AUTOREFERAT

Dr n. med. Maciej Sałaga

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

Łódź 2019

1. **Imię i nazwisko:** Maciej Sałaga

2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:**

12.2016 – stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej nadany przez Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Nowe potencjalne środki terapeutyczne pochodzenia naturalnego i syntetycznego o działaniu przeciwbiegunkowym, przeciwzapalnym i przeciwbólowym w układzie pokarmowym". Promotor: prof. dr hab. Jakub Fichna
06.2012 – tytuł zawodowy magister biotechnologii uzyskany na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Tytuł pracy magisterskiej: „Geny i enzymy szlaku syntezy biotyny w wybranych gatunkach roślin; analizy bioinformatyczne". Promotor: dr hab. Tomasz Sakowicz
06.2010 – stopień licencjata uzyskany na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Tytuł pracy licencjackiej: „Choroby pasożytnicze wywoływane przez pierwotniaki". Promotor: dr Katarzyna Dzitko.

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

05.2018 – obecnie – Główny specjalista ds. badań naukowych, Zakład Biochemii, Międzywydziałowa Katedra Chemii i Biochemii Medycznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.
05.2018 – obecnie – Adiunkt w Zakładzie Biochemii, Międzywydziałowa Katedra Chemii i Biochemii Medycznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.
10.2016 – 04.2018 – Asystent w Zakładzie Biochemii, Międzywydziałowa Katedra Chemii i Biochemii Medycznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

4. **Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.).**

a. Tytuł osiągnięcia naukowego: **Scharakteryzowanie nowych celów farmakologicznych oraz ocena aktywności terapeutycznej nowych związków o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbólowym w chorobach przewodu pokarmowego.**

b. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (autorzy, tytuł publikacji, rok wydania, nazwa czasopisma, tom, numery stron):

1. **Sałaga M**, Binienda A, Piscitelli F, Mokrowiecka A, Cygankiewicz AI, Verde R, Malecka-Panas E, Kordek R, Krajewska WM, Di Marzo V, Fichna J. Systemic administration of serotonin exacerbates abdominal pain and colitis via interaction with the endocannabinoid system. 2019, Biochem Pharmacol, 161:37-51 **(IF=4.235, MNiSW=40)**.

2. **Sałaga M**, Binienda A, Tichkule RB, Thakur GA, Makriyannis A, Storr M, Fichna J. The novel peripherally active cannabinoid type 1 and serotonin type 3 receptor agonist AM9405 inhibits gastrointestinal motility and reduces abdominal pain in mouse models mimicking irritable bowel syndrome. 2018, Eur J Pharmacol, 836:34-43 **(IF=3.040, MNiSW=30)**.

3. Binienda A, Storr M, Fichna J, **Sałaga M**. Efficacy and Safety of Serotonin Receptor Ligands in the Treatment of Irritable Bowel Syndrome: A Review. 2018, Curr Drug Targets, 19(15):1774-1781 **(IF=3.112, MNiSW=35)**.

4. **Sałaga M**, Binienda A, Draczkowski P, Kosson P, Kordek R, Jozwiak K, Fichna J. Novel peptide inhibitor of dipeptidyl peptidase IV (Tyr-Pro-D-Ala-NH(2)) with anti-inflammatory activity in the mouse models of colitis. 2018, Peptides, 108:34-45 **(IF=2.851, MNiSW=25)**.

5. **Sałaga M**, Mokrowiecka A, Jacenik D, Cygankiewicz AI, Malecka-Panas E, Kordek R, Krajewska WM, Sobocinska MK, Kamysz E, Fichna J. Systemic Administration of Sialorphin Attenuates Experimental Colitis in Mice via Interaction With Mu and Kappa Opioid Receptors. 2017, J Crohns Colitis, 11(8):988-998 **(IF=6.637, MNiSW=40)**.

6. **Sałaga M**, Mokrowiecka A, Zielinska M, Malecka-Panas E, Kordek R, Kamysz E, Fichna J. New Peptide Inhibitor of Dipeptidyl Peptidase IV, EMDB-1 Extends the Half-Life of GLP-2 and Attenuates Colitis in Mice after Topical Administration. 2017, J Pharmacol Exp Ther, 363(1):92-103 **(IF=3.706, MNiSW=35)**.

Punktacja wg list MNiSW oraz współczynnik impact factor prac umieszczonych w dysertacji:
5 publikacji oryginalnych o wartości **170** punktów MNiSW oraz współczynniku **IF = 20,469.**
1 publikacja poglądowa o wartości **35** punktów MNiSW oraz współczynniku **IF = 3,112.**
Łącznie: IF = 23,581; MNiSW = 205.

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

Wprowadzenie

Nieswoiste zapalenia jelit

Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ) to grupa przewlekłych zaburzeń żołądkowo-jelitowych do których zalicza się chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Chociaż etiologia NZJ nie została jak dotąd w pełni poznana, istnieje wiele dowodów na to, że zaburzenia funkcji układu odpornościowego, a także czynniki genetyczne i środowiskowe odgrywają istotną rolę w ich patogenezie. W przebiegu NZJ obserwuje się nadmierną aktywacją układu odpornościowego, w czasie której dochodzi do infiltracji ścian jelit komórkami układu odpornościowego takimi jak limfocyty T, komórki tuczne, makrofagi i neutrofile. Komórki te

produkują czynniki prozapalne, które są odpowiedzialne za wystąpienie objawów klinicznych choroby.

