelita grubego wywołanych tymi skurczami. Jednocześnie specjalny program do analizy danych umożliwia usunięcie z zapisu manometrycznego wartości związanych z aktywnością motoryczną jelita. W metodzie tej wykorzystuje się specjalną sondę z czujnikiem ciśnienia zaopatrzoną w balon, która połączona jest z przetwornikiem ciśnienia oraz układem rejestracji i analizy danych. Barostat umożliwia kontrolę ciśnienia podczas insuflacji balonu. Analogicznie do badań klinicznych stosowano technikę stopniowego fazowego rozciągania balonu.

Projekt badawczy obejmował realizację następujących celów: (1) ocenę wpływu jednorazowej bądź powtarzanej ekspozycji na WAS na modulację wrażliwości trzewnej przy użyciu nieinwazyjnej metody manometrycznej, (2) określenie potencjalnych różnic zależnych od płci w modulacji wrażliwości trzewnej pod wpływem stresu psychologicznego, (3) określenie mechanizmów modulacji wrażliwości trzewnej pod wpływem stresu ze szczególnym uwzględnieniem roli opioidów. Po zarejestrowaniu wartości wyjściowych odpowiedzi trzewno-motorycznej (przed stresem) zwierzęta poddawane były jednorazowemu lub powtarzanemu stresowi psychologicznemu w postaci WAS (odpowiednio 1 sesja 60 min lub 1 sesja 60 min przez 4 kolejne dni). Pomiary czucia trzewnego wykonywano bezpośrednio po ekspozycji na stres oraz po upływie 24 godzin. W celu określenia roli opioidów eksperyment przeprowadzono w odrębnej grupie zwierząt podając podskórną, bezpośrednio przed ekspozycją na stres, nalokson będący antagonistą receptorów opioidowych.

Wykazaliśmy, że stres psychologiczny w postaci jednorazowej lub powtarzanej sesji WAS znacząco zmniejsza wrażliwość trzewną w odpowiedzi na rozdęcie jelita grubego zarówno u samców, jak i u samic. Jednocześnie stwierdziliśmy, że u samic zjawisko analgezji trzewnej jest silniej wyrażone i w przeciwieństwie do samców jest ono zależne od endogennych opioidów (nie występuje po podaniu naloksonu). Ponadto u samic zaobserwowano zjawisko opóźnionej nadwrażliwości trzewnej 24 godz. po ekspozycji na stres, także zależne od endogennych opioidów.

Indukowana stresem analgezja i różnice zależne od płci w mechanizmach tego zjawiska zostały dosyć dokładnie poznane w przypadku badań nad bólem somatycznym. Wyniki naszego badania są natomiast pierwszym doniesieniem potwierdzającym istnienie różnic zależnych od płci w indukowanej stresem modulacji czucia trzewnego. U płci żeńskiej szczególną rolę w tych mechanizmach pełnią endogenne opioidy, które mogą wywierać dwoisty efekt, uczestnicząc zarówno w zjawisku natychmiastowej analgezji trzewnej, jak i opóźnionej nadwrażliwości trzewnej. Wgląd w mechanizmy trzewnej analgezji w dużej mierze stał się możliwy dzięki wprowadzeniu nowej metodyki badań czucia trzewnego u gryzoni z zastosowaniem nieinwazyjnej metody manometrycznej.

Uzyskane wyniki potwierdzają przydatność zastosowanego modelu doświadczalnego do oceny aktywowanych pod wpływem stresu endogennych mechanizmów analgetycznych wpływających na wrażliwość trzewną. Przedstawione obserwacje otwierają nowe pole badawcze dotyczące dwoistego charakteru działania endogennych opioidów w kontekście zależnych od stresu i płci mechanizmów modulacji bólu trzewnego.

Biorąc pod uwagę fakt, iż zaburzenia w zależnej od stresu modulacji czucia trzewnego są aktualnie postrzegane jako istotny element w patofizjologii czynnościowych schorzeń przewodu pokarmowego, wyniki te mają także bezpośrednie implikacje kliniczne. Deficyt w fizjologicznych procesach hamowania bólu trzewnego, zwłaszcza u płci żeńskiej, może wiązać się z rozwojem przewlekłych zespołów bólowych takich jak IBS lub fibromialgia oraz tłumaczyć częstsze występowanie tych zaburzeń u kobiet. Mechanizmy, które w warunkach fizjologicznych zmniejszają wrażliwość trzewną, w warunkach przewlekłego stresu mogą odpowiadać za paradoksalną indukcję nadwrażliwości trzewnej. Lepsze poznanie tych mechanizmów, ze szczególnym uwzględnieniem różnic między płciami, powinno umożliwić opracowanie skuteczniejszych metod leczenia. Receptory opioidowe są wciąż jednym z obiecujących celów terapeutycznych w przewlekłych zespołach bólowych.

Celem drugiej pracy eksperymentalnej (praca nr 5) była ocena wpływu nowego prebiotyku z błonnika ryżowego (*enzyme-treated rice fiber*, ERF) na modulację czucia trzewnego w modelu zwierzęcym IBS. W badaniu tym wykorzystano opisany powyżej model stresu psychologicznego w postaci WAS oraz nieinwazyjną manometryczną metodę oceny czucia bólu trzewnego u szczurów.

Wyniki aktualnych badań wskazują na szczególną rolę zaburzeń mikroflory jelitowej, upośledzenia bariery jelitowej i patologicznej aktywacji układu immunologicznego z przewlekłym stanem zapalnym błony śluzowej jelita w patogenezie IBS. Złożone mechanizmy interakcji pomiędzy mikroflorą jelitową a organizmem gospodarza warunkują prawidłową aktywność motoryczną, sensoryczną, wydzielniczą i immunologiczną jelit oraz wpływają na regulację osi mózgowo-jelitowej. Znaczenie roli mikroflory jelitowej w regulacji funkcji przewodu pokarmowego odzwierciedla rozszerzenie pojęcia osi mózgowo-jelitowej do terminu osi mózgowo-jelitowo-bakteryjnej (Rhee et al., Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2009). Dysbioza jelitowa, która może być wynikiem zakażenia układu pokarmowego, zmiany diety lub antybiotykoterapii, wykazuje związek z nadwrażliwością trzewną, co potwierdzono u części chorych z IBS. Probiotyki, będące wyselekcjowanymi szczepami kultur bakteryjnych lub drożdży mają korzystny wpływ na utrzymanie równowagi mikroflory fizjologicznej oraz wykazują właściwości immunomodulujące, które mogą wpływać na wrażliwość trzewną. Korzystne działanie probiotyków można wzmocnić uzupełniając jednocześnie dietę o prebiotyki. Prebiotyki to nietrawione, odporne na działanie enzymów trawiennych w przewodzie pokarmowym składniki żywności, które stanowią substrat pokarmowy dla probiotyków, takich jak *Lactobacilli* czy *Bifidobacteria*, selektywnie stymulując ich wzrost lub aktywność. Wyniki dotychczasowych badań potwierdzają skuteczność antybiotyków i probiotyków w łagodzeniu objawów IBS. Modułacja mikroflory jelitowej przy użyciu prebiotyków może stwarzać dodatkowe możliwości terapeutyczne w zaburzeniach czynnościowych jelit. Ponadto, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, w szczególności maślane, powstające w wyniku fermentacji bakteryjnej błonnika w jelitach, nie tylko modulują funkcje sensoryczno-motoryczne jelit, ale wykazują także silny efekt troficzny wobec nabłonka jelitowego i właściwości przeciwzapalne, co może mieć implikacje w leczeniu chorób zapalnych jelit.

