



# UNIwersytet Jagielloński

COLLEGIUM MEDICUM  
WYDZIAŁ LEKARSKI  
KATEDRA FIZJOLOGII

31-531 Kraków, ul. Grzegorzewska 16  
tel.: (0-12) 421 10 06, fax (0-12) 421 15 78

Kraków, dnia 11 lipca 2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Agaty Szymaszkiewicz pt.:**

**„Rola endogennego układu opioidowego w patogenezie i leczeniu zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego ze szczególnym uwzględnieniem wpływu starzenia się organizmu”**

Wśród zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego najbardziej rozpoznawalny jest zespół jelita drażliwego. Zespół jelita drażliwego (Irritable Bowel Syndrome – IBS) znany też po łacińskiej nazwą *colon irritabile*, powstaje na podłożu długotrwałych zaburzeń motoryki jelita grubego o zmiennym nasileniu. Wyrazem tych zaburzeń mogą być w IBS zupełnie przeciwstawne objawy: zaparcia lub biegunki. Towarzyszyć im mogą bóle brzucha wzdłuż okrężnicy wstępującej lub zstępującej, najczęściej zlokalizowane po lewej stronie brzucha, promieniujące do pachwiny. Bóle te mogą przybierać postać kolki. W przypadku postaci biegunkowej, słyszalne są głośne przelewania w brzuchu, jak również obserwowane są wzdęcia.

Analizując przyczyny IBS bierze się pod uwagę kilka możliwości. Pewną rolę odgrywać może nadwrażliwość jelit na obecność niektórych składników pokarmowych. Inna hipoteza kładzie nacisk na rolę cholecystokininy (CCK). CCK pobudza motorykę jelit i w związku z tym prawdopodobna jest jej rola w patogenezie IBS. Ważną rolę etiologiczną odgrywają czynniki natury psychicznej. Pozwala to rozpatrywać IBS jako chorobę psychosomatyczną. IBS występuje głównie u osób, w osobowości których dominuje

nastawienie lękowe i depresyjne. Zaostrzenia IBS mają miejsce w okresach napięć nerwowych. Wiąże się to z wpływem pobudzenia emocjonalnego mózgu na ośrodki autonomiczne. Pobudzenie ośrodków autonomicznych w centralnym systemie nerwowym wpływa, za pośrednictwem nerwów błędnych rozregulowująco na fizjologiczne mechanizmy kontroli motoryki jelit. Jednakże szczegóły etiopatogenezy nie są do końca znane.

Inna grupa zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego to zaparcia czynnościowe, które stają się częstą dolegliwością geriatryczną, obniżającą komfort życia osoby w starszym wieku, ale mogąą także w skrajnych przypadkach prowadzić do zmian patologicznych w jelicie grubym, np. powstawania uchyłków, w których zalega kał. Nie można również zapominać, że zaburzenia wypróżnień prowadzą do dłuższej ekspozycji błony śluzowej jelita grubego na działanie toksycznych metabolitów, zwiększając ryzyko rozwoju raka.

W kontroli motoryki jelit podstawową rolę odgrywa enteryczny układ nerwowy. Przewód pokarmowy, w rozwoju ontogenetycznym, stanowi część środowiska zewnętrznego zaanektowaną w czasie gastrulacji. Taki początek układu trawiennego zdeterminował jego fizjologiczną autonomię, przejawiającą się, między innymi, posiadaniem własnego „mózgu jelitowego”, czyli enterycznego układu nerwowego, który umożliwia perystaltykę, nawet po wycięciu jelita z organizmu. Dlatego też ze wszech miar wydaje się słusznym, że Doktorantka, w swoich badaniach nad czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego, skoncentrowała się na czynności tego układu, a zwłaszcza jego części, zwanej endogennym układem opioidowym, zlokalizowanym głównie w splocie mięśniówkowym Auerbacha.

