



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

KATEDRA I KLINIKA GASTROENTEROLOGII PUM

ul. Unii Lubelskiej 1 71-252 Szczecin

tel. 91/4253211, fax:91/4253211 e-mail: kgastro@pum.edu.pl

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Marlicz
Katedra i Klinika Gastroenterologii PUM

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Martyny Tyszki pod tytułem "Badanie zmian przepuszczalności bariery jelitowej po transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych."

Transplantacja allogeniczných komórek krwiotwórczych (allo-HCT) jest często jedyną opcją terapeutyczną zarówno w nowotworach jak i chorobach nienowotworowych. Procedura ta wzmacnia działanie chemioterapii i radioterapii poprzez efekt „przeszczep przeciw nowotworowi”, polegający na aktywnym zwalczaniu komórek nowotworowych przez limfocyty dawcy w organizmie biorcy. W ostatnich dekadach liczba wskazań do stosowania allo-HCT stale rośnie, ale sama procedura nadal wiąże się z wysokim ryzykiem śmiertelności, głównie z powodu występowania choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD) a także groźnych dla życia powikłań infekcyjnych.

GVHD, będąca wynikiem aktywności immunokompetentnych komórek dawcy, zwłaszcza limfocytów T, skierowanych przeciwko tkankom i narządom biorcy, jest powikłaniem, które znacznie pogarsza rokowanie pacjentów. Przewlekła postać GVHD jest główną przyczyną późnej śmiertelności po przeszczepieniu, niezwiązaną ze wznową choroby podstawowej. W tej perspektywie w ostatnich dekadach obserwujemy znaczący wzrost zainteresowania związkiem między mikrobiotą jelitową, funkcjonowaniem bariery jelitowej a rokowaniem po przeszczepie komórek krwiotwórczych.

W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że uszkodzenie bariery jelitowej spowodowane m.in. kondycjonowaniem sprzyja translokacji wzorców molekularnych związanych z patogenami przez barierę jelitową, co prowadzi do aktywacji szlaków prozapalnych inicjujących m.in. GVHD. Modulacja mikrobioty jelitowej ma potencjał

ograniczania stanu zapalnego w jelitach, co zmniejsza ryzyko rozwoju GVHD. W kilku opublikowanych badaniach udokumentowano znaczny wzrost przepuszczalności bariery jelitowej po allo-HCT. Należy podkreślić, iż kliniczna ocena przepuszczalności bariery jelitowej jest trudna, brakuje sprawdzonych markerów biochemicznych, za pomocą których można byłoby dokładnie szacować stopień uszkodzenia bariery jelitowej. Zauważono na przykład, iż wzrost przepuszczalności jelit w okresie po przeszczepie komórek krwiotwórczych poprzedza wystąpienie zapalenia błony śluzowej, np. w obrębie jamy ustnej. Niemniej jednak ocena uszkodzenia jelit na podstawie rozległości zapalenia błony śluzowej w jamie ustnej nie została potwierdzona jako metoda wystarczająca do oszacowania stanu bariery jelitowej.

W tej perspektywie, projekty naukowe, mające na celu analizę bariery jelitowej i jej wpływ na profilaktykę bądź rokowanie w różnych stanach chorobowych mają bardzo istotne implikacje kliniczne. Należy podkreślić, iż pomimo dużego zainteresowania rolą bariery jelitowej, brakuje badań oceniających przepuszczalność bariery jelitowej, zwłaszcza u pacjentów poddanych allogenicznej transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HCT). Autorka przedstawionej do oceny dysertacji podjęła się ważnego, ciekawego i zarazem trudnego zadania, dokonując wnikliwej oceny przepuszczalności i stanu bariery jelitowej u pacjentów poddawanych allo-HCT. Przedstawione w rozprawie badania wpisują się w tematykę badawczą prowadzoną od wielu lat, przez Promotorów jej pracy, Prof. dr. n. med. Grzegorza Basaka i dr. hab. n. med. Jarosława Biłłńskiego.

Założenia i cele pracy doktorskiej lek. Martyny Tyszkli skupiają się na ocenie przepuszczalności bariery jelitowej u pacjentów poddawanych allogenicznej transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HCT) oraz na analizie zmian metabolomu w tej grupie pacjentów. Głównym celem projektu była ocena przepuszczalności bariery jelitowej przy użyciu testu absorpcji cukrów (SAT) i porównanie tej metody z oceną markerów uszkodzenia bariery jelitowej, takich jak zonulina, kalprotektyna i beta-defensyna-2, w okresie okołotransplantacyjnym. Ponadto, prace Doktorantki koncentrowały się na ocenie zmian metabolomicznych, szczególnie w odniesieniu do pacjentów, u których rozwinęła się ostra postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGVHD) po przeszczepieniu.