W omawianym badaniu szczury otrzymywały dietę wzbogaconą prebiotykiem (ERF) lub dietę standardową przez 5 tygodni. Następnie część szczurów poddawano ekspozycji na stres psychologiczny (WAS 60 min dziennie przez 10 kolejnych dni). Odpowiednie grupy kontrolne stanowiły szczury otrzymujące tę samą dietę, lecz nie poddawane stresowi. Badanie czucia trzewnego przeprowadzono przed pierwszą sesją stresu, a następnie w 1., 10. i 11. dniu od rozpoczęcia ekspozycji na WAS. Dodatkowo po zakończeniu badania pobrano wycinki z dystalnej części okrężnicy do badania histopatologicznego oraz treść jelitową z kątnicy w celu oceny zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych.

Wyniki badania potwierdziły obserwacje z wcześniejszej pracy wykorzystującej nieinwazyjną metodę manometryczną oceny wrażliwości trzewnej, że zarówno ostry, jak i przewlekły stres psychologiczny w postaci WAS powoduje zmniejszenie odczuwania bodźców trzewnych w teście rozdęcia jelita. Zjawisko analgezji trzewnej stwierdzono u 87% badanych zwierząt. Dodatkowo wykazano, że przewlekłe podawanie prebiotyku istotnie wzmaga analgetyczny efekt stresu i jednocześnie hamuje powstawanie opóźnionej nadwrażliwości trzewnej 24 godz. po zakończeniu ekspozycji na stres, którą stwierdzono u 14-33% zwierząt

karmionych standardową dietą. Nie wykazano natomiast zmian w odpowiedzi trzewno-motorycznej podczas testu rozdęcia jelita u szczurów nie poddawanych stresowi, niezależnie od stosowanej diety.

W badaniu histopatologicznym wycinków z dystalnej części okrężnicy, w grupie osobników otrzymujących standardową dietę i poddawanych powtarzanym sesjom WAS stwierdzono łagodne zmiany zapalne. Obserwacje te odpowiadają wcześniejszym doniesieniom dotyczącym aktywacji układu immunologicznego błony śluzowej jelita grubego u chorych z IBS. Zmian takich nie stwierdzono u szczurów przyjmujących prebiotyki. Ponadto wykazano korelację między obniżonym stężeniem izomaślanu w treści jelitowej z kątnicy a zmniejszoną wrażliwością trzewną u zwierząt karmionych dietą wzbogaconą prebiotykiem.

Podsumowując, w badaniu tym po raz pierwszy wykazano, że przewlekłe stosowanie prebiotyku z błonnika ryżowego wzmacnia zjawisko analgezji trzewnej indukowanej stresem psychologicznym, co wskazuje na potencjał terapeutyczny tego prebiotyku u chorych z IBS.

Jednotematyczny cykl sześciu publikacji zamyka obszerna praca przeglądowa (369 pozycji piśmiennictwa) przygotowana na zamówienie Redakcji *Experimental Neurology*, w której przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący mechanizmów modulacji czucia trzewnego pod wpływem stresu, podsumowując wyniki dotychczasowych badań, w tym także własnych, z uwzględnieniem ich implikacji klinicznych.

W pracy szczegółowo omówiono mediatory uczestniczące w odpowiedzi organizmu na stres i ból trzewny, ze szczególnym uwzględnieniem kortykoliberyny (CRF), która za pośrednictwem receptorów CRF₁ odgrywa pierwszoplanową rolę w indukcji zależnej od stresu nadwrażliwości trzewnej, a jednocześnie poprzez aktywację receptorów CRF₂ może uczestniczyć w zjawisku analgezji trzewnej. Omówiono drogi czucia trzewnego oraz modele doświadczalne wykorzystywane w badaniach wrażliwości trzewnej z zastosowaniem szeregu ekstero- i interoreceptywnych bodźców stresowych. Przedstawiono także mechanizmy uczestniczące w zależnej od stresu modulacji bólu trzewnego wykazując, że nadwrażliwość trzewna może być wynikiem zaburzonego powstawania, przekazywania i analizy czuciowych bodźców trzewnych oraz nieprawidłowej odpowiedzi na te bodźce na każdym poziomie osi mózgowo-jelitowej. Omawiając eksperymentalne modele stresu w badaniach wrażliwości trzewnej wskazano także na istotne znaczenie innych czynników wpływających na wyniki, takich jak płeć, wiek, czy sam protokół badania. W ostatniej części pracy przedstawiono wykorzystywane w IBS opcje terapeutyczne, także nefarmakologiczne, ukierunkowane na redukcję stresu z uwzględnieniem działających ośrodkowo leków przeciwłękowych i przeciwdepresyjnych oraz szerokiego spektrum metod leczenia psychologicznego.

Podsumowanie i wnioski

Prace stanowiące rozprawę habilitacyjną, poświęcone trzem przedstawionym powyżej zagadnieniom badawczym, wnoszą wkład w poznanie neuroanatomii i neurofizjologii osi mózgowo-jelitowej. Wyniki uzyskane na podstawie przeprowadzonych badań prowadzą do następujących wniosków:

Ad. A

Topografia bogato rozwiniętej sieci ośrodków korowych uczestniczących w procesach związanych z odczuwaniem bodźców trzewnych określona na podstawie wyników głębokiej stymulacji mózgu u chorych z epilepsją wskazuje na szczególną rolę struktur limbicznych i paralimbicznych, takich jak biegun skroniowy, hipokamp, ciało migdałowate, kora wyspy oraz przednia część zakrętu obręczy. Potwierdza to rolę czynników emocjonalnych i układu autonomicznego w modulacji odpowiedzi na bodźce trzewne. Modulacja aktywności wybranych ośrodków korowych przy zastosowaniu centralnie działających leków lub metod psychologicznych może mieć implikacje terapeutyczne u chorych z zaburzeniami czucia trzewnego.

Ad. B

Charakterystyka anorektalnych zaburzeń sensoryczno-motorycznych w różnych postaciach IBS wskazuje na nadwrażliwość trzewną w zakresie odbytnicy, zwłaszcza u chorych z biegunkową i mieszaną postacią zespołu. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy wartościami anorektalnych parametrów manometrycznych charakteryzujących czynność zwieraczy odbytu a dominującym rytmem wypróżnień u pacjentów z IBS. Objawy dyssynergii dna miednicy występują istotnie częściej we wszystkich 3 podgrupach chorych wskazując na uogólnione zaburzenia kurczliwości mięśni dna miednicy. Po raz pierwszy opisana nadwrażliwość trzewna oraz zaburzenia czynności zwieraczy odbytu w przebiegu celiakii wskazują na zaburzenia procesów regulacyjnych osi mózgowo-jelitowej nie tylko w przebiegu schorzeń czynnościowych przewodu pokarmowego, ale także w wyniku nietolerancji glutenu.

Ad. C

W eksperymentalnym modelu IBS, przy wykorzystaniu nieinwazyjnej metody oceny czucia trzewnego, wykazano, że jednorazowa lub powtarzana ekspozycja na stres psychologiczny wywołuje zjawisko analgezji trzewnej. W mechanizmach modulacji bólu trzewnego w warunkach stresu psychologicznego stwierdzono istotne różnice zależne od płci. U płci żeńskiej szczególną rolę w tych mechanizmach pełnią endogenne opioidy, które mogą wywierać dwoisty efekt, uczestnicząc zarówno w zjawisku natychmiastowej analgezji trzewnej, jak i opóźnionej nadwrażliwości trzewnej. Korzystny wpływ prebiotyku z błonnika ryżowego na modulację bólu trzewnego pod wpływem stresu wskazuje na możliwość jego wykorzystania w leczeniu IBS.

V. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych nie wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej

Pełny wykaz publikacji będących wynikiem realizacji poniższych tematów badawczych znajduje się w załączniku 3 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

V.1. Tematyka badań prowadzonych przed uzyskaniem stopnia dr n. med.

