

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA

ȘCOALA DOCTORALĂ

CLUJ-NAPOCA 2015



EDITURA MEDICALĂ
UNIVERSITARĂ
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ NAPOCA

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

CONTRIBUȚII LA EPIDEMIOLOGIA
ȘI PATOGENEZA INTESTINULUI
IRITABIL

Doctorand **Flaviu Viorel Rusu**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Dan Lucian Dumitrascu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	17
1. Epidemiologia și Fiziopatologia Sindromului de intestin iritabil	19
1.1. Fiziologia funcției motorii și senzitive a intestinului	19
1.1.1. Aferențele intestinului	19
1.1.2. Stimulii intestinului	20
1.1.3. Reprezentarea senzațiilor la nivel cerebral	21
1.2. Aspecte neuropatologice	22
1.2.1. Sensibilitatea periferică	22
1.2.2. Sensibilitatea centrală	23
1.2.3. Factori psihosociali	24
1.2.4. Reprezentarea corticală a durerii în Sindromul de intestin iritabil	25
2. Etiopatogeneza sindromului de intestin iritabil	27
2.1. Aspecte etiopatogenetice	27
2.1.1. Mediul înconjurător	28
2.1.2. Genetică	29
2.1.3. Sindromul de intestin iritabil postinfecțios	29
2.1.4. Suprapopularea bacteriană	30
2.1.5. Intoleranța alimentară	31
2.1.6. Semnalele serotonergice	31
2.1.7. Inflamația la nivel intestinal	33
2.1.7.1. Graninele	36
2.1.7.2. Receptorii toll-like	38
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	41
1. Ipoteza de lucru	43
2. Studiul 1 – Expresia la nivelul mucoasei intestinale a receptorilor toll-like și a graninelor în sindromul de intestin iritabil.	45
2.1. Introducere	45
2.2. Ipoteza de lucru/obiective	46
2.3. Material și metodă	47

2.4. Rezultate	53
2.5. Discuții	57
2.6. Concluzii	59
3. Studiul 2 – Urmărirea pe un interval de patru ani a pacienților cu sindrom de intestin iritabil.	61
3.1. Introducere	61
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	62
3.3. Material și metodă	62
3.4. Rezultate	64
3.5. Discuții	82
3.6. Concluzii	83
4. Studiul 3 - Epidemiologia sindromului de intestin iritabil în foste țări comuniste din Europa de Est	85
4.1. Introducere	85
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	86
4.3. Material și metodă	86
4.4. Rezultate	87
4.5. Discuții	94
4.6. Concluzii	99
5. Discuții generale	101
6. Concluzii generale	103
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	107
REFERINȚE	111

INTRODUCERE

Sindromul de intestin iritabil (SII) reprezintă o afecțiune frecventă a tubului digestiv definită ca și alterarea tranzitului intestinal asociată cu durere. Aceasta afectează aproximativ 20% din populația generală, în special sexul feminin. SII se caracterizează prin simptome polimorfe (disconfort abdominal, balonare, crampe intestinale) asociate cu tulburări ale tranzitului intestinal (diaree, constipație sau alternanța acestora) în absența oricăror modificări gastrointestinale organice. SII a fost asociat cu o mare varietate de simptome, dintre care stresul psihic și fizic afectează calitatea vieții pacienților și crește utilizarea resurselor în sistemul de sănătate. Diagnosticul corect al comorbidităților este foarte important pentru un diagnostic precis și pentru alegerea tratamentului optim la acest grup de pacienți.

În ceea ce privește inflamația, numeroși markeri de activitate biologică au făcut obiectul cercetării la pacienții cu SII în ultimii ani, cei mai importanți fiind: citokinele pro-inflamatorii (IL-6, TNF-alfa) și anti-inflamatorii (IL-10), limfocitele intraepiteliale (IELs), eozinofilele, mastocitele, factorul de necroză tumorală (TNF- α), leucocitele, monocitele, macrofagele, proteina C-reactivă, viteza de sedimentare a hematiilor (VSH), prostaglandina E2, receptorii toll-like și graninele, rolul acestora în patogeniza SII fiind mai mult sau mai puțin cercetat.

Ulterior descrierii aspectelor teoretice privind SII, conținutul acestei teze a fost axat pe prezentarea cercetării personale cuantificate în trei capitole separate.

Primul capitol: Expresia la nivelul mucoasei intestinale a receptorilor toll-like și a graninelor în sindromul de intestin iritabil, reprezintă contribuția personală privind evaluarea unor markeri ai inflamației la nivel intestinal precum și rolul acestora în patogeniza SII. Au fost analizați 2 markeri ai inflamației, receptorii toll-like respectiv graninele, pe un lot de pacienți cu SII și voluntari sănătoși, cercetare care a fost efectuată în Suedia, la Universitatea Goteborg. Rezultatele parțiale publicate la UEGWeek Berlin 2013 au evidențiat originalitatea cercetării, cercetarea în sine fiind realizată în premieră internațională, rezultatele fiind încurajatoare privind implicarea acestor markeri în patogeniza SII.

Al doilea capitol: Urmărirea pe un interval de patru ani a pacienților cu SII, reprezintă un studiu retrospectiv longitudinal în care am utilizat datele pacienților diagnosticați cu SII din baza de date a Clinicii Medicale II Cluj Napoca în intervalul 2008 - 2011. Am analizat datele referitoare la debutul simptomelor, bolile asociate, mediul de origine (urban sau rural), evoluția simptomelor și terapia administrată pacienților. Un lot de 114 pacienți diagnosticați cu SII conform criteriilor Roma III au fost incluși în studiu. Rezultatele acestui studiu au confirmat date deja cunoscute și publicate în literatura de specialitate dar a adus în același timp și lucruri noi, mai puțin cunoscute sau dovedite. Acest studiu este (dupa cunoștințele noastre) primul din România care publică rezultatele urmării unui lot de pacienți cu SII pe un interval mai lung de timp, reprezentând al doilea capitol original de cercetare din teză.

Al treilea capitol din teză: Epidemiologia Sindromului de intestin iritabil în foste țări comuniste din Europa de Est, este un studiu de tip analiză sistematică în care am utilizat date de pe portalul PubMed.

CUVINTE CHEIE

Sindrom de intestin iritabil, epidemiologie, patogeneză, tulburări funcționale gastrointestinale, prevalență, Europa de Est, simptome, tratament, boli asociate

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1. Epidemiologia și Fiziopatologia Sindromului de intestin iritabil

Conform datelor recente, SII este o afecțiune frecventă, cu unele variații semnificative ale prevalenței între anumite regiuni și țări și cu variații în funcție de sex. SII afectează aproximativ 15% din populația generală (cu preponderență sexul feminin, 2:1→4:1) fiind afectate în general persoanele sub 45 de ani.