Do głównych celów w terapii NZJ zalicza się kontrolę stanu zapalnego i łagodzenie objawów klinicznych, które obejmują m.in. bóle brzucha i zaburzenia motoryki jelit, skutkujące występowaniem biegunki. Do standardowych metod leczenia NZJ zalicza się niespecyficzne leki przeciwzapalne i immunosupresyjne, takie jak kwas 5-aminosalicylowy czy kortykosteroidy, a także antybiotyki oraz przeciwciała przeciwko TNF-α oraz białkom warunkującym migrację limfocytów T ściany jelita. Ze względu na niewystarczającą skuteczność leków i/lub wysokie ryzyko działań ubocznych, a także rosnącą liczbę zachorowań na NZJ, konieczne jest opracowanie nowych i skutecznych farmakoterapii.

Zespół jelita drażliwego

Zespół jelita drażliwego (ang. *irritable bowel syndrome*, IBS) jest jednym z najczęściej występujących zaburzeń czynnościowych układu pokarmowego, które szczególnie dotyka populacje krajów wysoko rozwiniętych. Charakterystyczne cechy IBS to przewlekłe i/lub nawracające bóle brzucha, zmiana częstości wypróżnień oraz związany z tymi objawami dyskomfort. Na podstawie dominujących objawów wyróżnia się trzy podstawowe typy IBS: z dominującą biegunką (ang. *diarrhea-predominant* IBS, IBS-D), z dominującymi zaparciami (ang. *constipation-predominant* IBS, IBS-C) oraz IBS, w którym biegunka i zaparcia występują okresowo (ang. *alternating* IBS, IBS-A). Jelitowym objawom IBS często towarzyszą dolegliwości ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN), takie jak depresja i zaburzenia osobowości. Szacuje się, że 5-20% osób na świecie cierpi na IBS. Diagnoza, opierająca się głównie na wykluczeniu innych chorób układu pokarmowego, np. celiakii czy nowotworu jelita grubego, dokonywana jest na podstawie tzw. Kryteriów Rzymskich. Nieleczony IBS może doprowadzić do znacznego spadku jakości życia pacjenta.

Obecnie nie ma w pełni skutecznej terapii IBS, a stosowane leczenie jest w dużej mierze objawowe. Dotychczas jedynie kilka grup leków znalazło zastosowanie w łagodzeniu objawów IBS, w tym antagoniści receptorów 5-HT3, selektywne inhibitory wychwytu serotoniny, antagoniści czynnika uwalniającego kortykotropinę (CRF-1) i melatonina. Ponieważ jednym z czynników uznawanych za przyczynę IBS są zmiany w mikrobiomie, w leczeniu choroby bierze się pod uwagę stosowanie antybiotyków i suplementację probiotykami. Ponadto, ze względu na brak w pełni skutecznej terapii w leczeniu tej choroby, pacjenci cierpiący na IBS stosują metody zaliczane do medycyny alternatywnej - ziołowe preparaty, pochodzące głównie z Chin, olejki eteryczne i akupunkturę.

Główne cele naukowe prowadzonych badań

Znaczący wzrost zapadalności na choroby układu pokarmowego jest jedną z przyczyn poszukiwań nowych, specyficznych, a przede wszystkim skutecznych terapeutyków. Do prowadzenia badań w tym kierunku skłaniają również wysokie koszty leczenia i długotrwałej opieki medycznej nad pacjentami.

Obecnie największe nadzieje na postęp w opracowywaniu nowych terapii wiąże się z poszukiwaniem kolejnych celów farmakologicznych oraz otrzymaniem nowych substancji o zoptymalizowanym działaniu.

Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej informacje, główne cele naukowe prowadzonych przeze mnie badań to:

- Odkrycie i scharakteryzowanie nowych celów farmakologicznych dla związków o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbólowym w przewodzie pokarmowym.
- Scharakteryzowanie aktywności terapeutycznej nowych związków pochodzenia naturalnego i syntetycznego w poszukiwaniu nowych skutecznych leków na choroby czynnościowe i zapalne przewodu pokarmowego.

Omówienie głównych wyników prac włączonych do rozprawy habilitacyjnej

Jednym z głównych nurtów moich prac badawczych prowadzonych po uzyskaniu stopnia doktora jest analiza interakcji pomiędzy endogennym układem serotoninowym i kanabinoidowym w przewodzie pokarmowym. Celem moich badań jest udzielenie odpowiedzi na pytanie czy interakcje te mogą w znaczący sposób oddziaływać na przebieg chorób zapalnych i czynnościowych przewodu pokarmowego.

Zebrane przeze mnie dane literaturowe sugerowały występowanie negatywnej korelacji pomiędzy poziomem serotoniny i endogennych kanabinoidów w przewodzie pokarmowym. Obserwacja ta stała się podstawą do sformułowania nowej hipotezy badawczej, że jednym z czynników odpowiedzialnych za występowanie przewlekłego bólu trzewnego w przebiegu NZJ są interakcje pomiędzy endogennym układem kanabinoidowym i serotoninowym, które prowadzą do chronicznego obniżenia aktywności układu kanabinoidowego.