Działanie opioidów na przewód pokarmowy kojarzy się przede wszystkim ze zwolnieniem perystaltyki, a nawet jej porażeniem. Jest to obraz uproszczony. Doktorantka słusznie stwierdza, że receptory opioidowe są zlokalizowane nie tylko w mięśniówce gładkiej ale także w splocie mięśniówkowym Auerbacha, ponadto istnieje kilka rodzajów receptorów opioidowych i wiele rodzajów ich agonistów, co sprawia, że w różnych kombinacjach agoniści tych receptorów mogą wywoływać zwolnienie lub przyspieszenie perystaltyki. Wszystkie te argumenty potwierdzają słuszność wyboru celu badań rozprawy doktorskiej, której wyniki mogą przyczynić się do lepszego poznania szczegółów patogenezy chorób czynnościowych przewodu pokarmowego.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska lek. Agaty Szymaszkiewicz pt. „Rola endogennego układu opioidowego w patogenezie i leczeniu zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego ze szczególnym uwzględnieniem wpływu starzenia się organizmu” składa się z 4 prac:

1. **Jarmuż A.**, Zielińska M., Leń K., Banaszek M., Storr M., Fichna J.: The role of MOP and DOP receptors in treatment of diarrhea – predominant irritable bowel syndrome. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2016, tom 16, numer 18, strony 1462–1469. IF 2,661. MNiSW 30 punktów (stan na 2016 rok).
2. **Szymaszkiewicz A.**, Szymaszkiewicz K., Fichna J., Zielińska M.: Ocena zmian zachodzących wraz z wiekiem w jelitowym układzie nerwowym i ich wpływ na perystaltykę przewodu pokarmowego. *Postępy Biochemii* 2021, tom 67, numer 1, strony 34 – 43. MEiN 70 punktów (stan na 2021 rok).
3. **Szymaszkiewicz A.**, Świerczyński M., Talar M., Polepally P.R., Zjawiony J.K., Fichna J., Zielińska M.: Critical interactions between opioid and cannabinoid receptors during tolerance and physical dependence development to opioids in the murine gastrointestinal tract: proof of concept. *Pharmacological Reports* 2021, tom 73, strony 1147 – 1154. IF 3,027. MEiN 70 punktów (stan na 2021 rok).
4. **Szymaszkiewicz A.**, Włodarczyk J., Świerczyński M., Bartoszek A., Krajewska J.B., Mokrowiecka A., Małecka – Wojcieszko E., Fichna J., Zielińska M.: The involvement of the endogenous opioid system in the gastrointestinal aging in mice and humans. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, tom 23, numer 7, strony 1 – 16. IF 5,924. MEiN 140 punktów (stan na 2022 rok).

Na podkreślenie zasługuje tu fakt, że większość artykułów została opublikowana w czasopiśmie posiadającym wysoki Impact Factor; w przypadku jednego artykułu to aż 5,924, wszystkie czasopisma są punktowane przez Ministerstwo Nauki (30 – 140 punktów). Sumaryczna wartość Impact Factor wynosi 11,612, jak na prace doktorskie jest to wynik bardzo wysoki.

Ze względów formalnych, zwraca uwagę inne nazwisko 1 autorki 1 publikacji. Można się domyślać, iż jest to nazwisko pani Doktorantki, jednakże informacja o tym fakcie pojawia się dopiero na str. 89: „Agata Szymaszkiewicz (z d. Jarmuż)”. Dla formalnej przejrzystości lepiej byłoby gdyby ta informacja pojawiła się już na str. 26.



Za cel pracy doktorskiej, Doktorantka postawiła sobie szczegółową analizę roli endogenego układu opioidowego w powstawaniu zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego, ze szczególnym uwzględnieniem starzenia się organizmu. Wybór ten wydaje się ze wszech miar słuszny, ponieważ podejmowane badania dotyczą kluczowego układu regulującego motorykę przewodu pokarmowego, jakim jest enteryczny układ nerwowy. Doktorantka wyodrębnia w nim strukturę czynnościową, związaną z obecnością receptorów opioidowych na komórkach nerwowych enterycznego układu. Ma to duży walor poznawczy, gdyż ujawnia wielopoziomowe mechanizmy regulacyjne w tym układzie, będące przyczyną trudności w ustaleniu patogenezы chorób czynnościowych przewodu pokarmowego. Wyznaczony cel łączy rozważania teoretyczne z praktycznymi aspektami klinicznymi, gdyż Doktorantka łączy eksperymenty na modelu zwierzęcym (myszy) z badaniami klinicznymi wycinków jelita grubego pobranych od pacjentów w czasie kolonoskopii (translacja wyników eksperymentalnych do warunków klinicznych).