Sistemul nervos enteric intrinsec și nervii extrinseci care leagă tractul gastrointestinal la SNC mediază funcțiile motorie și senzitivă a intestinului. Neuronii motori localizați în ganglionii sistemului nervos enteric coordonează funcțiile tubului digestiv (secreție, motilitate, flux sanguin și transport la nivelul mucoasei), fie direct prin relație cu neuronii senzitivi locali, fie prin impulsuri de la nivelul SNC pe calea nervilor vegetativi (simpatici și parasimpatici). La nivelul intestinului a fost descrisă o populație de neuroni care ar putea avea rol de neuroni aferenți primari intrinseci. Aferențele extrinseci ale intestinului sunt vagale și spinale. Aferențele spinale se termină și la nivelul seroasei sau mezenterului. Acestea transmit informații fiziopatologice legate de stimuli chimici sau mecanici potențial nocivi, care iau naștere prin inflamație, ischemie sau injurie tisulară și se presupune că au un rol major în generarea hipersensibilității algice.

Pentru a studia interacțiunea intestin-creier in vivo sunt utilizate în prezent tomografia cu emisie de pozitroni (PET scan-ul) și Rezonanța Magnetică funcțională (fMRI). Alte proceduri utilizate în prezent sunt potențialele corticale evocate (PCE) și magnetoencefalografia, acestea având însă dezavantajul unei rezoluții spațiale limitate. Electroencefalografia (EEG) poate fi folosită pentru determinarea potențialelor corticale evocate. Folosirea tehnicilor fMRI și PET scan a dus la identificarea ariilor cerebrale care procesează informațiile senzoriale provenind de la intestin, realizându-se o matrice corticală a durerii.

Pacienții cu SII prezintă în general scăderea pragului senzitiv, fapt care poate reflecta fie o sensibilitate crescută a mecanoreceptorilor intramurali, sensibilitatea crescută a neurotransmisiei la nivelul sinapselor din măduva spinării, procesare anormală a informației la nivelul creierului sau o combinație a acestora.

Există mai mulți factori implicați în sensibilizarea periferică: leziunile tisulare (determinate de infecții sau inflamații intestinale) precum și mediatori imuni și ai inflamației (prostaglandine, leucotriene, serotonină, histamină, citokine, etc). Acești mediatori determină prin acțiunea pe terminațiile nociceptive periferice, activarea căilor de semnalizare intracelulară. Dintre factorii care intervin în hipersensibilitatea viscerală la pacienții cu SII se numără excesul de serotonină la nivelul sinapselor, tulburări în recaptarea serotoninei și prezența mastocitelor la nivelul mucoasei colonice. Sensibilizarea centrală este susținută de fosforilarea receptorilor N metil D

aspartat de la nivelul coarnelor posterioare ale măduvei spinării, ce induc modificări în proprietățile cinetice ale receptorului și crește sensibilitatea sa la glutamatul eliberat în sinapsă. Consecința este reprezentată de creșterea excitabilității neuronilor spinali cu recrutarea și amplificarea atât a unor impulsuri non-nociceptive cât și nociceptive de la țesuturile sănătoase din jur.

Pacienții cu SII prezintă o incidență crescută a anxietății, depresiei, distimiei, somatizării dar și a tulburărilor de panică. Acești pacienți au tendința de a exagera uneori simptomatologia. Mediul familial, social, pot să accentueze simptomele și să contribuie la persistența acestora. Este demonstrat faptul că stările emoționale influențează percepția stimulilor viscerali astfel încât, anumite stări emoționale negative (tristețea, frica, depresia) se asociază frecvent cu percepția senzorială anormală, ducând frecvent la apariția durerii abdominale.

La pacienții cu SII a fost evidențiată o dezactivare semnificativă a semnalelor la nivelul insulei drepte, amigdalei drepte și nucleului striat drept după stimulare rectală folosind tehnica fMRI. Folosirea tehnicii fMRI a identificat și activarea cortexului senzorial primar și activarea unor arii localizate în talamusul medial și hipocamp ca răspuns la durere.

2. Etiopatogeneza sindromului de intestin iritabil

Patogeneza SII este incertă, incomplet cunoscută și continuu subiect de cercetare, fiecare pas înainte în înțelegerea ei putând aduce îmbunătățirea tratamentului și ameliorarea calității vieții pacienților. Au fost încredințați în patogenie numeroși factori cum ar fi cei psihici (stresul), alimentari (mai ales alergeni alimentari, neuroumorali (serotonina), fără însă să existe evidențe certe ale implicării acestora. În ultima perioadă a fost cercetat și rolul unor citokine pro-inflamatorii (IL-6, TNF-alfa) și anti-inflamatorii (IL-10), limfocite intraepiteliale (IELs), eozinofile, mastocite, factorul de necroză tumorală (TNF- α), leucocite, monocite, macrofage, proteina C-reativă, viteza de sedimentare a hematiilor, prostaglandina E2, receptorii toll-like și graninele, rolul acestora în patogeneza SII fiind mai mult sau mai puțin cercetat.

Studii publicate până în prezent au arătat rolul activării sistemului imunitar în etiologia SII, fiind subiect de cercetare în studiile care au investigat mecanismele de apariție a SII postinfecțios (PI-IBS). Expunerea la infecția intestinală induce un grad scăzut dar persistent al inflamației sistemice și mucoase, implicând modificarea celulelor circulante, infiltrarea mucoasei cu celule ale sistemului imunitar și creșterea producției diferitelor citokine la pacienții cu SII. Studii recente au indicat de asemenea, creșterea răspunsului imun înăscut la acești pacienți prin evaluarea expresiei și activării receptorilor toll-like. Aceste constatări sugerează faptul că activarea sistemului imunitar ar putea juca un rol important în patogeneza SII. În plus, stresul psihologic a fost raportat ca fiind unul dintre factorii care induce activarea sistemului imunitar.

