UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

AUTOREFERAT

Dr n. med. Marta Zielińska

Zakład Biochemii

Międzywydziałowa Katedra Chemii i Biochemii Medycznej

Wydział Lekarski

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Łódź 2019

1. Imię i Nazwisko

Marta Zielińska (z d. Sobczak)

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

2016 Stopień doktora nauk medycznych w dziedzinie biologii medycznej, Wydział Lekarski,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Tytuł rozprawy doktorskiej: *„Endogenny układ opioidowy i nocyceptynowy jako nowe potencjalne cele farmakologiczne dla terapeutyków działających w układzie pokarmowym"*
Promotor: Prof. dr hab. n. med. Jakub Fichna

2012 Tytuł magistra, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, kierunek: biotechnologia medyczna
Tytuł pracy magisterskiej: *"Various methods of extraction of polyphenols from Oenothera paradoxa seeds"*
Promotor: dr Małgorzata Bukowiecka-Matusiak

2012 Tytuł licencjata, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki, kierunek: chemia
Temat pracy licencjackiej: *„α-hydroksykwasy – synteza i zastosowanie w kosmetykach"*
Promotor: dr Anna Wrona-Piotrowicz

2010 Tytuł licencjata, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, kierunek: biotechnologia medyczna
Tytuł pracy licencjackiej: *„Kwasy nukleinowe jako katalizatory reakcji chemicznych"*
Promotor: dr Małgorzata Bukowiecka-Matusiak

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

- **1.10.2018-obecnie**
  Adiunkt posiadający stopień doktora
  Zakład Biochemii
  Uniwersytet Medyczny w Łodzi
- **13.01.2016-30.09.2018**
  Asystent posiadający stopień doktora
  Zakład Biochemii
  Uniwersytet Medyczny w Łodzi
- **2.11.2015- 12.01.2016**
  Asystent
  Zakład Biochemii
  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. 2017 r. poz. 1789):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

„Scharakteryzowanie działania wybranych ligandów receptorów sprzężonych z białkami G w przewodzie pokarmowym w poszukiwaniu nowej terapii zespołu jelita nadwrażliwego"

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy)

1. **Zielińska M.** IBS Patient's Guide w "Introduction to gastrointestinal diseases Vol. 1". Springer International Publishing AG. 2017

2. Szymaszkiewicz A, Storr M, Fichna J, **Zielińska M.** Enkephalinase inhibitors, potential therapeutics for the future treatment of diarrhea predominant functional gastrointestinal disorders. *Neurogastroenterology and Motility*. 2019;31(4):e13526
   (Współczynnik Impact Factor: 3.84, punkty MNiSW: 30)

3. Fabisiak A, Sobocińska M, Kamysz E, Fichna J, **Zielińska M.** Antinociceptive potency of enkephalins and enkephalinase inhibitors in the mouse model of colorectal

distension-proof-of-concept. *Chemical Biology & Drug Design.*2018;92(1):1387-1392. doi: 10.1111/cbdd.13186.
(Współczynnik Impact Factor: 2.33, punkty MNiSW: 25)

4. **Zielińska M***, Jarmuż A*, Wasilewski A, Cami-Kobeci G, Husbands S, Fichna J. Methyl-orvinol – Dual activity opioid receptor ligand inhibits gastrointestinal transit and alleviates abdominal pain in the mouse models mimicking diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Pharmacological Reports*. 2017;69(2):350-357. doi: 10.1016/j.pharep.2016.12.001
   * równy udział autorów
   (Współczynnik Impact Factor: 2.59, punkty MNiSW: 25)

5. **Zielińska M***, Fichna J*, Bashashati M, Habibi S, Sibaev A, Timmermans JP, Storr M. G protein-coupled estrogen receptor and estrogen receptor ligands regulate colonic motility and visceral pain. *Neurogastroenterology and Motility.* 2017;29(7). doi: 10.1111/nmo.13025.
   * równy udział autorów
   (Współczynnik Impact Factor: 3.62, punkty MNiSW: 30)

6. Szymaszkiewicz A*, **Zielińska M***, Li K, Ramanathan M, Alam S, Hou DR, Fichna J, Storr M. Novel derivatives of 1,2,3-triazole, cannabinoid-1 receptor ligands modulate gastrointestinal motility in mice. *Naunyn-Schmiedebergs'Archives of Pharmacology.* 2018;391(4):435-444. doi: 10.1007/s00210-018-1465-9..
   * równy udział autorów
   (Współczynnik Impact Factor: 2.24, punkty MNiSW: 25)

Współczynnik Impact Factor i punkty MNiSW prac umieszczonych w dysertacji:
4 publikacje oryginalne o współczynniku IF: 10.78, punkty MNiSW: 105
1 publikacja poglądowa o współczynniku IF 3.84, punkty MNiSW: 30
1 rozdział monograficzny
Sumaryczny współczynnik IF: 14.62, punkty MNiSW: 135

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

I. Wprowadzenie

Zespół jelita nadwrażliwego (ZJN, ang. *Irritable Bowel Syndrome, IBS*) należy do grupy chorób czynnościowych układu pokarmowego. Choroba ta jest rozpoznawana u ok. 50% wszystkich pacjentów zgłaszających się do poradni gastroenterologicznych. ZJN dotyczy zarówno mężczyzn, jak i kobiet w każdej grupie wiekowej, jednakże w niemal 70% przypadków jest rozpoznawany u kobiet między 20. a 40. rokiem życia. Może to być związane z gospodarką hormonalną, lub faktem, że kobiety gorzej znoszą przypadłości pochodzące ze strony przewodu pokarmowego i częściej zgłaszają się do poradni.

Do głównych objawów ZJN zalicza się nawracające dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego w obrębie układu pokarmowego, do których należą m.in. zaburzona perystaltyka jelit, ból brzucha, nudności, zgaga, uczucie wzdęcia czy „przelewania w brzuchu". Ze względu na zmienioną motorykę przewodu pokarmowego wyróżnia się kilka podtypów ZJN: postać biegunkową, zaparciową i mieszaną (z okresami, w których naprzemiennie występują biegunki i zaparcia). Wśród podtypów ZJN wymienia się również poinfekcyjną, rozpoznawaną w następstwie przebytego zakażenia bakteryjnego (głównie żołądka lub jelit).

Zgodnie z obecnie dostępną literaturą proces trawienia i wchłaniania pokarmów nie różni się u osób cierpiących na ZJN i zdrowych, nie obserwuje się zmian anatomicznych czy uszkodzeń w obrębie ścian jelita. U chorych na ZJN pojawia się jednak nadwrażliwość trzewna, czyli nadmierna wrażliwość na bodźce bólowe.

Objawy, które nie są związane z ZJN, ale często współtowarzyszą tej chorobie to bóle głowy, mięśni i pleców, uczucie zmęczenia, częste oddawanie moczu oraz zawroty głowy. Współistniejącym schorzeniem gastroenterologicznym są zaburzenia somatyczne, takie jak refluks żołądkowo-przełykowy, dyspepsja czynnościowa; w ZJN może dojść do śródmiąższowego zapalenia pęcherza moczowego. Ważnym aspektem ZJN są zaburzenia psychiatryczne (lęk, depresja, zaburzenia snu).

Terapia ZJN wymaga indywidualnego podejścia do każdego pacjenta oraz wielotorowego działania.

Leczenie ZJN przebiega wielotorowo i wymaga indywidualnego podejścia do każdego pacjenta. Pierwszym krokiem w leczeniu ZJN są metody niefarmakologiczne (np. zmiana

diety, terapia psychologiczna, unikanie sytuacji stresogennych). Odzyskanie równowagi psychicznej przez chorego wydaje się mieć ogromne znaczenie w kontrolowaniu przebiegu choroby. Terapia poznawczo-behawioralna opiera się na założeniu, że objawy IBS są wynikiem nieprawidłowej odpowiedzi na czynniki stresogenne.

Leczenie farmakologiczne chorych na ZJN polega głównie na łagodzeniu i zwalczaniu objawów. Spektrum stosowanych środków terapeutycznych jest szerokie, od probiotyków, prebiotyków, synbiotyków i antybiotyków, leków przeciwbólowych, antydepresyjnych, po podawanie leków przeciwbiegunkowych lub przeciwzaparciowych.

ZJN należy do chorób cywilizacyjnych, ma charakter przewlekły i nawracający, nie powoduje bezpośredniego zagrożenia życia, niemniej prowadzi do obniżenia jakości życia pacjentów, dlatego tak ważne jest po pierwsze znalezienie przyczyny, po drugie opracowanie nowych form terapii, które będą alternatywą dla obecnie dostępnych.

II. Założenia i cele prowadzonych badań

W swojej działalności naukowej zajmuję się badaniem etiopatogenezy chorób czynnościowych przewodu pokarmowego, do których zalicza się ZJN. W badaniach wykorzystuję ligandy wybranych receptorów związanych z białkami G (GPCR, *ang.* G protein-coupled receptors), tj. opioidowych, kanabinoidowych i estrogenowych.

Receptory opioidowe należą do grupy receptorów związanych z GPCR. Wyróżnia się trzy typy receptorów opioidowych: MOP (μ), DOP (δ) i KOP (κ). Receptory te wraz z endogennymi agonistami (endoopioidami) stanowią endogenny układ opioidowy (EOS). Endoopioidy wykazują odmienne powinowactwo do receptorów opioidowych, tj. β-endorfina wiąże się z MOP, Met-enkefalina (Met-enk) i Leu-enkefalina (Leu-enk) są ligandami głównie DOP, a dynorfiny aktywują KOP. Receptory opioidowe występują w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, jak również w tkankach obwodowych, wykazano ich ekspresję w przewodzie pokarmowym - w błonie komórkowej mięśni gładkich oraz w jelitowych splotach nerwowych: splocie błony mięśniowej (uczestniczą w regulacji motoryki przewodu pokarmowego) i podśluzowej (kontrolują procesy wydzielania i wchłaniania). Endoopioidy, aktywując receptory opioidowe, biorą udział w sygnalizacji bólowej i modulują odpowiedź immunologiczną.

Egzogenne opioidy są od lat stosowane w terapii bólu (np. morfina w leczeniu bólu pooperacyjnego czy nowotworowego) czy leczeniu biegunki (np. loperamid). Morfina

wykazuje szereg działań niepożądanych (depresja układu oddechowego, euforia, uzależnienie, rozwój tolerancji), a podanie loperamidu prowadzi do całkowitego zahamowania perystaltyki jelit i w konsekwencji do zaparć, dlatego też te leki nie mogą być przewlekle stosowane.

