

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

TEZĂ DE DOCTORAT

Stresul in sindromul de intestin iritabil

Doctorand: **Popa Ștefan-Lucian**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Dan Lucian Dumitrașcu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Sindromul de intestin iritabil (SII) - cadru nosologic	6
1.1 Definiție	6
1.2. Epidemiologie	7
1.3. Diagnostic	7
1.3.1. Criteriile de diagnostic Roma III	7
1.3.2. Clasificare	8
1.3.3. Evaluarea clinică și paraclinică	8
2. Patogeneza SII	9
2.1. Axa creier-intestin	9
2.2. Tulburări ale motilității digestive	9
2.3. Inflamația	11
2.4. Factorii psihosociali	11
2.4.1. Stresul psihologic	11
2.4.2 Tulburări psihiatrice	13
2.5. Suprapopularea bacteriană a intestinului subțire	14
2.6. Factori alimentari	15
2.7. Factori genetici	15
2.8. Alți factori	17
3. Stresul profesional	18
3.1. Definiția și patogeneza stresului profesional	18
3.2. Mecanisme de adaptare la stres	20
3.3. Instrumente de evaluare a stresului profesional	22

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. Ipoteza de lucru/obiective	29
2. Metodologie generală	29
3. Studiul 1 - Evaluarea stresului profesional în sindromul de intestin iritabil	30
3.1. Introducere	30
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	31
3.3. Material și metodă	31
3.4. Rezultate	32
3.5. Discuții	72
3.6. Concluzii	74
4. Studiul 2 - Evaluarea interleukinei 6 (IL-6) în sindromul de intestin iritabil	76
4.1. Introducere	76
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	76
4.3. Material și metodă	76
4.4. Rezultate	77
4.5. Discuții	81
4.6. Concluzii	82
5. Studiul 3- Evaluarea cortizolului salivar în sindromul de intestin iritabil	83
5.1. Introducere	83
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	83
5.3. Material și metodă	83
5.4. Rezultate	84
5.5. Discuții	88
5.6. Concluzii	89

6. Studiul 4 - Polimorfisme genetice in sindromul de intestin iritabil	90
3.1. Introducere	90
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	90
3.3. Material și metodă	90
3.4. Rezultate	91
3.5. Discuții	95
3.6. Concluzii	96
7. Discuții generale	98
8. Concluzii generale	100
9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	102
REFERINȚE	104
ANEXE	

Cuvinte cheie : sindromul de intestin iritabil, stres, interleukina 6, cortizol salivar, polimorfisme genetice

Introducere

Lucrarea de față se adresează studiului tulburărilor funcționale digestive, din care face parte și sindromul intestinului iritabil (SII). La fel ca și în cazul majorității tulburărilor funcționale digestive, patogeneza SII nu este deplin cunoscută.

Intestinul iritabil este o boală funcțională intestinală caracterizată prin durere sau disconfort abdominal asociată cu tulburări ale tranzitului intestinal și/sau modificări ale aspectului (forme) scaunului. Balonarea și tulburări ale defecației sunt frecvent asociate. SII reprezintă una dintre cele mai frecvente cauze de adresare atât către asistenta medicală primară cât și către serviciile medicale de specialitate. Caracterul discontinuu ale simptomatologiei în SII îngreunează studiul motilității digestive. Anomalii multiple au fost descrise la toate nivelurile tubului digestiv.

Dacă în trecut, factorii alimentari, factorii infectioși sau tulburările de motilitate intestinală au fost incriminate în etiologia SII, în prezent, factorii genetici, factorii imunologici, stresul psihologic sunt intens studiați. Faptul că simptomatologia SII nu poate fi rezultatul unui singur factor etiologic, este explicată prin apariția modelului bio-psiho-social. Scopul acestei lucrări este de a evalua asocierea dintre stresul ocupational și apariția SII. Un alt obiectiv a fost determinarea unor potențiali biomarkeri pentru diagnosticul SII. Luând în considerare faptul că determinismul genetic reprezintă un factor etiopatogenetic al SII, un obiectiv secundar a fost să evaluăm cele mai studiate polimorfisme genetice până în prezent. Mecanismele exacte responsabile pentru dezvoltarea diferitelor tipuri IBS nu sunt cunoscute.

Determinismul genetic este legat de răspunsul la stres, predispoziția la tulburarea depresivă sau tulburarea anxioasă, date care susțin un model biopsihosocial al SII.