Prin prisma datelor prezentate, etiopatogenia SII este cel mai adesea multifactorială și implică alterarea motilității, hipersensibilitatea viscerală și dereglarea sistemului nervos autonom. Mulți pacienți acuză exacerbarea simptomelor în funcție de dietă și stres.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. Ipoteza de lucru

Teza are 3 domenii de studiu:

1. Expresia la nivelul mucoasei intestinale a receptorilor toll-like și a graninelor în sindromul de intestin iritabil
2. Urmărirea pe un interval de patru ani a pacienților cu SII
3. Epidemiologia SII în foste țări comuniste din Europa de Est

2. Expresia la nivelul mucoasei intestinale a receptorilor toll-like și a graninelor în sindromul de intestin iritabil

Receptorii toll-like și graninele reprezintă noi markeri ai inflamației, determinarea rolului lor în inflamația intestinală fiind subiect de cercetare recent, rezultatele indicând posibila implicare a acestora în patogeneza SII. Pornind de la aceste premise, am selectat un lot de 34 de pacienți cu SII și un lot martor de 17 subiecți sănătoși pentru a investiga rolul receptorilor toll-like și a graninelor în patogeneza SII. S-au recoltat biopsii de la nivelul rectului și colonului sigmoid, ulterior determinându-se prin reacția de polimerizare în lanț nivelurile receptorilor toll-like și a graninelor din biopsiile recoltate anterior. Concluziile studiului au fost următoarele:

- reducerea nivelurilor CgA în mucoasa intestinală poate reflecta o eliberare crescută a proteinelor din celulele expresoare ale CgA la pacienții cu SII
- tendința de scădere a nivelului TLR9 în mucoasa intestinală indică faptul că pacienții cu SII au un raspuns imunitar înnăscut alterat la liganzii TLR9, oligonucleotidele nemetilate CpG.
- alterarea modelului de exprimare sau de activare a celulelor expresoare de CgA și TLR9, poate avea un rol în patogeneza SII.

Menționăm că această cercetare a fost efectuată în premieră internațională, primele rezultate fiind prezentate la UEGWeek Berlin 2013, până la prezentarea acestora nemaifiind alte studii publicate pe această temă.

3. Urmărirea pe un interval de patru ani a pacienților cu SII

Scopul acestui studiu longitudinal retrospectiv a fost analiza simptomelor pacienților diagnosticați cu SII aflați în evidența Clinicii Medicale II Cluj Napoca în perioada 2008-2011 utilizând baza de date a clinicii. S-a investigat de asemenea tratamentul administrat, răspunsul pacienților la tratament dar și bolile concomitente ale acestora. Concluziile acestui studiu au fost următoarele:

- acest studiu este primul care a raportat rezultatele unei urmăriri pe o perioadă de patru ani a unui grup de pacienți cu SII din România.
- pacienții diagnosticați cu SII provin cel mai adesea din mediul urban.
- cele trei simptome majore observate au fost: durerea abdominală, balonarea și tulburările intestinale.

- cele mai frecvente boli asociate SII au fost: depresia (cea mai frecventă boală asociată SII), dislipidemia, boala hemoroidală și fibromialgia.

- simptomele nongastrointestinale reprezintă o parte importantă a acuzelor pe care le au pacienții cu SII, fapt care poate să afecteze algoritmul de diagnostic și tratamentul la acești pacienți.

- pacienții cu predominanța constipației au avut un răspuns mai bun la terapia medicamentoasă față de pacienții cu predominanța diareei.

- tratamentul cu trimebutină sau mebeverină în asociere cu anxiolitice și probiotice a fost asociat cu îmbunătățirea simptomelor pe termen lung, monoterapia fiind asociată cu simptome fluctuante.

- pacienții diagnosticați cu depresie și anxietate au avut un răspuns mai bun la tratamentul medicamentos.

Din informațiile pe care le deținem, acest studiu este primul de acest gen efectuat și publicat în România.

4. Epidemiologia SII în foste țări comuniste din Europa de Est

Scopul cercetării a fost evaluarea epidemiologiei SII în foste țări comuniste din Europa de Est pornind de la datele sumare privind acest aspect identificate în literatură. Astfel, am efectuat un studiu analitic sistematic utilizând informații de pe portalul PubMed. Au fost analizate doar articolele indexate PubMed care au avut cel puțin titlul în limba engleză. Am analizat rezultatele publicate în țări foste comuniste, apoi le-am comparat. Următorii parametri au fost analizați: stresul, tulburările mentale, cunoștințele medicale ale medicilor în recunoașterea simptomelor SII, nivelul trăsăturilor de personalitate, alimentele și nutriția. Concluziile acestui studiu au fost următoarele:

- multe dintre studii au fost limitate ca mărime datorită dificultăților de a identifica fonduri pentru cercetarea unei "așa numite boli nonprioritare" ca SII.

- prevalența SII a variat în diverse studii de la 28% în Croația la 14% în România părănd a fi mai crescută decât în Europa de Vest.

- cele mai multe studii au raportat o prevalență crescută la persoanele de sex feminin atât în Europa de Est cât și în Europa de Vest.

- evenimentele stresante sunt corelate cu apariția simptomelor.

- anxietatea și depresia sunt identificate frecvent la pacienții cu SII prezentând expresii diferite ale simptomelor funcționale în Europa de Est față de Europa de Vest.

- se pare că medicii generaliști sunt bine instruiți în a identifica SII, de a face observațiile corecte privind această boală și nu în ultimul rând în a administra tratamentul optim acestor pacienți.

- studii epidemiologice privind SII există în multe țări foste comuniste din Europa de Est.

- informațiile privind simptomele descrise provin de la pacienți prin autoevaluarea acestora dar și de la serviciile de endoscopie.

- abordarea din punct de vedere psihosomatic a SII este luată în considerare în mai multe țări (Polonia, Ungaria, România) în special de psihologi și de medicii psihiatrii decât de către medicii gastroenterologi.

Acest studiu privind analiza pacienților cu SII este de asemenea primul efectuat și publicat în România pe această temă.

Obiectivul principal al tezei a constat așadar în cunoașterea mai bună a etiopatogenezei SII, mai exact în cercetarea unor markeri biologici noi și a rolului acestora în inflamația intestinală precum și relația acesteia cu SII.

Obiectivele secundare ale tezei au fost analizarea simptomelor, tratamentului și bolilor concomitente întâlnite la pacienții cu SII dar și cercetarea datelor din literatură privind SII în foste țări comuniste.

5. Discuții generale

Teza de față este dedicată unei mai bune cunoașteri a ceea ce înseamnă SII în prezent, mai precis privind aspectele etiopatogenetice ale acestuia. Patogeneza SII este doar parțial cunoscută părănd însă a avea etiologie multifactorială. Pornind de la faptul că SII a fost mult timp considerată o afecțiune neurologică datorată în principal dezechilibrului axei cerebrointestinale am considerat utilă studierea unor noi factori posibil implicați în patogeneza SII care să aducă mai multă înțelegere privind această boală complexă. Mediul de viață, gradul de cultură, alimentele, dieta, flora intestinală modificată, tulburările sistemului neuroendocrin, creșterea permeabilității intestinale, activarea sistemului imunitar dar și inflamația de grad scăzut la nivelul intestinului prezintă un rol central în patogeneza SII, disfuncții imune în ambele componente, mucoase și sistemice fiind descrise la pacienții cu SII. Noi ne-am propus să studiem mai detaliat aspectele legate de inflamația sistemică și de la nivelul mucoasei intestinale la pacienții cu SII datorită faptului că modificările imunologice au început să fie destul de frecvent descrise la acești pacienți în conformitate cu ipoteza inflamației intestinale de grad redus ca factor implicat în patogeneza SII. Interesul ne-a fost atras de gradul de complexitate care derivă din cercetarea acestui subiect cu implicații majore în înțelegerea mai bună a ceea ce înseamnă patogeneza SII. În această teză am utilizat metode clinice și paraclinice puțin sau deloc răspândite în țara noastră. De asemenea, am abordat subiecte despre care se știa în literatura internațională, dar nu și la noi în țară. Am cercetat însă și subiecte ale căror rezultate au fost prezentate în premieră internațională, lucru posibil datorită colaborării cu Universitatea Goteborg. Astfel, am reușit să confirmăm datele din literatură cu privire la aspectele descrise până în prezent privind etiopatogeneza SII aducând în plus noi date privind posibila implicare în patogeneza a unor markeri ai inflamației care nu au fost studiați până în momentul de față.