Prace badawcze mające na celu zweryfikowanie tej hipotezy prowadziłem w ramach projektu Iuventus Plus MNiSW zatytułowanego „Interakcje pomiędzy endogennym układem kanabinoidowym i serotoninowym w patofizjologii bólu trzewnego w przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit". W pracy, która ukazała się w czasopiśmie *Biochemical Pharmacology* (poz. 1 wykazu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe) zaprezentowałem wyniki badań, które pokazują, że przewlekłe podawanie serotoniny zwierzętom powoduje nasilenie objawów makroskopowych i mikroskopowych stanu zapalnego oraz prowadzi do obniżenia progu bólu trzewnego przy jednoczesnym obniżeniu poziomu endogennych kanabinoidów i ich metabolitów, takich jak anandamid i 2-arachidonoglicerol w jelicie grubym. Obniżenie poziomu tych związków związane było z jednoczesną redukcją ekspresji fosfolipazy D (NAPEPLD), odpowiedzialnej za ich biosyntezę. Wykazałem również, że efekt ten blokowany jest przez selektywnych antagonistów receptorów serotoninowych typu 3 i 4.

W celu translacji uzyskanych wyników z modeli zwierzęcych na warunki kliniczne oznaczyłem ilościowo ekspresję mRNA dla NAPEPLD oraz enzymu odpowiedzialnego za biosyntezę serotoniny w przewodzie pokarmowym, hydroksylazy tryptofanowej 1 (TPH1) w próbkach kolonoskopowych pobranych od pacjentów chorych na NZJ. Wykazałem w ten sposób, że ekspresja genu kodującego NAPEPLD jest znacząco obniżona w bioptatach pobranych od pacjentów cierpiących na wrzodziejące zapalenie okrężnicy. Wykazałem również znacząco podwyższoną ekspresję TPH1 w bioptatach pobranych od pacjentów cierpiących na chorobę Leśniowskiego-Crohna. Wyniki te wstępnie potwierdzają tezę o występowaniu interakcji pomiędzy układem serotoninowym i kanabinoidowym w przebiegu NZJ u ludzi.

Celem naukowym publikacji, która ukazała się w czasopiśmie *European Journal of Pharmacology* (poz. 2 wykazu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe) było scharakteryzowanie aktywności przeciwbiegunkowej i przeciwbólowej nowego związku AM9405 [bromek (2-(2,6-dihydroksy-4-(2-metyloktan-2-yl)fenyl)-1,3-dimetyl-1H-benzo[*d*]imidazol-3-ium)], który jest mieszanym ligandem receptorów kanabinoidowych typu 1 (CB1) i serotoninowych typu 3 (5-HT3). Zbadałem wpływ omawianego związku na kurczliwość mięśni gładkich jelit, motorykę jelit i odczuwanie bólu trzewnego. Aby scharakteryzować mechanizm działania AM9405 wykorzystałem zwierzęta typu knockout dla genów CB1 i CB2 (CB1-/-, CB2-/-) oraz antagonistów receptorów CB1, CB2 oraz 5-HT3. W celu wyjaśnienia czy miejscem działania AM9405 są receptory zlokalizowane w ośrodkowym układzie nerwowym badane związki podawałem bezpośrednio do komór mózgu oraz dootrzewnowo.

Badania wykazały, że AM9405 znacząco obniżył kurczliwość mięśni gładkich jelit myszy ex vivo. Co więcej, AM9405 spowolnił motorykę i złagodził ból trzewny w mysich modelach naśladujących objawy czynnościowych zaburzeń przewodu pokarmowego. Co ciekawe, niektóre efekty AM9405 zostały zahamowane przez antagonistę receptorów 5-HT3. Moje badania wykazały, że stosowanie mieszanych ligandów receptorów CB1 i 5-HT3 może być nową obiecującą strategią farmakologicznego leczenia biegunki i bólu trzewnego.

Zagadnienia dotyczące roli endogennego układu serotoninowego w patofizjologii przewodu pokarmowego podsumowałem w pracy przeglądowej, która ukazała się w czasopiśmie *Current Drug Targets* (poz. 3 wykazu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe). W pracy tej omówiłem wybrane aspekty dotyczące leczenia zaburzeń motoryki jelit i bólu trzewnego za pomocą ligandów receptorów serotoninowych. Publikacja ta zawiera podsumowanie informacji literaturowych na temat cząsteczek wykorzystywanych w terapii z uwzględnieniem ich efektywności, mechanizmu działania i możliwych efektów ubocznych. Ponadto w artykule tym omówiłem, w oparciu o najnowsze prace eksperymentalne, perspektywy związane z wykorzystania ligandów receptorów serotoninowych w leczeniu chorób przewodu pokarmowego.