CONTRIBUTIA PERSONALA

Sindromului de intestin iritabil (SII) este o boală intens studiată în prezent, dar până la acest moment patogenезa nu este complet elucidată. Dacă în trecut, factorii alimentari, factorii infectioși sau tulburările de motilitate intestinală au fost incriminate în etiologia SII, în prezent, factorii genetici, factorii imunologici, stresul psihologic sunt intens studiați. Faptul că simptomatologia SII nu poate fi rezultatul unui singur factor etiologic, este explicată prin apariția modelului bio-psiho-social. Scopul acestui studiu este de a evalua asocierea dintre stresul ocupațional și apariția SII. Un alt obiectiv a fost determinarea unor potențiali biomarkeri pentru diagnosticul SII.

Studiul 1 - Evaluarea stresului profesional în sindromul de intestin iritabil

Scopul acestui studiu a fost de a investiga relația dintre stresul ocupațional, evaluat prin intermediul chestionarului PMI și prezența SII. Rezultatele arată că apariția simptomelor SII este semnificativ statistic asociată cu stresul ocupațional.

Evaluarea subiectivă a stresului ocupațional a fost realizată prin intermediul unui chestionar: "Indicatorul de Management al Presiunilor Socioprofesionale".

Interesul pentru asocierea dintre stresul profesional și apariția SII, s-a concretizat datorită datelor insuficiente din literatură, dar și a terapiei ineficiente în practica clinică. Deși există date care demonstrează asocierea dintre anxietate, depresie, evenimente de viață majore și SII, nu se cunoaște o relație de cauzalitate între factorii de stres profesional și SII. Studiul nostru a găsit o legătură semnificativă între SII și stresul ocupațional evidențiată prin următorii parametri: satisfacția organizațională, starea de bine mentală, starea de bine fizică, sursele de presiune-stres, tipul A de personalitate, coping ($p < 0.001$), dar nici o legătură între categoria de muncă, programul de muncă, norma de muncă, starea de sănătate, boli grave, evenimente negative în ultimele 3 luni, fumat, consumul de alcool, nr. de ore lucrate, nr. de ani în organizație și SII. Acești factori legați de muncă nu sunt standardizați și probabil nu au suficientă acuratețe pentru a evidenția nivelele de stres comparativ cu testele existente. Diferențele evidențiate de chestionare în SII și grupele de control arată necesitatea de a folosi numai instrumente validate de toate studiile care cercetează variabile latente. Noi nu am observat deosebiri semnificative între toate cele 3 subtipuri de SII în privința stresului profesional.

Studiul 2- Evaluarea interleukinei 6 (IL-6) în sindromul de intestin iritabil

Scopul acestui studiu a fost de a investiga relația dintre IL-6 și prezența SII. Un număr total de 39 de pacienți, dintre care 23 (58,97%) de femei și 16 (41,03%) bărbați au fost incluși în studiu. Pacienții cu SII au fost diagnosticați conform criteriilor Roma III. Pe lângă clasificarea pacienților în funcție de subtipurile SII, aceștia au fost subîmpărțiți și în funcție de educație (studii gimnaziale, liceale, universitare). Lotul de

control este alcatuit din 37 de subiecti, dintre care 24(64,86%) femei si 13(35,14%) barbati, care au fost recrutati prin publicitate locala.

Interleukina 6 (IL-6) acționează atât ca o citokină pro-inflamatorie, dar și ca o miokina cu efect anti-inflamator, fiind codificată de gena IL 6. Este secretată de limfocitele T și macrofage pentru a stimula răspunsul imun, cu un rol esențial în infecții, traumatisme, arsuri și alte tipuri de leziuni celulare, dar și în procesele autoimune din boli frecvente ca și diabetul, ateroscleroza, depresie, lupusul eritematos sistemic, cancerul de prostată, boala Alzheimer, mielomul multiplu, boala Behcet, și artrita reumatoidă. Ca urmare, terapiile care au la baza agenți anti IL-6 sunt frecvent studiate în prezent.

Fenomene inflamatorii au fost observate la nivelul mucoasei intestinale, existând o corelație clară cu hipersensibilitatea și cu un număr crescut de celule mastocitare de la nivelul mucoasei colonului. Numărul crescut de mediatori proinflamatori se corelează și cu alterarea permeabilității barierei mucoasei intestinale. Studii recente arată ce nivelul IL-6 este crescut la pacienții cu SII comparativ cu lotul martor, dar și la pacienții cu tulburare depresivă și anxietate.