W 2001 r. rozpoczęłam Studia Doktoranckie w Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Hepatologii AM we Wrocławiu. Główna tematyka moich prac badawczych przed uzyskaniem stopnia dr n. med. obejmuje następujące zagadnienia:

1. Patofizjologia i diagnostyka zespołu złego wchłaniania
2. Badania czynnościowe dolnego odcinka przewodu pokarmowego
3. Patofizjologia i diagnostyka zespołu jelita nadwrażliwego
4. Rola serotoniny i receptorów serotonergicznym w zespole jelita nadwrażliwego.

Ad.1

Celem pierwszej pracy oryginalnej, której jestem współautorką, była retrospektywna analiza danych dotyczących chorych hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii i Hepatologii UMW z rozpoznaniem zespołu złego wchłaniania (z.z.w.) [37]. Na podstawie analizy zebranego materiału klinicznego stwierdzono, że najczęstszą przyczyną z.z.w. była choroba trzewna, tj. celiakia (53% badanych, z czego 84% stanowiły kobiety). Pacjenci z celiakią w porównaniu do chorych z z.z.w. o innej etiologii (np. choroby Leśniowskiego-Crohna) charakteryzowali się wyższym wiekiem średnim, ponad dwukrotnie dłuższym średnim czasem trwania objawów przed hospitalizacją oraz znacznie niższą masą ciała. Jednym z powodów typowego opóźnienia w leczeniu chorych z celiakią i hospitalizowania ich w stanie wyniszczenia jest nie zawsze wyrazisty obraz kliniczny tej choroby, który zwłaszcza u osób dorosłych może przebiegać bez charakterystycznych objawów jelitowych. Na podstawie przeprowadzonej analizy wyników badań laboratoryjnych stwierdzono, że w diagnostyce kryptogennej hipertransaminazemii oraz trombocytozy związanej z hiposplenizmem należy brać pod uwagę chorobę trzewną mogącą manifestować się nietypowymi, pozajelitowymi objawami. Ponadto na podstawie danych anamnestycznych wykazano, że w diagnostyce różnicowej zaburzeń miesiączkowania i płodności, szczególnie u młodych kobiet z oporną na leczenie niedokrwistością, należy uwzględnić chorobę trzewną [37]. W dodatkowych badaniach wykazano m.in., że zastosowanie diety bezglutenowej powoduje stopniową normalizację aktywności aminotransferaz, przy utrzymywaniu się ultrasonograficznych cech stłuszczenia wątroby. Eliminacja glutenu z diety miała także korzystny efekt na zmniejszenie liczby płytek krwi i ustępowanie objawów hiposplenizmu, związanego najprawdopodobniej z zaburzeniami immunologicznymi [Abstr. 54-59].

Ad. 2 i 3

Moje główne zainteresowania badawcze od samego początku koncentrowały się wokół zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego, w szczególności IBS oraz zaburzeń czynnościowych odbytu i odbytnicy. Podczas 3 miesięcznego stażu naukowego w ramach programu Erasmus-Socrates w 2002 r. odbyłam szkolenie w pracowni badań czynnościowych przewodu pokarmowego w Szpitalu Uniwersyteckim (*Centre Hospitalier Universitaire*) w Grenoble, gdzie zaznajomiłam się z techniką badań manometrycznych. Zdobyte doświadczenie wykorzystałam po powrocie do Kliniki macierzystej wykonując w Pracowni Motoryki Przewodu Pokarmowego badania manometryczne dolnego odcinka przewodu pokarmowego i obejmując następnie opiekę nad Pracownią Manometrii Anorektalnej. Istotne wyniki badań manometrii anorektalnej u chorych z IBS przedstawione zostały na kongresie Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, który odbył się w Warszawie w 2004 r. [Abstr. 52].

Podczas stażu w Grenoble pod opieką prof. Bruna Bonaza, skryształizowały się także moje zainteresowania dotyczące neurogastroenterologii. W 2003 r. wzięłam czynny udział w międzynarodowej konferencji *Brain-gut axis in gastrointestinal system – basic and clinical aspects* w Krakowie [Abstr. 53]. Przedstawiona podczas tej konferencji praca dotycząca badań czucia trzewnego zaowocowała monoautorską publikacją w suplemencie czasopisma *Journal of Physiology and Pharmacology* w 2003 r. [34]. Plonem nawiązanej współpracy z francuskim ośrodkiem badawczym była z kolei praca opublikowana w 2004 r. pt. *Irritable bowel syndrome: a model of the brain-gut axis interactions* [31]. Jest to jedna z pierwszych publikacji przedstawiających patofizjologię IBS z punktu widzenia zaburzeń w zakresie osi mózgowo-jelitowej, co znalazło odzwierciedlenie w wysokim wskaźniku jej cytowań (praca była cytowana 40 razy - bez autocytowań, wg bazy *ISI Web of Science*, z dn. 14.03.2013 r.).

Ad. 4

W roku 2002 pod kierunkiem prof. dr hab. Leszka Paradowskiego rozpoczęłam badania w ramach pracy doktorskiej pt. *Wpływ sumatryptanu, agonisty receptora 5-HT₁, na czynność zwieraczy odbytu w zespole jelita nadwrażliwego*. W badaniach tych wykorzystano zmodyfikowaną przez mnie aparaturę – urządzenie do przeciągania sond manometrycznych ze stałą kontrolowaną prędkością w celu obiektywizacji pomiarów. Skonstruowane urządzenie zostało zgłoszone do Urzędu Patentowego RP jako wzór użytkowy pt. *Urządzenie do przeciągania sondy manometrycznej w przewodzie pokarmowym* (Nr rejestracyjny W 115761). W przeprowadzonych badaniach wykazano istotny wpływ sumatryptanu na czynność zwieraczy odbytu w postaci wzrostu ciśnienia spoczynkowego zwieraczy oraz podwyższenie progu czucia i progu parcia w zakresie odbytnicy u chorych z IBS. Obserwacje te potwierdzają udział receptorów 5-HT_{1B/D} w regulacji funkcji anorektalnych. Godnym uwagi jest fakt, że agoniści tych receptorów należą do najskuteczniejszych leków przeciwmigrenowych, a jednocześnie IBS często współistnieje z migrenowymi bólami głowy, co wskazuje na wspólne ogniwa

patogenetyczne i terapeutyczne tych schorzeń. Wyniki badań przedstawione w postaci wyróżnionej pracy doktorskiej zostały opublikowane w czasopiśmie *World Journal of Gastroenterology* [25], po uprzedniej ich prezentacji na zjazdach w Łodzi i Pradze [Abstr. 44, 51]. Dane dotyczące potencjalnej roli receptorów 5-HT_{1B/D} w patogenezie, jak i terapii IBS oraz migrenowych bólów głowy zostały ponadto przedstawione w dwóch pracach poglądowych [29, 32].

V.2. Tematyka badań prowadzonych po uzyskaniu stopnia dr n. med.

1. Kryteria diagnostyczne zespołu jelita nadwrażliwego
2. Zaburzenia funkcji anorektalnych w chorobach czynnościowych i zapalnych przewodu pokarmowego, celiakii oraz schorzeniach neurologicznych
3. Zaburzenia metabolizmu kostnego w przebiegu celiakii
4. Częstość występowania zaburzeń lękowych i depresyjnych u chorych z zespołem jelita nadwrażliwego
5. Rola stresu i hormonów płciowych w patofizjologii zespołu jelita nadwrażliwego

Ad. 1

Po ukazaniu się w 2006 r. aktualizacji kryteriów diagnostycznych zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego - III Kryteriów Rzymskich - uczestniczyłam w przygotowaniu dwóch prac poglądowych przedstawiających wprowadzone zmiany [27, 28]. Wyniki analizy porównawczej II i III Kryteriów Rzymskich pod względem ich przydatności klinicznej na podstawie danych dotyczących 200 chorych z IBS hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii i Hepatologii UMW zostały przedstawione w pracy oryginalnej opublikowanej w 2007 r. [23]. Wykazano, że 90% chorych z IBS rozpoznanych na podstawie III Kryteriów Rzymskich spełnia jednocześnie II Kryteria Rzymskie, które są bardziej restrykcyjne pod względem czasu występowania dolegliwości. Jednocześnie wprowadzenie nowego podziału na poszczególne postacie IBS opartego wyłącznie na konsystencji stolca nie wpłynęło na częstość ich rozpoznawania w ogólnej puli pacjentów [23].