Od wielu lat trwają badania nad zastosowaniem opioidów w leczeniu ZJN. Do tej pory wprowadzono na rynek farmaceutyczny dwa leki działające poprzez receptory opioidowe: asimadoline – agonistę KOP oraz eluxadoline - mieszanego agonistę MOP i DOP Inną, obiecującą strategią w leczeniu tej jednostki chorobowej jest hamowanie degradacji enkefalin z wykorzystaniem inhibitorów enkefalinaz (np. sjalorfiny i opiorfiny). Inhibitory enkefalinaz nie wywołują tak silnych działań niepożądanych jak opioidy.

W swoich eksperymentach wykorzystałam następujące narzędzia badawcze: Met-enkefalinę, Leu-enkefalinę oraz sjalorfinę i opioirfinę (inhibitory enkefalinaz) i metylo-orvinol (mieszanego agonistę MOP i antagonistę KOP).

Drugą grupą receptorów, którym poświęciłam uwagę są receptory estrogenowe, wśród których wymienia się klasyczne i nieklasyczne receptory estrogenowe. Klasyczne receptory estrogenowe (ERα i ERβ) są zlokalizowane wewnątrz komórki. Receptor nieklasyczny - związany z estrogenami (GPER, *ang.*G protein-coupled estrogen receptor) należy do rodziny GPCR i znajduje się na powierzchni błony komórkowej. Udowodniono wysoką ekspresję GPER w błonie śluzowej jelita, jednak rola GPER w ZJN nie została uprzednio scharakteryzowana.

W swoich badaniach wykorzystałam związki G-1 i G-15 (odpowiednio selektywny agonista i antagonista GPER), β-estradiol (agonista GPER oraz receptorów klasycznych α i β) oraz MPP (antagonista ERα) i PHTPP (antagonista ERβ).

Ostatnią grupą GPCR, nad którymi prowadziłam badania są receptory kanabinoidowe (ang. cannabinoid receptors – CB). Receptory te stanowią komponentę endogennego układu kanabinoidowego, do którego zalicza się ligandy tych receptorów oraz enzymy biorące udział w ich syntezie i degradacji. Wyróżnia się dwa typy receptorów: CB_1 i CB_2. Receptory CB_1 są zlokalizowane głównie w ośrodkowym układzie nerwowym, tkance tłuszczowej, mięśniach szkieletowych, wątrobie i innych narządach, a CB_2 głównie na powierzchni komórek układu odpornościowego. Receptory CB uczestniczą w utrzymaniu homeostazy jelita, m.in. poprzez regulację motoryki, jak również w sygnalizacji bólowej. Udowodniono, że zaburzenia w działaniu endogennego układu kanabinoidowego mają wpływ na pojawienie się objawów

ZJN Ze względu na interesujący profil farmakologiczny w badaniach wykorzystałam nowe pochodne triazolu.

W ramach prowadzonych badań postawiono następujące cele szczegółowe:

a. Ocena aktywności przeciwbólowej inhibitorów enkefalinaz w modelu bólu trzewnego wywołanego przez rozciąganie ścian okrężnicy i odbytnicy.
b. Określenie wpływu aktywacji endogennego układu opioidowego z wykorzystaniem metylo-orvinolu na motorykę przewodu pokarmowego i ból trzewny w modelach zwierzęcych naśladujących ZJN,
c. Zdefiniowanie roli receptorów estrogenowych, w utrzymaniu homeostazy układu pokarmowego z wykorzystaniem β-estradiolu i G-1,
d. Scharakteryzowanie działania pochodnych triazolu w przewodzie pokarmowym.

III. Omówienie wyników będących podstawą rozprawy habilitacyjnej

1. Zielińska M. IBS Patient's Guide w "Introduction to gastrointestinal diseases Vol. 1". Springer International Publishing AG. 2017

Etiopatogeneza ZJN nie została do końca poznana – dotychczas nie udało się jednoznacznie określić podłoża choroby. Wymienia się wiele czynników prowadzących do rozwoju ZJN, tj. podłoże genetyczne; niewłaściwą dietę, nadmierny stres, zaburzenia mikroflory jelitowej czy zdarzenia losowe (urazy w dzieciństwie, infekcje)

W omawianym rozdziale monografii napisałam poradnik zarówno dla pacjenta, jak i lekarza, opierając się na doniesieniach naukowych ostatnich lat, w którym:

- Podkreśliłam, jak ważna jest rola ludzkiego mikroflory w utrzymaniu homeostazy organizmu. Opisałam możliwości modulowania mikroflory u pacjentów cierpiących na ZJN poprzez stosowanie probiotyków, prebiotyków, synbiotyków i antybiotyków. Omówiłam rolę osi mózgowo-jelitowej i podkreśliłam jej powiązanie z mikroflorą.

- Wskazałam, w jaki sposób nieprawidłowe nawyki żywieniowe i spożywanie produktów wysoko przetworzonych oraz nadużywanie alkoholu nasilają objawy ZJN i zaproponowałam szereg działań łagodzących objawy choroby, pozwalających uniknąć stosowania środków farmakologicznych.

- Podsumowałam niekorzystny wpływ zaburzeń snu i obniżonej aktywności fizycznej na nasilenie dolegliwości w ZJN i podkreśliłam, że istotne jest podjęcie leczenia sposobami niefarmakologicznymi, ponieważ może to znacząco poprawić jakość życia;
- Zwróciłam uwagę na aspekt psychologiczny choroby. Pacjenci z ZJN często zmagają się z wysokim poziomem lęku, chorują na depresję oraz wykazują obniżone poczucie własnej wartości.
- Zasugerowałam jak powinna wyglądać relacja pomiędzy pacjentem a lekarzem prowadzącym. Podkreśliłam także rolę tej relacji dla skutecznego leczenia i utrzymania remisji objawów ZJN.

2. **Szymaszkiewicz A, Storr M, Fichna J, Zielińska M. Enkephalinase inhibitors, potential therapeutics for the future treatment of diarrhea predominant functional gastrointestinal disorders. *Neurogastroenterology and Motility*. 2018; doi: 10.1111/nmo.13526**

W pracy poglądowej podsumowaliśmy badania nad enkefalinami, enkefalinazami oraz inhibitorami enkefalinaz i ich wykorzystaniem w terapii bólu i zaburzeniach motoryki układu pokarmowego. Omówiliśmy dane dotyczące ekspresji receptorów opioidowych w układzie pokarmowym, jak również powstawanie endoopioidów i ich rolę w utrzymaniu równowagi w przewodzie pokarmowym, ze szczególnym uwzględnieniem receptorów DOP i enkefalin. Podkreśliliśmy, że degradacja enkefalin następuje pod wpływem enzymów proteolitycznych i wyszczególniliśmy zalety stosowania inhibitorów enkefalinaz nad egzogennymi ligandami receptorów opioidowych. Omówiliśmy zmiany w ekspresji receptorów opioidowych u pacjentów z ZJN. Ponadto wskazaliśmy, że u pacjentów z przewlekłym bólem brzucha o podłożu czynnościowym obniżone jest stężenia β-endorfiny w płynie mózgowo-rdzeniowym, a poziom enkefalin nie ulega zmianie.

W dalszej części skupiliśmy się na dwóch głównych symptomach ZJN: zaburzeniach motoryki przewodu pokarmowego oraz bólu brzucha. Na wstępie opisaliśmy rolę endogennych enkefalin w stanie fizjologicznym, a następnie scharakteryzowaliśmy inhibitory enkefalinaz obecnie dostępne na rynku farmaceutycznym i te będące w trakcie badań klinicznych i przedklinicznych.

Wiele uwagi poświęciliśmy racecadotrilowi (inhibitorowi enkefalinaz), podsumowując jego działanie w układzie pokarmowym(zaobserwowane w badaniach *in vivo* oraz w badaniach klinicznych pacjentów z ostrą biegunką). Omówiliśmy profil farmakologiczny

racecadotrilu, jego dobrą tolerancję po podaniu doustnym i bezpieczeństwo stosowania (nie wywoływał znaczących działań niepożądanych). Nawiązaliśmy do badań, w których porównano działanie racecadotrilu z loperamidem (agonistą MOP, powszechnie stosowanym jako lek pierwszego wyboru w leczeniu biegunki). Zacytowaliśmy dwie meta-analizy, w których podkreślono, że działanie racecadotrilu jest bezpieczniejsze niż loperamidu, o czym świadczy możliwość podawania go dzieciom poniżej 12 r.ż.

W podrozdziale poświęconym zagadnieniu bólu podzieliliśmy inhibitory enkefalinaz na te, które hamują działanie neprylizyny (NEP): racecadotril i thiorphan oraz NEP i aminopeptydazy N (APN): kelatorphan, RB38A, RB120, RB101, PR265, PL37 i RB 120. Następnie opisaliśmy stosowane dawki tych substancji chemicznych, drogi podania, w jakich modelach bólu określono ich potencjał przeciwbólowy i porównaliśmy z opioidami. Wskazaliśmy na działania niepożądane i ograniczenia ich stosowania. Dodaliśmy również badania, w których weryfikowano, czy przewlekłe stosowanie inhibitorów enkefalinaz wpływa na rozwój tolerancji. Podkreśliliśmy również, że inhibitory enkefalinaz mają szereg korzyści nad egzogennymi opioidami (niski potencjał rozwoju tolerancji i uzależnienia oraz brak działań niepożądanych typowych dla opioidów, np. depresji układu oddechowego czy zwężenia źrenic).

W podsumowaniu opisaliśmy znane leki opioidowe stosowane w terapii bólu, biegunki lub ZJN. Dodatkowo zaznaczyliśmy, jakie dalsze badania nad inhibitorami enkefalinaz są niezbędne, aby móc je stosować w terapii ZJN (postać biegunkowa).

3. **Fabisiak A, Sobocińska M, Kamysz E, Fichna J, Zielińska M. Antinociceptive potency of enkephalins and enkephalinase inhibitors in the mouse model of colorectal distension-proof-of-concept. *Chemical Biology & Drug Design.* 2018;92(1):1387-1392. doi: 10.1111/cbdd.13186.**

Celem tej pracy było opracowanie nowej strategii leczenia bólu trzewnego, występującego w przebiegu ZJN, z wykorzystaniem inhibitorów enkefalinaz, tj. opiorfiny i sjalorfiny oraz porównanie ich działania z enkefalinami (Met-enk i Leu-enk).

We wcześniejszych eksperymentach udowodniliśmy, że inkubacja Leu-enk wraz z opiorfiną i sjalorfiną powoduje wydłużenie czasu połowicznego rozpadu tego endoopioidu (odpowiednio 182±2 i 202±4 vs. 40±1 min).