Din punct de vedere funcțional, IL-6 crește rezistența transepitelială și îmbunătățește transportul ionic, dovezi susținute de experimentele în care s-a utilizat un model animal de SII. Aceste date oferă un rol pentru IL-6 în funcțiile secretorii colonice, elucidând astfel o potențială relație între nivelurile circulante crescute de IL-6 și funcția gastrointestinală aberantă

Rezultatele arată că apariția simptomelor SII este semnificativ statistic asociată cu un nivel seric crescut de IL-6. Studiul nostru confirmă datele din literatură, conform cărora nivelul IL-6 este semnificativ mai mare în grupul pacienților cu SII. Datele arată că nu s-au observat diferențe statistice între subtipurile de SII și nivelul seric al IL-6. Datele susțin ipoteza conform căreia inflamația este implicată în patogenizarea tuturor subtipurilor de SII.

Studiul 3 - Evaluarea cortizolului salivar în sindromul de intestin iritabil

Inercarea de a cuantifica obiectiv nivelul de stres psihologic este îngreunată de interacțiunea parametrilor individuali reprezentați de genotip, fenotip, structura psihologică, ritm circadian dar și a afecțiunilor asimptomatice. Din acest motiv un număr crescut de metode de cuantificare a nivelului de stres au fost descrise în literatura de specialitate. Dintre cele mai utilizate amintim: cortizolul seric, salivar, urinar, Ig A salivara, alfa amilaza salivara, interleukina 6, capacitatea funcțională a neutrofilelor, neuropeptidul y, pletismografia fotografică digitală.

Cea mai frecventă metodă de cuantificare a nivelului de stres psihologic este reprezentată de analiza cortizolului salivar. Acesta reprezintă o cuantificare mai precisă a funcției glandelor suprarenale decât cortizolul seric sau urinar, motiv pentru care este dozat de rutină atât pentru evaluarea stresului psihologic cât și a stresului fizic. Pacienții cu SII și subiecții din cadrul lotului de control au fost instruiți să colecteze salivă la ora 3 PM în mediul lor obișnuit, după ce au terminat programul lor muncă. Mostrele au fost trimise la laborator în aceeași zi în care au fost colectate. Înainte de eșantionare, subiecții au fost instruiți să nu mănânce, să nu consume băuturi alcoolice sau să nu fumeze de 12 ore. Pentru analiza eșantionului, a fost utilizat un test imunologic enzimatic comercial (Salimetrics, Eletrabox). Determinările pentru cortizolul salivar s-au efectuat conform recomandărilor producătorului, efectuându-se la Laboratul din cadrul Clinicii Medicală II, alături de determinările pentru IL-6.

Datele din studiul nostru nu evidențiază o diferență semnificativă statistic între nivelul cortizolului salivar la pacienții cu SII față de grupul de control. Mai mult, nici stresul ocupațional nu se corelează cu cortizolul salivar.

Datele obținute pot fi rezultatul stresului psihologic acut și a acțiunii hormonului de eliberare a corticotropinei, care cresc permeabilitatea intestinală, printr-un mecanism dependent de activitatea mastocitară. Astfel, stresul psihologic cronic nu poate fi cuantificat în mod obiectiv prin dozarea cortizolului salivar.

Limitele studiului sunt reprezentate de lotul mic de pacienți și de numărul redus de recoltări ale cortizolului salivar în decursul unei zile, prin urmare un eșantion mai mare de pacienți trebuie să fie studiat, pentru a putea certifica rezultatele curente.

Studiul nostru nu a confirmat ipoteza că nivelul cortizolului salivar ar putea fi utilizat ca și biomarker pentru diagnosticul SII.

Studiul 4 - Polimorfisme genetice în sindromul de intestin iritabil

Predispoziția genetică are un rol esențial în patogeneza și fiziopatologia SII. Studiile care semnalează o asociere la gemeni monoziagoți cu SII, comparativ cu gemeni dizigoți, sugerează ca pot exista baze moleculare distincte pentru toate subtipurile SII, inclusiv modificări ale genelor care controlează integritatea barierei epiteliale de la nivelul mucoaselor, dar și interacțiunile imune cu numărul considerabil de bacterii din intestin. Din păcate, numărul de studii despre polimorfisme unice de nucleotide - single nucleotide polymorphisms (SNP) în gene asociate cu SII este foarte mic.