Swoje rozważania Doktorantka poprzedza spisem używanych w pracy skrótów. Należy podkreślić sumiennosć Doktorantki w tym zakresie, ponieważ wyjaśnia wszystkie używane przez siebie skróty

W pierwszej publikacji, o charakterze przeglądowym, omówiono budowę, lokalizację i działanie receptorów opioidowych typu  $\mu$  i  $\delta$ . Zwrócono uwagę na ich lokalizację w przewodzie pokarmowym, obok typowej w centralnym systemie nerwowym. Podkreślono także rolę pobudzenia tych receptorów przez opioidy w regulacji sekrecji i absorpcji w przewodzie pokarmowym, a nie tylko jego motoryki. Podjęto również analizę porównawczą klasycznych leków opioidowych, wskazując na ich małą skuteczność w terapii chorób czynnościowych przewodu pokarmowego, ze związkami chemicznymi mającymi wysoki potencjał terapeutyczny i mogącymi stać się skuteczniejszymi lekami w przyszłości. Ten wysoki potencjał terapeutyczny wynika z ich działania na kilka rodzajów receptorów opioidowych równocześnie w sposób różnokierunkowy, tzn. agonistyczny względem jednego typu i antagonistyczny względem drugiego. Pozawala to na normalizację perystaltyki, bez jej nadmiernego zahamowania, z równocześnie zachowanym efektem przeciwbólowym tych leków.

W drugiej publikacji Doktorantka koncentruje się na zmianach zachodzących z wiekiem w enterycznym układzie nerwowym, prowadzących do zaburzeń motoryki w postaci zaparć. Zaparcia w starszym wieku są powszechną dolegliwością geriatryczną, obniżającą komfort życia i mogącą być podłożem do rozwoju innych patologii. Wyjaśnieniem tego

zjawiska może być zmiana jakościowa w enterycznym układzie nerwowym, związana ze zmniejszaniem się ilości neuronów cholinergicznym, z towarzyszącym wzrostem ilości neuronów nitroergicznym. Uwalnianie zwiększonej ilości tlenu azotu, przez neurony nitroergiczne, promuje rozkurcz mięśniówki gładkiej, przeważając nad miokonstrykcyjnym działaniem acetylocholino uwalnianej z zakończeń neuronów cholinergicznym. To zaburzenie równowagi prowadzi do zwolnienia motoryki, miorelaksacji i w konsekwencji do zaparc.

W trzecim artykule Doktorantka przeprowadza analizę wpływu interakcji pomiędzy receptorami opioidowym i kanabinoidowym na rozwój tolerancji i zależności w przewodzie pokarmowym. Tolerancja i zależność są dwoma przeciwstawnymi zjawiskami, które mogą wkleć długookresową terapię farmakologiczną. Z jednej strony długotrwałe stosowanie agonistów może prowadzić do zmniejszenia ilości czynnych receptorów i w ten sposób zmniejszać efekt działania leku i zmuszać do zwiększania jego dawki w celu podtrzymania efektu terapeutycznego. Z drugiej strony, długotrwałe stosowanie agonistów, a zwłaszcza opioidów, grozi wyindukowaniem uzależnienia działania układów organizmu od ich stałego podawania oraz wywoływać zespół odstawienia w przypadku zaniechania ich stosowania. Problem ten ma szczególne znaczenie w odniesieniu do opioidów, w grupie których znajdują się również substancje o charakterze narkotyków (oczywiście w pracach Doktorantki używane są tylko substancje o charakterze potencjalnych leków innowacyjnych z tej grupy). Doktorantka wykazała zarówno przejawy tolerancji jak i zależności w przypadku stosowania agonistów receptorów opioidowych na aktywność skurczową mięśniówki gładkiej cewy pokarmowej. Stwierdziła również, iż równoczesna aktywacja receptorów opioidowych i kanabinoidowych zapobiega zarówno rozwojowi tolerancji, jak i zależności. Postuluje ona stosowanie mieszanych, niespecyficznych agonistów opioidowo – kanabinoidowych w celu zmniejszenia efektów ubocznych działania tych leków.