Opublikowanie III Kryteriów Rzymskich stanowiło także podstawę do opracowania podręcznika pt. *Zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego* pod redakcją prof. Leszka Paradowskiego, którego pierwsze wydanie ukazało się w 2007 r., a aktualizacja w 2012 r. Jestem autorką rozdziału poświęconego patofizjologii zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego oraz współautorką 4 rozdziałów tego podręcznika dotyczących badań czynnościowych dolnego odcinka przewodu pokarmowego, zaburzeń czynnościowych jelit, odbytu i odbytnicy oraz dróg żółciowych. Uczestniczyłam również w przygotowaniu pracy poglądowej prezentującej interdyscyplinarny charakter IBS [20]. W 2007 r. otrzymałam nagrodę indywidualną II stopnia JM Rektora AM we Wrocławiu za cykl prac pt. *Badania nad patofizjologią, diagnostyką i leczeniem zespołu jelita nadwrażliwego*.

Ad. 2

Wyniki badań, których celem była ocena czucia trzewnego i towarzyszących zaburzeń czynności zwieraczy odbytu w różnych postaciach IBS oraz w przebiegu choroby trzewnej stanowią część rozprawy habilitacyjnej (prace nr 2 i 3 cyklu). W kolejnej pracy oryginalnej wykazałam istotny wpływ płci i wieku na funkcje anorektalne u chorych z IBS, zarówno w zakresie parametrów manometrycznych, jak i progów czucia trzewnego [24]. Brałam ponadto udział w badaniach manometrii anorektalnej u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit [Abstr. 33], a także z chorobą hemoroidalną. Jestem również współautorem wytycznych w diagnostyce i leczeniu choroby hemoroidalnej, które ukazały się w 2008 r. [18].

Zainteresowanie tematyką neurogennego uszkodzenia zwieraczy odbytu zainspirowało współpracę z Kliniką Neurologii UMW. Wstępne wyniki badań manometrii anorektalnej u chorych z różnymi postaciami stwardnienia rozsianego zostały przedstawione na kongresie: *10th United European Gastroenterology Week* (Barcelona 2010) [Abstr. 28]. Drugą badaną grupę stanowią pacjenci z chorobą Parkinsona. Wyniki ostatnich badań wskazują na szczególną rolę zmian w zakresie jelitowego układu nerwowego w patogenezie tej choroby. U wielu chorych zaburzenia czynności przewodu pokarmowego, np. zaparcia, pojawiają się dużo wcześniej niż objawy neurologiczne, co uzasadnia poszukiwanie wczesnych wskaźników tej choroby.

Ad. 3

W ramach współpracy z Kliniką Endokrynologii i Diabetologii UMW uczestniczyłam w badaniach dotyczących metabolizmu kostnego u chorych z celiakią. Utrata masy kostnej u chorych z zespołem złego wchłaniania w przebiegu choroby trzewnej nie zawsze jest skorelowana z nasileniem objawów jelitowych. Wśród niedawno poznanych patomechanizmów zaburzeń metabolizmu kostnego u pacjentów z chorobami takimi jak celiakia lub nieswoiste zapalenia jelit, wskazuje się na szczególną rolę cytokin prozapalnych aktywujących osteoklasty. W przeprowadzonym badaniu, w celu określenia wpływu diety bezglutenowej na gęstość mineralną kości u dorosłych chorych z celiakią, oceniano parametry gospodarki wapniowej, stężenie parathormonu oraz wykonywano pomiary densytometryczne szkieletu osiowego i obwodowego. Wykazano, że gęstość mineralna kości u chorych z celiakią niezależnie od przestrzegania diety bezglutenowej była znacząco niższa niż u osób z grupy kontrolnej. Osteopenia występowała u 55% chorych, a osteoporoza u 35%. U chorych z celiakią stwierdzono cechy wtórnej nadczynności przytarczyc z towarzyszącym obniżeniem stężenia wapnia w surowicy i w moczu. Dieta bezglutenowa pomimo korzystnego wpływu na metabolizm kostny w postaci wzrostu stężenia wapnia i witaminy D w surowicy, z jednoczesnym zmniejszeniem stężenia parathormonu, nie przywracała prawidłowej masy kostnej. Na tej podstawie wyciągnięto wnioski, że utrzymujące się cechy wtórnej nadczynności przytarczyc u chorych przestrzegających prawidłowej diety bezglutenowej mogą być markerem nasilenia zaburzeń metabolizmu kostnego i

wskazywać na konieczność dodatkowej suplementacji preparatami wapnia i witaminy D w prewencji patologicznych złamań [Abstr. 46, 50].

Ad . 4

Uwzględniając rolę czynników psychologicznych w patogenezie IBS zainteresowałam się częstością występowania zaburzeń depresyjnych i lękowych w różnych postaciach tego schorzenia. Na podstawie badań ankietowych przeprowadzonych u chorych z IBS hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii i Hepatologii UMW współistniejące zaburzenia depresyjne stwierdzono u 22% chorych, a zaburzenia lękowe u 53% chorych, w tym zaburzenia ciężkie u 19%. Prosta w użyciu Skala Depresji i Lęku (HADS) zastosowana w badaniu jest pomocna w ocenie stanu emocjonalnego chorych z IBS i wyborze postępowania diagnostycznego oraz terapeutycznego [Abst. 43].

W ramach kontynuacji badań dotyczących współistnienia zaburzeń psychicznych z IBS nawiązano współpracę z Kliniką Psychiatrii UMW i podjęto wspólny projekt badawczy (grant KBN) kierowany przez dr n. med. Magdalenę Grzesiak. Celem badania była ocena częstości występowania zaburzeń depresyjnych i lękowych u pacjentów z IBS oraz analiza związku między występowaniem tych zaburzeń a polimorfizmem genów związanych z układem serotonergicznym. Głównym narzędziem diagnostycznym wykorzystanym w tym badaniu była komputerowa wersja Złożonego Międzynarodowego Kwestionariusza Diagnostycznego (*Composite International Diagnostic Interview*, CIDI). W badaniach genetycznych oceniano polimorfizmy genów transportera serotoniny, receptorów serotoniny 5HTR1A, 5HTR2A i 5HTR2C oraz genu hydroksylazy tryptofanu.

W badaniu uczestniczyło 127 chorych z IBS oraz 69 osób w grupie kontrolnej. Zaburzenia depresyjne i lękowe rozpoznano odpowiednio u 35 i 47% pacjentów z IBS. U 24% stwierdzono współistnienie zaburzeń lękowych i depresyjnych. Stwierdzono, że u wielu chorych z IBS nie rozpoznano tych zaburzeń wcześniej, pomimo niekiedy przewlekłego utrzymywania się objawów zaburzeń psychicznych, także o ciężkim przebiegu. Ma to znaczenie kliniczne, gdyż poprawa stanu psychicznego pacjentów w trakcie leczenia przeciwdepresyjnego lub przeciwlękowego często wiąże się ze zmniejszeniem dolegliwości jelitowych. Część wyników tych badań, które były uprzednio prezentowane na konferencjach międzynarodowych w Europie i USA [Abstr. 34, 35] została już opublikowana [10]. Wyniki niedawno opracowanych danych genetycznych potwierdziły dotychczasowe doniesienia o związku polimorfizmu 1438 G/A genu 5HTR2A z występowaniem zaburzeń depresyjnych u chorych z IBS oraz po raz pierwszy wykazały związek polimorfizmu 23 G/C genu 5HTR2C z występowaniem zaburzeń lękowych u tych chorych. Doniesienie zjazdowe przedstawiające te wyniki zostało przyjęte do prezentacji podczas kongresu: *Digestive Disease Week* (Orlando 2013).