W badaniach wykorzystaliśmy model bólu trzewnego wywołany poprzez rozciąganie ścian okrężnicy i odbytnicy, który jest znakomitym narzędziem służącym do badań nad bólem trzewnym w przebiegu ZJN. Myszom wszczepiliśmy elektrody do pomiarów

elektromiograficznych. Po 2-3 dniach w jelicie grubym myszy umieszczane były rozciągliwe baloniki (elektrody i kaniule połączone z balonikami były przyłączane odpowiednio do aparatury pomiarowej i barostatu). Po podaniu badanych związków uruchamialiśmy barostat, który powiększał balonik i rozciągał ściany jelita. Wszczepione elektrody rejestrowały zmianę aktywności mięśni brzucha, a odebrany sygnał był wzmacniany i przekazywany do rejestratora. Zaletą tej metody badawczej nad innymi testami behawioralnymi jest wyłączenie możliwości wpływu eksperymentatora na uzyskane wyniki, ponieważ podlegają one analizie komputerowej.

Nie przeprowadzono dotychczas badań nad wykorzystaniem inhibitorów enkefalinaz w leczeniu bólu trzewnego, dostępne są jednak doniesienia naukowe nad aktywacją receptorów opioidowych w użytym przez nas modelu badawczym. Udowodniono, że DAMGO (selektywny agonista MOP), DPDPE (selektywny agonista DOP), ale nie U-50488(selektywny agonista DOP) wykazują silne działanie przeciwbólowe w przewodzie pokarmowym.

Na podstawie badań wstępnych ustaliliśmy dawkę (1 mg/kg) i drogę podania (podskórnie) testowanych substancji, tj. Leu-enk, Met-enk, opiorfiny i sjalorfiny. Wykazaliśmy, że Leu-enk i opiorfina istotnie obniżyły próg bólu w odpowiedzi na rozciąganie ścian okrężnicy i odbytnicy u myszy przy wytworzonym ciśnieniu 60 mmHg (Met-enk i sjalorfina również obniżyły ten próg, ale w sposób nieistotny statystycznie). Przy niższym ciśnieniu, tj. 45 mmHg badane związki obniżyły próg bólu, efekt ten jednak nie był istotny statystycznie. Przy najniższym ciśnieniu (15 i 30 mmHg) nie znaleźliśmy różnic pomiędzy grupami badawczymi.

Było to pierwsze badanie naukowe, w którym oceniono działanie inhibitorów enkefalinaz w przebiegu bólu trzewnego wywołanego przez mechaniczne rozciąganie ścian okrężnicy i odbytnicy i zaproponowano ich stosowanie jako nową strategię leczenia ZJN.

Badania były prowadzone w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w ramach grantu Opus pt. „Endogenne inhibitory enkefalinaz i ich nowe syntetyczne analogi jako potencjalne leki w terapii chorób układu pokarmowego i bólu trzewnego" (#UMO-2013/11/B/NZ7/01301) finansowanego z Narodowego Centrum Nauki. Kierownikiem grantu był prof. Jakub Fichna, pełniłam rolę jednego z wykonawców.

4. **Zielińska M*, Jarmuż A*, Wasilewski A, Cami-Kobeci G, Husbands S, Fichna J. Methyl-orvinol – Dual activity opioid receptor ligand inhibits gastrointestinal transit and alleviates abdominal pain in the mouse models mimicking diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Pharmacological Reports*. 2017;69(2):350-357. doi: 10.1016/j.pharep.2016.12.001**

Kontynuując poszukiwanie nowych związków o działaniu terapeutycznym w ZJN, rozpoczęliśmy badania nad metylo-orvinolem. Orvinole to grupa pochodnych tebainy, z którą wiązano ogromne nadzieje jako związkiem o korzystniejszym profilu farmakologicznym w porównaniu z dostępnymi opioidami. Wykazano, że niewielkie modyfikacje w strukturze chemicznej orvinoli wystarczą do zmiany ich powinowactwa do receptorów opioidowych i wywoływania innego efektu farmakologicznego. Dołączenie grupy metylowej do atomu azotu w cząsteczce orvinolu lub podstawienie grupy w obrębie węgla C20 zwiększyło powinowactwo jednocześnie do receptorów MOP i KOP.

Celem prowadzonych badań była ocena wpływu metylo-orvinolu na: kurczliwość mięśni gładkich jelit i transport jonów w nabłonku jelit *in vitro*, motorykę układu pokarmowego w warunkach fizjologicznych i patologicznych (w mysich modelach naśladujących ZJN) oraz ból trzewny.

Na wstępie oceniliśmy wpływ metylo-orvinolu na kurczliwość mięśni gładkich okrężnicy wywołaną przez pole elektryczne (w łaźniach organowych). Wykazaliśmy, że metylo-orvinol hamuje kurczliwość mięśni gładkich w zakresie stężeń 10^{-10}-10^{-6} M, działanie to było blokowane przez β-funaltreksaminę, selektywnego antagonistę MOP. Dodatkowo w eksperymentach z wykorzystaniem U50488 udowodniliśmy, że metylo-orvinol jest antagonistą KOP w jelicie grubym.

W dalszych badaniach określiliśmy wpływ metylo-orvinolu na transport jonów przez nabłonek jelitowy. Wykorzystaliśmy forskolinę, która pobudza cyklazę adenylową i powoduje wydzielanie jonów Cl^- i wody oraz weratrydynę, która jest aktywatorem kanału sodowego zależnego od napięcia i wpływa na wydzielanie jonów Cl^- w nabłonku okrężnicy. Metylo-orvinol zwiększał transport jonów w obrębie nabłonka jelit w porównaniu z grupą kontrolną. Efekt badanego opioidu porównaliśmy z loperamidem. Loperamid nie miał wpływu na przepływ jonów.

Kolejne eksperymenty pozwoliły nam na ocenę wpływu metylo-orvinolu na motorykę przewodu pokarmowego myszy. Metylo-orvinol podawany drogą dootrzewnową w dawkach 0.1-1 mg/kg wydłużył czas pasażu żołądkowo-jelitowego u myszy (test z doustnym podaniem niebieskiego barwnika) i spowolnił perystaltykę dolnego odcinka przewodu pokarmowego

(test wydalania koralika z okrężnicy). Działanie metylo-orvinolu było zahamowane poprzez podanie naloksonu, metylojodku naloksonu i β-funaltreksaminy, co wskazuje na jego działanie na receptory MOP zlokalizowane na obwodzie (nie przechodzi przez barierę krew-mózg).

W modelu przyspieszonej motoryki wykazaliśmy, że metylo-orvinol normalizuje perystaltykę jelit. Co interesujące, metylo-orvinol nie miał działania przeciwbiegunkowego w modelu biegunki wywołanej olejem rycynowym. Powyższe badania wskazują, że metylo-orvinol wpływa na wydzielanie i wchłanianie w jelicie, a nie hamuje perystaltyki jelit, dlatego też jego stosowanie nie będzie się wiązało z wystąpieniem zaparć jako efektu niepożądanego.

W mysim model bólu trzewnego wywołanym poprzez podanie oleju musztardowego. metylo-orvinol miał właściwości przeciwbólowe, efekt ten był zależny od receptorów MOP (hamowany przez β-funaltreksaminę).

Podsumowując, udowodniliśmy, że metylo-orvinol moduluje motorykę przewodu pokarmowego bez wywoływania zaparć i ma silne działanie przeciwbólowe w modelach naśladujących ZJN, dlatego też może stać się nową alternatywą w leczeniu farmakologicznym ZJN.

Badania były realizowane w ramach grantu dla młodych naukowców realizowanego ze środków statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (nr #502-03/1-156-04/502-14-297).

5. **Zielińska M*, Fichna J*, Bashashati M, Habibi S, Sibaev A, Timmermans JP, Storr M. G protein-coupled estrogen receptor and estrogen receptor ligands regulate colonic motility and visceral pain. *Neurogastroenterology and Motility.* 2017;29(7). doi: 10.1111/nmo.13025.**

W związku z tym, że u kobiet ZJN jest rozpoznawany znacznie częściej niż u mężczyzn postanowiliśmy podjąć badania na receptorami estrogenowymi i ich rolą w ZJN. Poza klasycznymi wewnątrzkomórkowymi receptorami estrogenowymi (ERα i ERβ) do badań włączono GPER (receptor błonowy sprzężony z białkami G).

Celem badań była ocena wpływu G-1 (selektywnego agonisty GPER) i β-estradiolu (agonisty GPER i ER) na ból trzewny i motorykę jelit w warunkach fizjologicznych i mysich modelach ZJN.

Poddaliśmy barwieniu immunohistochemicznemu receptor GPER w okrężnicy u ludzi zdrowych. Nie wykazaliśmy różnicy w ekspresji i lokalizacji tego białka u kobiet i mężczyzn. W badaniach u myszy nie zaobserwowaliśmy różnic w ekspresji i lokalizacji GPER w jelicie cienkim i grubym, nie wykazaliśmy również zmian w zależności od płci.

G-1 (10^{-6} M) i β-estradiol (10^{-5} M) zmniejszały kurczliwość mięśni gładkich jelita grubego (w tkance ludzkiej) wywołaną przez pole elektryczne. Bardziej szczegółowe badania nad kurczliwością mięśni gładkich jelit wykonaliśmy na tkankach jelita grubego pobranych od myszy. W badaniach tych użyliśmy poza G-1 i β-estradiolem selektywnych antagonistów receptorów: GPER (G-15), ERα (PHTPP) i ERβ (MPP). G-1 i β-estradiol (zależnie od stężenia) hamowały kurczliwość mięśni gładkich, działanie G-1 było odwracalne przez G-15, natomiast działanie β-estradiolu nie zostało zablokowane przez żadnego z antagonistów receptorów estrogenowych.

Kolejne eksperymenty miały w celu ocenę potencjału postsynaptycznego pobudzającego i hamującego w żołądkowo-jelitowym układzie nerwowym po stymulacji polem elektrycznym. Wykazano, że G-1 hamuje potencjał postsynaptyczny pobudzający w sposób zależny od stężenia w jelicie grubym (co wskazuje na zaangażowanie GPER w neurotransmisję cholinergiczną).

W teście wydalania koralika z okrężnicy wykazaliśmy działanie hamujące motorykę dolnego odcinka przewodu pokarmowego zarówno G-1, jak i β-estradiolu (w dawce 20 mg/kg, podanie dożylne). Interesujące, że efekt G-1 był odwracalny poprzez zastosowanie wszystkich selektywnych antagonistów, tj. G-15, PHTPP i MPP. Działanie β-estradiolu nie było blokowane przez PTHPP, sugerując, że GPER i ERβ są zaangażowane w regulację motoryki jelit. Badania te zostały wykonane na samicach, jednakże aktywność G-1 potwierdziliśmy również u samców. W modelu przyspieszonej perystaltyki przewodu pokarmowego wywołanej przez czynniki środowiskowe (stres) G-1 normalizował motorykę jelit, zarówno u samic, jak i samców. W modelu bólu trzewnego udowodniliśmy, że G-1, pobudzając GPER i ERβ, wywołuje silne działanie przeciwbólowe. Zaobserwowaliśmy również, że GPER jest kluczowy dla aktywności przeciwbólowej β-estradiolu.