Luând în considerare faptul că determinismul genetic reprezintă un factor etiopatogenetic al SII, obiectivul principal a fost să evaluăm cele mai studiate polimorfisme genetice până în prezent. Am efectuat o căutare electronică a literaturii medicale în baza de date PubMed, folosind următoarele cuvinte cheie: "genetic polymorphisms, irritable bowel syndrome". Au fost reținute articolele publicate din ianuarie 2002 până în septembrie 2016.

Criteriile de includere au fost: articole originale care au inclus pacienți cu SII-C, SII-D sau SII-M, și care au analizat polimorfisme genetice la pacienții cu SII. Mai mult, acordul comisiei de etică a fost luat în considerare. Am inclus în această studiu doar acele polimorfisme genetice care au fost abordate în cel puțin cinci publicații originale, iar fiecare studiu să prezinte analiza a cel puțin 20 de subiecți cu SII (fie pacienți consecutivi, sau pacienți selectați dintre toți pacienții ce au efectuat o anumită investigație). Criteriile de excludere au fost: lipsa de abstracte, studii care au fost scrise în altă limbă decât limba engleză, rezumate prezentate la diverse conferințe (chiar dacă au îndeplinit restul criteriilor). Criteriile de diagnostic pentru SII a fost în mare parte clinice, diagnostic pe baza unor chestionare, sau folosirea criteriilor bazate pe simptome, respectiv Roma I, Roma II și Roma III indiferent dacă s-au efectuat sau nu investigații suplimentare endoscopice.

Luând în considerare criteriile mai sus menționate, rezultatul a fost un review a 12 polimorfisme, aparținând unui număr de zece gene cunoscute a fi asociate cu patogeneza și fiziopatologia SII. Căutarea inițială a identificat 182 de articole, din care au fost revizuite 45 de articole potențial adecvate. Dintre aceste 45 de articole, 37 de articole au fost incluse în review. Din 37 de studii, 17 au analizat gena SLC6A4, opt GNbeta3, cinci TNFSF15. Ulterior au fost descrise și zece polimorfisme genetice analizate într-un număr redus de articole.

Studiul a identificat articole, cele mai multe dintre ele studii prospective despre rolul polimorfismelor genetice în patogeneza SII. Limita majoră a fost reprezentată de faptul că pacienții au fost recrutați în baza unei clasificări neuniforme:

clasificarea Roma I, Roma II, sau Roma III. O alta limita o constituie bariera lingvistica ale unor articole (care au împiedicat accesul) și numărul redus de pacienți implicați în majoritatea studiilor . Principalul motiv pentru excluderea articolelor a fost numărul insuficient de studii cu privire la un anumit polimorfism genetic. Mai mult, rezultatele statistice au fost rareori corectate pentru multiplicitatea. Ca urmare, au fost raportate asociații fals pozitive. Polimorfismele SLC6A4 sunt cele mai frecvente polimorfisme genetice studiate în SII pana in prezent. O meta-analiza recenta a studiilor de caz de asociere imunogenetice-control în SII a găsit o asociere moderată de rs4263839 în TNFSF15, și în special cu IBS-C. Din cauza numărului redus de studii, sunt necesare studii suplimentare pentru următoarele polimorfisme: colcistokinina, NXP1, Cdc42.