Am studiat în această teză și aspectele privind simptomele, tratamentul și bolile asociate pacienților cu SII la un lot de pacienți diagnosticați cu SII, pe o perioadă de 4 ani, pornind de la faptul că există puține date în literatură cu privire la urmărirea pe termen lung a pacienților cu SII. O parte din rezultatele noastre au coincis cu datele publicate în literatură, însă o altă parte a adus informații noi, prezentate și publicate în premieră de către noi cum ar fi asocierea dintre SII și diferite afecțiuni dar și aspecte legate de noi markeri ai inflamației intestinale, mai puțin sau chiar deloc studiați la momentul respectiv.

Nu în ultimul rând am adus o pată de culoare tezei prin studierea aspectelor legate de SII în foste țări comuniste din Europa de Est. Motivul acestui subiect de

cercetare l-a reprezentat lipsa informațiilor în literatură privind SII în foste țări comuniste din Europa de Est. Din cunoștințele noastre, acesta este primul studiu publicat în România privind această temă. Datele identificate privind această boală nu au fost numeroase, SII fiind însă corect diagnosticat și investigat în aceste țări din Europa de Est.

Comparativ cu lucrările din acest domeniu publicate până în prezent, putem spune că teza de față a abordat un domeniu "fierbinte", confirmând date comunicate deja în literatură dar aducându-și aportul și la creșterea volumului de cunoștințe prin prisma rezultatelor noi, în premieră prezentate în teză.

6. Concluzii generale

1. SII reprezintă o boală frecventă care afectează aproximativ 20% din populația generală.
2. SII afectează în general pacienții de sex feminin.
3. Incidența anuală a SII este cuprinsă între 196 și 260 persoane la 100 000 de locuitori, fiind de obicei diagnosticată la pacienții sub 50 de ani.
4. Alterarea percepției viscerale și a tranzitului intestinal reprezintă factori importanți în apariția simptomelor.
5. Pacienții cu SII prezintă un răspuns motor și senzitiv exagerat la o mulțime de factori de stres.
6. Pacienții cu SII generează un volum mare de muncă din partea medicilor atât din sectorul de asistență primară cât și din sectorul de asistență secundară.
7. Activarea imună de grad redus în mucoasa intestinală poate să contribuie la patogeniza SII.
8. Receptorii toll-like, prezintă un rol important în cadrul sistemului imun înnăscut.
9. Cromograninele și secretograninele sunt proteine secretorii omniprezente în celulele sistemului imun endocrin și enteric, modificări ale nivelurilor acestor proteine fiind identificate la pacienții cu SII.
10. Alterările la nivelul sistemului imun sunt implicate în patogeniza SII.
11. SII poate reprezenta un răspuns anormal la nivelul mucoasei intestinale la o floră intestinală modificată.
12. Activarea imună, inflamația de grad redus, modificarea florei intestinale și/sau creșterea permeabilității intestinale sunt implicate în fiziopatologia SII.
13. Reducerea nivelurilor CgA în mucoasa intestinală reflectă o eliberare crescută a proteinelor din celulele expresoare ale CgA la pacienții cu SII.
14. Tendința la scăderea nivelului TLR9 în mucoasa intestinală indică faptul că pacienții cu SII au un răspuns imunitar înnăscut alterat la liganzii TLR9, oligonucleotidele nemetilate CpG.
15. Alterarea modelului de exprimare sau de activare a celulelor expresoare de CgA și TLR9 poate avea un rol în patogeniza SII.
16. Pacienții de sex feminin diagnosticați cu SII au prezentat mai multe boli asociate cu SII decât pacienții de sex masculin.
17. Predomină mediul urban.
18. Cele mai importante acuze ale pacienților: durerea abdominală, tulburările intestinale, balonarea și flatulența.

19. Majoritatea pacienților au avut un debut insidios al simptomelor cu exacerbări rare care au crescut gradual în intensitate.
20. Aproximativ jumătate din pacienții cu SII investigați au avut o evoluție favorabilă după administrarea tratamentului medicamentos, cu scăderea semnificativă a frecvenței simptomelor.
21. Majoritatea pacienților cu SII au efectuat o vizită medicală pentru un control medical sau pentru exacerbări ale simptomelor cel puțin o dată pe an.
22. Tratamentul cu trimebutină sau mebeverină în asociere cu anxiolitice și probiotice a fost asociat cu îmbunătățirea simptomelor pe termen lung, monoterapia fiind asociată cu simptome fluctuante.
23. Evoluția favorabilă a simptomatologiei a fost asociată cu utilizarea probioticelor în asociere cu alte medicamente dar nu și în monoterapie.
24. Pacienții diagnosticați cu depresie și anxietate au avut un răspuns mai bun la tratamentul medicamentos.
25. Cele mai frecvente simptome observate la pacienții cu SII au fost cefaleea, migrena, anxietatea și depresia.
26. Cele mai frecvente boli asociate observate la pacienții cu SII au fost: depresia, dislipidemia, boala hemoroidală și fibromialgia.
27. Simptomele nongastrointestinale reprezintă o parte importantă a acuzelor pe care le au pacienții cu SII, fapt care poate să afecteze algoritmul de diagnostic și tratament la acești pacienți.
28. Pacienții cu predominanța constipației au avut un răspuns mai bun la terapia medicamentoasă față de pacienții cu predominanța diareei.
29. Medicii din România par a fi bine instruiți în recunoașterea SII, majoritatea estimând prevalența SII la aproximativ 10% în practica lor.
30. Nivelul trăsăturilor de personalitate este modificat la pacienții cu SII.
31. Alimentele și nutriția influențează statusul clinic al pacienților cu SII.
32. Creșterea indicelui de masă corporală a fost asociat cu o incidență crescută a SII, fiind indicat ca și un posibil factor al prevalenței SII.
33. Anxietatea și depresia sunt identificate frecvent la pacienții cu SII prezentând expresii similare ale simptomelor funcționale.
34. Studiile epidemiologice privind SII există în multe țări foste comuniste din Europa de Est.
35. Abordarea din punct de vedere psihosomatic a SII este luată în considerare în mai multe țări (Polonia, Ungaria, România) în special de psihologi și de medicii psihiatrii decât de către medicii gastroenterologi.