Badaniem objęto pacjentów poddawanych allo-HCT z powodu nowotworów hematologicznych oraz chorób nienowotworowych. Analizowano kliniczne dane pacjentów, w tym rodzaj kondycjonowania, szczegóły dotyczące przeszczepu, stosowane leczenie immunosupresyjne oraz wyniki badań dodatkowych. Kluczowymi elementami oceny były stężenia biomarkerów uszkodzenia nabłonka jelit (zonulina,

kalprotektyna, beta-defensyna-2 w kale), wyniki testu SAT oraz profile metaboliczne pacjentów. Dane te były analizowane pod kątem korelacji z częstością występowania GVHD, powikłań infekcyjnych oraz zapalenia błon śluzowych.

Przedstawione cele pracy obejmowały: i) ocenę przepuszczalności bariery jelitowej za pomocą testu SAT; ii) analizę zależności między przepuszczalnością bariery jelitowej a czynnikami związanymi z pacjentem oraz z przeszczepieniem, iii) badanie związku między przepuszczalnością bariery jelitowej a występowaniem powikłań w okresie poprzyszczepowym, takich jak aGVHD, powikłania infekcyjne oraz zapalenie błon śluzowych. Ponadto autorka rozprawy dokonała oceny: a) uszkodzenia bariery jelitowej poprzez analizę stężeń biomarkerów w kale (zonulina, kalprotektyna, beta-defensyna-2); b) przydatności markerów uszkodzenia bariery jelitowej jako wskaźników przepuszczalności bariery jelitowej. Pozostałe cele pracy polegały na dokonaniu następujących analiz: i) związku między stężeniem markerów uszkodzenia bariery jelitowej w kale a czynnikami związanymi z pacjentem oraz przeszczepieniem, ii) związku między stężeniem markerów uszkodzenia bariery jelitowej w kale a występowaniem powikłań w okresie poprzyszczepowym. Dodatkowo lek. Martyna Tyszka dokonała oceny profili metabolicznych pacjentów w okresie okołotransplantacyjnym i porównała profile metabolicznych pacjentów, u których wystąpiła aGVHD, z tymi, u których nie rozwinęło się to powikłanie.

W zestawionym do dysertacji cyklu prac Doktorantka zaprezentowała trzy publikacje – jedną przeglądową i dwie oryginalne. Łączny Impact Factor (IF) wyniósł 13,2, a sumaryczna ilość punktów MNISW wyniosła 350.

W pierwszej publikacji Pani Martyna Tyszka dokładnie przeanalizowała dostępną literaturę dotyczącą wpływu bariery jelitowej na wyniki allo-HCT, uwzględniając potencjalne metody terapeutyczne mające na celu zachowanie bariery jelitowej po allo-HCT. W drugiej publikacji oceniła przepuszczalność bariery jelitowej u pacjentów po allo-HCT za pomocą testu absorpcji cukrów oraz po raz pierwszy porównała tę metodę z oceną markerów uszkodzenia jelit, takich jak zonulina, kalprotektyna i beta-defensyna-2. W trzeciej publikacji przeprowadziła analizę profili metabolicznych pacjentów po allo-HCT, ze szczególnym uwzględnieniem porównania pacjentów, u których rozwinęła się aGVHD, z tymi bez tego powikłania.

W celu realizacji założeń rozprawy doktorskiej, w toku prac, Doktorantka włączyła do badania 51 pacjentów, oceniając przepuszczalność jelitową za pomocą testu absorpcji cukrów (SAT) oraz stężenie markerów uszkodzenia jelit, w kale w okresie okołotransplantacyjnym. Po allo-HCT zaobserwowała dalszy wzrost przepuszczalności bariery jelitowej oraz tendencję wskazującą na zwiększone ryzyko jej wzrostu

u starszych pacjentów. Nie udało się jednak udowodnić korelacji między wynikami SAT a oceną wybranych markerów uszkodzenia bariery jelitowej. W przypadku pacjentów, u których wystąpiła aGVHD, zaobserwowano istotnie wyższe stężenia kalprotektyny w kale po allo-HCT w porównaniu z pacjentami bez tego powikłania. Wyniki jej badań wskazują, że uszkodzenie bariery jelitowej rozwija się już w okresie przed zabiegiem allo-HCT, nasila się w okresie potransplantacyjnym a proces ten poprzedza wystąpienie dalszych powikłań.