Concluzii generale

1. Pacienții cu SII sunt mai tineri și cu un nivel de educație mai scăzut decât subiecții din lotul martor.
2. Stresul ocupațional, măsurat prin intermediul chestionarului IMP, este crescut în SII comparativ cu lotul martor.
3. Nu există diferențe semnificative statistic de scoruri între subtipurile de SII și scorurile IMP.
4. S-a evidențiat o asociere semnificativă între SII și stresul ocupațional evidențiat prin următorii parametri: satisfacția organizațională, starea de bine mentală, starea de bine fizică, sursele de presiune-stres, tipul A de personalitate , coping.
5. Nu s-a evidențiat nici o asociere semnificativă între SII și stresul ocupațional evidențiat prin : categoria de munca, programul de munca, norma de munca, starea de sănătate, boli grave, evenimente negative în ultimele 3 luni, fumat, consumul de alcool, nr. de ore lucrate, nr. de ani în organizație.
6. Nivelul seric al IL-6 este semnificativ statistic mai mare în grupul pacienților cu SII, comparativ cu lotul martor.
7. Nivelul cortizolului salivar nu este semnificativ statistic mai mare în grupul pacienților cu SII, comparativ cu lotul martor.
8. Heterogenitatea rezultatelor finale în ceea ce privește SII-C, SII-D și SII-M sugerează că sunt necesare studii suplimentare care să precizeze care biomarker este relevant pentru toate subtipurile de SII.
9. Diferențele evidențiate de chestionare în SII și lotul de control arată necesitatea de a folosi numai instrumente validate în toate studiile care cercetează variabile latente.
10. Printr-un sistematic review de literatură s-au evidențiat următoarele: polimorfismele SLC6A4 sunt cele mai frecvente polimorfisme genetice studiate până în prezent la pacienții cu SII; pacienții cu SII-D și SII-PI prezintă polimorfisme genetice ale TNFSF15 și TNFalfa, comune cu cele documentate în bolile inflamatorii intestinale; activarea unor regiuni diferite ale creierului în timpul testului de distensie colorectală la subiecții care poartă alela S, față de lotul martor sugerează că indivizii cu un nivel redus de SERT, pot reacționa mult mai intens la diferite tipuri de emoții.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Această teză, prin subiectele abordate, deschide noi perspective referitoare la patogeneza pacienților cu SII. Conform informațiilor noastre actuale, acest studiu este primul studiu din literatură care evidențiază legătura dintre stresul ocupațional și apariția SII.

Cercetarea de față oferă informații relevante pentru diferite categorii socio-profesionale din România, expuse unor factori socio-economici puțin studiați până în prezent. O contribuție deosebit de importantă este adusă prin studierea efectelor generate de mecanismele de adaptare la stres și de relația dintre mediul familial și cel profesional.

Prin determinarea biomarkerilor serici și salivari am contribuit pe plan internațional, la încercarea de găsi un biomarker pentru diagnosticul SII. Acest studiu confirmă rezultatele din literatură în ceea ce privește creșterea IL-6 în SII. Rezultatele contradictorii legate de absența unei corelații dintre cortizolul salivar și SII, pot fi explicate prin efectele stresului psihologic acut și a acțiunii hormonului de eliberare corticotropinei, care cresc permeabilitatea intestinală, printr-un mecanism dependent de activitatea mastocitară. Astfel, stresul psihologic cronic nu poate fi cuantificat în mod obiectiv prin dozarea cortizolului salivar.

Pe lângă evaluarea biomarkerilor propuși, am studiat datele din literatură referitoare la polimorfismele genetice asociate SII, dar și modul în care pacienții răspund la diferitele tipuri de terapie medicamentoasă în funcție de genotip.

PhD Thesis Abstract

PHD THESIS

Stress in the irritable bowel syndrome

PhD Student: **Popa Ștefan-Lucian**

PhD Advisor: **Prof. Dr. Dan Lucian Dumitrașcu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	1
Current state of knowledge	
1. The irritable bowel syndrome (IBS)	6
1.1 Definition	6
1.2. Epidemiology	7
1.3. Diagnostic	7
1.3.1. Roma III diagnostic criteria	7
1.3.2. Clasification	8
1.3.3. Clinic and paraclinic evaluation	8
2. Pathogenesis of IBS	9
2.1. Brain-gut axis	9
2.2. Disorders of digestive motility	9
2.3. Inflammation	11
2.4. Psychosocial factors	11
2.4.1. Psychological stress	11
2.4.2 Psychiatric disorders	13
2.5. Overcrowding bacteria of the small bowel	14
2.6. Dietary factors	15
2.7. Genetic factors	15
2.8. Other factors	17
3. Occupational stress	18
3.1. Occupational stress definition and pathogenesis	18
3.2. Stress adaptation mechanisms	20
3.3. Occupational stress questionnaires	22

PERSONAL CONTRIBUTIONS

1. Objectives	29
2. General Methodology	29
3. Study 1 - Occupational stress assessment in IBS	30
3.1. Introduction	30
3.2. Objectives	31
3.3. Material and Method	31
3.4. Results	32
3.5. Discussions	72
3.6. Conclusions	74
4. Study 2 - Evaluation of the interleukin 6 in IBS	76
4.1. Introdudere	76
4.2. Objectives	76
4.3. Material and Method	76
4.4. Results	77
4.5. Discussions	81
4.6. Conclusions	82
5. Study 3- Evaluation of the salivary cortisol in IBS	83
5.1. Introdudere	83
5.2. Objectives	83
5.3. Material and Method	83
5.4. Results	84
5.5. Discussions	88
5.6. Conclusions	89