Podsumowując, sygnalizacja molekularna zależna od receptorów estrogenowych, zarówno klasycznych jak i nieklasycznych, jest ważnym aspektem w ZJN, a aktywacja GPER, ERβ i ERα jest kluczowa w modelach naśladujących ZJN.

6. **Szymaszkiewicz A*, Zielińska M*, Li K, Ramanathan M, Alam S, Hou DR, Fichna J, Storr M. Novel derivatives of 1,2,3-triazole, cannabinoid-1 receptor ligands modulate gastrointestinal motility in mice. *Naunyn Schmiedebergs' Archives of Pharmacology*. 2018;391(4):435-444. doi: 10.1007/s00210-018-1465-9.**

W niniejszej pracy uwagę poświęciliśmy nowym pochodnym triazolu:

- **związek 1**:

2-[4,5-bis(2,4-dichlorofenylo)-2H-1,2,3-triazol-2-yl]-N-(2-fluorobenzyl)acetamid,

- **związek 2:**

2-[4,5-bis(2,4-dichloro-fenylo)-2H-1,2,3-triazol-2-yl]-N-(4-fluorobenzylo)acetamid,

- **związek 3:**

N-benzylo-2-[4-(4-chloro-fenylo)-5-(2,4-dichloro-fenylo)-2H-1,2,3-triazol-2-yl] acetamid.

Związek 1 i 2 są symetrycznie halogenowanymi benzyloamidami z podstawnikiem 4,5-bis(2,4-dichlorofenylowym), podczas gdy związek 3 jest niesymetryczną pochodną benzyloamidu podstawioną grupą 4-(4-chloro-fenylo)-5-(2,4-dichloro-fenylową).

W badaniach powinowactwa związki te zostały sklasyfikowane jako antagoniści receptora kanabinoidowego CB_1. Rimonabant - SR141716A (antagonista CB_1) i WIN 55,212-2 (nieselektywny agonista receptorów kanabinoidowych) zostały użyte do badań jako związki odnośnikowe.

Związki 1-3 i Rimonabant zmniejszały kurczliwość mięśni gładkich jelita cienkiego wywołaną polem elektrycznym w sposób zależny od stężenia. Najsilniejszy efekt zaobserwowaliśmy dla związku 3. W jelicie grubym najsilniejszy efekt zanotowaliśmy dla związku 2 i Rimonabantu, niemniej jednak w najwyższych stężeniach (10^{-7}-10^{-6} M) wszystkie badane związki hamowały kurczliwość mięśni gładkich okrężnicy.

Aby porównać potencjał badanych antagonistów receptorów kanabinoidowych, w dalszych badaniach wykorzystaliśmy WIN 55,212-2. W jelicie cienkim działanie WIN 55,212-2 (w zakresie stężeń 10^{-10}-10^{-6}M) było hamowane przez SR141716A (10^{-7} M) oraz związki 1-2 (10^{-7} M). W jelicie grubym SR141716A (10^{-7} M) oraz związki 1 i 3 (10^{-7} M) hamowały efekt wywołany przez WIN 55,212-2. Tym samym wykazaliśmy, że związek 3 jest nieaktywny w jelicie cienkim, a związek 2 w jelicie grubym. W teście pasażu żołądkowo-jelitowego wykazaliśmy, że SR141716A i związek 2 przyspieszają motorykę jelit, a związki 1 i 3,

wydłużając czas pasażu żołądkowo-jelitowego, hamują perystaltykę. Wszystkie związki były podane drogą dootrzewnową w dawce 1 mg/kg.

Z badań tych można wnioskować, że niewielka modyfikacja struktury chemicznej związku może zmienić jego profil farmakologiczny i jego aktywność. Nowe syntetyczne pochodne triazolu mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób czynnościowych układu pokarmowego, ponieważ mają wpływ na perystaltykę jelit.

IV. Podsumowanie i wnioski

Najważniejsze osiągnięcia naukowe uzyskane w badaniach naukowych prowadzonych w ramach rozprawy habilitacyjnej to:

- Udowodnienie działania przeciwbólowego sjalorfiny podawanej podskórnie w dawce 1 mg/kg w mysim modelu bólu trzewnego wywołanego rozciąganiem ścian okrężnicy
- i odbytnicy;
- Wykazanie, że receptory DOP mogą odgrywać znaczącą rolę w sygnalizacji bólowej w układzie pokarmowym;
- Wskazanie zastosowania inhibitorów enkefalinaz jako nowej możliwości leczenia bólu trzewnego w przebiegu zespołu jelita nadwrażliwego;
- Wykazanie, że metylo-orvinol w układzie pokarmowym jest mieszanym agonistą receptorów MOP i antagonistą KOP;
- Określenie obiecującego działania metylo-orvinolu w modelach ZJN poprzez scharakteryzowanie jego modulującego wpływu na motorykę jelit i silne właściwości przeciwbólowe;
- Podkreślenie roli aktywacji klasycznych i nieklasycznych receptorów estrogenowych z wykorzystaniem G-1 i β-estradiolu w regulacji perystaltyki jelit;
- Zdefiniowanie potencjału przeciwbólowego agonistów receptorów estrogenowych w mysim modelu bólu trzewnego;
- Udowodnienie, że działanie G-1 i β-estradiolu jest niezależne od płci;
- Scharakteryzowanie działania pochodnych triazolu *in vitro* i *in vivo* i zasugerowanie, że ligandy receptorów kanabinoidowych mogą znaleźć zastosowanie w terapii ZJN.

Wykonane badania wskazują na nowe możliwości leczenia zespołu jelita nadwrażliwego poprzez modulowanie aktywności receptorów opioidowych, estrogenowych oraz

kanabinoidowych. Ponadto udowodniliśmy, że sjalorfina, metylo-orvinol, G-1 i β-estradiol oraz pochodne triazolu mogą stanowić nowe środki terapeutyczne lub narzędzia farmakologiczne w badaniach naukowych.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych niezawartych w osiągnięciu naukowym stanowiącym podstawę rozprawy habilitacyjnej

Pracę naukową w ramach studiów doktoranckich rozpoczęłam w 2012 roku pod opieką prof. dr. hab. n. med. Jakuba Fichny w Zakładzie Chemii Biomolekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

5.1. Rozprawa doktorska

W ramach rozprawy doktorskiej pt. „Endogenny układ opioidowy i nocyceptynowy jako potencjalne cele farmakologiczne dla terapeutyków działających w układzie pokarmowym" prowadziłam badania w kierunku określenia roli endogennego układu opioidowego i nocyceptynowego w przebiegu chorób zapalnych i czynnościowych układu pokarmowego.

Jednym z nadrzędnych kierunków badań w mojej rozprawie doktorskiej było wskazanie endogennego układu nocyceptynowego jako celu farmakologicznego w leczeniu chorób układu pokarmowego. Badania były prowadzone w ramach grantu Iuventus Plus (#0119/IP1/2011/71) przyznanego prof. Fichnie przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, w którym pełniłam rolę wykonawcy. Wykazałam, że ekspresja receptorów nocyceptynowych (NOP) w układzie pokarmowym jest niższa w przypadku osób cierpiących na postać biegunkową ZJN, a stężenie nocyceptyny w osoczu było niższe u tych pacjentów. Ponadto udowodniłam, że ekspresja receptorów NOP jest obniżona u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna w porównaniu z grupą kontrolną.

W związku z zaobserwowanymi różnicami postanowiłam zweryfikować, czy pobudzenie układu nocyceptynowego egzogennym ligandem (SCH 221510) będzie miało wpływ na rozwój stanu zapalnego w układzie pokarmowym u myszy. Wykazałam, że SCH 221510 łagodzi stan zapalny w modelu zwierzęcym choroby Leśniowskiego-Crohna. Ponadto SCH 221510 działał przeciwbólowo (przez receptory NOP)w modelu bólu trzewnego u zwierząt z rozwiniętym stanem zapalnym, co wskazuje, że mógłby znaleźć zastosowanie jako potencjalny terapeutyk w leczeniu tego schorzenia.

W badaniach nad rolą receptorów NOP w ZJN wykazałam, że agoniści receptorów NOP mają silny hamujący wpływ na kurczliwość mięśni gładkich jelita cienkiego i grubego myszy. Zaobserwowałam, że SCH 221510 hamuje perystaltykę przewodu pokarmowego myszy w warunkach fizjologicznych i wykazywał silne działanie przeciwbólowe w modelach zwierzęcych bólu. Pozwoliło to na wskazanie endogennego układu nocyceptynowego jako nowego celu farmakologicznego w leczeniu postaci biegunkowej ZJN.

Narzędziem farmakologicznym w badaniach nad receptorami opioidowymi w układzie pokarmowym był związek P-317, pochodna morficeptyny. P-317 hamował pasaż żołądkowo-jelitowy oraz perystaltykę okrężnicy po podaniu dootrzewnowym i dożołądkowym u myszy. Ponadto zaobserwowałam, że P-317 ma silne działanie przeciwbiegunkowe i przeciwbólowe, dlatego może być potencjalnym nowym terapeutykiem w leczeniu postaci biegunkowej ZJN.

Równolegle wykazałam, że zmiany w endogennym układzie opioidowym leżą u podstaw rozwoju chorób zapalnych jelit. Udowodniłam, że u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna obniżona jest ekspresja receptorów opioidowych (MOP i KOP) na poziomie mRNA. W modelach mysich związek P-317 łagodził stan zapalny. Ponadto wykazałam, że P-317 działa przeciwbólowo w modelu zwierzęcym bólu trzewnego u myszy z rozwiniętym stanem zapalnym, a działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe możliwe jest po podaniu doustnym.

Kolejnym aspektem rozprawy doktorskiej było wykazanie interakcji pomiędzy receptorami nocyceptynowymi i opioidowymi. W badaniach wykorzystałam pochodną buprenorfiny, BU08070, która w warunkach *in vitro* ma wyższe powinowactwo do receptorów MOP i NOP w porównaniu z buprenorfiną. *In vitro* związek BU08070 hamował kurczliwość mięśni gładkich jelita cienkiego i grubego. *In vivo* BU08070 wydłużał czas pasażu żołądkowo-jelitowego i spowolnił perystaltykę okrężnicy u myszy. Dodatkowo zaobserwowałam, że BU08070 ma działanie normalizujące motorykę przewodu pokarmowego w modelach zwierzęcych przyspieszonej perystaltyki. W mysim modelu bólu trzewnego BU08070 wykazywał silne działanie przeciwbólowe, które było hamowane przez antagonistę receptorów MOP (wskazując, że komponenta opioidowa odgrywa istotną rolę w przekaźnictwie bólowym).