W czwartym artykule zaprezentowano zależność zaburzeń perystaltyki jelit, występujących wraz ze starzeniem się organizmu a endogennym układem opioidowym. Doktorantka poszerza tu wiedzę na temat zmian w tej specyficznej części enterycznego układu nerwowego prowadzących do zaparc w starszym wieku. Eksperymenty te, przeprowadzone na modelu zwierzęcym (myszy), wykazały zmiany w cAMP – zależnym transporcie jonów chlorkowych, osłabienie wrażliwości tkanek na stymulację receptorów opioidowych typu  $\mu$  i  $\delta$ . Nie wykazano takich zmian w przypadku opioidowych receptorów typu  $\kappa$ . Stwierdzono także obniżenie ekspresji genów dla receptorów  $\mu$  i  $\delta$ . Równocześnie



obserwowano podwyższone stężenie  $\beta$ -endorfiny, prowadzące do zwolnienia motoryki jelitowej. Wyniki te uzyskano w modelu zwierzęcym, natomiast w próbkach pobranych od pacjentów w czasie kolonoskopii nie wykazano zmian w ekspresji genów dla receptorów opioidowych. Sugeruje to albo zwiększenie liczebności i różnorodności grup badanych pacjentów, albo wskazuje, że zmiany procesów regulacyjnych u osób starszych są bardziej skomplikowane niż wynika to z modelu zwierzęcego.

We wnioskach, Doktorantka wskazuje na ważną rolę endogennego układu opioidowego w patogenezie chorób czynnościowych przewodu pokarmowego, jak i w procesie starzenia się układu trawiennego. Lepsze poznanie mechanizmów działania opioidów w zakresie generowania tolerancji lub uzależnienia może znaleźć w przyszłości zastosowanie w projektowaniu nowych innowacyjnych leków w terapii czynnościowych chorób przewodu pokarmowego.

Oceniana praca podejmuje istotny i trudny temat kliniczny jakim są czynnościowe zaburzenia przewodu pokarmowego. Przedstawione wyniki mogą być inspirujące dla opracowania nowych skuteczniejszych metod terapeutycznych. Praca zawiera zwięzłe i przejrzyste omówienie artykułów na nią się składających, a także oświadczenia zgody wszystkich współautorów artykułów i zgodę Komisji Bioetycznej na przeprowadzenia badań klinicznych. Należy podkreślić rzetelność i wnikliwość metodologii statystycznej, wykorzystanie wielu testów statystycznych dopasowanych do specyfiki danych poddanych analizie.

Praca ta zawiera pewną liczbę drobnych błędów redakcyjnych:

Str. 5 – brak wyodrębnienia metodyki w streszczeniu; dane z metodyki wymieszane z wynikami (analogicznie w streszczeniu w języku angielskim)

Str. 23 – brak rozwinięcia anglojęzycznego skrótu ELISA (**E**nzyme-**L**inked **I**mmunosorbent **A**ssay)

Podsumowując, należy stwierdzić, że oceniana praca doktorska podejmuje istotny problem kliniczny jakim są czynnościowe zaburzenia układu trawiennego i proces jego starzenia się. Pod względem merytorycznym pracę cechuje trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność. Rozprawa jest poprawna pod względem formalno-językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym. Pod względem metodologicznym należy wysoko ocenić szeroki wybór metod statystycznych i umiejętność korzystania ze źródeł. Rozprawę

charakteryzuje poprawność formułowania problemów i hipotez oraz trafność doboru metod i narzędzi badawczych oraz umiejętność ich zastosowania. Praca doktorska ma prawidłowy układ i strukturę podziału treści. Uwagi przedstawione w recenzji mają charakter uzupełnienia i drobnej korekty, nie wpływając na pozytywną ocenę całości.

W końcowej ocenie, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny **praca doktorska lek. Agaty Szymaszkiewicz spełnia wszystkie wymogi stawiane przez procedury przewodu doktorskiego i zwracam się do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Agaty Szymaszkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

**Ponieważ rozprawa doktorska posiada wysokie walory naukowe, a także ze względu na jej ważny wkład do medycyny praktycznej oraz wysoki sumaryczny Impact Factor czasopism, w których wyniki zostały opublikowane, składam wniosek o jej wyróżnienie.**

Katedra Fizjologii UJ CM  
Zakład Fizjologii Doświadczalnej



*prof. dr hab. n. med. Sławomir Kwiecień*