

## **Autoreferat**

### **1. Danuta Owczarek**

#### **2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne:**

- 13.07.1990 - dyplom lekarza Akademii Medycznej im. Mikołaja Kopernika w Krakowie, (dyplom nr 8900/154/90);
- 25.11.1993 - pierwszy stopień specjalizacji w zakresie chorób wewnętrznych (Urząd Wojewódzki w Krakowie Wydział Zdrowia, dyplom nr 539/109/1993);
- 21.11.1996 - drugi stopień specjalizacji w zakresie chorób wewnętrznych (Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, dyplom nr 22103/6/I/1996);
- 26.04.1999 - drugi stopień specjalizacji w zakresie gastroenterologii (Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, dyplom nr 29716/19/II/1999);
- 22.03.2002 - stopień naukowy doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy „Badania met-enkefaliny w osoczu i tkance wątrobowej u chorych z pierwotną żółciową marskością wątroby” nadany uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, dyplom nr 2295;

#### **Pozostałe dyplomy i certyfikaty umiejętności:**

- 1994r. – Certyfikat posiadania kwalifikacji do samodzielnego wykonywania badań ultrasonograficznych w zakresie specjalności choroby wewnętrzne (Polskie Towarzystwo Ultrasonograficzne Zarząd Główny)
- 2001r. – Dyplom ukończenia kursu „Diagnostyka ultrasonograficzna w chorobach wątroby, dróg żółciowych, trzustki, śledziony i węzłów chłonnych jamy brzusznej” (szkoła Ultrasonografii Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego);
- 2006r. - Dyplom umiejętności wykonywania badań endoskopowych w zakresie kolonoskopii (Polskie Towarzystwo Gastroenterologii Zarząd Główny, dyplom nr K/074/06);
- 2006r. - Dyplom umiejętności wykonywania badań endoskopowych w zakresie panendoskopii (Polskie Towarzystwo Gastroenterologii Zarząd Główny, dyplom nr P/074/06);
- 2011r. – Certyfikat ukończenia kursu „Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych. Kurs podstawowy” prowadzony przez Uniwersytet

Jagielloński Collegium Medium w ramach projektu „Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae”

- 2013r. – Dyplom uczestnictwa w kursie udoskonalającym „Resuscytacja Krążeniowo-Oddechowa” (Zakład Dydaktyki Medycznej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medium, dyplom nr 5-712/0-00-259-2013);

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

- 1990-1995 Zakład Anatomii Opisowej i Topograficznej Akademii Medycznej im. Mikołaja Kopernika w Krakowie - asystent;
- 1995-2001 Klinika Gastroenterologii Państwowego Szpitala Klinicznego Instytutu Medycyny Wewnętrznej Akademii Medycznej w Krakowie - asystent;
- 2001-2006 Oddział Kliniczny Kliniki Gastroenterologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie – asystent;
- Od 2006 Oddział Kliniczny Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii oraz Chorób Zakaźnych Szpitala Uniwersyteckiego – starszy asystent;
- 2002-2006 Katedra Gastroenterologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medium – asystent;
- 2006-2010 Katedra Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medium – asystent;
- Od 2010 Katedra Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medium – adiunkt;

### **4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r, o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz.595 ze zm.)**

#### **a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego**

Za jedno z istotnych własnych osiągnięć naukowych uznałam monotematyczny cykl publikacji dotyczących *zaburzeń krzepliwości krwi w nieswoistych zapaleniach jelit.*

**Łączna wartość bibliometryczna monotematycznego cyklu 5 publikacji wynosi:**

**IF: 17,497, KBN/MNiSW: 132**

Badania finansowane z programów statutowych w latach 2008-2013.

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

**Owczarek D**, Cibor D, Głowacki MK, Rodacki T, Mach T. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathology and risk factors for hypercoagulability. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 53-63. **IF: 2,547**

**Owczarek D**, Cibor D, Sałapa K, Głowacki MK, Mach T, Undas A. Reduced plasma fibrin clot permeability and susceptibility to lysis in patients with inflammatory bowel disease: a novel prothrombotic mechanism. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:2616-2624

**IF: 5,119**

**Owczarek D**, Cibor D, Sałapa K, Cieśla A, Głowacki MK, Poczta H, Mach TH. Anti-inflammatory and anticoagulant properties of the protein C system in inflammatory bowel disease. *Pol Arch Med. Wewn* 2012;122:209-216 **IF: 1,833**

**Owczarek D**, Undas A, Foley JH, Nesheim ME, Jabłonski K, Mach T. Activated thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFIa) is associated with inflammatory markers in inflammatory bowel diseases. TAFIa level in patients with IBD. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 13-20 **IF: 3,385**

**Owczarek D**, Cibor D, Mach T. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA), arginine, and 8-iso-prostaglandin F2alpha (8-iso-PGF2alpha) level in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16:52-57 **IF:4,613**

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

**Wstęp**

Układ hemostazy stanowi nieodłączny element zapalenia. W czasie toczącego się procesu zapalnego dochodzi do aktywacji nie tylko proteaz pochodzących z komórek nacieku zapalnych, ale również należących do układu krzepnięcia i fibrynolizy. Proces zapalny indukuje krzepnięcie, osłabia układ fibrynolizy i zmniejsza aktywność naturalnych mechanizmów antykoagulacyjnych, z drugiej strony naturalne antykoagulacyjne czynniki zmniejszają podwyższony poziom cytokin wynikający z zapalenia. Czyli osłabienie mechanizmów antykoagulacyjnych nie tylko zwiększa zakrzepowość lecz także wzmacnia proces zapalny. Coraz częściej w patogenezie nieswoistych zapaleń jelit ( NZJ), zwraca się uwagę na zaburzenia w układzie hemostazy, a występujące powikłania zakrzepowo zatorowe mogą dotyczyć zarówno układu żylnego, jak i tętniczego, są one ważnym czynnikiem ciężkości schorzenia jak i śmiertelności pacjentów z NZJ. Częstość występowania epizodów

zakrzepowo-zatorowych w nieswoistych zapaleniach jelit szacuje się na około 0.1% - 0.5% na rok, przy czym całkowita śmiertelność w trakcie jednego zdarzenia sięga aż 25%.