Istotnym elementem omawianego osiągnięcia naukowego jest również opracowanie nowej, potencjalnej metody leczenia chorób zapalnych przewodu pokarmowego. Istotą tej strategii jest blokowanie aktywności biologicznej enzymów proteolitycznych za pomocą naturalnych i syntetycznych peptydowych inhibitorów. Nadmierna aktywność enzymów proteolitycznych, których źródłem są komórki układu immunologicznego, obserwowana jest w tkankach objętych stanem zapalnym. Enzymy te przyczyniają się do uszkodzenia tkanek i sekrecji cytokin prozapalnych takich jak (TNFα), a także degradują endogenne czynniki przeciwzapalne i regeneracyjne, takie jak peptydy opioidowe i pochodne proglukagonu.

W pracy opublikowanej w periodyku *Journal of Crohn's and Colitis* (poz. 5 wykazu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe) opisałem działanie sialorfiny (QHNPR) naturalnego, peptydowego inhibitora proteaz takich jak neprylizyna (CD10) i aminopeptydaza N (CD13) jako związku o działaniu przeciwzapalnym w przewodzie pokarmowym. Wyniki moich badań po raz pierwszy wykazały, że systemowe podawanie sialorfiny powoduje zahamowanie reakcji zapalnej w jelitach i znacząco łagodzi objawy makroskopowe i

mikroskopowe (uszkodzenia tkanek) oraz obniża poziom markerów stanu zapalnego (cytokin prozapalnych). Dodatkowo zastosowanie antagonistów receptorów opioidowych pozwoliło wykazać, że ścieżki zależne od tych receptorów zaangażowane są w opisywany efekt terapeutyczny sialorfiny.

W celu translacji uzyskanych wyników z modeli zwierzęcych na warunki kliniczne oznaczyłem ilościowo ekspresję CD10 i CD13 w próbkach kolonoskopowych pobranych od pacjentów chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Wykazałem w ten sposób, że ekspresja genów kodujących CD10 i CD13 jest znacząco podwyższona w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna. Obserwacja ta potwierdza, że regulacja aktywności badanych enzymów przy pomocy ich naturalnych inhibitorów, takich jak sialorfina i/lub jej analogi może znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób zapalnych jelit.

Kolejny, ważny nurt moich badań związany jest z projektowaniem i oceną potencjalnej aktywności terapeutycznej nowych inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV (DPP IV). DPP IV jest enzymem, który odpowiada za inaktywację ważnych z punktu widzenia przewodu pokarmowego pochodnych proglukagonu (hormonów inkretynowych), takich jak GLP-1 i -2 (*ang. glucagon-like peptide-1, -2*). GLP-1 odpowiada za utrzymanie prawidłowego poziomu glukozy we krwi, a syntetyczne inhibitory DPP IV są już stosowane w terapii cukrzycy typu 2. GLP-2 jest hormonem, który przyspiesza regenerację komórek nabłonkowych jelit i gojenie ran powstałych np. w wyniku chronicznego stanu zapalnego.

Prace prowadziłem w ramach programu PRELUDIUM Narodowego Centrum Nauki zatytułowanego „Nowe peptydowe inhibitory dipeptydylopeptydazy IV (DPP IV) jako leki o działaniu przeciwcukrzycowym i przeciwzapalnym w układzie pokarmowym". Celem moich badań było zaprojektowanie, otrzymanie i scharakteryzowanie aktywności biologicznej nowych peptydowych inhibitorów DPP IV o działaniu przeciwcukrzycowym i/lub przeciwzapalnym w układzie pokarmowym. Najważniejszym osiągnięciem naukowym wynikającym z moich badań było otrzymanie i scharakteryzowanie aktywności przeciwzapalnej nowej pochodnej endomorfiny-2, związku EMDB-1 (Tyr-Pro-D-ClPhe-Phe-NH_2), który w warunkach in vitro jest silnym inhibitorem DPP IV, hamującym degradację GLP-2. Wykazałem również, że związek ten, podawany doodbytniczo hamuje rozwój stanu zapalnego jelit w sposób zależny od dawki w mysich modelach choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Szczególnie ciekawy jest fakt, że efekt ten obserwowany jest również w modelu chronicznego i nawracającego zapalenia okrężnicy, który bardzo przypomina swoim przebiegiem i objawami chorobę Leśniowskiego-Crohna u ludzi. Ponadto badania biomolekularne wykazały, że leczenie związkiem EMDB-1 znacząco podwyższa poziom GLP-2 w przewodzie pokarmowym, a efekt ten jest silniejszy u zwierząt z wywołanym stanem zapalnym jelit niż u zwierząt kontrolnych. Opisywane wyniki zostały opublikowane na łamach czasopisma *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (poz. 6 wykazu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe).

Ponadto, otrzymałem i scharakteryzowałem działanie 6 nowych pochodnych związku EMDB-1, których aktywność inhibitorowa względem DPP IV została zmierzona w warunkach in vitro. Badanie przesiewowe, które przeprowadziłem wykazało, że jedna z nowych pochodnych - związek DI-1 (Tyr-Pro-D-Ala-NH_2) jest silnym inhibitorem DPP IV (IC_{50}=0.76

± 0.04 nM). Ponadto wykonane analizy bioinformatyczne wykazały, że związek ten oddziałuje z resztami aminokwasowymi znajdującymi się w centrum aktywnym enzymu. Ten etap badań wykonany został we współpracy z Zakładem Biofarmacji Collegium Pharmaceuticum Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, w którym odbyłem dwa staże badawcze pod opieką prof. Krzysztofa Jóźwiaka.