6. Study 4 - Genetic polymorphisms in IBS	90
3.1. Introduction	90
3.2. Objectives	90
3.3. Material and Method	90
3.4. Results	91
3.5. Discussions	95
3.6. Conclusions	96
7. General discussions	98
8. General conclusions	100
9. The originality and innovative contributions of the thesis	102
REFERENCES	104
ANNEXE	

Keywords: irritable bowel syndrome, stress, interleukin 6, salivary cortisol, genetic polymorphisms

Current state of knowledge

Just as with most functional digestive disorders, the pathogenesis of IBS is not fully known. IBS is a functional bowel disorder characterized by abdominal pain or discomfort associated with bowel disorders and / or changes in the appearance of the stool. Bloating and defecation disorders are frequently present . SII is one of the most common causes of addressing both the primary care and the specialized medical services. The discontinuous nature of symptoms in IBS impede the analysis of digestive motility.

Multiple abnormalities have been described at all levels of the digestive tract. In the past, dietary factors, infectious factors or intestinal motility disorders have been incriminated in the etiology of IBS. In present, genetic, immunological factors and psychological stress are intensely studied. The fact that IBS symptoms can't be the result of a single etiological factor is explained by the emergence of biopsychosocial model.

The purpose of this study is to evaluate the association between occupational stress and the occurrence of IBS. Another objective was to determine potential biomarkers for the diagnosis of IBS. Taking into account that genetic determinism is a factor etiopathogenetic of SII, a secondary objective was to evaluate the genetic polymorphisms studied so far. The exact mechanisms responsible for the development of various types of IBS is not known. Genetic determinism is related to stress response,

susceptibility to depressive disorder or anxiety disorder, data supporting a biopsychosocial model of IBS.

PERSONAL CONTRIBUTION

Objectives

Currently, IBS is a intensively studied disorder, although it's pathogenesis is not completely elucidated. In the past, dietary factors, infectious factors or intestinal motility disorders have been incriminated in the etiology of IBS. Now, genetic, immunological factors and different types of psychological stress are intensely studied.

The fact that IBS symptoms can not be the result of a single etiological factor is explained by the emergence of bio-psycho-social model. The aim of this study is to evaluate the association between occupational stress and the occurrence of IBS. Another objective was to determine potential biomarkers for the diagnosis of IBS.

Study 1- Pressure Management in IBS

The aim of this study was to investigate the relationship between occupational stress, assessed by a specialized questionnaire Pressure Management Indicator (PMI) and SII. The results show that IBS symptoms are significantly associated with occupational stress. The studies were conducted in the Medical Clinic II in Cluj-Napoca, between October 2013 and October 2015. Patients included in the study according to Rome III criteria, were selected from section of Internal Medicine.

Interest in the association between occupational stress and the occurrence of IBS was materialized due to insufficient data in the literature, but also of ineffective therapy in clinical practice. Although there are data demonstrating the association between anxiety, depression, major life events and IBS, the causal relationship between occupational stress factors and IBS is not known. Our study found a significant link between IBS and occupational stress evidenced by the following parameters: organizational satisfaction, mental wellbeing, wellbeing physical, sources of pressure, stress, type A personality, coping ($p < 0.001$), but no link between work classification, work schedule, work load, health, serious diseases, negative events in the last 3 months, smoking, alcohol consumption, number of hours worked, number of years in the organization and SII.

These factors are not tied to standardized work and probably do not have enough accuracy to highlight levels of stress compared to existing tests. The differences highlighted by the survey in IBS and control groups show the need to use only validated devices in studies that investigates all latent variables. We have not observed significant differences between all three subtypes of IBS and occupational stress.

Study 2- Evaluation of the interleukin 6 in IBS

The aim of this study was to investigate the relationship between interleukin 6 (IL-6) and SII. A total of 39 patients, 23 (58.97%) women and 16 (41.03%) men were included in the study. IBS patients were diagnosed according to Rome III. Besides classifying patients according to IBS subtypes, they were subdivided and depending on education (secondary school, high school, university). The control group consists of 37

subjects, of which 24 (64.86%) women and 13 (35.14%) men who were recruited through local advertising.