Wykazano że ryzyko wystąpienia systemowych powikłań zatorowo-zakrzepowych jest około 3 krotnie zwiększone u chorych z NZJ w porównaniu z ogólną populacją, jak również powikłania zakrzepowo-zatorowe w NZJ występują w młodszym wieku niż w ogólnej populacji.

Do powikłań zatorowo-zakrzepowych u chorych z NZJ dochodzi głównie w okresie zaostrzenia choroby, na częstość występowania tych powikłań ma również wpływ rozległość procesu zapalnego i inne powikłania. U około 60% chorych z powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi występują rozległy proces zapalny jelita grubego (pancolitis), czy powikłania takimi jak : zwężenie jelita, przetoka lub ropień. Wykazano również że w wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego (WZJG), w przeciwieństwie do choroby Leśniowskiego-Cohna (ChLC), zwiększone ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych występuje także w mało aktywnej chorobie, a nawet w remisji.

Do czynników mających wpływ na powikłania zakrzepowo-zatorowe u chorych z NZJ zalicza się uszkodzenie śródbłonna naczyń, prokoagulacyjne działanie mediatorów zapalenia, predyspozycje genetyczną, obecność przeciwciał antykardiolipidowych, zaburzenia równowagi między układem krzepnięcia i fibrynolizy. Do czynników prokoagulacyjnych zalicza się również czynniki nabyte takie jak: przewlekłe unieruchomienie, zabiegi operacyjne, wklucie centralne, sterydoterapia, antykoncepcja doustna, hormonalna terapia zastępcza, palenie papierosów, hyperhomocysteinemia, niedobór witamin czy odwodnienie. Częstość występowania powikłań zakrzepowo-zatorowych w NZJ ocenia się w badaniach klinicznych pomiędzy 1,3 - 7,7 %, aczkolwiek częstotliwość ta wzrasta do 39 – 41% w badaniach pośmiertnych.

Dlatego też, w oparciu o dotychczasowe opublikowane badania kliniczne można stwierdzić że systemowe powikłania zakrzepowo-zatorowe u chorych z ChLC i WZJG są niedostatecznie diagnozowane i dość często brak tego rozpoznania.

Jest bardzo ważne, że w NZJ zakrzepica występuje nie tylko w systemowym układzie żylnym i tętniczym, jako objawy pozajelitowe lecz również jako mikrozakrzepy w układzie naczyńniowym w niezmiennym zapaleniu jelit.

Wykazano również że u chorych z wrodzonymi zaburzeniami krzepliwości krwi takimi jak hemofilia A, hemofilia B czy choroba van Willebradna ryzyko wystąpienia ChLC i WZJG jest znacząco statystycznie mniejsze. Ponadto są badania wykazujące znaczącą korzyść z zastosowania heparyny u chorych NZJ.

Dlatego też, coraz częściej w patogenezie nieswoistych zapleń jelit, zwraca się uwagę na stan nadkrzepliwości.

Etiopatogeneza zakrzepicy u chorych z NZJ jest wieloczynnikowa i do końca nie jasna. Wielu badaniach wykazano nieprawidłowości jakościowe i ilościowe w czynnikach prokoagulacyjnych, antykoagulacyjnych i fibrynolitycznych predysponujące do wystąpienia zakrzepicy w NZJ, aczkolwiek niektórzy autorzy u połowy pacjentów z NZJ u których rozpoznano zakrzepice nie stwierdzili żadnego z czynników ryzyka.

W swoich pracach podjęłam próbę oceny niezbadanych jeszcze u chorych z NZJ, czynników mogących mieć wpływ na stan nadkrzepliwości, oraz ich związek z nasileniem procesu zapalnego w ChLC i WZJG.

### **Omówienie poszczególnych publikacji.**

**Owczarek D, Cibor D, Głowacki MK, Rodacki T, Mach T.** Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathology and risk factors for hypercoagulability. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 53-63. IF: 2,547

Celem pracy było przedstawienie bardzo ważnego problemu u chorych z NZJ jakim jest nadkrzepliwość, w oparciu o epidemiologie powikłań zakrzepowo-zatorowych oraz przedstawienie nieprawidłowości w układzie hemostazy.

U pacjentów z NZJ występują zaburzenia równowagi pomiędzy czynnikami prokoagulacyjnymi i antykoagulacyjnymi, które predysponują do wystąpienia zatorowości, nieprawidłowości te są zarówno ilościowe jak i jakościowe.

U pacjentów z NZJ stwierdzono zwiększoną produkcję różnych autoprzeciwciał, niektóre z nich są przeciwciałami przeciw czynnikom układu krzepnięcia. Wykazane w NZJ przeciwciała mające wpływ na stan nadkrzepliwości to: antyfosfolipidowe, do których zaliczamy przeciwciała antykardiolipidowe, przeciwciała antykoagulanta toczniowego i przeciwciała przeciw  $\beta$ 2-glukoproteinie I ( $\beta$ 2-GPI) oraz przeciwciała przeciw białku S i przeciwciała przeciw aktywatorowi plasminogenu typu tkankowego (anti-tPA).