7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Această teză, prin subiectul abordat deschide noi perspective, incomplet cunoscute până în prezent privind și implicând patogeneza la pacienții cu SII.

Astfel, după cunoștințele noastre, aceasta este prima teză din România care a studiat SII și implicațiile sale în foste țări comuniste din Europa de Est. Mai mult decât atât, cercetările noastre pe PubMed nu au identificat nici un articol care să fi cercetat

acest subiect. Prin realizarea acestui studiu am încercat să comparăm aspectele legate de SII la pacienții provenind din arii geografice și foste țări comuniste diferite.

O altă contribuție este cea care decurge din urmărirea pe un interval lung de timp a pacienților cu SII în clinica noastră. Acest studiu este primul din România care a urmărit și analizat pacienții cu SII pe o perioadă mai lungă. Astfel s-a observat că pacienții cu SII provin mai frecvent din mediul urban, prezentând cel puțin unul dintre cele 3 simptome importante: durerea abdominală, balonarea sau tulburările intestinale (constipație, diaree sau alternanța acestora). Pacienții de sex feminin au prezentat mai multe boli asociate cu SII decât pacienții de sex masculin. Originalitatea studiului constă în analiza simptomelor, a tratamentului administrat și a bolilor asociate pe care le-au prezentat pacienții cu SII. Rezultatele au fost publicate în premieră în România aducând informații noi privind aspectele enumerate mai sus. În concluzie, aceste informații referitoare la simptome, tratament și bolile asociate la pacienții cu SII reprezintă date noi care, sperăm să contribuie la o mai bună înțelegere a acestei boli și a tratamentului medicamentos util acestor pacienți, astfel încât, să se reducă semnificativ frecvența episoadelor dureroase, lucru care va avea astfel impact pozitiv asupra calității vieții acestor pacienți. Studiul bolilor asociate întâlnite la pacienții cu SII reprezintă un drum nou deschis de către noi, drum care necesită cercetări suplimentare pe loturi mai mari de pacienți și preferabil din centre multiple pentru a confirma sau a infirma rezultatele noastre și bineînțeles pentru a aduce alte noi date privind asocierea dintre această afecțiune și alte boli precum și rolul posibil al acestora din urmă în patogeniza SII.

Ultima contribuție inovativă a acestei teze este reprezentată de cercetarea unor noi biomarkeri ai inflamației ca și potențiali factori importanți în patogeniza SII. Acest studiu original, realizat împreună cu medici de la Universitatea Goteborg în cadrul acestei universități, a adus informații noi, prezentate în premieră internațională la un congres internațional de gastroenterologie, reprezentând punctul forte al tezei noastre. SII poate reprezenta un răspuns anormal la nivelul mucoasei intestinale la o floră intestinală modificată. Activarea imună, inflamația de grad redus, modificarea florei intestinale și/sau creșterea permeabilității intestinale sunt implicate în fiziopatologia SII. Rezultatele studiului au arătat de asemenea faptul că activarea imună de grad redus la nivelul mucoasei intestinale poate să contribuie la patogeniza SII, că receptorii toll-like prezintă un rol important în cadrul sistemului imun înăscut iar cromograninele și secretograninele, proteine secretorii omniprezente în celulele sistemului imun endocrin și enteric, reprezintă biomarkeri ai inflamației utili în patogeniza și diagnosticul pacienților cu SII. Bineînțeles, ca și orice studiu de pionierat, și acest studiu necesită cercetări suplimentare având ca scop final înțelegerea patogenizei complete a acestei afecțiuni a secolului XXI și stabilirea unei terapii medicamentoase optime necesare acestor pacienți atât de numeroși în rândul persoanelor cu boli gastrointestinale.

În concluzie, această teză prezintă atât contribuții inovative cât și un grad înalt de originalitate, parcurgând etape diferite ale cercetării SII, concretizate în cele trei capitole ale cercetării personale.

„IULIU HAȚIEGANU” UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY, CLUJ-NAPOCA

PhD thesis summary

CONTRIBUTION TO THE EPIDEMIOLOGY AND PATHOGENESIS OF IRRITABLE BOWEL

PhD student **Flaviu Viorel Rusu**

Scientific coordinator Prof.dr. **Dan Lucian Dumitrascu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CONTENTS

INTRODUCTION	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	17
1. Epidemiology and pathophysiology of irritable bowel syndrome	19
1.1. Physiology of the motor and sensory function in irritable bowel	19
1.1.1. Afferents of the gut	19
1.1.2. Bowel stimulants	20
1.1.3. Representation of the sensations in the brain	21
1.2. Neuropathological aspects	22
1.2.1. Peripheral sensitivity	22
1.2.2. Central sensitivity	23
1.2.3. Psychosocial factors	24
1.2.4. Cortical representation of pain in irritable bowel	25
2. Etiopathogenesis of irritable bowel syndrome	27
2.1. Etiopathogenetic aspects	27
2.1.1. Environment	28
2.1.2. Genetics	29
2.1.3. Postinfectious irritable bowel syndrome	29
2.1.4. Bacterial overgrowth syndrome	30
2.1.5. Food intolerance	31
2.1.6. Serotonergic signals	31
2.1.7. Gut inflammation	33
2.1.7.1. Granins	36
2.1.7.2. Toll-like receptors	38
PERSONAL CONTRIBUTION	41
1. Background and objectives	43
2. Study 1 – EXPRESSION OF MUCOSAL TOLL-LIKE RECEPTORS AND GRANINS IN IRRITABLE BOWEL SYNDROME	45
2.1. Introduction	45
2.2. Background and objectives	46

2.3. Aims&Methods	47
2.4. Results	53
2.5. Discussion	57
2.6. Conclusions	59
3. Study 2 – FOUR YEARS FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH IRRITABLE BOWEL SYNDROME	61
3.1. Introduction	61
3.2. Background and objectives	62
3.3. Aims&Methods	62
3.4. Results	64
3.5. Discussion	82
3.6. Conclusions	83
4. Study 3 – EPIDEMIOLOGY OF IRRITABLE BOWEL SYNDROME IN THE FORMER COMMUNIST COUNTRIES FROM EASTERN EUROPE	85
4.1. Introduction	85
4.2. Background and objectives	86
4.3. Aims&Methods	86
4.4. Results	87
4.5. Discussion	94
4.6. Conclusions	99
5. General discussion	101
6. General conclusions	103
7. Originality and innovative contributions of the thesis	107
REFERENCES	111

INTRODUCTION

Irritable bowel syndrome (IBS) is a common gastrointestinal disorder, defined as pain associated with altered bowel habits. IBS affects about 20% of the general population, especially women. IBS is characterized by polymorphic symptoms (abdominal discomfort, bloating, intestinal cramps) associated with bowel disorders (diarrhea, constipation or alternating of them) in the absence of any organic gastrointestinal alterations. IBS has been associated with a variety of symptoms, including physical and psychological stress and can affect the quality of life of patients and increase the use of resources in the health system. The correct diagnosis of the comorbidities is very important for an accurate diagnosis and optimal treatment choice in this group of patients.