Wyniki moich wcześniejszych badań nad patofizjologią IBS oraz zgromadzony materiał genetyczny były podstawą do zaproszenia mnie w charakterze członka Komitetu Zarządzającego

do projektu badawczego w ramach Europejskiego Programu Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych (Akcja COST BM1106): *The Genes in Irritable Bowel Syndrome Research Network Europe (GENIEUR)* (2012-2015). Celem badania koordynowanego przez Dr Beate Niesler jest opracowanie charakterystyki fenotypowej i genotypowej poszczególnych postaci IBS. Badania prowadzone są w ramach interdyscyplinarnej sieci badawczej, w której aktualnie uczestniczą eksperci z 20 krajów europejskich. Szczególną uwagę w prowadzonych badaniach przypisuje się zaburzeniom mikroflory jelitowej, która może odgrywać rolę czynnika epigenetycznego.

Ad. 5

We wrześniu 2009 r. rozpoczęłam 25-miesięczny staż naukowy w ośrodku *Center for Neurobiology of Stress, University of California, Los Angeles (UCLA)* pod opieką prof. Yvette Taché. Początkowo staż ten odbywałam w ramach pięciomiesięcznego stypendium przyznanego przez Fundację Kościuszkowską, następnie kontynuowałam badania w ramach zaproponowanego przez stronę amerykańską stypendium UCLA. Prof. Taché jest światowym ekspertem w badaniach nad wpływem stresu na funkcje przewodu pokarmowego. Przez wiele lat współpracowała ona z Hansem Selye, twórcą koncepcji stresu w biologii, który jako pierwszy postawił hipotezę, że niezdolność człowieka do radzenia sobie ze stresem jest głównym źródłem szeregu chorób somatycznych. Tematyka prac badawczych prowadzonych przeze mnie na UCLA dotyczyła regulacji czucia trzewnego w modelach doświadczalnych w warunkach stresu psychologicznego. Badałam także interakcje neurohormonalne w zakresie osi mózgowo-jelitowej determinujące różnice zależne od płci w patomechanizmach IBS. Zasadnicza część wyników tych badań została opublikowana w pracach stanowiących część rozprawy habilitacyjnej (prace nr 4 i 5). Uzupełnieniem badań nad zjawiskiem analgezji trzewnej indukowanej stresem psychologicznym u szczurów było przeprowadzenie analogicznych eksperymentów u myszy. Wykorzystując nieinwazyjną manometryczną metodę oceny czucia trzewnego również w tym przypadku wykazano osłabienie odpowiedzi trzewno-motorycznej bezpośrednio po ekspozycji na stres. U samców myszy, podobnie jak u samców szczurów, zjawisko analgezji trzewnej było niezależne od endogennych opioidów i występowało także po podaniu naloksonu [Abstr. 5]. Tematyka pozostałych projektów badawczych, w których uczestniczyłam podczas pobytu na UCLA została przedstawiona poniżej.

Rola receptora kortykoliberyny typu 2 (CRF₂) w indukowanych stresem zaburzeniach motoryki jelit. Kortykoliberyna (*corticotropin-releasing factor*, CRF) jest głównym mediatorem odpowiedzi organizmu na stres. U gryzoni wykazano, że podanie ośrodkowe lub obwodowe CRF wywołuje zaburzenia funkcji motoryczno-wydzielniczych oraz czuciowych jelita grubego. Na podstawie obserwacji, że podanie antagonistów receptora CRF₁ blokuje tę reakcję sugerowano, że to właśnie ten typ receptora odgrywa kluczową rolę w modulacji zależnych od stresu zaburzeń czynności jelita. Rola receptora CRF₂ była do tej pory niejasna. W kompleksowym projekcie

badawczym wykorzystującym kilka modeli stresu, jak również genetycznie modyfikowane myszy charakteryzujące się nadmierną ekspresją CRF, badano wpływ aktywacji receptora CRF₂ na zaburzenia motoryki jelita grubego. Wykazano, że podanie selektywnego agonisty receptora CRF₂ (urokortyny 2) ma efekt przeciwny do pobudzenia receptorów CRF₁ manifestujący się redukcją aktywności motorycznej okrężnicy i liczby wypróżnień oraz zmniejszeniem aktywacji neuronów splotów błony mięśniowej jelita. Po raz pierwszy wykazano kluczową rolę receptorów CRF₂ w odpowiedzi adaptacyjnej na stres. Wyniki badań zostały opublikowane w *Gastroenterology* (IF 11,675) [9]. Podczas tego badania dokonano także niespodziewanego odkrycia, że myszy z nadekspresją CRF, które charakteryzują się utratą owłosienia, po podaniu antagonisty CRF (astresyny-B) odzyskują sierść. Rezultaty te rozbudziły nadzieje na znalezienie skutecznej terapii łysienia, o ile powyższe obserwacje potwierdzą się u człowieka (Wang et al., PloS One 2011).

Rola układu kannabinoidowego w regulacji nadwrażliwości trzewnej wywołanej przez selektywną aktywację receptorów CRF₁ u szczurów. W jednym z badań oceniano wpływ endogennych kannabinoidów na modulację funkcji sensoryczno-motorycznych jelita grubego. W badaniu wykorzystano model biegunkowej postaci IBS u szczurów indukowany dootrzewnowym podaniem selektywnego agonisty receptora CRF₁ (cortagine). Wykazano, że URB597 - nowy inhibitor hydrolazy amidów kwasów tłuszczowych (*fatty acid amide hydrolase*, FAAH), głównego enzymu metabolizującego anandamid, hamuje rozwój nadwrażliwości trzewnej, nie wpływając jednocześnie znacząco na nasilenie biegunki. Stwierdzono także, że podskórne podanie URB597 powoduje wyraźny wzrost stężenia anandamidu w tkance mózgowej, jelicie cienkim oraz jelicie grubym badanych szczurów. Wyniki badań potwierdziły rolę związków działających pośrednio na układ endokannabinoidowy w modulacji wrażliwości trzewnej wskazując na ich potencjalną przydatność terapeutyczną w IBS. Aktualnie praca jest przygotowywana do druku.

Rola receptorów somatostatynowych w modulacji nadwrażliwości trzewnej u myszy. Somatostatyna jako neuropeptyd szeroko rozpowszechniony w organizmie uczestniczy za pośrednictwem 5-ciu typów receptorów w szerokim spektrum procesów fizjologicznych i patofizjologicznych, także w zakresie układu pokarmowego. W dotychczasowych badaniach eksperymentalnych wykazano, że główną rolę w modulacji czucia trzewnego odgrywa receptor typu 2 (sst₂). W badaniach klinicznych, m.in. u chorych z IBS, potwierdzono wpływ oktreotydu, nieselektywnego agonisty receptorów somatostatynowych, na hamowanie bólu trzewnego. Zastosowanie terapeutyczne oktreotydu ograniczają jednak jego działania niepożądane. Celem mojego autorskiego projektu była ocena wpływu selektywnych agonistów receptorów somatostatynowych na nadwrażliwość trzewną u myszy. W badaniu wykorzystano dwa różne modele doświadczalne. W pierwszym modelu nadwrażliwość trzewna była indukowana farmakologicznie, przez obwodowe podanie agonisty receptora CRF₁ (cortagine), w drugim – mechanicznie przez powtarzane bolesne rozdęcia jelita grubego. Na podstawie uzyskanych

wyników potwierdziłam silny efekt przeciwbólowy selektywnego agonisty ss_2 oraz wykazałam zależny od dawki efekt analgetyczny selektywnego agonisty ss_1 , który hamował powstawanie nadwrażliwości trzewnej w obu modelach. Nie stwierdziłam natomiast wpływu agonisty ss_4 na czucie trzewne. Wyniki wskazują, że receptor ss_1 , może stanowić nowy cel terapeutyczny w modulacji nadwrażliwości indukowanej stresem lub przez sensytyzację mechanoreceptorów, z jednoczesnym uniknięciem działań niepożądanych nieselektywnych agonistów receptorów ss . Komunikaty z przedstawionych wyników zostały wyróżnione na międzynarodowych kongresach: *19th United European Gastroenterology Week* (Sztokholm 2011) [Abstr. 11] oraz *Digestive Disease Week* (San Diego 2012) [Abstr. 8]. Aktualnie wyniki tych badań są przygotowywane do druku.