Sugeruje się również że zwiększone ryzyko powikłań zatorowo-zakrzepowych w NZJ zależy od czynników genetycznych, wśród których najczęściej wymienia się: czynnik V Leiden (G1691A), mutacja czynnika protrombiny (G20210A), mutacja genu reduktazy metylen tetrahydrofolianu ( MTHFR C667T), mutacja genu inhibitora aktywatora plasminogenu typu 1 (PAI-1), mutacja czynnika XIII ( val34leu), mutacja genu antytrombiny III czy niedobór białka S lub białka C.

Jednak, pomimo licznych badań genetycznych przeprowadzonych w NZJ nie wykazano jednoznacznie związku pomiędzy czynnikami genetycznymi a przyczyną nadkrzepliwości zarówno w ChLC i WZJG.

W zaostrzeniu procesu zapalnego dochodzi do wzrostu poziomu płytek krwi, u chorych z NZJ występuje spontaniczna agregacja płytek lub ich nadreaktywność na niski poziom czynników agregacyjnych niezależna od procesu zapalnego. Wykazano że na zwiększoną aktywność płytek krwi ma wpływ ekspresja cząsteczek CD40 i CD40L na powierzchni płytek krwi oraz P-selektyny, glikoproteiny 53 (GP53) oraz stężenia  $\beta$ -thromboglobulin w surowicy.

Do najczęstszych nieprawidłowości w układzie fibrynolizy, opisywanych w IBD jest obniżenie poziomu tkankowego aktywatora plazminogenu (TPA), wzrost inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI) i inhibitora fibrynolizy aktywowanego trombiną (TAFI).

Dokładna ocena znaczenia aktywnej formy TAFI w ChLC i WZJG została opisana po raz pierwszy w mojej pracy, która jest włączona do cyklu monotematycznego „Activated thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFIa) is associated with inflammatory markers in inflammatory bowel diseases”

W pracach oceniających stężenie inhibitorów układu krzepnięcia w NZJ, wykazano znaczący niższy poziom antytrombiny III (ATIII) oraz inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI) w stosunku do kontroli.

Najważniejszym elementem mechanizmów antykoagulacyjnych jest układ białka C, który został szczegółowo oceniany w kolejnej mojej pracy „Anti-inflammatory and anticoagulant properties of the protein C system in inflammatory bowel disease”.

Kolejnym elementem układu antykoagulacyjnego jest ściana naczyń krwionośnych. Znaczenie w regulacji mechanizmów hemostazy mają kolejne warstwy ściany naczyń: mięśnie gładkie – skurcz naczyń, warstwa podśródbłonkowa – aktywacja układu hemostazy po uszkodzeniu śródbłonka, aktywacja płytek krwi oraz śródbłonka.

Hemostatyczna czynność śródbłonka w warunkach fizjologicznych polega na zapewnieniu niekrzepliwości krwi, nietrombogeniczności powierzchni naczynia, a po uszkodzeniu śródbłonka na ograniczeniu skrzepliny do miejsca trombogenicznego. Uszkodzenie śródbłonka zaburza wieloczynnikową równowagę zapewnioną przez komórki śródbłonka, powodując rozwój wielu istotnych zmian patologicznych, takich jak powstawanie zakrzepów, nadciśnienie, zmiany miażdżycowe, zaburzenia perfuzji tkanek, angiogeneza, nacieki zapalne.

Jedną z metod oceniających uszkodzenie śródbłonka jest ocena stężenia jego markerów, w NZJ stwierdzono wzrost poziomu markerów uszkodzenia śródbłonka takich

jak vWF, TM, EPCR, wykazano również ich korelacje z aktywnością choroby oraz z markerami stanu zapalnego. Do markerów uszkodzenia śródbłonka naczyniowego zaliczana jest również asymetryczna dwumetyloarginina (ADMA).

Pierwszą pracą oceniającą ten marker w IBD jest moja praca „Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA), arginine, and 8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$  (8-iso-PGF2 $\alpha$ ) level in patients with inflammatory bowel diseases”  
Uszkodzenie śródbłonka naczyniowego jest uważane za jeden z czynników zwiększających ryzyko powikłań zatorowo-zakrzepowych w NZJ.

W kaskadzie krzepnięcia dochodzi do przekształcenia wielu czynników nieaktywnych w formy aktywne, których końcowym zadaniem jest wytworzenie trombiny, która z kolei wpływa na rozpuszczalny fibrynogen, przekształcając go nierozpuszczalną fibrynę. W badaniach oceniających czynniki kaskady krzepnięcia w NZJ, wykazano wzrost fibrynogenu, wzrost czynnika V, VII, VIII i XIII oraz wzrost fragmentów protrombiny 1+2 (F1+2) i kompleksu trombina-antytrombina.

Wykazano, że na powstały w końcowym etapie kaskady krzepnięcia skrzep fibrynowy mogą wpływać różne czynniki które zmieniają jego właściwości. Do czynników mogących oddziaływać niekorzystnie na strukturę skrzepu fibrynowego zalicza się: wzrost poziomu markerów stanu zapalnego takich jak fibrynogenu, CRP, płytek krwi, stresu oksydacyjnego, jak również wysoki poziom homocysteiny, glukozy, trombiny, lipoprotein, otyłość, mała aktywność fizyczna czy palenie tytoniu.