W dalszych badaniach oceniłam aktywność przeciwzapalną BU08070 w modelu zwierzęcym choroby Leśniowskiego-Crohna. BU08070 zmniejszył stan zapalny okrężnicy.

Efekt ten był hamowany przez antagonistę receptorów MOP i częściowo przez antagonistę receptorów NOP.

W celu scharakteryzowania mechanizmu działania BU08070 przeprowadziłam badania na ludzkiej linii komórkowej THP-1, transfekowanej genem fosfatazy zasadowej. Wykazałam, że związek BU08070 hamował aktywność NF-κB w komórkach pobudzonych przez TNF-α lub LPS. Udowodniłam również działanie przeciwbólowe BU08070 w modelu zwierzęcym bólu trzewnego u zwierząt z rozwiniętym stanem zapalnym w obrębie jelit.

W ramach stypendium doktorskiego Etiuda pt. „Endogenny układ opioidowy i nocyceptynowy jako potencjalne cele farmakologiczne dla terapeutyków działających w układzie pokarmowym" (#UMO-2014/12/T/NZ7/00252) przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki odbyłam półroczny staż w Akademickim Centrum Medycznym Uniwersytetu w Amsterdamie. Celem stażu było zaznajomienie się z nowymi metodami badawczymi wykorzystywanymi w badaniach nad patogenezą nieswoistych chorób zapalnych jelit. Doświadczenie, które zdobyłam podczas stażu, wykorzystuję w swoich badaniach naukowych.

Podsumowując, w swojej pracy doktorskiej wskazałam endogenny układ nocyceptynowy i opioidowy jako nowe potencjalne cele farmakologiczne w leczeniu chorób czynnościowych i zapalnych przewodu pokarmowego.

5.2. Badania wykonane podczas studiów doktoranckich niezawarte w pracy doktorskiej

- *Rola agonistów receptorów opioidowych w leczeniu schorzeń układu pokarmowego*

Wykazaliśmy działanie przeciwzapalne bifaliny (mieszanego agonisty receptorów opioidowych MOP i DOP) i modelu zwierzęcym choroby Leśniowskiego-Crohna. Bifalina podana dojelitowo, ale nie dootrzewnowo, zmniejszyła stan zapalny jelit i nacieczenie ściany okrężnicy komórkami układu odpornościowego.

W latach 2013-2015 pełniłam rolę wykonawcy grantu pt. „Peripherally acting mu-opioid receptor agonists as potential therapeutic agents in functional and inflammatory diseases of the gastrointestinal tract" przyznanego prof. Jakubowi Fichnie przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach współpracy dwustronnej między rządem polskim i austriackim. Grant był realizowany w Zakładzie Chemii Biomolekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Innsbrucku.

W ramach tego grantu zajmowałam się badaniem działania agonistów receptorów opioidowych, które nie przechodzą przez barierę krew-mózg. Odbyłam miesięczny staż naukowy na Uniwersytecie w Innsbrucku i byłam opiekunem mgr Tanili Ben-Haddou podczas jej miesięcznego stażu w Łodzi. Wspólnie wykazaliśmy, że agoniści receptorów opioidowych o działaniu obwodowym mają silne działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe w układzie pokarmowym i mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób zapalnych przewodu pokarmowego.

- *Modulowanie działania endogennego układu kanabinoidowego w przewodzie pokarmowym*

W ramach tej działalności wykazaliśmy, że zastosowanie inhibitorów hydrolazy amidów kwasów tłuszczowych (FAAH) – enzymu regulującego degradację endokanabinoidów ma działanie spowalniające perystaltykę przewodu pokarmowego oraz wywołuje silny efekt przeciwbólowy i przeciwzapalny w modelu zwierzęcym NChZJ. Projekt był finansowany z grantu Iuventus Plus pt. „Hamowanie aktywności enzymów degradujących endogenne opioidy i kanabinoidy jako nowy potencjalny cel terapii chorób funkcjonalnych i stanów zapalnych układu pokarmowego" (#IP2012010772) ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego przyznanych prof. Fichnie i realizowany w latach 2013-2015. Pełniłam rolę jednego z wykonawców.

W badaniach nad PR-38 – pochodną salwinoryny A zaobserwowaliśmy aktywność przeciwzapalną po podaniu doustnym, na co wskazuje znacząco obniżona ocena makro- i mikroskopowa, a także obniżony poziom markerów stanu zapalnego jelit w mysich modelach choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Efekt przeciwzapalny PR-38 blokowany był przez antagonistów receptorów KOP i kanabinoidowych typu 1 (CB1).

- *Substancje naturalne o działaniu przeciwzapalnym w układzie pokarmowym*

W latach 2012-2014 prowadziłam badania jako wykonawca w grancie pt. „Characterization of pharmacological activity and mechanism of action of plant-derived preparations used in Polish and Chinese traditional medicine – in search for novel therapeutics with anti-inflammatory and analgesic action targeting the gastrointestinal tract" przyznanego prof. Jakubowi Fichnie w ramach współpracy dwustronnej między rządem polskim i chińskim. Projekt był realizowany w Zakładzie Chemii Biomolekularnej Uniwersytetu Medycznego

w Łodzi oraz Department of Gastroenterological Surgery, Tenth People's Hospital of Shanghai, School of Medicine, Tongji University. Celem badań było scharakteryzowanie aktywności farmakologicznej wybranych preparatów pochodzenia roślinnego stosowanych w polskiej i chińskiej medycynie tradycyjnej w poszukiwaniu nowych leków w układzie pokarmowym. Wykazaliśmy, że ekstrakt z wiesiołka dwuletniego ma działanie przeciwzapalne w układzie pokarmowym i zmniejsza stres oksydacyjny w jelicie grubym.

Brałam również udział w badaniach nad działaniem kwasu chlorogenowego w układzie pokarmowym. Kwas chlorogenowy, występujący w jabłkach, śliwkach, ziarnach kawy czy karczochach, ma silne właściwości antyoksydacyjne. W naszych eksperymentach udowodniliśmy, że dojelitowe podanie kwasu chlorogenowego łagodzi przebieg stanu zapalnego w obrębie jelit u myszy z wywołaną chorobą Leśniowskiego-Crohna poprzez obniżenie nacieku ścian jelita komórkami układu odpornościowego i zablokowanie ścieżek prozapalnych związanych z NFκB.

W 2014 roku otrzymałam Stypendium Marszałka Województwa Łódzkiego dla wybitnych młodych naukowców. W ramach projektu prowadziłam badania nad ekstraktem z kapusty czerwonej jako potencjalnym terapeutykiem w leczeniu chorób zapalnych jelit. Wskazaliśmy na jego silne właściwości przeciwzapalne i zasugerowaliśmy, że mógłby stanowić suplement wspomagający leczenie pacjentów z NChZJ.

Badania niewchodzące w cykl prac stanowiących rozprawę habilitacyjną prowadzone po uzyskaniu stopnia doktora

Po obronie rozprawy doktorskiej badania nad receptorami opioidowymi i ich rolą w przewodzie pokarmowym są przeze mnie kontynuowane i poszerzone o nowe aspekty.

W mojej pracy naukowej udowodniłam, że pobudzanie receptorów MOP i DOP z wykorzystaniem bifaliny ma korzystny wpływ na normalizację motoryki jelit w modelach zwierzęcych ZJN. Ponadto bifalina miała bardzo silne działanie przeciwbólowe – zarówno po podaniu obwodowym, jak i ośrodkowym, a dotychczas nie zaobserwowaliśmy efektów ubocznych tego związku. Badania były prowadzone z działalności statutowej dla młodych naukowców (#502-03/1-156-02/502-14-141).

Dzięki współpracy z Instytutem Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki Opus pt. „Aktywność układu opioidowego w patogenezie i terapii chorób zapalnych przewodu pokarmowego u myszy o wysokiej i niskiej wrażliwości na stres" (#UMO-2014/13/B/NZ4/01179) jako wykonawca uzyskałam możliwość pracy na myszach o zmienionej aktywności układu opioidowego. Myszy te od wielu lat stanowią doskonałe narzędzie do badań nad endogennym układem opioidowym. W badaniach wykorzystałam myszy o podwyższonej (HA) i obniżonej (LA) aktywności układu opioidowego.

Biorąc pod uwagę interakcje, jakie zachodzą pomiędzy endoopioidami i hormonami stresu, oraz to, że stres jest wymieniany wśród czynników wpływających na rozwój i przebieg stanu zapalnego jelit, postanowiliśmy zbadać, czy ostry i przewlekły stres wpływa na rozwój stanu zapalnego w jelicie grubym u myszy o zmienionej aktywności układu opioidowego. Wykazaliśmy, że u myszy LA uszkodzenie ściany jelit jest większe w porównaniu w myszami HA w mysim modelu choroby Leśniowskiego-Crohna. Udowodniliśmy, że u myszy HA stan zapalny nie powoduje zmian w ekspresji białek prozapalnych, tj. IL-1β i TNF-α w jelicie grubym, a u myszy LA poziom TNF-α wzrasta w stanie zapalnym. Analiza preparatów mikroskopowych potwierdziła, że podwyższona aktywność układu opioidowego powoduje łagodniejszy przebieg choroby. Na poziomie mRNA udowodniliśmy spadek ekspresji MOP i KOP u myszy HA i LA w stanie zapalnym. W dalszej części projektu wskazaliśmy, że ostry stres powoduje powstanie bardziej rozległych uszkodzeń ściany jelita grubego u myszy LA w modelu choroby Leśniowskiego-Crohna. Prowadziliśmy również badania z wykorzystaniem modelu przewlekłego stresu (utrzymywanego dwa lub pięć tygodni przed wywołaniem stanu zapalnego). Przewlekły stres nie spowodował zmian w rozwoju stanu zapalnego jelit zarówno u myszy HA, jak i LA.

Równolegle brałam udział w badaniach nad rolą endogennego układu opioidowego w rozwoju wrzodów żołądka wywołanych u myszy przez miejscowe podanie roztworu etanolu na błonę śluzową żołądka oraz przez przewlekły łagodny stres. Zaobserwowaliśmy, że u myszy z podwyższoną aktywnością układu opioidowego (HA) powierzchnia owrzodzeń jest mniejsza niż u myszy z obniżoną aktywnością układu opioidowego (LA). Poziom markerów stanu zapalnego oznaczonych w tkankach żołądka po podaniu etanolu: aktywności mieloperoksydazy i ekspresji TNF-α oraz IL-1β był wyższy u myszy LA w porównaniu z grupą kontrolną. U myszy HA nie zaobserwowano zmian w poziomie tych białek. U myszy HA po wywołaniu wrzodów żołądka podaniem dożołądkowym etanolu zanotowaliśmy wzrost

ekspresji receptorów opioidowych: MOP, KOP i DOP na poziomie mRNA. U myszy LA ekspresja ta nie uległa zmianie. Były to pierwsze badania wskazujące za zaangażowanie endoopioidów w rozwój i przebieg owrzodzenia błony śluzowej żołądka.