Ośrodkowe działanie agonisty tyreoliberyny - RX-77368 na funkcje sensoryczno-motoryczne u szczurów. Tyreoliberyna (TRH) oprócz funkcji endokrynych wywiera także silny efekt hamujący czucie bólu somatycznego na poziomie centralnego układu nerwowego oraz pobudza aktywność układu przywspółczulnego związanego ze wzmożoną motoryką żołądka. W badaniu oceniano efekt centralnego (dokomorowego) podania agonisty TRH (RX-77368) na wrażliwość trzewną w teście rozdęcia jelita grubego oraz liczbę wypróżnień. Zaobserwowano wyraźne zmniejszenie wrażliwości trzewnej (wyższy próg bólu) z jednoczesnym zwiększeniem częstości defekacji. Wyniki badania dostarczyły nowych dowodów na ośrodkowe działanie analgetyczne TRH, także w aspekcie bólu trzewnego oraz ośrodkowe mechanizmy pobudzenia motoryki jelita grubego za pośrednictwem receptorów TRH [Abstr. 17].

Zaburzenia motoryki i funkcji nabłonka jelitowego w genetycznym modelu cukrzycy typu 2 u szczurów rasy Goto-Kakizaki. U około 60% chorych z cukrzycą typu drugiego występują objawy ze strony przewodu pokarmowego, takie jak bóle brzucha i zmiana rytmu wypróżnień. Objawy te wiążą się z zaburzeniami autonomicznego układu nerwowego w postaci zmniejszonej aktywności układu przywspółczulnego, ze względną dominacją układu współczulnego. Celem badania była ocena funkcji motorycznych okrężnicy w warunkach podstawowych oraz po ekspozycji na stres u szczurów rasy Goto-Kakizaki, które reprezentują jeden z genetycznych modeli cukrzycy typu 2. Grupę kontrolną stanowiły szczury rasy Wistar. Ponadto wykorzystując nowoczesny system *Ussing chambers* badano przewodnictwo, warunki przebicia i prąd zwarciaowy nabłonka jelita grubego w warunkach podstawowych oraz po stymulacji z zastosowaniem m.in. karbacholu (parasympatykomimetyku). U szczurów rasy Goto-Kakizaki wykazano wzmożoną reaktywność motoryczną jelita w odpowiedzi na stres psychologiczny, co objawiało się wzrostem liczby oddawanych stolców, a nawet wystąpieniem biegunki i odpowiadało zwiększonemu napięciu układu współczulnego. Ponadto u szczurów tych stwierdzono obniżoną oporność elektryczną nabłonka jelita grubego oraz zaburzenia jego funkcji sekrecyjno-absorpcyjnych związane ze wzmożoną reaktywnością na stymulację cholinergiczną [Abstr. 13].

Podsumowując, dwuletni pobyt w ośrodku badawczym UCLA był cennym doświadczeniem z punktu widzenia medycyny translacyjnej. Interdyscyplinarny charakter i międzynarodowy skład zespołów badawczych, w których uczestniczyłam, umożliwił wielokierunkowy proces wymiany doświadczeń mający na celu przyspieszenie wdrażania osiągnięć z dziedziny badań podstawowych do praktyki klinicznej. Miałam także możliwość podzielenia się moim doświadczeniem klinicznym uczestnicząc w przygotowaniu 3 rozdziałów w podręcznikach anglojęzycznych dotyczących roli stresu w patogenezie zespołu jelita nadwrażliwego oraz przygotowaniu pracy poglądowej na temat roli hormonów płciowych w patogenezie IBS [11].

Ponadto podczas pracy w Klinice oraz kształcenia specjalizacyjnego w zakresie chorób wewnętrznych i gastroenterologii przed i po uzyskaniu stopnia dr n. med. uczestniczyłam w przygotowaniu łącznie 21 prac poglądowych, których tematyka wykraczała niekiedy poza główny nurt moich zainteresowań badawczych i dotyczyła m.in. zaburzeń mikroflory jelitowej w przebiegu przewlekłego stosowania inhibitorów pompy protonowej [4], leczenia przeciwpłytkowego i przeciwzakrzepowego u chorych z ryzykiem krwawienia z przewodu pokarmowego [15], nadzoru endoskopowego w stanach przednowotworowych przewodu pokarmowego [16], wpływu chorób przełyku na przebieg choroby niedokrwiennej serca [19], skal, klasyfikacji i wybranych wskaźników aktywności chorób układu pokarmowego [36] oraz nawrotowości kamicy żółciowej [39].

VI. Analiza bibliometryczna dorobku

Mój dorobek naukowy obejmuje:

- 11 prac oryginalnych (9 po doktoracie)
- 21 prac poglądowych (14 po doktoracie)
- 2 prace kazuistyczne (1 po doktoracie)

- 2 publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism (przed doktoratem)
- 2 prace popularnonaukowe (po doktoracie)
- 1 list do redakcji (po doktoracie)
- autorstwo i współautorstwo 9 rozdziałów w 5 książkach (w tym 3 anglojęzycznych) (wszystkie po doktoracie)
- 59 komunikatów zjazdowych (50 po doktoracie)
 - 46 streszczeń na zjazdach międzynarodowych (42 po doktoracie)
 - 13 streszczeń na zjazdach krajowych (8 po doktoracie)

Punktacja za trzy pierwsze pozycje*: IF = 31,239; MNiSW/KBN = 346

Sumaryczna punktacja opublikowanych prac:** IF = 34,280; MNiSW/KBN = 433

Liczba cytowań: 82 (bez autocytowań), **h-index = 5** (*ISI Web of Science, 14.03.2013 r.*)***

*Załącznik 4a, **Załącznik 4b, ***Załącznik 4c

VII. Udział w krajowych i międzynarodowych projektach badawczych

Granty KBN

Nr 2P058B 072 30

Badanie zależności między występowaniem zaburzeń depresyjnych i lękowych u pacjentów z zespołem jelita drażliwego (IBS) a polimorfizmem genów związanych z układem serotonergicznym

Kierownik: dr n. med. Magdalena Grzesiak
2006–2009, wykonawca

Projekty badawcze w ramach działalności statutowej

Badanie czucia trzewnego w zaburzeniach czynnościowych przewodu pokarmowego

Kierownik: prof. dr hab. Leszek Paradowski
2005–2007, główny wykonawca

ST-164

Zaburzenia czynności motorycznej przewodu pokarmowego u ludzi w wieku podeszłym

Kierownik: prof. dr hab. Leszek Paradowski
2007–2009, wykonawca

ST-391

Patofizjologia zaburzeń motoryki dolnego odcinka przewodu pokarmowego u ludzi w wieku podeszłym

2009–2011, kierownik tematu

ST-392

Zaburzenia wchłaniania

Kierownik: prof. dr hab. Leszek Paradowski
2009–2011, wykonawca

ST-520

Ocena genetycznie uwarunkowanego polimorfizmu P-glikoproteiny oraz promotora interleukiny 4 u chorych z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, chorobą Leśniowskiego-Crohna, celiakią

Kierownik: dr n. med. Ewa Tarnawska-Jaźwińska
2010–2012, wykonawca

ST-682

Zespół jelita nadwrażliwego w populacji Dolnego Śląska

Kierownik: prof. dr hab. Leszek Paradowski
2012–2014, wykonawca

Projekt badawczy dla młodych naukowców (Nr 15/Pbmn)