Regarding inflammation, numerous biological activity markers have been research subject on IBS patients in recent years, most important markers being the pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF-alpha) and anti-inflammatory (IL-10), intraepithelial lymphocytes (IELs), eosinophils, mast cells, tumor necrosis factor (TNF- α), leukocytes, monocytes, macrophages, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate (ESR), prostaglandin E2 receptors, toll-like receptors and granins, their role in the pathogenesis of IBS being more or less researched.

After theoretical description of the IBS, the content of this thesis was focused on presenting personal research, quantified in three separate chapters.

The first chapter: **EXPRESSION OF MUCOSAL TOLL-LIKE RECEPTORS AND GRANINS IN IRRITABLE BOWEL SYNDROME**, represents personal contribution on the assessment of intestinal inflammatory markers and their role in the pathogenesis of IBS. Were analyzed two markers of inflammation, toll-like receptors and granins on a group of patients with IBS and healthy volunteers, research that was conducted in Sweden at Goteborg University. Partial results published at UEG Week Berlin 2013 showed originality of this research conducted in international premiere, the results being encouraging regarding the involvement of these markers in the pathogenesis of IBS.

The second chapter: **FOUR YEARS FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH IRRITABLE BOWEL SYNDROME**, represents a retrospective longitudinal study in which we used data from Second Medical Department Cluj Napoca database, including patients diagnosed with IBS between 2008 - 2011. We analyzed data on the onset of symptoms, associated diseases, environment (urban or rural), evolution of symptoms and therapy given to the patients. A group of 114 patients diagnosed with IBS according to Rome III criteria were included in the study. The results of this study confirmed data already known and published in the literature but at the same time brought new things, less known or proven. This study is (to our knowledge) the first from Romania who edited the follow-up of a group of patients with IBS on a longer period of time, representing the second original research chapter of the thesis.

The third chapter of the thesis: Epidemiology of irritable bowel syndrome in the former communist countries from Eastern Europe, is a systematic review study using data from PubMed.

KEYWORDS

Irritable bowel syndrome, epidemiology, pathogenesis, functional gastrointestinal disorders, prevalence, Eastern Europe, symptoms, treatment, associated diseases.

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

1. Epidemiology and pathophysiology of irritable bowel syndrome

According to recent data, IBS is a common disorder, with some significant variations in prevalence between certain regions and countries, and with variations by gender. IBS affects approximately 15% of the general population (especially females, 2: 1 → 4: 1) generally affected people under 45 years.

Intrinsic and extrinsic enteric nervous system mediates gastrointestinal motor and sensory functions of the gut. Motor neurons located in the ganglia of the enteric nervous system, coordinate digestive functions (secretion, motility, blood flow and mucosal transport) directly through the relationship with local sensory neurons or by nerve impulses from nerve pathway of the CNS vegetative (sympathetic and parasympathetic). In the gut has been described a population of neurons that could play a role as a intrinsic primary afferent neurons. Vagal afferents of the gut are extrinsic and spinal. Spinal afferents ends at the serous and mesentery. They send physiological information related to potentially harmful chemical or mechanical excitatory, which are generated by inflammation, ischemia or tissue injury and is supposed to have a major role in generating painful hypersensitivity.

To study the brain-gut interactions in vivo are currently used positron emission tomography (PET scan) and functional magnetic resonance (fMRI). Other procedures currently used are evoked cortical potentials (PCE) and magnetic encephalography, these having the disadvantage of a limited spatial resolution. Electroencephalography (EEG) can be used to determine evoked cortical potentials. Using fMRI and PET scan techniques has led to the identification of areas of the brain that processes sensory information from the gut, achieving a cortical pain matrix.

Patients with IBS have in generally lowering of the threshold sensitive, which may reflect the increased sensitivity of the intramural mechanical receptors, increased sensitivity of neurotransmission at synapses in the spinal cord, abnormal processing information in the brain, or a combination thereof.

There are several factors involved in peripheral sensitization: tissue damage (due to the infections or inflammatory bowel disease) as well as immune and inflammatory mediators (prostaglandin, leukotriene, serotonin, histamine, cytokines). These mediators determined by action on peripheral nociceptive nerve terminations, activation of intracellular signaling pathways. Among the factors involved in visceral hypersensitivity in patients with IBS are excess of the serotonin at the synapses,

serotonin reuptake disorder and the presence of mast cells at the colonic mucosa. Central sensitization is supported by phosphorylation of N-methyl-D aspartate receptor in the posterior horn of the spine, which induce changes in the kinetic properties of the receiver and increase sensitivity to glutamate released into the synapse. The consequence is the increased excitability of spinal neurons recruitment and amplification of impulses both nociceptive and non-nociceptive from surrounding healthy tissues.

Patients with IBS show an increased incidence of anxiety, depression, dysthymia and panic disorders. These patients sometimes tend to exaggerate symptoms. Family and social environment, can exacerbate symptoms and contribute to their persistence. It is shown that emotional states influence the perception of the visceral excitants, so that certain negative emotions (sadness, fear, depression) are often associated with abnormal sensory perception, often leading to pain in the abdomen.

In patients with IBS was highlighted significant deactivation of signals at the right island, right amygdala and right nucleus striatum after rectal stimulation using fMRI. Using fMRI technique was identified the primary sensory cortex activation and activation of medial thalamus and localized areas in the hippocampus in response to pain.

2. Etiopatogenesis of irritable bowel syndrome

IBS pathogenesis is uncertain, incomplete known and continuous research topic, each step forward in understanding them can bring better treatment and improve quality of life. Numerous factors are incriminated in the pathogenesis such as the psychological (stress), food (especially food allergens), neurohumoral (serotonin), without clear evidence of the involvement of them. In the last period has been investigated the role of proinflammatory cytokines (IL-6, TNF-alpha) and anti-inflammatory (IL-10), intraepithelial lymphocytes (IELs), eosinophils, mast cells, tumor necrosis factor (TNF- α), leukocytes, monocytes, macrophages, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, prostaglandin E2, toll-like receptors and granins, their role in the pathogenesis of IBS being more or less researched.