Jako kierownik grantu przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki PRELUDIUM pt. „Rola endogennego układu opioidowego w patogenezie i leczeniu nieswoistych chorób zapalnych przewodu pokarmowego oraz w chorobie nowotworowej jelita grubego wywołanej przewlekłym stanem zapalnym" (#UMO-2013/11/N/NZ7/00724) prowadziłam badania nad rolą endogennego układu opioidowego w przebiegu nowotworu jelita grubego wywołanego przewlekłym stanem zapalnym w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Dane epidemiologiczne sugerują, że infekcje i przewlekły stan zapalny przyczyniają się do rozwoju ok. 25% wszystkich nowotworów. Wykazano, że przewlekłe zmiany zapalne jelit mogą prowadzić do rozwoju nowotworu okrężnicy i odbytnicy, który jest jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów złośliwych, a prawie połowa ze zdiagnozowanych przypadków prowadzi do śmierci chorych. Choroby zapalne jelit stanowią zatem czynnik ryzyka rozwoju nowotworu okrężnicy i odbytnicy, które wzrasta wprost proporcjonalnie do stopnia zaawansowania choroby. W ramach projektu wykazaliśmy, że aktywacja receptorów opioidowych z użyciem P-317 (opioidu o udowodnionych właściwościach przeciwzapalnych w stanie zapalnym jelit) ma działanie protekcyjne w przebiegu nowotworu okrężnicy i odbytnicy wywołanego przewlekłym stanem zapalnym (na co wskazują parametry makroskopowe i ocena histopatologiczna). Wykazaliśmy obniżenie ekspresji w jelicie cząsteczek prozapalnych, zaangażowanych w rozwój stanu zapalnego i nowotworzenie, tj. IL-1β, TNF-α, COX-2 i iNOS u myszy, którym podawano P-317 w porównaniu z grupą myszy z nowotworem jelita grubego.

W projekcie badawczym Iuventus Plus pt. „Zaburzenia w obrębie endogennego układu opioidowego wpływają na poziom adipokin w rozwoju nowotworu jelita grubego" (#IP2015 089474), przyznanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego i realizowanym w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi kieruję eksperymentami, których celem jest określenie wpływu opioidów i adipokin na rozwój nowotworu jelita grubego. Dane literaturowe pokazują, że morfina podawana przewlekle przez 8 dni powodowała obniżenie stężenia leptyny i nieznaczący statystycznie wzrost stężenia adiponektyny w osoczu, natomiast nalokson, antagonista receptorów opioidowych nie zmieniał stężenia leptyny w osoczu. Ponadto udowodniono, że myszy pozbawione ekspresji genu dla β-endorfiny miały wyższe stężenie leptyny w osoczu w porównaniu grupą kontrolną. Wyniki moich badań

wstępnych sugerują istnienie zależności między endoopioidami i adipokinami w przebiegu nowotworu jelita grubego.

Kolejnym obszarem moich zainteresowań naukowych jest starzenie się organizmu i powiązanie spowolnienia perystaltyki w grupie starszych pacjentów ze zmianami zachodzącymi w obrębie endogennego układu opioidowego. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że w grupie pacjentów cierpiących z powodu przewlekłych zaparć większość stanowią osoby powyżej 50. roku życia. Nie ustalono dotychczas przyczyny tych dolegliwości. Badania te są prowadzone w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w ramach Diamentowego Grantu pt. „Badanie zależności między zaburzeniami perystaltyki jelit występującymi wraz z wiekiem a zmianami w obrębie endogennego układu opioidowego" (#DI2016006446) przyznanego lek. Agacie Szymaszkiewicz przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Celem projektu jest ocena, czy zmiany w obrębie endogennego układu opioidowego w przewodzie pokarmowym wpływają na zwiększoną częstość występowania wraz z wiekiem zaburzeń perystaltyki przewodu pokarmowego. Moja rola w projekcie polega na planowaniu eksperymentów, ich analizie i interpretacji. Badania będą włączone do jej rozprawy doktorskiej doktorantki Szymaszkiewicz, w której pełnię funkcję promotora pomocniczego.

Nurtem badawczym, który podjęłam wraz z doktorantką Agatą Szymaszkiewicz jest określenie mechanizmu rozwoju tolerancji na skutek stosowania opioidów. Badania są prowadzone w ramach grantu Umedu pt. „Development of tolerance in gastrointestinal tract – interactions between cannabinoid and opioid receptors" (#77/2014-2015) przyznanego Agacie Szymaszkiewicz. W wyniku rozwoju tolerancji dochodzi do osłabienia działania leków oraz konieczności ciągłego zwiększania stosowanej dawki. Istnieją jednak przesłanki, że jednoczesna aktywacja receptorów opioidowych i kanabinoidowych może zwiększyć skuteczność leczenia oraz przyczynić się do spowolnienia rozwoju tolerancji. W badaniach nad rozwojem tolerancji w układzie pokarmowym wykorzystujemy mieszane ligandy receptorów opioidowych i kanabinoidowych.

W ramach opieki nad Indywidualnym Tokiem Studiów Jakuba Włodarczyka, który uzyskał grant Umedu pt. "The changes in fructose transporter protein GLUT5 may be implicated in colorectal cancer development, diagnosis and treatment" nadzorowałam i planowałam badania nad rolą transportera GLUT5 w nowotworzeniu. W badaniach prowadzonych w Zakładzie Biochemii wykorzystujemy selektywny inhibitor GLUT5

i oceniamy jego wpływ na przeżywalność ludzkiej linii nowotworowej jelita grubego. Projekt badawczy zakłada również ocenę ekspresji GLUT5 w tkankach ludzkich pobranych od pacjentów z rakiem jelita grubego.

Prace dotyczące powyższych tematów (z wyłączeniem prac stanowiących podstawę habilitacji):

Prace poglądowe:

1. **Sobczak, M.**; Sałaga, M.; Storr, M.A.; Fichna, J. Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract: current concepts and future perspectives. Journal of Gastroenterology, 49(1):24-45, 2013
   IF 4.02, punkty MNiSW 35
2. Sałaga, M.; **Sobczak M.**; Fichna J. Inhibition of proteases as a novel therapeutic strategy in the treatment of metabolic, inflammatory and functional diseases of the gastrointestinal tract. Drug Discovery Today, 18(15-16):708-15, 2013
   IF 5.96, punkty MNiSW 45
3. **Sobczak, M.**; Sałaga, M.; Storr, M.; Fichna J. Nociceptin / Orphanin FQ (NOP) Receptors as Novel Potential Target in the Treatment of Gastrointestinal Diseases, Current Drug Targets, 14: 1203-1209, 2013
   IF 3.60, punkty MNiSW 35
4. Sałaga, M.; **Sobczak, M.**; Fichna, J. Inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) as a novel therapeutic strategy in the treatment of pain and inflammatory diseases in the gastrointestinal tract, European Journal of Pharmaceutical Sciences. 52:173-9,
   IF 3.00, punkty MNiSW 35
5. Sałaga, M.; Zatorski, H.; **Sobczak, M.**; Chen, C.; Fichna J. Chinese herbal medicines in the treatment of IBD and colorectal cancer: a review. Current Treatment Options in Oncology, 15(3):405-20, 2014
   IF 2.82, punkty MNiSW 30
6. **Sobczak, M.**; Fabisiak, A.; Murawska, N.; Wesołowska, E.; Wierzbicka, P.; Wlazłowski, M.; Wójcikowska, M.; Zatorski, H.; Zwolińska, M.; Fichna J. Current overview of extrinsic and intrinsic factors in etiology and progression of inflammatory bowel diseases
   IF 1.93, punkty MNiSW 25

7. **Sobczak, M.**; Wlazłowski, M.; Zatorski, H.; Sałaga, M.; Fichna J. Current overview of colitis-associated colorectal cancer. Central European Journal of Biology. 9(11): 1022-1029, 2014

   IF 0.71, punkty MNiSW 15

8. Wasilewski, A.; Storr, M.; **Zielińska, M.**; Fichna J. Role of G protein-coupled orphan receptors (GPRs) in intestinal inflammation - novel targets in inflammatory bowel diseases. Inflammatory Bowel Diseases, 21(3):666-73, 2014

   IF 4.64, punkty MNiSW 40

9. Zielińska, M.; Jarmuż, A.; Wasilewski, A.; Sałaga, M.; Fichna J. Role of Transient Receptor Potential (TRP) channels in intestinal inflammation and visceral pain – novel targets in inflammatory bowel diseases. Inflammatory Bowel Diseases, 21(2):419-27, 2014

   IF 4.64, punkty MNiSW 40

10. Chen, C.; Li, Y.; Yu, Z.; Liu, Z.; Shi, Y.; Lewandowska, U.; **Sobczak, M.;** Fichna, J.; Kreis M. Platelet Activity in the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. Current Drug Targets. 16(3):219-25, 2015

    IF 3.03, punkty MNiSW 30

11. Zatorski, H.; Sałaga, M.; **Zielińska, M.**; Fichna, J. Czynniki genetyczne w patogenezie, przebiegu i leczeniu nieswoistych chorób zapalnych jelit. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 69:335-44, 2015

    IF 0.77, punkty MNiSW 15

12. Wasilewski, A.; **Zielińska, M.;** Storr, M.; Fichna J. Beneficial effects of probiotics, prebiotics, synbiotics, and psychobiotics in inflammatory bowel disease, Inflammatory Bowel Diseases, 21(7):1674-82, 2015

    IF 4.64, punkty MNiSW 40

13. Jarmuż, A.; **Zielińska, M.;** Storr, M.; Fichna, J. Perspectives of guanylyl cyclase C agonist use in functional gastrointestinal disorders and inflammatory bowel diseases, Neurogastroenterology and Motility, 2015;27(8):1057-68

    IF 3.31, punkty MNiSW 30

14. **Zielińska, M.;** Wasilewski, A.; Fichna J. Tenapanor hydrochloride for the treatment of constipation-predominant irritable bowel syndrome. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2015;24(8):1093-9

    IF 4.41, punkty MNiSW 40

15. Mosińska, P., **Zielińska M.**, Fichna, J. 2015. Expression and Physiology of Opioid receptors in the gastrointestinal tract. Current Opinion in Endocrinology Diabetes and Obesity, 2016, (1):3-10
IF 3.69, punkty MNiSW 30
16. Jarmuż, A.; **Zielińska, M.**; Banaszek, M.; Leń, K.; Storr, M.; Fichna J. The role of MOP and DOP receptors in treatment of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Mini Rev Med Chem. 2016, 6(18):1462-1469
IF 2.67, punkty MNiSW 30