Stosując modele zwierzęce choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego wykazałem, że DI-1 hamuje rozwój stanu zapalnego jelit po podaniu lokalnym (doodbytniczym). Podobnie jak w przypadku EMDB-1 efekt ten był również obecny w modelu chronicznego i nawracającego zapalenia okrężnicy. Badania biomolekularne wykazały, że leczenie związkiem DI-1 znacząco podwyższa poziom GLP-2 w przewodzie pokarmowym. Opisywane wyniki zostały opublikowane na łamach czasopisma *Peptides* (poz. 4 wykazu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe).

Podsumowanie

Najważniejsze odkrycia zaprezentowanego osiągnięcia naukowego:

1. Wykazanie interakcji pomiędzy endogennym układem serotoninowym i kanabinoidowym w przebiegu stanu zapalnego jelita grubego. Interakcja ta prowadzi do zahamowania syntezy endogennych kanabinoidów i obniżenie progu bólowego.
2. Wykazanie, że związek AM9405, który jest mieszanym ligandem receptorów kanabinoidowych i serotoninowych wykazuje działanie przeciwbiegunkowe i przeciwbólowe w przewodzie pokarmowym.
3. Scharakteryzowanie aktywności przeciwzapalnej i mechanizmu działania dwóch nowych, peptydowych inhibitorów DPP IV, które po podaniu lokalnym łagodzą stan zapalny jelita grubego.
4. Wykazanie, że sialorfina, która jest naturalnym inhibitorem aminopeptydazy N i neprylizyny działa przeciwzapalnie w mysich modelach chorób zapalnych jelit w sposób zależny od receptorów opioidowych.

Znaczenie otrzymanych wyników i perspektywy na przyszłość

Objawy związane z NZJ są odpowiedzialne za około 5% wszystkich konsultacji medycznych, a częstość występowania tych chorób ma tendencję wzrostową. Rosnące koszty leczenia pacjentów (konsultacje, procedury diagnostyczne, leczenie farmakologicznego), jak i koszty wynikające z częstszej absencji i zmniejszenie wydajności pracy osób cierpiących na NZJ decydują o znaczącym obciążeniu ekonomicznym.

Wzrost częstości występowania chorób zapalnych układu pokarmowego stwarza potrzebę opracowania nowych, specyficznych, a przede wszystkim skutecznych produktów leczniczych. Stosowane obecnie leki o działaniu przeciwbiegunkowym, przeciwzapalnym i przeciwbólowym w układzie pokarmowym mogą powodować wiele efektów ubocznych, takich jak obniżenie odporności czy uszkodzenie wątroby wywoływane przez długoterminowe

stosowanie leków steroidowych czy przewlekłą biegunkę i gorączkę wywoływane przez stosowanie przeciwciał anty-TNFα.

Badania, które prowadzę mają charakter badań podstawowych o aspekcie przedklinicznym, ale zawierają również elementy badań kliniczno-epidemiologicznych. Uzyskane przeze mnie wyniki istotnie rozszerzają stan wiedzy na temat patofizjologii choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego oraz otwierają nowe perspektywy w obszarze chemii medycznej, których celem może być opracowanie nowych związków o działaniu przeciwzapalnym celujących w endogenny układ serotoninowy, kanabinoidowy oraz proteazy.

Prawdopodobne jest również, że prowadzone przeze mnie badania przyczynią się do rozwoju nowych narzędzi farmakologicznych dla przyszłych działań naukowych w zakresie syntezy i testowania nowych leków.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Udział w projektach badawczych jako kierownik projektu:

1. 2018 – 2021: **TEAM/2017-4/33** (Fundacja Na Rzecz Nauki Polskiej). „Free Fatty Acid receptors (FFAs) as a new pharmacological target in inflammatory bowel disease: validation of hypothesis and design of novel drug candidates". Wartość finansowania: 3 149 081 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi (zastępca kierownika projektu).

2. 2016 – 2018: **Iuventus Plus** (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego). „Interakcje pomiędzy endogennym układem kanabinoidowym i serotoninowym w patofizjologii bólu trzewnego w przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit". Wartość finansowania: 209 880 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

3. 2015 - 2016: **ETIUDA** (Narodowe Centrum Nauki). "Nowe potencjalne środki terapeutyczne pochodzenia naturalnego i syntetycznego o działaniu przeciwbiegunkowym, przeciwzapalnym i przeciwbólowym w układzie pokarmowym". Wartość finansowania: 98 540 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

4. 2014 - 2017: **PRELUDIUM** (Narodowe Centrum Nauki). "Nowe peptydowe inhibitory dipeptydylopeptydazy IV (DPP IV) jako leki o działaniu przeciwcukrzycowym i przeciwzapalnym w układzie pokarmowym". Wartość finansowania: 135 187 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

Udział w projektach jako członek zespołu badawczego/wykonawca projektu:

5. 2014 - 2016: **OPUS** (Narodowe Centrum Nauki). "Aktywność układu opioidowego w patogenezie i terapii chorób zapalnych przewodu pokarmowego u myszy o wysokiej i niskiej wrażliwości na stres". Wartość finansowania: 800 800 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

6. 2014 - 2016: **OPUS** (Narodowe Centrum Nauki). "Endogenne inhibitory enkefalinaz i ich nowe syntetyczne analogi jako potencjalne leki w terapii chorób układu pokarmowego i bólu trzewnego". Wartość finansowania: 538 470 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

7. 2013 - 2015: **Iuventus Plus** (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego). "Hamowanie degradacji enzymatycznej endogennych opioidów i kannabinoidów jako cel farmakologiczny w leczeniu funkcjonalnych i zapalnych chorób układu pokarmowego". Wartość finansowania: 678 000 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

8. 2013 - 2015: Projekt w ramach umowy pomiędzy Polską Rzeczpospolitą Ludową a Republiką Austrii o współpracy kulturalnej i naukowej, podpisanej w Wiedniu w dniu 14 czerwca 1972 roku. 15/2013 (MNiSW). "Opracowanie nowych metod terapii chorób funkcjonalnych i zapalnych układu pokarmowego opartych na agonistach receptorów opioidowych o działaniu obwodowym". Wartość finansowania: 15 000 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

9. 2013 - 2014: Projekt w ramach umowy o współpracy naukowo-technicznej między Rządem Rzeczypospolitej Polskiej a Rządem Chińskiej Republiki Ludowej, podpisanej w Pekinie w dniu 13 kwietnia 1995 roku. 35-25 (MNiSW). "Charakterystyka aktywności farmakologicznej i mechanizmu działania preparatów pochodzenia roślinnego używanych w polskiej i chińskiej medycynie ludowej w poszukiwaniu nowych leków o działaniu przeciwzapalnych i przeciwbólowym w układzie pokarmowym". Wartość finansowania: 20 000 PLN. Miejsce realizacji: Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

Staże zagraniczne

W 2014 roku odbyłem dwa staże naukowe (łącznie 6 tygodni) w Neurobiology Research Unit, Rigshospitalet, Copenhagen University Hospital, Kopenhaga, Dania pod opieką profesora Jensa Mikkelsena. Celem mojego pobytu było wykonanie analizy immunohistochemicznej wycinków jelita grubego pobranych od zwierząt laboratoryjnych. Uzyskane wyniki, w połączeniu z wynikami uzyskanymi w mojej macierzystej jednostce zostały opublikowane w postaci pracy oryginalnej w czasopiśmie *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.*

W 2015 r. zostałem laureatem projektu ETIUDA Narodowego Centrum Nauki. Program ETIUDA związany jest z wyjazdem na 6-miesięczny staż zagraniczny, który odbyłem w laboratorium dr. Kirilla Martemyanova w Department of Neuroscience, The Scripps Research Institute, Jupiter, FL, USA. Zespół pod kierunkiem dr. Martemyanova prowadzi badania z zakresu biologii molekularnej i medycyny doświadczalnej. Celem badań, które wykonałem podczas pobytu w laboratorium dr. Martemyanova było zidentyfikowanie nowych wewnątrzkomórkowych białek regulatorowych, które mogą być celem dla leków o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwbiegunkowym w układzie pokarmowym. W ośrodku prowadzone są zaawansowane badania nad modulacją sygnałów przekazywanych

przez receptory związane z białkiem G (GPCR) przez białka z rodziny RGS (ang. *Regulator of G protein Signaling*).

Pierwszym zadaniem badawczym było przesiewowe scharakteryzowanie ekspresji białek RGS oraz innych białek regulujących działanie receptorów GPCR w przewodzie pokarmowym myszy z zastosowaniem techniki Western blot. Wszystkie z 16 przebadanych białek są dobrze poznanymi modulatorami sygnałów wewnątrzkomórkowych w mózgu i/lub siatkówce oka, jednak jak do tej pory ich ekspresja w przewodzie pokarmowym nie została udokumentowana. Prace badawcze, które wykonałem doprowadziły do odkrycia, że białko RGS6 ulega ekspresji w jelicie cienkim i grubym. Wyniki te zostały potwierdzone z wykorzystaniem techniki RNA-Seq.

Uzyskane wyniki badań pozwoliły na kontynuację współpracy pomiędzy moją macierzystą jednostką a The Scripps Research Institute. W ramach tej współpracy do zwierzętarni Uniwersytetu Medycznego w Łodzi dostarczono zwierzęta o wyciszonej ekspresji białka RGS6 (RGS6-/-), na których prowadzone są badania mające na celu scharakteryzowanie funkcji jaką pełni to białko w przewodzie pokarmowym w warunkach fizjologicznych i patofizjologicznych.

