

Streszczenie w języku polskim

Przeszczepianie allogenicznych komórek krwiotwórczych (ang. allogeneic hematopoietic cell transplantation, allo-HCT) często jest jedyną procedurą umożliwiającą wyleczenie chorych na różne choroby onkohematologiczne oraz nienowotworowe. Jednym z głównych ograniczeń stosowania tej metody jest wysoka śmiertelność związana z procedurą, głównie w wyniku wystąpienia choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. graft versus host disease, GVHD) szczególnie ostrej postaci (ang. acute GVHD, aGVHD) i powikłań infekcyjnych. W ostatnich dwóch dekadach zagadnienie bariery jelitowej zyskało coraz większe zainteresowanie jako miejsce inicjacji i propagacji tych powikłań.

Bariera jelitowa to złożona struktura składająca się z warstwy komórek nabłonka pokrytych śluzem zamieszkanym przez mikroorganizmy, m.in. bakterie, wirusy i grzyby łącznie nazywane mikrobiomem jelitowym lub mikrobiotą jelitową. Nienaruszona bariera jelitowa zapobiega przenikaniu bakterii i toksyn z przewodu pokarmowego do ustroju. Z drugiej strony, przepuszczalność jelit umożliwia wchłanianie niezbędnych składników odżywczych, transport wody i elektrolitów. Do tej pory brakuje jednak metod oceny stanu bariery jelitowej mogących znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej. Metodą referencyjną stosowaną do analizy przepuszczalności bariery jelitowej w ramach badań naukowych jest test absorpcji cukrów (ang. sugar absorption test, SAT) opierający się na różnicy w szlakach absorpcji laktozy (transport parakomórkowy) i mannitolu (transport transkomórkowy). Do tej pory nie oceniono, czy SAT może zostać zastąpiony przez analizę innych markerów uszkodzenia jelita takich jak zonulina (marker przepuszczalności jelit) czy kalprotektyna i beta-defensyna-2 (markery stanu zapalnego jelita) celem oceny przepuszczalności bariery jelitowej w okresie okołoprzeszczepowym. Brakuje także danych na temat charakterystycznych zaburzeń metabolomu rozumianego jako całość metabolitów obecnych w ustroju, występujących po allo-HCT, szczególnie tych, które mogą być związane z występowaniem aGVHD. Ocena metabolomu możliwa jest dzięki nowej technice „omicznej”, czyli metabolomice, polegającej na identyfikacji i analizie metabolitów za pomocą m.in. chromatografii ciekowej lub gazowej połączonej ze spektrometrią mas (ang. liquid chromatography - mass spectrometry, LC-MS, ang. gas chromatography - mass spectrometry, GC-MS) czy spektroskopii jądrowego rezonansu magnetycznego (ang. nuclear magnetic resonance, NMR) oraz analizie uzyskanych danych przy pomocy dedykowanego oprogramowania.

Rozprawa doktorska składa się z trzech powiązanych tematycznie publikacji naukowych, których celem była ocena przepuszczalności bariery jelitowej u chorych

poddawanych allo-HCT za pomocą SAT i analizy markerów uszkodzenia bariery jelitowej, a także ocena zmian metabolomu u biorców allo-HCT, ze szczególnym uwzględnieniem chorych, u których stwierdzono aGVHD w okresie poprzyszczepowym.

Wyróżniono następujące cele szczegółowe:

1. Ocena przepuszczalności bariery jelitowej za pomocą SAT.
2. Analiza związku między przepuszczalnością bariery jelitowej a czynnikami zależnymi od chorego oraz od przeszczepienia.
3. Analiza związku między przepuszczalnością bariery jelitowej a wystąpieniem powikłań w okresie poprzyszczepowym (aGVHD, powikłania infekcyjne, zapalenie śluzówek).
4. Ocena uszkodzenia bariery jelitowej za pomocą analizy stężenia biomarkerów w kale (zonulina, kalprotektyna, beta-defensyna-2).
5. Analiza przydatności oceny markerów uszkodzenia bariery jelitowej w kale jako surogatów przepuszczalności bariery jelitowej.
6. Analiza związku między stężeniem markerów uszkodzenia bariery jelitowej w kale, a czynnikami zależnymi od chorego oraz od przeszczepienia.
7. Analiza związku między stężeniem markerów uszkodzenia bariery jelitowej w kale, a występowaniem powikłań w okresie poprzyszczepowym (aGVHD, powikłania infekcyjne, zapalenie śluzówek).
8. Ocena profili metabolicznych chorych w okresie okołotransplantacyjnym.
9. Porównanie profili metabolicznych chorych, u których wystąpiła aGVHD z pozostałymi pacjentami.

Cykl publikacji zawiera pracę poglądową oraz dwie prace oryginalne.