Prace oryginalne:

17. Kamysz, E.; Sałaga, M.; **Sobczak, M.**; Kamysz, W.; Fichna, J. Characterization of the effects of opiorphin and sialorphin and their analogs substituted in position 1 with pyroglutamic acid on motility in the mouse ileum. Journal of Peptide Sciences 2013, 19(3): 166-72
IF 1.82, punkty MNiSW 20
18. Fichna, J.; Sibaev, A.; Sałaga, M.;. **Sobczak, M.;** Storr, M. The cannabinoid-1 receptor inverse agonist taranabant reduces abdominal pain and increases intestinal transit in mice. Neurogastroenterology and Motility, 25(8):e550-9, 2014
IF 3.58, punkty MNiSW 30
19. Fichna, J.; Mazur, M.; Grzywacz, D.; Kamysz, W.; Perlikowska, R.; Piekielna, J.; **Sobczak, M.;** Sałaga, M.; Toth, G.; Janecka, A.; Chen, C.; Olczak, J. Novel glycosylated endomorphin-2 analog produces potent centrally-mediated antinociception in mice after peripheral administration, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 23(24):6673-6, 2013
IF 2.33, punkty MNiSW 25
20. **Sobczak, M.**; Mokrowiecka, A.; Cygankiewicz, AI.; Zakrzewski, PK.; Sałaga, M.; Storr, M.; Kordek, R.; Malecka-Panas, E.; Krajewska, WM.; Fichna, J. Antiinflammatory and antinociceptive action of an orally-available nociceptin receptor (NOP) agonist SCH 221510 in a mouse model of inflammatory bowel diseases. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 348(3):401-9, 2014
IF 3.97, punkty MNiSW 35
21. Fichna, J.; Wood, JT.; Papanastasiou, M.; Vadivel, SK.; Oprocha, P.; Sałaga, M.; **Sobczak, M.**; Mokrowiecka, A.; Cygankiewicz, AI.; Zakrzewski, PK.; Małecka-Panas, E.; Krajewska, WM.; Kościelniak, P.; Makriyannis, A.; Storr, MA.;

Endocannabinoid and Cannabinoid-Like Fatty Acid Amide Levels Correlate with Pain-Related Symptoms in Patients with IBS-D and IBS-C: A Pilot Study. PLoS One, 8(12):e85073, 2013

IF 3.53, punkty MNiSW 40

22. Fichna, J.; Sałaga, M.; Stuart, J.; Saur, D.; **Sobczak, M.;** Zatorski, H.; Timmermans, P.; Bradshaw HB.; Ahn, K.; Storr, MA. Selective inhibition of FAAH produces antidiarrheal and antinociceptive effect mediated by endocannabinoids and cannabinoid like fatty acid amides. Neurogastroenterology and Motility, 26(4):470-81, 2014

    IF 3.59, punkty MNiSW 30

23. Sałaga, M.; Mokrowiecka, A.; Zakrzewski, PK.; Cygankiewicz, A.; Leishman, E.; **Sobczak, M.**; Zatorski, H.; Małecka-Panas, E.; Kordek, R.; Storr, M.; Krajewska, WM.; Bradshaw, HB.; Fichna J. Experimental colitis in mice is attenuated by changes in the levels of endocannabinoid metabolites by selective inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH). Journal of Crohn's and Colitis, 8(9):998-1009, 2014

    IF 6.23, punkty MNiSW 35

24. **Sobczak, M.;** Zakrzewski PK, Cygankiewicz, AI.; Mokrowiecka, A.; Chen,C.; Sałaga,M.; Małecka-Panas, E.; Kordek, R.; Krajewska, WM.; Fichna, J. Antiinflammatory action of a novel orally-available peptide 317 in mouse models of inflammatory bowel diseases, Pharmacological Reports, 66(5):741-50, 2014

    IF 1.92, punkty MNiSW 25

25. Sałaga, M.; Polepally, PR.; **Sobczak, M.**; D Grzywacz, D.; Kamysz, W.; Sibaev, A.; Storr, M.; Do Rego, JC.; Zjawiony, JK.; Fichna J. Novel orally available salvinorin A analog PR-38 inhibits gastrointestinal motility and reduces abdominal pain in mouse models mimicking irritable bowel syndrome, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 350(1):69-78, 2014

    IF 3.92, punkty MNiSW 35

26. **Sobczak, M.**; Cami-Kobeci, G.; Sałaga,M.; Husbands,S.; Fichna J. Novel mixed NOP/MOP agonist BU08070 alleviates pain and inhibits gastrointestinal motility in mouse models mimicking diarrhea-predominant irritable bowel syndrome symptoms, European Journal of Pharmacology, 5;736:63-9, 2014

    IF 2.53, punkty MNiSW 30

27. Fichna, J.; **Sobczak, M.;** Mokrowiecka, A.; Cygankiewicz, A.; Zakrzewski P.; Cenac, N.; Sałaga, M.; Timmermans, JP.; Vergnolle, N.; Małecka-Panas, E.; Krajewska,

WM.; Storr M. Activation of the endogenous nociceptin system by selective nociceptin receptor agonist SCH 221510 produces anti-transit and antinociceptive effect: a novel strategy for treatment of diarrhoea-predominant IBS. Neurogastroenterology and Motility, 26(11):1539-50, 2014

IF 3.59, punkty MNiSW 30

28. **Sałaga. M.; Lewandowska, U.; Sosnowska, D.; Zakrzewski, PK; Cygankiewicz, AI;** Piechota-Polańczyk, A.; **Sobczak, M.**; Mosińska, P.; Chen, C.; Krajewska, WM; Fichna J. Polyphenol extract from evening primrose pomace alleviates experimental colitis after intracolonic and oral administration in mice. Naunyn-Schmiedebergs' archives of pharmacology, 387(11):1069-78, 2014

    IF 2.47, punkty MNiSW 25

29. **Sobczak, M.**; Pilarczyk, A.; Jonakowski, M.; Jarmuż, A.; Sałaga, M.; Lipkowski, AW.; Fichna J. Anti-inflammatory and antinociceptive action of the dimeric enkephalin peptide biphalin in the mouse model of colitis: New potential treatment of abdominal pain associated with inflammatory bowel diseases. Peptides, 60:102-6, 2014

    IF 2.62, punkty MNiSW 25

30. **Zielińska, M.**; Chen, C.; Mokrowiecka, A.; Cygankiewicz, A.; Zakrzewski, P.; Sałaga, M.; Małecka-Panas, E.; Wlaź, P.; Krajewska, WM.; Fichna J. Orally administered novel cyclic pentapeptide P-317 alleviates symptoms of diarrhea predominant irritable bowel syndrome, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 67(2):244-54, 2014

    IF 2.27, punkty MNiSW 25

31. **Sałaga, M.; Polepally, PR.; Zakrzewski, PK.; Cygankiewicz, A.; Sobczak, M.**; Kordek, R.; Zjawiony, JK.; Krajewska, WM.; Fichna J. Novel orally available salvinorin A analog PR-38 protects against experimental colitis and reduces abdominal pain in mice by interaction with opioid and cannabinoid receptors. Biochemical Pharmacology, 92(4):618-26. 2014,

    IF 5.00, punkty MNiSW 40

32. Zatorski, H.; Sałaga, M.; **Zielińska, M.;** Piechota-Polańczyk, A.; Owczarek, K.; Kordek, R.; Lewandowska, U.; Chen, C.; Fichna, J. Experimental colitis in mice is attenuated by topical administration of chlorogenic acid. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 388(6):643-51, 2015

    IF 2.38, punkty MNiSW 25

33. **Zielińska, M.;** Lewandowska, U.; Podsędek, A.; Cygankiewicz, A.; Jacenik, D.; Sałaga, M.; Kordek, R.; Krajewska ,W.; Fichna J. Orally available extract from Brassica oleracea var. Capitata rubra attenuates experimental colitis in mouse models of inflammatory bowel diseases, Journal of Functional Foods, 2015

IF 3.97, punkty MNiSW 45

34. **Zielińska, M.;** Jarmuż, A.; Sałaga, M.; Lipkowski, A.; Fichna J. Mixed MOP/DOP agonist biphalin elicits anti-transit effect in mouse models mimicking diarrhea-predominant irritable bowel syndrome symptoms, Pharmacological Reports

IF 2.25, punkty MNiSW 25

35. Sałaga, M.; Polepally, PR.; **Zielińska, M.;** Marynowski, M.; Fabisiak, A.; Murawska, N.; Sobczak, K.; Sacharczuk, M.; Do Rego, JC.; Roth, BL.; Zjawiony, JK.; Fichna J., Salvinorin A analogs PR-37 and PR-38 attenuate compound 48/80-induced itch responses in mice, British Journal of Pharmacology, doi: 10.1111/bph.13212

IF 5.26, punkty MNiSW 40

36. Sałaga, M.; Kowalczuk, A.; **Zielińska, M.**; Błażewicz, A.; Fichna J. Calea zacatechichi dichloromethane extract exhibits antidiarrheal and antinociceptive effects in mouse models mimicking irritable bowel syndrome, Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology

IF 2.38, punkty MNiSW 25

37. **Zielińska, M.**; Ben Haddou, T.; Cami-Kobeci, G.; Sałaga, M.; Jarmuż, A.; Padysz, M.; Kordek, R.; Spetea, M.; Husbands, SM.; Fichna J. Anti-inflammatory effect of dual nociceptin and opioid receptor agonist, BU08070, in experimental colitis in mice, European Journal of Pharmacology; 2015

IF 2.73, punkty MNiSW 25

38. Sałaga, M.; Blomster, L.V.; Piechota-Polanczyk, A.; **Zielinska, M.**; Jacenik, D.; Cygankiewicz, A.I.; Krajewska, W.M.; Mikkelsen, J.D.; Fichna, J. Encenicline, an α7 nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, reduces immune cell infiltration in the colon and improves experimental colitis in mice. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2015

IF 3.76, punkty MNiSW 35

39. Sałaga, M.; Fichna, J.; Socała, K.; Nieoczym, D.; Pieróg, M.; **Zielińska, M.;** Kowalczuk, A.; Wlaź P. Neuropharmacological characterization of the oneirogenic Mexican plant Calea zacatechichi aqueous extract in mice, Metabolic Brain Disease, 2016

IF 2.30, punkty MNiSW 20

40. **Zielińska, M.;** Jarmuż, A.; Sałaga, M.; Kordek, R.; Laudon, M.; Storr, M.; Jakub Fichna J. Melatonin, but not melatonin receptor agonists Neu-P11 and Neu-P67, attenuates TNBS-induced colitis in mice, Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2016;389(5):511-9