Wstępna ocena przydatności badań metabolomicznych w diagnostyce nieswoistych zapaleń jelit

Kierownik: dr n. med. Tomasz Dawiskiba
2011–2013, wykonawca

Międzynarodowe i zagraniczne projekty badawcze

Brain mapping of digestive sensations elicited by cortical electrical stimulations

Stypendium Rządu Francuskiego

2005, projekt autorski (Joseph Fourier University, Grenoble)

Underlying mechanisms of sex-difference in experimental model of irritable bowel syndrome: interaction between the corticotropin-releasing factor (CRF) and estrogen signaling pathways
Stypendium Fundacji Kościuszkowskiej
2009–2010, projekt autorski (UCLA, Los Angeles)

Sex-related differences of colonic response to stress: Role of CRF (Nr projektu 11084-03)
Supported by NIH grant P50 DK-64539 Center for Neurovisceral Sciences and Women's Health (C.N.S) and NIH/NIDDK Center Grant DK-41301 (Animal Core)
Kierownicy: Prof. Emeran Mayer, Prof. Yvette Taché
2009–2011, wykonawca (UCLA, Los Angeles)

Corticotropin-Releasing Factor: Action on Gastric Function (Nr projektu 99127-07)
Supported by NIH/NIDDK Center Grant DK-41301 (Animal Core) and R01 DK-33061
Kierownik: Prof. Yvette Taché
2009–2011, wykonawca (UCLA, Los Angeles)

Development of KRD-8228 for IBS (Nr projektu 12049-09)
Supported by Central Laboratories for Frontier Technology, Kirin Holdings Co. Ltd.
Kierownik: Prof. Yvette Taché
2010, wykonawca (UCLA, Los Angeles)

Influence of URB597, a selective FAAH Inhibitor, and Ironwood Pharma MM Compounds on Experimental Models of IBS-D in Rats (Nr projektu 06016-08)
Supported by Ironwood Pharmaceuticals, Inc.
Kierownik: Prof. Yvette Taché
2010, wykonawca (UCLA, Los Angeles)

The Development of a Multi-axial Assessment for Functional Gastrointestinal Disorders: A Worldwide Delphi Expert Consensus Study
Koordynator: Dr Philip Austin (Edynburg)
2011, wykonawca

The Genes in Irritable Bowel Syndrome Research Network Europe (GENIEUR)
Europejski Program Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych
Akcja BMBS COST BM1106
Kierownik: Dr Beate Niesler (Heidelberg)
2012–2015, członek Komitetu Zarządzającego

VIII. Międzynarodowe lub krajowe nagrody za działalność naukową

Nagrody i wyróżnienia na konferencjach międzynarodowych

1. **Mulak A**, Paradowski L: *Testing of visceral sensitivity*. J Physiol Pharmacol 2003; 54 (Suppl.2): 77. Brain-gut axis in gastrointestinal system - basic and clinical aspects, Kraków, 15–16.11.2003 (**Poster of Distinction**)
2. **Mulak A**, Kahane P, Hoffmann D, Minotti L, Bonaz B: *Cortical mapping of digestive symptoms during intracerebral electrical stimulation*. Gut 2006; 55 (Suppl.5): A10, [OP-G-48]. 14th United European Gastroenterology Week „UEGW 2006” Berlin, 21–25.10.2006 (**Best Abstract Travel Grant**)
3. **Mulak A**, Waszczuk E, Paradowski L. *Visceral hypersensitivity in celiac disease*. Gut 2007; 56 (Suppl.III): A55, [OP-G-235]. 15th United European Gastroenterology Week „UEGW 2007” Paryż, 27–31.10.2007 (**Best Abstract Travel Grant**)
4. Larauche M, **Mulak A**, Kim YS, Million M, Taché Y: *Repeated psychological stress induces opiate independent visceral analgesia but no sustained hyperalgesia as assessed by a new non-invasive manometry method*. CURE Digestive Diseases Research Center 2010 Annual Research Meeting, UCLA Faculty Center, University of California, Los Angeles, 09.04.2010 (**Poster of Distinction Award**)

5. **Mulak A**, Larauche M, Million M, Rivier J, Taché Y: *Antihyperalgesic effect of stable pansomatostatin agonist, ODT-8 and selective somatostatin type 1 receptor (SST1) agonist injected intraperitoneally during colorectal distension in mice*. CURE Digestive Diseases Research Center 2011 Annual Research Meeting, UCLA Faculty Center, University of California, Los Angeles, 18.03.2011 (**Poster of Distinction Award**)
6. **Mulak A**, Larauche M, Million M, Rivier J, Taché Y: *Peripheral activation of somatostatin receptors type 1 and 2 but not 4 exerts antihyperalgesic effect during noxious colorectal distension in mice*. Gut 2011; 60 (Suppl.3): A309, [P0981]. 19th United European Gastroenterology Week „UEGW 2011” Sztokholm, 22–26.10.2011 (**Travel Grant and Top Poster Award**)
7. **Mulak A**, Larauche M, Million M, Rivier J, Taché Y: *Selective agonists of somatostatin receptors type 1 or 2 prevent visceral hyperalgesia induced by activation of peripheral CRF₁ receptors in mice*. Gastroenterology 2012; 142 (Suppl.1): S698, Mo1844. Digestive Disease Week 2012, San Diego, 19–22.05.2012 (**Poster of Distinction**)

Nagrody krajowe

1. Wyróżnienie Pracy Doktorskiej – 2005 r., tytuł rozprawy doktorskiej: *Wpływ sumatryptanu, agonisty receptora 5-HT₁, na czynność zwieraczy odbytu w zespole jelita nadwrażliwego*, Promotor: prof. dr hab. Leszek Paradowski
2. Nagroda za najlepszą pracę oryginalną – XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego, Gdańsk, 13–15.06.2008
Mulak A, Waszczuk E, Paradowski L: *Zaburzenia funkcji anorektalnych w chorobie trzewnej*. Gastroenterol Pol 2008, 15 (Supl.1): 26.
3. Nagroda Indywidualna II stopnia JM Rektora AM we Wrocławiu za monotematyczny cykl prac opublikowanych w latach 2004-2006 pt. *Badania nad patofizjologią, diagnostyką i leczeniem zespołu jelita nadwrażliwego* (2007)
4. Nagroda Indywidualna I stopnia JM Rektora UMW za monotematyczny cykl prac opublikowanych w latach 2010-2011 pt. *Nadwrażliwość trzewna – wpływ stresu, hormonów płciowych i diety* (2012)

IX. Referaty na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych

REFERATY NA KONFERENCJACH MIĘDZYNARODOWYCH

1. Paradowski L, **Mulak A**: *Basic and clinical aspects of visceral sensation*. Międzynarodowa Konferencja Grupy Motoryki Przewodu Pokarmowego, Żagań, 26–27.09.2008
2. **Mulak A**: *Sex differences in stress-induced visceral analgesia vs hyperalgesia as unraveled by a novel non-invasive manometric methods in rats*. 8th Annual Basic and Translational Science Symposium, UCLA Center for Neurobiology of Stress, Los Angeles, 17.02.2011 (na zaproszenie)
3. **Mulak A**: *Visceral nociception in irritable bowel syndrome*. 7th Central European Gastroenterology Meeting CEURGEM 2012, Cluj-Napoca, 27–29.09.2012 (na zaproszenie)

KOMUNIKATY USTNE NA KONFERENCJACH MIĘDZYNARODOWYCH

1. Waszczuk A, **Mulak A**, Szymczak J, Bohdanowicz-Pawlak A: *Influence of a gluten free diet on bone mineral density in adult patients with coeliac disease*. Gut 2005; 54 (Suppl. VII): A66, [OP-G-281]. 13th United European Gastroenterology Week „UEGW 2005” Kopenhaga, 15–19.10.2005
2. **Mulak A**, Kahane P, Hoffmann D, Minotti L, Bonaz B: *Cortical mapping of digestive symptoms during intracerebral electrical stimulation*. Gut 2006; 55 (Suppl.5): A10, [OP-G-48]. 14th United European Gastroenterology Week „UEGW 2006” Berlin, 21–25.10.2006