Pierwszą pracą oceniającą właściwości skrzepu fibrynowego w NZJ jest kolejna praca dołączonej do cyklu monotematycznego „Reduced plasma fibrin clot permeability and susceptibility to lysis in patients with inflammatory bowel disease: a novel prothrombotic mechanism”

## Wnioski

Etiopatogeneza NZJ pomimo licznych badań nie jest do tej pory jednoznacznie określona. Do najczęściej wymienianych czynników zalicza się nieprawidłowości genetyczne i immunologiczne, aczkolwiek w ostatnim okresie coraz częściej jest dyskutowana rola uszkodzenia śródbłonka oraz zaburzeń krzepliwości krwi jako czynnika wywołującego NZJ. Hipoteza wskazująca na znaczącą rolę krzepnięcia krwi w etiologii NZJ, znajduje potwierdzenia w badaniach w których wykazano że użycie do leczenia inhibitorów krzepnięcia krwi u pacjentów z NZJ jest bezpieczne i przynosi pozytywne efekty terapeutyczne.

Należy pamiętać że powikłana zatorowo-zakrzepowa w NZJ występują nie tylko w fazie aktywnej lecz również w okresie remisji choroby.

Jak do tej pory brak jednoznacznych wytycznych prowadzenia profilaktyki przeciwzakrzepowej u chorych NZJ, aczkolwiek leczenie przeciwzakrzepowe powinno być prowadzone u chorych hospitalizowanych z ciężkim zaostrzeniem NZJ i z wywiadem przebytych powikłań zakrzepowo-zatorowych.

Konieczne są dalsze badania oceniające znaczenie zaburzeń krzepliwości w etologii NZJ oraz badania pozwalające ustalić jednoznaczne wskazania do leczenia profilaktycznego przeciwzakrzepowego u chorych z dużym ryzykiem powikłań zatorowo-zakrzepowych.

**Owczarek D**, Undas A, Foley JH, Nesheim ME, Jabłonski K, Mach T. Activated thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFIa) is associated with inflammatory markers in inflammatory bowel diseases. TAFIa level in patients with IBD. J Crohns Colitis 2012; 6: 13-20 IF: 3,385

Inhibitor fibrynolizy aktywowany trombiną (TAFI ) jest jednym z modulatorów homeostazy łączącym układ krzepnięcia z układem fibrynolizy, jak również układ hemostazy z procesem zapalnym. TAFI jest proenzymem osoczym, aktywowanym przez trombinę, kompleks trombina – trombomodulina i plasminę do formy aktywnej (TAFIa). TAFIa odszczepia C-końcowe reszty lizyny ze zmodyfikowanego plazminą włóknika, co zmniejsza aktywację plazminogenu, a tym samym osłabia fibrynolizę. Poza hamowaniem fibrynolizy TAFIa może odgrywać także rolę w procesach zapalnych. Aktualnie badany jest jego potencjalny udział jako naturalnej cząsteczki przeciwzapalnej, z uwzględnieniem jej zdolności do inaktywacji silnych anafilatoksyn, C3a i C5a, jak również mediatorów prozapalnych, bradykininy i osteopontyny.

Wykazano również że TAFI, ma związek nie tylko z występowaniem powikłań zakrzepowo-zatorowych w różnych schorzeniach takich jak cukrzyca typu 2, choroba wieńcowa, udar niedokrwienny, zespół nerczycowym reumatoidalne zapalenie stawów, choroba Behcet czy choroby nowotworowe, ale również ma wpływ na przebieg tych schorzeń.

Biorąc pod uwagę rolę TAFIa w zaburzeniach hemostazy i jej wpływ na przebieg procesu zapalnego, podjęliśmy próbę oceny związku pomiędzy stężenia TAFIa u pacjentów z ChLC i WZJG, a przebiegiem, aktywnością i sposobem leczenia tych chorób oraz czy istnieje korelacja pomiędzy poziomem TAFIa a wybranymi parametrami zapalnymi oraz niektórymi markerami hemostazy.



Praca ta jest pierwszą publikacją oceniającą, osoczowe stężenie aktywnej formy TAFI (nie proenzymu –TAFI) chorych z NZJ.

Badaniem objęto 105 chorych, w tym 55 z rozpoznaniem WZJG i 50 z ChLC.

U każdego chorego określono: czas trwania choroby, lokalizację, aktywność choroby, powikłania, aktualne leczenie farmakologiczne, przebyte operacje, palenie papierosów, choroby towarzyszące, obliczono indeks masy ciała. Do oceny aktywności ChLC użyto wskaźnika aktywności choroby Crohna (CDAI), a dla WZJG wskaźnika aktywności choroby (DAI). W zależności od CDAI chorych ChLC podzielono na 2 podgrupy: ChLC nieaktywna podgrupa (CDAI<150 ) i ChLC aktywna podgrupa (CDAI ≥150). U chorych WZJG wydzielono również 2 podgrupy w zależności od DAI : WZJG nieaktywna podgrupa (DAI <6), i aktywna podgrupa (DAI≥6). U każdego chorego oprócz oceny stężenia TAFIa, oznaczono parametry laboratoryjne: leukocyty, hematokryt, płytki krwi, albuminę, fibrynogen, białko CRP, INR, APTT, D-dimery, antytrombina III oraz układ białka C.

Wykazano wyższe stężenie TAFIa u chorych z ChLC niż u chorych WZJG. W grupie chorych z WZJG wykazano dodatnią korelację TAFIa z aktywnością choroby oraz z poziomem leukocytów, białka ostrej fazy i fibrynogenu oraz ujemną korelację z albuminami. W grupie ChLC stwierdzono dodatnią korelację TAFIa z poziomem białka ostrej fazy, fibrynogenu i płytek krwi, a ujemną korelację z albuminami.