Ponadto, zaangażowany zostałem w jeden z projektów, który prowadzony był w zespole dr. Martemyanova w trakcie mojego pobytu w jego laboratorium. Projekt ten miał na celu scharakteryzowanie mechanizmów molekularnych poprzez które białko NF1 (ang. *Neurofibromin type 1*) wpływa na neuronalne ścieżki sygnałowe, których wtórnym efektorem jest cyklaza adenylanowa (AC). Mutacje w genie białka NF1 są przyczyną występowania neurofibromatozy typu 1 u ludzi. Do jej głównych objawów należy powstawanie łagodnych i/lub złośliwych guzów w obrębie układu nerwowego, co powiązane jest z obniżoną aktywnością NF1 jako czynnika hamującego proliferację komórek.

Moim zadaniem w tym projekcie było scharakteryzowanie aktywności AC5 w prążkowiu myszy o miejscowo wyciszonej ekspresji białka NF1. Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że bazowa aktywność AC5 jest niższa w prążkowiu zwierząt o zahamowanej ekspresji NF1 co wskazuje na istotną funkcję NF1 w utrzymaniu odpowiednio wysokiej aktywności ścieżek w których cAMP jest wtórnym przekaźnikiem. Zaobserwowałem również, że przyczyną tego efektu jest znacząco upośledzona aktywność AC5 u zwierząt pozbawionych NF1.

Praca dydaktyczna

Od roku 2012 do dnia dzisiejszego prowadzę zajęcia (ćwiczenia laboratoryjne i seminaria) z przedmiotu Biochemia ze studentami II roku kierunku lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W latach 2016-2017 prowadziłem również zajęcia fakultatywne w formie seminariów pt.: „Przygotowanie studenta kierunku lekarskiego do zawodu naukowca".

Od 2013 roku jestem zaangażowany w prace Koła Naukowego Młodych Farmakologów prowadzonego w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi przez prof. Jakuba Fichnę. Jestem opiekunem dwóch studentów: Agaty Biniendy i Adriana Bartoszka, którzy wykonują prace naukowe w ramach indywidualnego toku studiów.

Jestem promotorem pomocniczym w dwóch przewodach doktorskich realizowanych na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi:

Lek. Hubert Zatorski, praca pt.: „Potencjał diagnostyczno-terapeutyczny hormonów inkretynowych oraz hormonów tkanki tłuszczowej w procesach zapalnych przewodu pokarmowego i chorobach metabolicznych". Promotor: prof. Jakub Fichna. Data otwarcia przewodu: 12.2017.

Lek. Anna Zielińska, praca pt.: „Analiza zależności pomiędzy nawykami żywieniowymi i nasileniem bólu oraz parametrami stresu oksydacyjnego u pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit". Promotor: prof. Jakub Fichna. Data otwarcia przewodu: 03.2019.

Działalność recenzencka

Recenzuję publikacje dla następujących czasopism o zasięgu międzynarodowym:

- *Biomolecules*
- *BMC Gastroenterology*
- *Current Drug Targets*
- *Expert Opinion on Drug Discovery*
- *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*
- *Food and Function*
- *Frontiers in Systems Neuroscience*
- *Fundamental and Clinical Pharmacology*
- *Medicinal Chemistry*
- *Neurogastroenterology and Motility*
- *Naunyn-Schmiedbergs Archives of Pharmacology*
- *Pharmaclogical Reports*
- *World Journal of Pediatrics*

Działalność popularyzująca naukę i sztukę

Jedną z moich dodatkowych aktywności jest praca na rzecz popularyzacji nauki, przede wszystkim we współpracy z Akademią Młodych Uczonych (AMU). Uczestniczyłem w prezentacjach popularnonaukowych AMU na XVIII Festiwalu Nauki w Jabłonnie, Pikniku Naukowym Polskiego Radia i Centrum Nauki Kopernik w Warszawie w 2015 i 2018 roku, Europejskiej Nocy Naukowców „Fusion Night" w Olsztynie i Latającej Kawiarence Naukowej Akademii Młodych Uczonych w 2017 roku. Ponadto w 2015 r. jako przewodniczący rady programowej i w 2016 r. jako członek rady programowej brałem udział w organizacji warsztatów dla doktorantów „Kuźnia Młodych Talentów" pod auspicjami AMU Polskiej Akademii Nauk. Celem warsztatów było przeprowadzenie interaktywnych zajęć praktycznych i teoretycznych, które rozwiną kompetencje młodych naukowców oraz pozwolą im nabyć umiejętności praktycznych niezbędnych zarówno na wczesnych, jak i późniejszych etapach kariery naukowej (zajęcia z biostatystyki, wizualizacji wyników badań, autoprezentacji i pisania publikacji naukowych).

W 2017 roku rozpocząłem prace w Young Talent Group przy Europejskiej Unii Gastroenterologii (UEG). Celem YTG jest promowanie gastroenterologii jako nauki wśród młodych Europejczyków. Jednym z zadań, które zostały mi powierzone był aktywny udział w działalności Public Affairs Committee, którego celem jest promowanie gastroenterologii w strukturach administracji Unii Europejskiej. W ramach pracy dla UEG brałem udział w spotkaniach z europosłami w Parlamencie Europejskim, których celem była prezentacja problemów związanych z chorobami przewodu pokarmowego w Europie. Byłem również odpowiedzialny za przygotowywanie sekcji przeznaczonej dla młodych naukowców w czasopiśmie UEG Journal.