Interleukin-6 (IL-6) acts both as a pro-inflammatory cytokine and a miokine with anti-inflammatory effect. It is encoded by the IL-6 gene and is secreted by T lymphocytes and macrophages to stimulate the immune response, and has an essential role in infection, trauma, burns, and other types of cellular damage, but also in the autoimmune processes of frequent diseases as diabetes, atherosclerosis, depression, systemic lupus erythematosus, prostate cancer, Alzheimer's disease, multiple myeloma, Behcet's disease, and rheumatoid arthritis. As a result, therapies that are based on anti IL-6 agents are now commonly used.

In the intestinal mucosa of IBS patients, inflammatory processes were observed, and a clear correlation with hypersensitivity and an increased number of mast cells in the colonic mucosa was demonstrated. The increased number of proinflammatory mediators correlates with altered permeability barrier and intestinal mucosa. Recent studies show that IL-6 levels are elevated in patients with IBS compared with controls, and also in patients with depressive disorder and anxiety.

From a functional perspective, IL-6 increases transepithelial ionic transport, elucidating a potential relationship between elevated circulating levels of IL-6 and aberrant gastrointestinal function, data supported by experiments based on an animal model of IBS.

The results show that the onset of symptoms is associated with significantly increased serum levels of IL-6. Our study confirms literature data, according to which the IL-6 is significantly higher in the patients with IBS. The data show that no statistical differences were observed between subtypes of IBS and the serum level of IL-6. The data support the hypothesis that inflammation is involved in the pathogenesis of all subtypes of IBS.

Study 3- Evaluation of the salivary cortisol in IBS

Trying to quantify the level of psychological stress is hampered by the interaction of individual parameters represented by genotype, phenotype, psychological structure, circadian rhythm and asymptomatic disorders. For this reason, a number of methods for quantifying the level of stress have been described in the literature. Among the most used are: serum, salivary and urinary cortisol, salivary IgA, salivary alpha amylase, interleukin 6, the functional capacity of neutrophils, neuropeptide y, digital photoplethysmography.

The most common method of quantifying the level of psychological stress is represented by the analysis of salivary cortisol. This is a more accurate measurement than the serum cortisol, for that reason is dosed for the assessment of psychological stress and also physical stress. IBS patients and control subjects were instructed to collect saliva at 3 PM in their familiar surroundings after they have finished their work program. Samples were sent to the laboratory on the same day in which it was collected. Before sampling, subjects were instructed not to eat, do not drink alcohol or not to smoke for 12 hours. For sample analysis, a commercial enzyme immunoassay (Salimetrics, Eletrabox) was used. Salivary cortisol measurements were performed according to the manufacturer, being performed at the laboratories of the Medical Clinic II, with the determinations for IL-6. Data from our study did not show a statistically significant difference between salivary cortisol levels in patients with IBS compared to the control group. Moreover, occupational stress does not correlate with

the level of salivary cortisol. The conclusions may be the result of acute psychological stress and corticotropin releasing hormone action, which increases the intestinal permeability by a mechanism dependent mast cell activity. Thus, chronic psychological stress can not be measured objectively by determination of salivary cortisol.

Limitations of the study are the small sample size of patients and the low number of removals of salivary cortisol during the day, therefore a larger sample of patients should be studied to certify current results. Our study did not confirmed the hypothesis that salivary cortisol levels could be used as a biomarker for the diagnosis of IBS.

Study 4 - Genetic polymorphisms in IBS

The genetic background plays an essential role in the pathogenesis and pathophysiology of IBS. Studies that indicate an association between monozygotic twins with IBS compared dizygotic twins, suggest that there may be distinctive molecular bases for all IBS subtypes, including changes in genes that control the integrity of the epithelial barrier of the mucosa. Unfortunately, the number of studies on single nucleotide polymorphisms - single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes associated with IBS is limited.

Taking into account that genetic determinism is a etiopathogenetic factor of SII, the main objective was to evaluate the genetic polymorphisms studied so far. We conducted an electronic search of the medical literature in PubMed database using the following keywords: "genetic polymorphisms, irritable bowel syndrome". Articles published from January 2002 to September 2016 were included into our sistematic review.