#### **Wnioski:**

1. Jest to pierwsze badanie wykazujące wyższą koncentrację TAFIa w NZJ w stosunku do przyjętej normy.
2. Jest to pierwsze badanie wykazujące wyższy poziom TAFIa u chorych z ChLC w stosunku do WZJG.
3. Osłabiona fibrynoliza w NZJ może wynikać z podwyższonego poziomu TAFIa.
4. Poziom TAFIa wykazuje związek z markerami stanu zapalnego w NZJ.
5. Wyniki te potwierdzają hipotezę że TAFIa może być markerem stanu zapalnego, szczególnie w aktywnym WZJG.

**Owczarek D,** Cibor D, Sałapa K, Cieśla A, Głowacki MK, Poczta H, Mach TH. Anti-inflammatory and anticoagulant properties of the protein C system in inflammatory bowel disease. Pol Arch Med. Wewn 2012;122:209-216 IF: 1,833

Układ antykoagulacyjny jest odpowiedzialny za równowagę tendencji prokrzepowej w układzie hemostazy. Układ ten obejmuje: układ fibrynolityczny, inhibitory osoczowe układu krzepnięcia, układ białka C, i ściany naczyń krwionośnych.

Układ białka C jest inicjowany przez trombinę przyłączoną do związanej ze śródbłonkiem trombomoduliny (TM). Trombina po związaniu z trombomoduliną nabywa zdolności aktywowania białka C (PC). Aktywne białko C (APC), w obecności kofaktora, którym jest białko S (PS), inaktywuje aktywne czynniki VIII i V.

W badaniach wykazano że TM jak również APC, oprócz właściwości antykoagulacyjnych, mają także wpływ na przebieg procesu zapalnego, apoptose i barierę śródbłonka. Wykazano że u pacjentów ze sepią, spadek poziomu białka C, koreluje z ciężkim przebiegiem sepsy, a podanie białka C pacjentom z meningococccemia zmniejsza objawy płamicy piorunującej i zwiększa przeżywalność. Stwierdzono również że spadek poziomu thrombomodulin koreluje z wzrostem zakrzepicy i naciekiem leukocytów, a jej lokalny wzrost ekspresji zapobiega powstawaniu zatorowości tętniczej na modelach zwierzęcych.

Wyższy poziom TM jest stwierdzany w schorzeniach przebiegających z uszkodzeniem śródbłonka naczyń między innymi w infekcjach, sepsie, zapaleniach, ponieważ jest ona uważana za marker uszkodzenia śródbłonka.

Opublikowane do tej pory prace oceniające układ białka C w NZJ są niekompletne i sprzeczne. Z uwagi na rolę jaką spełnia układ białka C w hemostazie oraz jego wpływu na stan zapalny, podjęto próbę analizy stężenia TM, PC, PS u pacjentów z ChLC i WZJG, oraz ich związku z aktywnością tych schorzeń.

W badanych grupach ChLC, WZJG oraz w grupie kontrolnej oznaczono w osoczu: stężenie rozpuszczalnej TM i wolnego PS, aktywność PC oraz poziom interleukiny-6 i czynnika martwicy guza. Wykonano również oznaczenia takich parametrów jak : leukocyty, hematokryt, płytki krwi, fibrinogen, albuminy, białko ostrej fazy, D-dimery , antytrombina III i czas częściowej tromboplastyny po aktywacji.

Oznaczone parametry zostały porównane nie tylko w grupach ChLC, WZJG i grupa kontrolna, lecz również pomiędzy podgrupami aktywna ChLC a nieaktywna ChLC oraz pomiędzy odpowiednimi podgrupami dla WZJG.

Poziom TM w WZJG był wyższy w stosunku do grupy kontrolnej ( $p=0,0042$ ), wartości aktywności PC były wyższe w NZJ w stosunku do grupy kontrolnej (WZJG  $p=0,00$ , ChLC  $p=0,0008$ )

W grupach WZJG i ChLC wartości wolnego PS były niższe w porównaniu do grupy kontrolnej. (WZJG  $p=0,0031$ , ChLC  $p=0,0000$ ). Poziom PLT, CRP i fibrynogenu był znamienne statystycznie wyższy w grupie WZJG i ChLC w stosunku do grupy kontrolnej, jak również w podgrupach aktywnych w stosunku do nieaktywnych odpowiednich grupach chorych. Dla poziomu aktywności PC wykazano pozytywną korelację z aktywnością choroby

WZJG. Dodatkowo stwierdzono dodatnią korelację TM z PC i PS w grupie WZJG. Dla ocenianych cytokin prozapalnych wykazano znamienne statystycznie wyższe wartości dla TNF zarówno w grupie WZJG i ChLC w stosunku do grupy kontrolnej, dla IL-6 taka zależność została wykazana tylko dla grupy ChLC ( $p=0,0017$ ).

#### **Wnioski:**

1. Układ antykoagulacyjny w dynamiczny sposób uczestniczy w licznych procesach zapalnych toczących się przewlekle w jelitach i reprezentuje ważny czynnik w patogenezie NZJ, który do tej pory nie jest dokładnie jasno zrozumiany jak również jest niedoceniony .
2. Nadkrzepliwość w NZJ być może nie jest związana ze spadkiem aktywności układu antykoagulacyjnego lecz poprzez nasilenie układu koagulacyjnego przez sam proces zapalny.
- 3 . Rola PC w NZJ nie jest dokładnie określona, na podstawie naszych badań można wysunąć hipotezę że jego właściwości przeciwzapalne jak również przeciwkrzepliwie mają większe znaczenie w przebiegu WZJG niż ChLC, jednak nie można uznać PC za marker stanu zapalnego jak również za jednoznaczny czynnik ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych w NZJ.
4. Zmniejszenie - aktywności układu antykoagulacyjnego, nie jest głównym czynnikiem ryzyka zakrzepicy w NZJ, a zwiększenie poziomu sTM i PC może mieć związek z ich działaniem przeciwzapalnym w NZJ.
5. Nasze wyniki mogą potwierdzać koncepcję że nadkrzepliwość w NZJ jest związana z zaburzeniami w układzie prokoagulacyjnym.