    IF 2.56, punkty MNiSW 25

41. Piechota-Polanczyk, A.; **Zielińska, M.**; Piekielny, D.; Fichna J. The influence of lipoic acid on caveolin-1-regulated antioxidative enzymes in the mouse model of acute ulcerative colitis. Biomedical Pharmacotherapy 2016;84:470-475

    IF 2.76, punkty MNiSW 25

42. Sałaga, M.; Zatorski, H.; **Zielińska, M.;** Mosińska, P.; Timmermans, JP; Kordek, R.; Storr, M.; Fichna J. Highly selective CB_2 receptor agonist A836339 has gastroprotective effect on experimentally induced gastric ulcers in mice. Naunyn Schmiedebergs' Archives of Pharmacology. 2017;390(10):1015-1027

    IF 2.24, punkty MNiSW 25

43. Sałaga, M.; Mokrowiecka, A.; **Zielińska, 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. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2017;363(1):92-103

    IF 2.24, punkty MNiSW 25

44. Gach-Janczak, K.; Piekielna-Ciesielska, J.; Adamska-Bartłomiejczyk, A.; Perlikowska, R.; Kruszyński, R.; Kluczyk, A.; Krzywik, J.; Sukiennik, J.;Cerlesi, MC;Calo, G.; Wasilewski, A.; **Zielińska, M.;** Janecka, A. Synthesis and activity of opioid peptidomimetics with β_2- and β_3-amino acids. Peptides. 2017;95:116-123

    IF 2.85, punkty MNiSW 25

45. Piekielna-Ciesielska, J.; Mollica, A.; Pieretti, S.; Fichna, J.; Szymaszkiewicz, A.; **Zielińska, M.;** Kordek, R.; Janecka A. Antinociceptive potency of a fluorinated cyclopeptide Dmt-c[D-Lys-Phe-p-CF_3-Phe-Asp]NH_2. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2018;33(1):560-566.

    IF 3.64, *punkty MNiSW 20*

46. **Zielińska, M.**; Szymaszkiewicz, A.; Sałaga, M.; Zatorski, H.; Włodarczyk, J.; Jacenik, D.; Kordek, R.; Krajewska, WM; Misicka, A.; Fichna, J.; Sacharczuk, M. High activity of the endogenous opioid system and acute but not chronic stress influence

experimental colitis development in mice. Journal of Physiology and Pharmacology 2018;69(5)

IF 2.48, *punkty MNiSW 25*

47. Zatorski, H.; Sałaga, M.; **Zielińska, M.**; Wasilewski, A.; Misicka, A.; Sacharczuk, M.; Fichna J. High activity of endogenous opioid system protects against gastric damage development in mouse models of gastric mucosal injury. Pharmacological Reports 2018;71(2):218-224

IF 2.24, punkty MNiSW: 25

48. Jacenik, D.; **Zielińska, M.;** Mokrowiecka, A.; Michlewska, S.; Małecka-Panas, E.; Kordek, R.; Fichna, J.; Krajewska, WM. G protein-coupled estrogen receptor mediates anti-inflammatory action in Crohn's disease. Scientific Reports, 2019, in press

IF 4.12, punkty MNiSW: 40

5.3. Udział w projektach badawczych:

Jako kierownik:

1. **Iuventus Plus (MNiSW):** „Zaburzenia w obrębie endogennego układu opioidowego wpływają na poziom adipokin w rozwoju nowotworu jelita grubego" #IP2015 089474 (2017-2020)
2. **PRELUDIUM (NCN)** „Rola endogennego układu opioidowego w patogenezie i leczeniu nieswoistych chorób zapalnych przewodu pokarmowego oraz w chorobie nowotworowej jelita grubego wywołanej przewlekłym stanem zapalnym" #UMO-2013/11/N/NZ7/00724 (2014-2017)
3. **Grant dla młodych naukowców ze środków statutowych:** „Endogenny układ opioidowy – poszukiwanie nowych celów farmakologicznych/środków terapeutycznych w leczeniu postaci biegunkowej zespołu jelita nadwrażliwego" #502-03/1-156-04/502-14-297 (2016-2018)
4. **Grant Marszałka Województwa Łódzkiego dla wybitnych młodych naukowców**: „Ekstrakt z czerwonej kapusty jako potencjalny środek terapeutyczny w leczeniu nieswoistych chorób zapalnych układu pokarmowego" #14/2014 (2014)
5. **Grant dla młodych naukowców ze środków statutowych:** „Badanie interakcji pomiędzy endogennym układem kannabinoidowym i nocyceptynowym na poziomie układu pokarmowego i żołądkowo-jelitowego układu nerwowego" #502-03/1-156-02/502-14-141 (2013-2016)

Jako wykonawca:

- **Opus (NCN):** Aktywność układu opioidowego w patogenezie i terapii chorób zapalnych przewodu pokarmowego u myszy o wysokiej i niskiej wrażliwości na stres #UMO-2014/13/B/NZ4/01179 (2015-2017)
- **Opus (NCN):** Endogenne inhibitory enkefalinaz i ich nowe syntetyczne analogi jako potencjalne leki w terapii chorób układu pokarmowego i bólu trzewnego #UMO-2013/11/B/NZ7/01301 (2014-2017)
- **Dwustronna naukowa współpraca między Polską i Chinami (MNiSW):** Characterization of pharmacological activity and mechanism of action of plant-derived preparations used in Polish and Chinese traditional medicine – in search for novel therapeutics with anti-inflammatory and analgesic action targeting the gastrointestinal tract (2012-2016)
- **Dwustronna naukowa współpraca między Polską i Austrią (MNiSW):** Peripherally acting mu-opioid receptor agonists as potential therapeutic agents in functional and inflammatory diseases of the gastrointestinal tract (2013-2015)
- **Iuventus Plus (MNiSW):** „Hamowanie aktywności enzymów degradujących endogenne opioidy i kanabinoidy jako nowy potencjalny cel terapii chorób funkcjonalnych i stanów zapalnych układu pokarmowego" #IP2012010772(2013-2015)
- **Iuventus Plus (MNiSW):** „Nowe syntetyczne ligandy nocyceptynowe jako potencjalne środki terapeutyczne w leczeniu chorób układu pokarmowego" #0119/IP1/2011/71 (2012-2014)

4. Nagrody i wyróżnienia:

Nagrody zespołowe:

- **2018 r.** – Nagroda I stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
- **2017 r.** – Nagroda I stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
- **2016 r.** – Nagroda I stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
- **2016 r.** – Nagroda zespołowa Łódzkie Eureka za "Wskazanie nowych potencjalnych celów farmakologicznych w terapii chorób zapalnych i czynnościowych przewodu pokarmowego (zespół w składzie prof. Jakub Fichna, dr Marta Zielińska, mgr Maciej Sałaga)
- **2015 r.** – Nagroda I stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Nagrody indywidualne:

- Stypendium MNiSW Mobilność Plus 5 na staż podoktorski na Uniwersytecie Fryderyka i Aleksandra w Erlangen i Norymberdze (2018-2020)
- Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców (2016-2018)
- Stypendium Ministra Zdrowia dla najlepszych doktorantów (2015)
- Stypendium naukowe Fundacji Polpharmy dla młodych naukowców (2015)
- Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla najlepszych doktorantów (2014)
- Stypendium L'Oreal „Dla Kobiet i Nauki" dla doktorantów (2014)
- Stypendium doktorskie NCN „Etiuda" (2014)
- Stypendium „Nauka drogą do biznesu" dla doktorantów woj. łódzkiego (2014)
- Stypendium Marszałka Województwa Łódzkiego dla młodych naukowców (2014)

5.5. Działalność dydaktyczna:

W ramach studiów doktoranckich (2012-2016) prowadziłam zajęcia dydaktyczne dla studentów I roku stomatologii (chemia medyczna) i studentów II roku kierunku lekarskiego (biochemia) na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Były to zajęcia teoretyczne (seminaria), jak również praktyczne (laboratoria).

Od 2016 r., jako asystent i adiunkt, prowadziłam zajęcia z przedmiotu biochemia dla studentów II roku kierunku lekarskiego na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (bloki seminaryjne i laboratoryjne). Pensum dydaktyczne wynosiło 240 godzin.

W 2016 i 2017 r. prowadziłam przedmiot fakultatywny dla studentów II i III roku kierunku lekarskiego na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (Przygotowanie studenta kierunku lekarskiego do zawodu naukowca) w wymiarze 15 godzin.

Opieka naukowa nad studentami w charakterze opiekuna naukowego

Od 2013 r. prowadziłam Koło Naukowe Młodych Farmakologów istniejące przy Zakładzie Biochemii. W ramach działalności Koła byłam opiekunem naukowym studentów

Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi: Marcina Wlazłowskiego, Andrzeja Pilarczyka i Mateusza Jonakowskiego. Działalność koła została zawieszona w związku z moim urlopem macierzyńskim i późniejszym wyjazdem na staż podoktorski.

W roku akademickim 2016/2017 byłam opiekunem Indywidualnego Toku Studiów studenta kierunku lekarskiego Jakuba Włodarczyka, który otrzymał „Grant Umedu".

Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze promotora pomocniczego

Jestem opiekunem naukowym i promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim lek. Agaty Szymaszkiewicz („Rola endogennego układu opioidowego w patogenezie i leczeniu zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego ze szczególnym uwzględnieniem wpływu starzenia się organizmu"). Przewód doktorski został otwarty 11.12.2018 r. na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Badania wykonywane są w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

5.6. Popularyzacja nauki

Chętnie angażuję się w inicjatywy popularyzujące naukę (m.in. Festiwal Nauki i Sztuki w Warszawie, Latające Kawiarenki AMU w Łodzi i w Warszawie).

W latach 2016-2017 prowadziłam wykłady popularnonaukowe dla uczniów liceów ogólnokształcących objętych patronatem Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Jestem autorem wielu artykułów popularnonaukowych, m.in. Opioidem w ból brzucha (naukawpolsce.pap.pl), Polska farmacja innowacją stoi (dodatek Media Planet „Innowacje"), Jelita w roli głównej (Media Planet „Zdrowie Kobiety").

Byłam członkiem (2015,2017) i przewodniczącą (2016) Rady Programowej Kuźni Młodych Talentów AMU PAN – szkoły letniej dla doktorantów oraz członkiem jury konkursowego oceniającego prezentacje naukowe kandydatów.

Podsumowanie dorobku naukowego:

Mój dorobek naukowy obejmuje 58 publikacji pełnotekstowych, w tym 39 prac oryginalnych i 19 artykułów poglądowych. - Ilość cytowań wg ISI Web of Science Core Collection 584, indeks Hirscha: 14. – Liczba cytowań wg Scopus: 216, indeks Hirscha: 8.

Marta Zielińska