

lek. Albert Michał Stec

**Rola zaburzeń bariery jelitowej i metabolitów bakteryjnych  
w twardzinie układowej – implikacje kliniczne i terapeutyczne.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka

Katedra i Klinika Dermatologiczna

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

Praca powstała w ramach projektu „TIME 2 MUW doskonałość dydaktyczna szansą rozwoju Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego” współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój na lata 2014-2020, numer umowy o dofinansowanie: POWR.03.05.00-00-Z040/18-00.

**Słowa kluczowe:** twardzina układowa, mikrobiota, oś jelito-skóra, dysbioza, zapalenie, choroby autoimmunizacyjne, metabolity mikrobioty jelitowej, SCFA, TMAO, probiotyki, przeszczep mikrobioty kałowej, bariera jelitowa, przepuszczalność jelit

**Key words:** systemic sclerosis, microbiota, gut-skin axis, dysbiosis, inflammation, immune-mediated inflammatory diseases, intestinal microbial metabolites, SCFA, TMAO, probiotics, fecal microbiota transplantation, intestinal barrier, intestinal permeability

Streszczenie w języku polskim

## **Rola zaburzeń bariery jelitowej i metabolitów bakteryjnych w twardzinie układowej – implikacje kliniczne i terapeutyczne.**

Wprowadzenie

Wpływ mikrobioty jelitowej na homeostazę człowieka jest obecnie tematem intensywnie badanym. Dysbioza, czyli zaburzenie w składzie mikrobioty jelitowej, jest obserwowana w wielu chorobach, w tym także z zakresu dermatologii, między innymi w takich jednostkach jak łuszczyca, toczeń rumieniowaty układowy, atopowe zapalenie skóry oraz twardzina układowa. Wpływ dysbiozy na występowanie i przebieg chorób dermatologicznych opisuje koncepcja osi jelito-skóra, według której zmieniona mikrobiota może wpływać na dermatozy poprzez uwalnianie substancje (metabolity). Efekt ten może być potęgowany poprzez występujące z dysbiozą uszkodzenie bariery jelitowej, które przyczynia się do zwiększonej przepuszczalności jelit. Sprzyja to translokacji metabolitów, antygenów oraz fragmentów komórek bakteryjnych do krwioobiegu, co poprzez stymulację układu immunologicznego może prowadzić do zaostrzenia objawów chorób skóry.

Twardzina układowa (ang. systemic sclerosis, SSc) jest autoimmunologiczną chorobą tkanki łącznej, często o ciężkim przebiegu. Patogeneza choroby nie jest w pełni poznana, jednak uważa się, że kluczową rolę odgrywają w niej zaburzone mechanizmy naprawy tkanki łącznej w odpowiedzi na uszkodzenie. Polegają one na niekontrolowanej produkcji białek macierzy pozakomórkowej, głównie kolagenu typu I, przez chorobowo zmienione fibroblasty i prowadzą do włóknienia skóry i narządów wewnętrznych. Zajęcie narządów wewnętrznych przez proces chorobowy powoduje wystąpienie swoistych objawów, między innymi śródmiąższowej choroby płuc, nadciśnienia płucnego, zaburzeń motoryki przewodu pokarmowego oraz niewydolności serca z powodu włóknienia mięśnia sercowego.

Zmiany mikrobioty jelitowej w przebiegu twardziny układowej charakteryzują się zwiększonym występowaniem bakterii z rodzajów *Fusobacterium*, *Desulfovibrio*, *Ruminococcus* i *Lactobacillus*, natomiast zmniejszonym występowaniem bakterii z rodzaju *Faecalibacterium*. Ponadto bardziej wyrażona dysbioza została zaobserwowana u osób

ze współistniejącymi objawami – chorobą śródmiąższową płuc i zaburzeniami motoryki przełyku.

Najnowsze badania przedkliniczne wskazują, że zarówno szkodliwe metabolity bakterii jelitowych, jak i substancje ulegające translokacji wskutek zwiększonej przepuszczalności jelit, mogą nasilać procesy włóknienia uwrażliwiając fibroblasty na działanie czynników profibrotycznych.

### Cele pracy

1. Określenie potencjalnych nieprawidłowości w stężeniu metabolitu dysbiotycznej mikrobioty jelitowej – N-tlenku trimetyloaminy (ang. trimethylamine N-oxide; TMAO) w twardzinie układowej oraz potencjalnego związku z wystąpieniem typowych objawów narządowych choroby.
2. Ocena stanu bariery jelitowej w twardzinie układowej i określenie związku stężenia markerów przepuszczalności jelit z aktywnością i objawami choroby, w tym w szczególności z występowaniem śródmiąższowej choroby płuc oraz zaburzeniami motoryki przełyku.
3. Analiza potencjalnych różnic w stężeniu markerów przepuszczalności jelit u pacjentów z różnym czasem trwania twardziny układowej.

### Materiał i metody

Do badania włączono 50 pacjentów z twardziną układową, którzy spełniali kryteria klasyfikacyjne ACR/EULAR. Grupę kontrolną stanowiło 30 ochotników dopasowanych pod względem płci, wieku i wskaźnika BMI. Badanie przedmiotowe oraz badania dodatkowe do oceny stopnia nasilenia zmian narządowych przeprowadzono zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Nasilenie stwardnienia skóry oceniano przy użyciu zmodyfikowanej skali Rodnana (mRSS). Poziom TMAO w osoczu został oznaczony z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas (HPLC-MS). Stężenia wybranych markerów bariery jelitowej oznaczono w surowicy metodą testu immunoenzymatycznego (ELISA). Poziom istotności statystycznej przyjęto dla  $p < 0,05$ .