**Owczarek D, Cibor D, Sałapa K, Głowacki MK, Mach T, Undas A.** Reduced plasma fibrin clot permeability and susceptibility to lysis in patients with inflammatory bowel disease: a novel prothrombotic mechanism. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:2616-2624 IF: 5,119

Końcowym etapem w procesie krzepnięcia krwi, dochodzi do odłączenia z fibrynoгену, fibrynopeptydu A i fibrynopeptydu B zapoczątkowanego przez trombinę. Powstałe monomery fibryny w obecności czynnika XIII, wytwarzają cross-linking, w rezultacie jest formowany skrzep fibrynowy. Na strukturę skrzepu fibrynowego mają wpływ czynniki środowiskowe i genetyczne. Wykazano, że zakrzepy uformowane z grubych włókien, z zredukowaną liczbą połączeń są bardziej przepuszczalne i ulegają rozpuszczeniu szybciej niż skrzepy utworzone z cieńszych włókien i ze zwiększoną gęstością. Stwierdzono również że wewnątrznaczyniowa aktywność fibrynolizy jest regulowana nie tylko przez aktywatory plazminogenu (TPA) i czynniki hamujące, w tym inhibitor aktywatora plazminogenu -1 (PAI-1), lecz także przez architekturę zakrzepu fibrynowego. Wiadomo, że

prozakrzepowy fenotyp zakrzepu fibrynowego przyczynia się do zakrzepicy. Zmienione właściwości skrzepu fibrynowego, głównie poprzez zmniejszenie przepuszczalności i osłabienie fibrynolizy wykazano u chorych z ostrym lub po przeżytym zawale mięśnia sercowego, stabilnej chorobie tętnic wieńcowych, idiopatyczny zakrzepowym zapaleniu żył, cukrzycy, przewlekłym zapaleniu oskrzeli i reumatoidalny zapaleniu stawów.

Jest to pierwsze badanie oceniające fenotyp skrzepu fibrynowego w NZJ.

Z uwagi na przewlekły stan zapalny występujący w NZJ oraz jego wpływ na prozakrzepowe właściwości skrzepu fibrynowego, postawiono hipotezę, że nieprawidłowe cechy skrzepu fibrynowego mogą być wykryte również u pacjentów z NZJ.

Celem tej pracy było wykazanie czy właściwości skrzepu fibrynowego są zmienione w ChLC i WZJG oraz czy korelują z aktywnością choroby.

Do badania włączono 85 pacjentów z NZJ, w tym 38 z ChLC i 47 z WZJG, u których diagnoza została postawiona na podstawie kryteriów histologicznych, endoskopowych i radiologicznych. Grupę kontrolną stanowiło 41 zdrowych ochotników.

W badanych grupach oznaczono:

Właściwości skrzepu fibrynowego:  $K_s$  - współczynnik przepuszczalności;  $t_{50\%}$  - czas lizy skrzepu; D-Dmax - maximum stężenie D-dimeru w teście lizy skrzepu; D-Drate - maksymalne tempo wzrostu stężenia D-dimeru;  $\Delta Abs_{max}$  (405 nm) - maksymalna absorbanca żelu fibrynowego przy długości fali 405 nm oznaczana metoda turbidymetryczną; Lag phase - czas do rozpoczęcia się polimeryzacji fibryny; Compaction - ściśliwość skrzepu.

Dodatkowe badania biochemiczne: hematokryt, leukocyty, płytki krwi, fibrynogen, białko ostrej fazy, tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA), inhibitor aktywatora plazminogenu (PAI-1).

U pacjentów z WZJG i ChLC stwierdzono statystycznie niższe wartości  $K_s$  oraz - ściśliwość skrzepu w stosunku do grupy kontrolnej, ( dla obydwu porównań  $p < 0.001$ ) oraz wyższą  $\Delta Abs_{max}$  (odpowiednio  $p = 0.008$ ,  $p < 0.0001$ ) i D-Dmax ( odpowiednio  $p = 0.01$ ,  $p < 0.0001$ ), oraz wydłużony czas lizy skrzepu ( obydwu grupach chorych  $p < 0.0001$ ), w stosunku do kontroli. W analizie wieloczynnikowej wykazano że, dla chorych z WZJG,  $K_s$ , ściśliwość skrzepu, czas lizy skrzepu i D-Dmax są niezależnymi czynnikami korelującymi z aktywnością choroby, takiej zależności nie wykazano dla ChLC. W grupie ChLC,  $K_s$  i czas lizy skrzepu są tylko niezależnymi czynnikami korelującymi dla fibrynogenu i CRP.

## **Wnioski**

1. W grupie chorych WZJG i ChLC skrzep fibrynowy utworzony jest z gęstej sieci odpornej na lizę.

2. Prozakrzepowe cechy skrzepu fibrynowego u chorych WZJG ściśle korelują z aktywnością choroby.
3. Prozakrzepowy fenotyp skrzepu w NZJ może być nowym czynnikiem zwiększającym ryzyko zakrzepicy.