Nagrody i wyróżnienia międzynarodowe:

1. 2018, Wiedeń, Austria: Stypendium zjazdowe przyznane przez komitet organizacyjny United European Gastroenterology Week.
2. 2017, Rzym, Włochy: Zaproszenie na Basic Science Course: Gut microbiota organizowany przez Europejską Unię Gastroenterologii.
3. 2016, Wiedeń, Austria: Stypendium zjazdowe przyznane przez komitet organizacyjny United European Gastroenterology Week.
4. 2015, Amsterdam, Holandia: Zaproszenie na Basic Science Course: IBD Models & Methods organizowany przez Europejską Unię Gastroenterologii
5. 2014, Monachium, Niemcy: Zaproszenie na Basic Science Course: Hot topics in GI cancer organizowany przez Europejską Unię Gastroenterologii.
6. 2013, Wiedeń, Austria: Zaproszenie na Young Investigators Meeting organizowany przez Europejską Unię Gastroenterologii.
7. 2013, Guildford, Wielka Brytania: Stypendium zjazdowe przyznane przez komitet organizacyjny i wybór do udzuału w Junior Scientists Symposium na European Opioid Conference.

Nagrody i wyróżnienia krajowe:

8. 2018, Stypendium START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej dla wyróżniających się młodych naukowców.
9. 2017, Stypendium dla Wybitnych Młodych Naukowców przyznane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa wyższego na lata 2018-2021.
10. 2015, Laureat konkursu „Supertalenty 2016" organizowanego przez „Puls Medycyny".
11. 2016, Specjalne wyróżnienie „Nadzieja Polskiej Farmakologii" przyznane przez komisję oceniającą kandydatów w konkursie „Supertalenty 2016".
12. 2015, Stypendium naukowe Naukowej Fundacji Polfarmy dla doktorantów.
13. 2014, Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za wybitne osiągnięcia naukowe.
14. 2014, Wrocław, Polska: Nagroda dla autorów poniżej 35 roku życia przyznana przez Komitet Naukowy Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii.
15. 2013, Lublin, Polska: Stypendium zjazdowe przyznane przez komitet organizacyjny VIIIth Joint Meeting on Medicinal Chemistry.

Nagrody i wyróżnienia lokalne:

16. 2018, Nagroda zespołowa I stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.
17. 2018, Nagroda Łódzkiego Oddziału PAN dla młodych naukowców z Województwa Łódzkiego.
18. 2017, Nagroda zespołowa I stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.
19. 2016, Nagroda „Łódzkie Eureka 2015" przyznana przez Radę ds. Szkolnictwa Wyższego i Nauki przy Prezydencie Miasta Łodzi.
20. 2015, Nagroda zespołowa I stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.
21. 2015, Udział w projekcie "Nauka Drogą do Biznesu" - program dla doktorantów z Województwa Łódzkiego organizowany przez Urząd Marszałkowski.
22. 2013/2014, Stypendium motywacyjne i stypendium dla najlepszych doktorantów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wystąpienia konferencyjne z wiodącym autorstwem:

1. 20 – 24.10.2018, **Sałaga, M.**, Binienda, A., Piscitelli, F., Di Marzo, V., Fichna, J. Crosstalk between serotonin and endocannabinoid systems in the gut contributes to the abdominal pain in colitis. 26th United European Gastroenterology Week, Wiedeń, Austria (prezentacja plakatowa).
2. 15 - 20.10.2016, **Sałaga, M.**, Mosinska, P., Zatorski, H., Zielinska, M., Fichna, J. New peptide inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, EMDB-1 attenuates colitis in mice after topical administration. 24th United European Gastroenterology Week, Wiedeń, Austria (prezentacja ustna).
3. 18 - 22.10.2014, **Sałaga, M.**, Zatorski, H., Sobczak, M., Piechota-Polańczyk, A., Storr, M., Fichna, J. Activation of CB2 receptors has gastroprotective effect on experimentally induced gastric ulcers in mice. 22nd United European Gastrenetrology Week, Wiedeń, Austria (prezentacja plakatowa).
4. 25 - 27.09.2014, **Sałaga, M.**, Zatorski, H., Sobczak, M., Piechota-Polańczyk, A., Storr, M., Fichna, J. Selektywne pobudzenie receptorów CB2 działa gastroprotekcyjnie w mysich modelach wrzodów żołądka XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Wrocław, Polska (prezentacja plakatowa).
5. 30.06 - 4.07.2013, **Sałaga, M.**, Polepally, PR., do-Rego, JC., Sobczak, M., Roth, BL., Zjawiony, JK., Fichna, J. The effect of novel orally avaliable salvinorin A analog PR-38 on gastrointestinal motility and abdominal pain in mice. VIIth Joint Meeting on Medicinal Chemistry, Lublin, Polska (prezentacja ustna).
6. 10-12.04.2013, **Sałaga, M.**, Polepally, PR., do-Rego, JC., Sobczak, M., Roth, BL., Zjawiony, JK., Fichna, J. Novel orally avaliable salvinorin A analog PR-38 inhibits gastrointestinal motility and reduces abdominal pain in mice European Opioid Conference, Guildford, Surrey Wielka Brytania (prezentacja ustna).