W kolejnym etapie prac, Doktorantka oceniła metabolom u 38 pacjentów, z których u części rozwinęła się aGVHD. W badaniu wykazała, że metabolom pacjentów, u których wystąpiła aGVHD, różni się istotnie od metabolomu pacjentów bez tego powikłania, co jest widoczne już tydzień przed allo-HCT. Prace doktorantki składające się na cykl publikacji w sposób spójny poruszają tematykę oceny oraz znaczenia bariery jelitowej w kontekście allo-HCT.

Rozprawa lek. Martyny Tyszkowej koncentruje się na nowatorskim zagadnieniu w transplantologii, jakim jest przepuszczalność bariery jelitowej u pacjentów poddanych allogenicznemu przeszczepowi komórek macierzystych (allo-HCT). Jak podkreślono, procedura allo-HCT, będąca często jedyną opcją terapeutyczną wiąże się z istotnym ryzykiem, głównie ze względu na powikłania takie jak GVHD oraz zakażenia. Rozprawa doktorska Pani Martyny Tyszkowej jest szczególnie cenna, gdyż bada związek między funkcjonowaniem bariery jelitowej a wynikami allo-HCT, co może mieć znaczący wpływ na opracowanie nowych protokołów, mających zastosowanie w profilaktyce i leczeniu często nieuleczalnych w inny sposób chorób.

Autorka pracy wytyczyła ambitne i precyzyjne cele badawcze. Kluczowym celem było dogłębne zbadanie zmian w przepuszczalności bariery jelitowej w okresie okołotransplantacyjnym oraz identyfikacja potencjalnych markerów wskazujących na ryzyko wystąpienia ostrej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGVHD). Na podstawie przedstawionych badań, autorka oceniła zarówno bezpośrednie metody pomiaru przepuszczalności jelit (SAT), jak i analizę markerów uszkodzenia jelit oraz metabolomu pacjentów.

Rozprawa lek. Martyny Tyszkowej ma wiele mocnych stron, takich jak kompleksowe podejście do tematu, analizę złożonych mechanizmów metabolicznych związanych z powikłaniami po allo-HCT; nowatorskie podejście poprzez próbę powiązania markerów uszkodzenia jelit z wynikami SAT, co wcześniej nie było badane w tych grupach pacjentów. Wyniki badań doktorantki sugerują, że wzrost przepuszczalności jelitowej poprzedza powikłania takie jak aGVHD, co może mieć istotne znaczenie

w praktyce klinicznej, zwłaszcza w kontekście wczesnego wykrywania ryzyka powikłań.

Mimo wielu zalet, praca nie jest pozbawiona pewnych ograniczeń, takich jak ograniczona liczebność próby. Badania zostały przeprowadzone na stosunkowo niewielkiej liczbie pacjentów (51 osób), co może ograniczać możliwość uogólnienia wyników. Ponadto, w badaniach nad metabolomem wzięło udział jedynie 38 pacjentów. Niemniej jednak, pomimo niewielkiej grupy badanych, należy zwrócić uwagę na skomplikowaną naturę analiz metabolomicznych. Choć autorka zauważyła istotne zmiany w przepuszczalności jelitowej, nie udało się jej wykazać jednoznacznych korelacji między wynikami SAT a markerami uszkodzenia jelit, co wskazuje na potrzebę dalszych badań w tym kierunku i oczywiście, w żaden sposób nie umniejsza wartości przedstawionej do oceny pracy. Autorka sama podkreśla, że wyniki te mają charakter pilotażowy i wymagają dalszej walidacji oraz potwierdzenia w większych grupach pacjentów.

Podsumowując, praca doktorska lek. Martyny Tyszkowej jest wartościowym wkładem w dziedzinie medycyny transplantacyjnej, szczególnie w zakresie badań nad funkcjonowaniem bariery jelitowej i jej wpływem na wyniki allo-HCT. Praca ta wnosi istotne nowe informacje, które mogą prowadzić do lepszego zrozumienia mechanizmów powikłań po transplantacji oraz potencjalnie do opracowania nowych strategii terapeutycznych. Mimo pewnych ograniczeń, praca ta zasługuje na wysoką ocenę i powinna zostać uznana za znaczące osiągnięcie naukowe. W mojej ocenie przedstawiona rozprawa doktorska Pani lek. Martyny Tyszkowej spełnia warunki określone w art. 219 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym z dnia 20 lipca 2018 r. (z późn. zm.) i stanowi osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę do wnioskowania o uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych.

W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych i Senatu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie o dopuszczenie Pani Martyny Tyszkowej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i ze względu na wysoką wartość naukową prac oraz dorobek publikacyjny doktorantki, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Marlicz