**Owczarek D, Cibor D, Mach T.** Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA), arginine, and 8-iso-prostaglandin F2alpha (8-iso-PGF2alpha) level in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16:52-57 IF:4,613

W ostatnim okresie w patogenezie NZJ podkreśla się kluczową rolę zaburzeń krzepliwości krwi, stresu oksydacyjnego oraz dysfunkcji śródbłonka definiowanej jako zmianę jego właściwości, prowadzącą do zaburzenia jego homeostatycznych funkcji, a w konsekwencji do nadkrzepliwości. Komórki śródbłonka zapewniają prawidłowy dostęp tlenu i składników odżywczych do tkanek i chronią je przed szkodliwym działaniem bodźców zewnętrznych. Mają także istotne znaczenie w regulacji ilości i jakości leukocytów migrujących z przestrzeni naczyniowej do przestrzeni pozakomórkowej, który to proces mediowany jest przez szereg czynników takich jak cytokiny, chemokiny czy cząsteczki adhezyjne. W wyniku wzmożonej proliferacji i aktywności komórek śródbłonka dochodzi także do zmian w mikrokrążeniu jelitowym, które z kolei prowadzą do lokalnego zaburzenia ukrwienia jelit, a w konsekwencji do wystąpienia miejscowych ognisk martwicy tkanki i owrzodzeń błony śluzowej.

Stopień aktywacji śródbłonka naczyniowego związany z jego uszkodzeniem można ocenić pośrednio na podstawie oznaczenia stężenia krążących wskaźników biochemicznych. Do grupy rozpuszczalnych wskaźników funkcji śródbłonka należą między innymi: endotelina-1, cząsteczka adhezyjna ICAM-1, czynnik von Willebranda (vWf), trombomodulina, tlenek azotu (NO) tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA), inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu (PAI), urokinazowy aktywator plazminogenu (uPA), inhibitor czynnika tkankowego (TFPI), a także asymetryczna dimetyloarginina (ADMA).

Jak wynika z analizy opublikowanych badań, wzrost stężenia ADMA w osoczu koreluje dysfunkcją śródbłonka naczyniowego, spadkiem aktywności syntetazy tlenu azotu (NOS), oraz z nasileniem powikłań naczyniowych. Dysfunkcja śródbłonka naczyniowego prowadzi do osłabienia wasodilatacji zależnej od śródbłonka, nasilenia agregacji płytek krwi i adhezji monocytów. Wzrost osoczowego poziomu ADMA wykazano między innymi u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi, z przewlekłymi chorobami nerek, w cukrzycy typu 1 i 2.

ADMA jest endogennym inhibitorem syntazy tlenu azotu, powstaje podobnie jak symetryczna dimetyloarginina (SDMA) z argininy w wyniku potranslacyjnej enzymatycznej metylacji. Jednym z czynników wpływających na akumulację ADMA jest stres oksydacyjny, w którym dochodzi do zaburzenia równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych metabolitów tlenowych a ich usuwaniem przez antyoksydanty. Z kolei jednym z najlepszych markerów stresu oksydacyjnego są 8-izo-prostany F<sub>2</sub>α (8-izo-PGF<sub>2</sub>α), będące produktem wolnorodnikowej peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych

Jest to pierwsze badanie oceniające osoczowy poziom, ADMA, SDMA, argininy u chorych z NZJ.

Badaniem objęto 63 kolejnych chorych, w tym 31 z rozpoznaniem WZJG i 32 z ChLC. Grupa kontrolna została utworzona z 64 zdrowych ochotników w tym 30 kobiet i 34 mężczyzn w przedziale wiekowym 19-65 lat. Z uwagi na fakt, że średnia wieku pacjentów w grupie WZJG (średnia wieku 37 ± 14) była istotnie statystycznie wyższa niż w grupie ChLC (średnia wieku 28,5 ± 10), cała grupa kontrolna została podzielona pod względem średniej wiekowej na grupę kontrolną WZJG i grupę kontrolną ChLC.

U każdego uczestnika oznaczono: argininy, ADMA, SDMA i 8-izo-PGF<sub>2</sub>α oraz podstawowe parametry laboratoryjne: erytrocyty, leukocyty, hemoglobina, hematokryt, płytki krwi, glukozę, kreatyninę, aminotransferazę alaninową, albuminę, fibrynogen oraz białko ostrej fazy.

Badanie wykazało wyższe stężenia ADMA, SDMA i 8-izo-PGF<sub>2</sub>α w obu grupach chorych w porównaniu z odpowiednimi grupami kontrolnymi, przy czym najwyższy poziom istotności statystycznej zaobserwowano w grupie ChLC dla ADMA i SDMA oraz w obydwu grupach dla 8-izo-PGF<sub>2</sub>α. Wykazano także dodatnią korelację między aktywnością choroby w grupie WZJG a stężeniem 8-izo-PGF<sub>2</sub>α, a w grupie ChLC między aktywnością choroby a stężeniem ADMA oraz SDMA a także ujemną korelację pomiędzy aktywnością choroby a stosunkiem Argininy do ADMA. Stężenie ADMA wykazuje dodatnią korelację z liczbą płytek i stężeniem fibrynogenu u chorych z WZJG. Z kolei stężenie SDMA wykazuje istotną statystycznie dodatnią korelację ze stężeniem CRP u chorych z ChLC, . Ponadto w grupie WZJG stwierdzono, że stężenie 8-izo-PGF<sub>2</sub>α jest dodatnio skorelowane z CRP

### **Wnioski:**

1. Wyniki te wskazują na istotną rolę dysfunkcji śródbłonna oraz stresu oksydacyjnego u pacjentów z NZJ oraz na różnice istniejące pomiędzy ChLC a WZJG.
2. Podwyższone wartości markerów uszkodzenia śródbłonna oraz stresu oksydacyjnego, korelują ze stopniem aktywności choroby.

3. Stężenia ADMA koreluje z markerami krzepliwości krwi i jednocześnie stanu zapalnego.
4. Dystynkcja śródbłonna naczyniowego może mieć znaczący wpływ na stan nadkrzepliwości w NZJ.
5. Zrozumienie mechanizmów prowadzących do wytworzenia stanu zapalnego może przyczynić się do znalezienia skutecznych metod leczenia NZJ

## **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych / artystycznych.**

### **a) analiza bibliometryczna**

Publikacje autor/współautor stan na 27.12.2013.