The studies published to date have shown immune system activation role in the etiology of IBS, being subject of research that have investigated the mechanisms of occurrence of postinfectious IBS (PI-IBS). Exposure to intestinal infection induce a low but persistent levels of systemic and mucosal inflammation, involving modification of circulating cells, infiltrating mucosal immune cells and increased production of various cytokines in patients with IBS. Recent studies have also indicated increased innate immune response in these patients by evaluating the expression and activation of toll-like receptors (TLRs). These findings suggest that immune activation may play an important role in the pathogenesis of IBS. In addition, psychological stress was reported as one of the factors that induce activation of the immune system.

In the light of the presented data, the etiopathogeny of IBS is often multifactorial and involves the altered motility, visceral hypersensitivity and autonomic nervous system disorder. Many patients accuse exacerbation of symptoms depending on diet and stress.

PERSONAL CONTRIBUTION

1. Background and objectives

The thesis has three fields of study:

1. Expression of mucosal toll-like receptors and granins in irritable bowel syndrome
2. Four years follow-up of patients with irritable bowel syndrome
3. Epidemiology of irritable bowel syndrome in the former communist countries from Eastern Europe

2. EXPRESSION OF MUCOSAL TOLL-LIKE RECEPTORS AND GRANINS IN IRRITABLE BOWEL SYNDROME

Toll-like receptors and granins are new markers of inflammation, determining their role in intestinal inflammation being the subject of recent research results, indicating their possible involvement in the pathogenesis of IBS. Starting from these premises, we selected a group of 34 patients with IBS and a control group with 17 healthy subjects to investigate the role of toll-like receptors and granins in the pathogenesis of IBS. Biopsies were taken from the rectum and sigmoid colon, and subsequently being determined the levels of toll-like receptors and granins by polymerase chain reaction from the biopsys previously collected. The findings were:

- reduced mucosal CgA levels might reflect an increased release of the protein from CgA expressing cells in IBS patients.
- tendency of reduced TLR9 levels indicates that IBS patients have an altered innate immune response to TLR9 ligands, i.e. unmethylated CpG oligonucleotides.
- an altered expression pattern or activity of CgA and TLR9 expressing cells may be of importance for the pathogenesis of IBS.

We mention that this research was carried out in international premiere, the first results were presented at UEGWeek Berlin 2013.

3. FOUR YEARS FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH IRRITABLE BOWEL SYNDROME

The aim of this longitudinal retrospective study was to analyze the symptoms of patients with IBS in a group of patients with IBS who were registered at second Medical Department Cluj Napoca, between 2008-2011 using the database of the hospital. It was also investigated the treatment given, response to the therapy and concomitant diseases. The findings of this study were:

- those are the first reported results of a follow-up in IBS patients from Romania.
- patients diagnosed with IBS often come from urban areas.
- the three major symptoms observed were: abdominal pain, bloating and intestinal disorders.
- the most common associated diseases with IBS were: depression (the most common disease associated with IBS), dyslipidemia, hemorrhoidal disease and fibromyalgia.

- nongastrointestinale symptoms are an important part of the complaints in IBS patients, which may affect the diagnosis and treatment algorithm of these patients.
- patients with predominance of constipation had a better response to drug therapy than patients with predominance of diarrhea.
- treatment with mebeverine or trimebutine in combination with anxiolytics and probiotics was associated with improvement of symptoms on long-term, monotherapy was associated with fluctuating symptoms.
- patients diagnosed with depression and anxiety had a better response to drug therapy.

From our knowledge, this study is first of this kind carried out and published in Romania.

4. Epidemiology of irritable bowel syndrome in the former communist countries from Eastern Europe

The aim of the research was to assess the epidemiology of IBS in former communist countries of Eastern Europe starting from summary data on this issue identified in the literature. Thus, we conducted a systematic review using data from PubMed. We selected only PubMed indexed papers, papers which had abstract or at least english title. We analyzed the results published in the former communist countries then we compared them. Were analyzed following parameters: stress, mental disorders, medical knowledge of doctors to recognize IBS symptoms, the personality traits, food and nutrition. The findings of this study were:

- many of the studies were limited in size because of the difficulty to identifying funds for research into a "so-called nonprioritare diseases " as IBS.
- IBS prevalence varied in different studies from 28% in Croatia to 14% in Romania, seeming to be increased than in Western Europe.
- most of the studies have reported an increased prevalence in females in both Eastern Europe and Western Europe.
- stressful events are correlated with onset of the symptoms.
- anxiety and depression are frequently found in patients with IBS, showing different expressions of functional symptoms in Eastern Europe compared to Western Europe.
- general practitioners are well trained in identifying IBS.
- epidemiological studies on IBS exist in many former communist countries in Eastern Europe.
- information on described symptoms by patients come from their self and from the endoscopy services.
- psychosomatic approach in terms of IBS is considered in several countries (Poland, Hungary, Romania), especially by psychologists and psychiatrists than by gastroenterologists.

This study regarding on IBS patients from Eastern Europe is also the first conducted and published in Romania on this topic.

5. General discussion

This thesis is dedicated to a better understanding of what IBS means, specifically regarding on the ethiopathogenetic aspects. The pathogenesis of IBS is only partially known, however, seemed to have multifactorial etiology. Starting from the fact that IBS was long time considered a neurological disorder, mainly due to the imbalance of the brain-gut axis, we considered useful to study new possible factors involved in the pathogenesis of IBS, to bring more understanding regarding about this complex disease. The environment, the degree of culture, food, diet, altered bowel microbiota, neuroendocrine system disorders, increased of the intestinal permeability, immune activation and low levels of inflammation in the gut presents a central role in the pathogenesis of IBS. We wanted to study in more detail the aspects of systemic inflammation and from intestinal mucosa in patients with IBS because immunological changes began to be quite frequently described in such patients in accordance with the hypothesis that low-grade intestinal inflammation factor is involved in the pathogenesis of IBS. Our interest was attracted to the complexity arising from research on this subject with major implications for better understanding of what means the pathogenesis of IBS. In this thesis, we used clinical and laboratory methods, little or no spread in our country. Also, we addressed issues which were known in the international literature, but not in our country. We researched topics of which results were presented in international premiere, which is possible thanks to the collaboration with the University of Goteborg. Thus, we were able to confirm the literature data on the issues described so far regarding the ethiopatogenesis of IBS bringing new data on possible involvement of the inflammatory markers in the pathogenesis, that have not been studied until now.