W pierwszej pracy pt. *Advances in Intestinal Barrier Preservation and Restoration in the Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Setting* (doi: 10.3390/jcm10112508) dokonano przeglądu dostępnej literatury dotyczącej bariery jelitowej, koncentrując się na opisie jej struktury i prawidłowego funkcjonowania oraz dowodach na to, w jaki sposób jej uszkodzenie i zwiększona przepuszczalność jelit wpływają na wyniki leczenia chorych po allo-HCT. Omówiono metody oceny przepuszczalności jelitowej i opisano istniejące strategie terapeutyczne mające na celu ochronę bariery jelitowej, ze szczególnym uwzględnieniem zachowania i przywracania prawidłowej mikrobioty jelitowej.

Celem kolejnej pracy pt. *Increased Intestinal Permeability and Stool Zonulin, Calprotectin and Beta-Defensin-2 Concentrations in Allogeneic Hematopoietic Cell*

Transplantation Recipients (doi: 10.3390/ijms232415962) była ocena przepuszczalności bariery jelitowej i innych potencjalnych markerów uszkodzenia bariery jelitowej u chorych poddawanych allo-HCT w Klinice Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (UCK WUM). Do badania włączono 51 pacjentów. Przepuszczalność jelitowa została oceniona przy pomocy SAT, oceniano także stężenie zonuliny, kalprotektyny i beta-defensyny-2 w kale w okresie okołotransplantacyjnym. W przypadku większości pacjentów poddawanych allo-HCT wykazano nieprawidłową przepuszczalność bariery jelitowej na 7 dni przed rozpoczęciem procedury allo-HCT, co korelowało istotnie z wyższym wskaźnikiem występowania chorób towarzyszących (ang. hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity Index, HCT-CI). Po allo-HCT obserwowaliśmy dalszy wzrost przepuszczalności bariery jelitowej u większości chorych. Nie udowodniono jednak korelacji między wynikami SAT a oceną innych markerów uszkodzenia bariery jelitowej (zonulina, kalprotektyna i beta-defensyna-2). W przypadku chorych, u których wystąpiła aGVHD, obserwowaliśmy istotnie wyższe stężenie kalprotektyny w kale po allo-HCT w porównaniu z pacjentami bez tego powikłania. Wyniki powyższego badania wskazują, że uszkodzenie bariery jelitowej rozwija się przed allo-HCT, nasila się w okresie potransplantacyjnym i poprzedza dalsze powikłania. Nie wykazano jednak aby inne markery uszkodzenia bariery jelitowej były przydatne jako surogaty przepuszczalności jelitowej.

Celem kolejnej pracy pt. *Altered lipid metabolism in patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation*. (doi: 10.1016/j.leukres.2024.107435) była ocena profili metabolicznych chorych po allo-HCT, u których w okresie poprzszczepowym zdiagnozowano aGVHD, w porównaniu do pacjentów bez tego powikłania. W praktyce klinicznej ryzyko rozwoju GVHD ocenia się indywidualnie na podstawie czynników klinicznych, takich jak niezgodność antygenów zgodności tkankowej (ang. Human Leukocyte Antigen, HLA), niezgodność płci, starszy wiek dawcy i/lub biorecy, źródło komórek macierzystych, alloimmunizacja dawcy oraz obecność przeciwciał przeciwko cytomegalowirusowi (ang. Cytomegalovirus, CMV) i wirusowi Epsteina-Barr (ang. Epstein-Barr virus, EBV). Za pomocą metod niecelowanej analizy metabolomicznej oceniono globalne zmiany w metabolizmie aminokwasów, węglowodanów, lipidów, nukleotydów, a także metabolitów pochodzenia bakteryjnego u 38 chorych poddanych allo-HCT w Klinice Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych CSK UCK WUM, spośród których u 15 wystąpiła aGVHD. W porównaniu z pozostałymi pacjentami, w przypadku tych chorych wykazano deregulację profili metabolicznych, która była widoczna już 7 dni przed

rozpoczęciem procedury allo-HCT. W tej grupie chorych zidentyfikowano istotne zmiany w metabolizmie lipidów związanych ze szlakiem przekształcania kwasów żółciowych i syntezą cholesterolu. Z uwagi na pilotażowy charakter badania powyższe wyniki jedynie wskazują na potencjalny związek między metabolizmem lipidów a ryzykiem i/lub rozwojem aGVHD, i wymagają potwierdzenia w dalszych badaniach dotyczących rozwoju aGVHD, szczególnie badań nad modelami predykcji aGVHD.

Podsumowując, cykl prezentowanych prac dotyczy analizy zaburzeń funkcjonowania bariery jelitowej oraz metabolomu po allo-HCT, oraz wpływu powyższych na występowanie powikłań w okresie potransplantacyjnym ze szczególnym uwzględnieniem aGVHD.

Wyniki przedstawionych badań poszerzają wiedzę na temat wpływu stanu bariery jelitowej oraz metabolomu na wyniki leczenia chorych poddawanych allo-HCT. Wyniki te stanowią podstawę do planowania kolejnych badań ukierunkowanych na rozwój modeli predykcji aGVHD, oraz rozwoju opcji terapeutycznych nacelowanych na ochronę bariery jelitowej prowadzących do optymalizacji opieki medycznej i poprawy wyników leczenia w tej wrażliwej grupie chorych.