21 oryginalnych pełno tekstowych prac naukowych, w tym 11 w czasopismach posiadających „impact factor”

10 prac poglądowych, w tym 1 praca w czasopiśmie posiadających „impact factor”

3 opisy przypadków, w tym 1 opis w czasopiśmie posiadającym „impact factor”

Liczba cytowań : 65 (ISI Web of Science 1945-2013 z dnia 27.12.2013).

Współczynnik Hirscha: 4 (wg bazy Web of Science).

	<b>IF</b>	<b>KBN/MNiSW</b>	<b>IC</b>
<b>Oryginalne pełno tekstowe prace naukowe</b>	26,106	261	99,13
<b>Prace poglądowe</b>	2,547	49	21,54
<b>Opisy przypadków</b>	2,080	25	4,41
<b>Razem</b>	<b>30,733</b>	<b>335</b>	<b>125,08</b>

3 listy do redakcji w czasopismach posiadających „impact factor” **IF: 11,192**

1 publikacja – udział w badaniach wielośrodkowych – czasopismo nie posiadające „impact factor”

61 doniesień zjazdowych, w tym 31 ze zjazdów międzynarodowych.

Niezależnie od własnych publikacji, jestem członkiem redakcyjnym oraz recenzentem czasopisma anglojęzycznego o zasięgu międzynarodowym World Journal of Gastroenterologii ( IF: 2,547) oraz recenzowałam kilka artykułów dla Polskiego Archiwum Medycyny Wewnętrznej (IF:1,833)

### **b) nagrody i wyróżnienia**

- II Nagroda w sesji plakatowej XV Kongresu Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii „Cytokiny prozapalne (IL-1beta, IL-6, TNF-alfa) w ślinie chorych na aktywną i nieaktywną chorobą Leśniowskiego-Crohna”

### c) udział w projektach i grantach badawczych

- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Przebieg wrzodzącego zapalenia jelita grubego, a zmiany stężenia peptydów opioidowych w osoczu i ścianie jelita grubego – kierownik tematu.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Zaburzenia w układzie antykoagulacyjnym, ze szczególnym uwzględnieniem trombomoduliny, u chorych z wrzodzącym zapaleniem jelita grubego w zależności od stopnia zaostrzenia objawów” – kierownik tematu.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Wpływ czynników genetycznych na właściwości sieci fibrynowej w nieswoistych chorobach zapalnych jelit zapaleniami jelit” – kierownik tematu.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Zachowanie się cytokin prozapalnych TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  i receptora tych cytokin TNFR1/2 w surowicy krwi i w błonie śluzowej jelita grubego u chorych z aktywną i nieaktywną chorobą Leśniowskiego-Crohna”- współwykonawca..
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Przydatność kliniczna monitorowania wybranych wskaźników zapalnych i cytokin w surowicy krwi w ocenie odpowiedzi na leczenie zaostrzenia choroby Leśniowskiego- Crohna”- współwykonawca.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Optymalizacja przewlekłego leczenia inhibitorem pompy protonowej u pacjentów z nienadżerkową chorobą refluksową przełyku (NERD) badanie prospektywne, randomizowane”- współwykonawca.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Wpływ redukcji ciężaru ciała na ryzyko nawrotu i nasilenie dolegliwości u pacjentów z chorobą refluksową przełyku – badanie prospektywne - współwykonawca.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Wybrane biochemiczne markery dysfunkcji śródbłonna: czynnik von Willebranda (vWf) i inhibitor zewnątrzpo pochodnego układu krzepnięcia (TFPI) u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChL-C)” - współwykonawca.
- Grant statutowy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego „Badania nad dysfunkcją śródbłonna u chorych z nieswoistym stanem zapalnym jelit”- współwykonawca.



#### **d) działalność dydaktyczna**

- seminaria i ćwiczenia z zakresu gastroenterologii dla studentów IV roku Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- wykłady i seminaria dla Kierunku Dietetyka Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Wykłady dla Krakowskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii – spotkania naukowe w 2008r. – 2009r.
- Wykłady dla Uniwersytetu III Wieku – 2010r.
- Wykłady dla Polskiego Towarzystwa Wpierania Osób z Nieswoistymi Zapaleniami Jelit „J-elita” 2009- 2010r.
- Wykłady dla Krakowskich Dni Hepato-Gastroenterologiczne – 2008r. i 2013r.
- Wykłady dla Artes Liberales Uniwersytetu Jagiellońskiego „Wyzwania współczesnej medycyny”-Środowisko a choroby przewodu pokarmowego 2012r.
- Wykłady dla Medycznego Centrum kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Jagiellońskiego „Postępowanie dietetyczne w patologiach przewodu pokarmowego” 2012r. i 2013r.
- Wykład na II Kongresie Akademii Po Dyplomie „Gastroenterologia wiedza bez tajemnic” – 2012r.
- Wykład dla Małopolskiej Szkoły Gastroenterologicznej – I spotkanie- 2013r..
- Kierownik specjalizacji lekarzy w zakresie gastroenterologii.
- Promotor pracy magisterskiej z Kierunku Dietetyki Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego – 2013r.- 2014r.

#### **e) członkostwo w towarzystwach naukowych**

- Członek Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego
- Członek sekcji jelitowej Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego.
- Członek Europejskiej Organizacji Choroby Crohna i Wrzodziejącego Zapalenia Jelita Grubego – ECCO- European Crohn’s and Colitis Organization.