We studied in this thesis the aspects of symptoms, treatment and associated diseases on IBS patients in a group of IBS patients, for a period of four years, starting from the fact that there are only a few data in the literature on the long-term follow-up of patients with IBS. Some of our results coincided with published data in the literature, but another part has brought new information presented and published for the first time by us, such as the association between IBS and various diseases, and also aspects of new markers of intestinal inflammation, less or not at all studied at that time.

Finally we brought a little color of the thesis by studying the aspects of IBS in the former communist countries from Eastern Europe. The reason for this research topic was the lack of information in the literature regarding IBS in the former communist countries of Eastern Europe. To our knowledge, this is the first study published in Romania regarding this subject. The data identified by us regarding this disease were not numerous, but IBS was properly diagnosed and investigated in the the former communist countries from Eastern Europe.

Compared with published work in this area so far, we can say that this thesis has approached a "hot" domain, confirming data already disclosed in the literature and bringing also contribution to the increase of knowledge in the light of the new results.

6. General conclusions

1. IBS is a common disease affecting approximately 20% of the general population.
2. IBS generally affects female patients.
3. The annual incidence of IBS is between 196 and 260 persons per 100 000 inhabitants, being usually diagnosed in patients under 50 years.
4. Altered visceral perception and bowel symptoms are important factors.
5. Patients with IBS show an exaggerated motor and sensory response to a lot of stressors.
6. Patients with IBS generates a large volume of work both in the primary care and secondary care system.
7. Low-grade immune activation in the gut mucosa may contribute to the pathogenesis of IBS.
8. Toll-like receptors, have an important role in the innate immune system.
9. Granins are secretory proteins ubiquitous in cells of enteric and endocrine immune system, changes in levels of these proteins being identified in patients with IBS.
10. Alterations in the immune system is involved in the pathogenesis of IBS.
11. IBS may represent an abnormal response in the intestinal mucosa to the altered microbiota.
12. Immune activation, low-grade inflammation, modification in the gut microbiota and / or increased intestinal permeability are involved in the pathophysiology of IBS.
13. Reduced mucosal CgA levels might reflect an increased release of the protein from CgA expressing cells in IBS patients.
14. Tendency of reduced TLR9 levels indicates that IBS patients have an altered innate immune response to TLR9 ligands, i.e. unmethylated CpG oligonucleotides.
15. An altered expression pattern or activity of CgA and TLR9 expressing cells may be of importance for the pathogenesis of IBS.
16. Female patients diagnosed with IBS had several illnesses associated with IBS than male patients.
17. Predominant urban areas.
18. The main complaints of the patients: abdominal pain, bloating and flatulence.
19. Most patients had an insidious onset of symptoms with rare exacerbations which gradually increased in intensity.
20. About half of patients with IBS had a favorable outcome after administrations of drug therapy, with a significant decrease in the frequency of symptoms.
21. The majority of patients with IBS performed a medical examination for a medical or exacerbation of symptoms at least once a year.
22. Treatment with mebeverine or trimebutine in combination with anxiolytics and probiotics was associated with improvement of symptoms on long-term, monotherapy was associated with fluctuating symptoms.
23. The favorable evolution of symptoms was associated with the use of probiotics in combination with other drugs but not in monotherapy.
24. Patients diagnosed with depression and anxiety had a better response to drug therapy.
25. The most common symptoms observed in patients with IBS were headache, migraine, anxiety and depression.

26. The most common associated diseases observed in patients with IBS were: depression, dyslipidemia, hemorrhoidal disease and fibromyalgia.
27. Nongastrointestinal symptoms represent an important part of IBS patients, which may affect the diagnosis and treatment algorithm in these patients.
28. Patients with predominance of constipation had a better response to drug therapy than patients with predominance of diarrhea.
29. Physicians from Romania appear to be well trained in recognizing IBS, most estimating the prevalence of IBS to the 10% in their practice.
30. Personality traits level is changed in patients with IBS.
31. Food and nutrition influence the clinical status of patients with IBS.
32. Increasing body mass index was associated with an increased incidence of IBS, being indicated as a possible factor in the prevalence of IBS.
33. Anxiety and depression are frequently found in patients with IBS.
34. Epidemiological studies regarding the IBS exist in many former communist countries from Eastern Europe.
35. Psychosomatic approach in terms of IBS is considered in several countries (Poland, Hungary, Romania), especially by psychologists and psychiatrists than by gastroenterologists.

7. Originality and innovative contributions of the thesis

This thesis, through the subject approached opens new perspectives, incompletely known so far regarding pathogenesis of IBS patients. Thus, to our knowledge, this is the first thesis from Romania who studied IBS and its implications in former communist countries in Eastern Europe. Moreover, our research on PubMed did not identify any item that may have researched this topic. By conducting this study we attempted to compare aspects of IBS patients coming from various geographic areas and from former communist countries.

Another contribution is that derives from follow-up on a long period of time in patients with IBS. This study is the first in Romania who has followed and analyzed patients with IBS in a longer period of time. It was observed that patients with IBS are coming more frequently from urban areas, showing at least one of the three major symptoms: abdominal pain, bloating or intestinal disorders (constipation, diarrhea or alternating them). Female patients had more diseases associated with IBS than male patients. The originality of the study was the analyze of the symptoms, treatment administered and related diseases in IBS patients. The results were published for the first time in Romania bringing new information on the issues listed above. In conclusion, this information on symptoms, treatment and associated diseases in patients with IBS represents new data that, we hope to contribute to a better understanding of this disease and drug therapy useful for these patients, so that, to significantly reduce frequency painful episodes, which will have such a positive impact on the quality of life of these patients. Research of the associated diseases encountered in patients with IBS represents a new way open by us requiring further research on a larger groups of patients and preferably from multiple centers to confirm or disprove our results and of course, to bring other new data on the association between this disease and other diseases and their possible role in the pathogenesis of IBS.

The latest innovative contribution of this thesis was the research of new potential biomarkers of inflammation as important factors in the pathogenesis of IBS. The original study, conducted together with doctors from the Goteborg University, brought new information presented in international premiere at an international congress of gastroenterology, representing the strength of our thesis. IBS may represent an abnormal response in the intestinal mucosa to the intestinal flora modification. Immune activation, low-grade inflammation, intestinal flora modification and / or increased intestinal permeability are involved in the pathophysiology of IBS. Study results showed that the low immune activation in the gut may contribute to the pathogenesis of IBS, that toll-like receptors presents an important role in the innate immune system, and granins represent useful biomarkers of inflammation in the pathogenesis and diagnosis of the patients with IBS. Of course, like any pioneering study, this study requires further research. The ultimate goal was the complete understanding of the pathogenesis of this disease of the XXI century and the establishment of the optimal drug therapy needed for these patients, so numerous among those with gastrointestinal diseases.

In conclusion, this thesis shows both innovative contributions and a high degree of originality, going through different stages of IBS research, resulting in the three chapters of personal research.