## Wyniki

U pacjentów z twardziną układową w porównaniu z grupą kontrolną wykazano istotnie statystycznie wyższe stężenie N-tlenku trimetyloaminy (TMAO) (283,0 ng/ml (rozstęp międzykwartyłowy [IQR]: 188,5-367,5) vs. 205,5 ng/ml, (IQR 101,0-318,0);  $p < 0,01$ ). Stwierdzono istotnie wyższe stężenie TMAO w podgrupie pacjentów ze śródmiąższową chorobą płuc w porównaniu do podgrupy bez tego powikłania (302,0 ng/ml (IQR 212,0-385,5) vs. 204,0 ng/ml (IQR 135,5-292,0);  $p < 0,01$ ). W podgrupie pacjentów z towarzyszącym zaburzeniem motoryki przełyku (wykrytym w badaniu kontrastowym przełyku) wykazano istotnie wyższy poziom TMAO w porównaniu do podgrupy bez zaburzeń motoryki (289,75 ng/ml (IQR 213,75-387,5) vs. 209,5 ng/ml (IQR 141,5-315,0);  $p = 0,026$ ). Ponadto stężenie TMAO wykazywało istotną ujemną korelację ze zdolnością dyfuzyjną płuc dla tlenu węgla (DLCO), będącą markerem restrykcji spowodowanej śródmiąższową chorobą płuc ( $\rho = -0,53$ ;  $p = 0,013$ ). Dodatkowo współczynnik korelacji Spearmana wykazał istotną statystycznie ujemną korelację z badaną w echokardiografii frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF) ( $\rho = -0,39$ ;  $p < 0,01$ ) oraz istotną statystycznie dodatnią korelację ze stężeniem N-końcowego propeptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP) ( $\rho = 0,41$ ;  $p < 0,001$ ). Zaobserwowano również istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem TMAO i wskaźnikiem uszkodzenia narządów w przebiegu twardziny (SCTC-DI) ( $\rho = 0,78$ ;  $p < 0,001$ ).

Ocena bariery jelitowej wykazała istotnie wyższy poziom lipopolisacharydów bakteryjnych (LPS), będących wykładnikiem translokacji elementów komórek bakteryjnych ze światła jelita do krwioobiegu, w surowicy pacjentów z twardziną układową w porównaniu do osób w grupie kontrolnej (232,30 pg/mL (IQR 149,00-347,70) vs. 161,00 pg/mL (IQR 83,92-252,20);  $p < 0,05$ ). Podgrupa pacjentów z krótszym okresem trwania choroby (mniejszym bądź równym 6 lat) charakteryzowała się istotnie wyższym poziomem lipopolisacharydów bakteryjnych i kładyny-3 w porównaniu do podgrupy pacjentów z dłuższym okresem trwania choroby (powyżej 6 lat): LPS: (280,75 pg/mL (IQR 167,30-403,40) vs. 186,00 pg/mL (IQR 98,12-275,90);  $p < 0,05$ ); kładyna-3: (16,99 ng/mL (IQR 12,41-39,59) vs. 13,54 ng/mL (IQR 10,29-15,47);  $p < 0,05$ ). Ponadto zaobserwowano, że w podgrupie z krótszym okresem trwania choroby pacjenci ze współwystępującą śródmiąższową chorobą płuc charakteryzowali się istotnie wyższym stężeniem LPS w porównaniu do pacjentów bez tego

powikłania (385,55 pg/mL (IQR 266,90-506,50) vs. 217,75 pg/mL (IQR 157,25-280,75);  $p < 0,05$ ). Dodatkowo w grupie pacjentów z twardziną układową współwystępowanie zaburzeń motoryki przełyku wiązało się z istotnie niższym stężeniem LPS w surowicy w porównaniu do pacjentów z prawidłowym pasażem przełykowym (188,05 pg/mL (IQR 102,31-264,40) vs. 283,95 pg/mL (IQR 203,20-356,30);  $p < 0,05$ ).

## Wnioski

1. Stężenie metabolitu mikrobioty jelitowej – N-tlenku trimetyloaminy (ang. trimethylamine N-oxide; TMAO) w surowicy jest istotnie wyższe u pacjentów z twardziną układową w porównaniu do grupy kontrolnej. Występowanie niektórych objawów choroby, m. in. śródmiąższowej choroby płuc oraz zaburzeń motoryki przełyku, wiąże się ze szczególnie podwyższonym stężeniem TMAO.
2. Metabolity mikrobioty jelitowej mogą być łącznikiem między dysbiozą jelitową i zajęciem narządów w przebiegu twardziny układowej. Modulacja metabolitów pochodzących z bakterii jelitowych może stanowić nowe podejście terapeutyczne w leczeniu twardziny układowej.
3. Stężenie markera przepuszczalności jelitowej – lipopolisacharydów (ang. lipopolysaccharides; LPS) w surowicy jest istotnie wyższe u pacjentów z twardziną układową w porównaniu do grupy kontrolnej; podgrupa pacjentów o krótszym czasie trwania choroby (czas mniejszy lub równy 6 lat) charakteryzuje się istotnie statystycznie większym stężeniem markerów przepuszczalności jelitowej, LPS i kładyny-3, w porównaniu do podgrupy o dłuższym czasie trwania choroby (powyżej 6 lat), co sugeruje występowanie zwiększonej przepuszczalności jelit na wczesnym etapie choroby.
4. Niższe stężenie markerów przepuszczalności jelitowej (LPS i Kładyny-3) u pacjentów z dłuższym okresem trwania choroby (powyżej 6 lat) w porównaniu do chorych o krótszym przebiegu choroby (czas mniejszy lub równy 6 lat) może być spowodowane współwystępującymi zaburzeniami wchłaniania wynikającymi z zajęcia przewodu pokarmowego.