Inclusion criteria were: original articles studying patients with IBS-C, IBS-D and IBS-M, which analyzed genetic polymorphisms in patients with IBS. Furthermore, the ethics agreement was considered. We have included in this study only those genetic polymorphisms that have been addressed in at least five original publications, and each study to present the analysis of 20 subjects with IBS (whether consecutive patients or patients selected from all patients who have taken a certain investigation). Exclusion criteria were: lack of abstract studies that were written in a language other than English, abstracts presented at various conferences (even if they fulfill the remaining criteria). The diagnostic criteria for IBS was largely clinical diagnosis based on questionnaires. Rome I, Rome II and Rome III criteria were used, no matter if endoscopic investigation was preformed.

Taking into account the above criteria, the result was a review of 12 polymorphisms, belonging to ten known genes, that are associated with the pathogenesis and pathophysiology of IBS. The initial search identified 182 articles, of which 45 articles were reviewed appropriate potential. Of those 45 articles, 37 articles were included in the review. Of these 37 studies, 17 examined gene SLC6A4, eight GNbeta3, five TNFSF15. Ten genetic polymorphisms described in a limited number of articles, were also analyzed.

The study identified articles, most of them prospective studies about the role of genetic polymorphisms in the pathogenesis of IBS. The major limit was represented by the fact that patients were recruited on the basis of irregular criteria: Rome I, Rome II, or III Rome. Another limit is the language barrier of articles (which prevented access) and the small number of patients included in most studies.

The main reason for exclusion of articles was the insufficient number of studies

on a particular genetic polymorphism. Furthermore, the statistical results for the multiplicity have been rarely corrected. As a result, false positive associations have been reported. SLC6A4 polymorphisms are the most common genetic polymorphisms studied in IBS so far. A recent meta-analysis of case-control immunogenic association in SII found a moderate association of rs4263839 in TNFSF15, especially with IBS-C. Because of the small number of studies, additional studies are needed for the following polymorphisms: colcistokinin, NXPH1, Cdc42.

General Conclusions

1. Patients with IBS are younger and with lower education than subjects in the control group.
2. Occupational stress, as measured by the questionnaire PMI is increased in IBS patients compared with controls.
3. No statistically significant differences between the subtypes of IBS scores and the scores PMI were demonstrated.
4. Our data showed significant association between occupational stress and IBS evidenced by the following parameters: organizational satisfaction, mental wellbeing, physical wellbeing, sources of pressure, stress, type A personality, coping.
5. No significant association between occupational stress and IBS evidenced by: category of work, work schedule, work load, health, serious diseases, negative events in the last 3 months, smoking, alcohol consumption, number of hours worked, number of years in the organization was demonstrated.
6. Serum IL-6 is significantly higher in the patients with IBS compared with controls.
7. Salivary cortisol level is not significantly higher among patients with IBS compared with controls.
8. The heterogeneity of the final results regarding IBS-C, IBS-D and IBS-M, suggest that studies are still needed to clarify a relevant biomarker specific for all subtypes of IBS.
9. Questionnaires highlighted differences in IBS and control groups shows the need to use only the devices validated by studies that investigate all latent variables.
10. Through a systematic review of literature, the following data analyzing the genetic background in IBS showed that SLC6A4 polymorphisms are the most common genetic polymorphisms studied in IBS to date, patients with IBS-D and IBS-PI shows TNFSF15 and genetic polymorphisms TNF common with the documented inflammatory bowel diseases. Activation of different brain regions during colorectal distension test at subjects carrying the S allele, compared to control group suggests that individuals with low levels of SERT may react more intensely to different kinds of emotions.

The originality and innovative contributions of the thesis

This thesis opens new perspectives on the pathogenesis of patients with IBS. Thus, according to our current information, this study is the first study in the literature that highlighted the link between occupational stress and the occurrence of IBS.

This research provides relevant information for different socio-professional categories in Romania that are exposed to socioeconomic factors studied far less. A particularly important contribution is made by studying the effects generated by coping mechanisms and the relationship between family background and occupation.

By determining serum and salivary biomarkers we have contributed to the

international attempt to find a biomarker for the diagnosis of IBS. This study confirms the results of literature in terms of increased IL-6 in IBS. Otherwise the results related to the absence of a correlation between salivary cortisol and IBS can be explained by the effects of acute psychological stress and action of corticotropin-releasing hormone, which increases intestinal permeability, by a mechanism dependent on mast cell activity. Thus, chronic psychological stress can not be measured objectively by determination of salivary cortisol. As well as assessing the proposed biomarkers, we studied the literature on genetic polymorphisms involved in IBS, and how patients respond to various types of drug therapy based on their genotype.