3. **Mulak A**, Kahane P, Hoffmann D, Minotti L, Bonaz B: *Brain mapping of digestive symptoms elicited by cortical electrical stimulation*. Gastroenterology 2007; 132 (Suppl.2): A71-72, [OP-410]. Digestive Disease Week 2007, Waszyngton, 19–24.05.2007
4. **Mulak A**, Waszczuk E, Paradowski L: *Visceral hypersensitivity in celiac disease*. Gut 2007; 56 (Suppl.III) A55, [OP-G-235]. 15th United European Gastroenterology Week „UEGW 2007” Paryż, 27–31.10.2007
5. Larauche M, **Mulak A**, Kim Y.S, Million M, Taché Y: *Sex differences in visceral sensitivity induced by repeated psychological stress in rats: differential role of opioid pathway*. Gut 2010; 59 (Suppl.III): A104, [OP480]. 18th United European Gastroenterology Week „UEGW 2010” Barcelona, 23–27.10.2010

REFERATY NA KONFERENCJACH KRAJOWYCH

1. Waszczuk E, **Mulak A**: *Nawrotowość kamicy żółciowej*. Sesja I Edycji Ogólnopolskiego Programu Dydaktycznego: Postępy w gastroenterologii, Wrocław, 30.03.2000
2. **Mulak A**: *Wirusy TT i ich hepatotropizm*. I Sesja II Edycji Ogólnopolskiego Programu Dydaktycznego: Postępy w gastroenterologii 2001-2002, Wrocław, 07.11.2001
3. **Mulak A**, Paradowski L: *Skale ciężkości przebiegu i klasyfikacje wybranych chorób przewodu pokarmowego – obowiązujące standardy*. Posiedzenie naukowo-szkoleniowe Oddziału Dolnośląskiego Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Wrocław, 27.02.2003
4. **Mulak A**: *Metody badania czucia trzewnego*. Zebranie Oddziału Dolnośląskiego Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Wrocław, 16.03.2004
5. **Mulak A**: *Leczenie cierpienia spastycznego jelit – aktualne możliwości i nadzieje*. VIII Wrocławska Wiosna Gastrologiczna, Wrocław, 23.04.2004
6. Paradowski L, **Mulak A**: *Bóle głowy u chorych z cierpieniem spastycznym jelita grubego*. III Zjazd Polskiego Towarzystwa Bólu Głowy, Pułtusk, 21.05.2004 (na zaproszenie)
7. Paradowski L, **Mulak A**: *Znaczenie biopsji jelitowej w diagnostyce zespołów złego wchłaniania*. Posiedzenie Naukowo-Szkoleniowe Oddziału Wrocławskiego Towarzystwa Internistów Polskich, Wrocław, 24.03.2005
8. Błoński W, Waško-Czopnik D, **Mulak A**, Smereka A, Paradowski L: *Badania motoryki przewodu pokarmowego KGiH*. 80. Rocznica Urodzin Prof. dr. hab. dr. Zbigniewa Knapika – 35-lecie Katedry i Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii AM we Wrocławiu, Wrocław, 21.01.2006
9. **Mulak A**, Bonaz B, Paradowski L: *Gastrointestinal dysfunction in the central nervous system disorders*. XII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Łódź, 9–11.06.2006 (na zaproszenie)
10. **Mulak A**: *Metody badania czucia trzewnego*. VII Sympozjum Naukowe pt. „Postępy w gastroenterologii i żywieniu”. Wrocław, 24.02.2007
11. **Mulak A**: *Znaczenie biopsji jelitowej w diagnostyce zespołów złego wchłaniania*. III Międzyregionalna Konferencja Naukowa, Szklarska Poręba, 9–10.03.2007
12. Paradowski L, **Mulak A**: *Ocena funkcji zwieraczy odbytu a choroba hemoroidalna*. Seminarium Naukowe: Guzki krwawnicze – Drogi i bezdroża, Wrocław, 13.04.2007
13. **Mulak A**, Smereka A, Paradowski L: *Rola funkcji zwieraczy odbytu w chorobie hemoroidalnej*. XX Jubileuszowa Konferencja Polskiego Towarzystwa Flebologicznego, Szklarska Poręba, 9–10.03.2008
14. **Mulak A**: *Praktyczne znaczenie badań anorektalnych*. XII Wrocławska Wiosna Gastrologiczna, Wrocław, 11.04.2008
15. **Mulak A**: *Cierpienie spastyczne jelita grubego jako problem interdyscyplinarny*. XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Gdańsk, 13–15.06.2008 (na zaproszenie)
16. **Mulak A**: *Zaparcia w praktyce lekarza rodzinnego*. Targi Medycyny Rodzinnej, Poznań 16–18.01.2009
17. **Mulak A**: *Praktyczne znaczenie badania czucia trzewnego*. IX Sympozjum Naukowe pt. „Postępy w gastroenterologii i żywieniu”. Wrocław, 28.02.2009
18. **Mulak A**: *Zaparcia – przyczyny, diagnostyka, leczenie*. XIII Wrocławska Wiosna Gastrologiczna, Wrocław, 27.03.2009

19. **Mulak A:** *Wpływ stresu na percepcję bólu trzewnego*. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Kraków, 4–6.10.2012 (na zaproszenie)

X. Patenty

Patent projektu wynalazczego: *Urządzenie do przeciągania sondy manometrycznej w przewodzie pokarmowym* – wzór użytkowy W 115761 zarejestrowany w UPRP w dniu 02.11.2005 r. (Załącznik 4d)

Podsumowanie dorobku naukowo-badawczego

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje łącznie 39 publikacji. W 24 pracach jestem pierwszym autorem, a w 11 pracach - drugim autorem.

Po uzyskaniu stopnia dr n. med. jestem autorem lub współautorem 25 publikacji, w tym 9 prac oryginalnych, 14 prac przeglądowych, 1 opisu przypadku oraz 1 listu do redakcji.

Jestem autorem lub współautorem 9 rozdziałów w 5 książkach, w tym 3 anglojęzycznych.

Podstawowa punktacja za prace oryginalne, przeglądowe i opisy przypadków wynosi 31,239 IF (346 MNiSW/KBN), po doktoracie 31,239 IF (303 MNiSW/KBN).

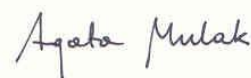
Rozszerzona punktacja obejmująca wszystkie opublikowane prace, z uwzględnieniem publikacji pełnotekstowych w suplementach czasopism, listu do redakcji oraz rozdziałów w książkach, wynosi 34,280 IF (433 MNiSW/KBN), po doktoracie 32,606 IF (375 MNiSW/KBN).

Aktualna liczba cytowań moich prac (bez autocytowań) wynosi 82, indeks Hirscha - 5 (według *ISI Web of Science*).

Punktacja jednotematycznego cyklu publikacji przedłożonego jako rozprawa habilitacyjna, który obejmuje 5 prac oryginalnych i 1 pracę przeglądową wynosi 19,461 IF (171 MNiSW/KBN).

Brałam aktywny udział w 28 konferencjach międzynarodowych (3 referaty, 5 komunikatów ustnych, 37 prezentacji plakatowych) oraz w 22 konferencjach krajowych (19 referatów, 11 prezentacji plakatowych).

Odbyłam 3 długoterminowe staże zagraniczne w USA i Francji (w sumie 30 miesięcy) oraz 4 staże krótkoterminowe we Francji i w Niemczech.



dr n. med. Agata Mulak

Wrocław, 03.04.2013 r.