



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Natalia Warmuzińska

Analiza lipidomiczna w diagnostyce transplantacyjnej

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
Streszczenie w języku polskim**

Promotor:

Prof. dr hab. Barbara Bojko

Bydgoszcz, 2025 r.

Streszczenie w języku polskim

Liczba pacjentów umieszczanych na listach oczekujących na przeszczep nerki szybko rośnie, co prowadzi do coraz większej dysproporcji między zapotrzebowaniem na narządy a ich dostępnością. W związku z tym ośrodki transplantacyjne stoją przed wyzwaniem maksymalnego wykorzystania dostępnych zasobów narządów oraz rozszerzenia puli dawców, aby zmniejszyć tę lukę. Dawcy spełniający standardowe kryteria są preferowani do przeszczepień nerek, ponieważ narządy od tych dawców zazwyczaj dają lepsze wyniki. Jednak, niedobór dostępnych nerek wymusza korzystanie z narządów marginalnych, pochodzących od dawców o rozszerzonych kryteriach w celu zwiększenia liczby przeszczepień i skrócenia czasu oczekiwania pacjentów. Wiadomo jednak, że jakość narządu dawcy ma wpływ na długoterminowe wyniki transplantacji, a przeszczepy od dawców o rozszerzonych kryteriach mają gorsze rokowania, zwiększone ryzyko opóźnionej funkcji przeszczepu oraz pierwotnej niewydolności przeszczepu. W związku z tym istnieje pilna potrzeba opracowania nowych strategii umożliwiających wczesną ocenę jakości narządu, predykcję wystąpienia powikłań oraz optymalizację postępowania z biorcami o wysokim ryzyku po przeszczepie. Dodatkowo niezbędne są skuteczne strategie ograniczania uszkodzeń podczas przechowywania narządów, które mogłyby poprawić ich jakość i zwiększyć szanse na udany przeszczep.

W odpowiedzi na te potrzeby, głównym celem niniejszej rozprawy było zaadresowanie problemu nieefektywnej diagnostyki okołotransplantacyjnej poprzez wykazanie potencjału mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME, ang. solid-phase microextraction) w ocenie jakości nerek. Badania zakładały przetestowanie nowego podejścia analitycznego opartego na bezpośredniej analizie tkanki *in vivo* z wykorzystaniem biopsji chemicznej w połączeniu z profilowaniem lipidomicznym. W pierwszym etapie badań wykorzystano model zwierzęcy w celu oceny wpływu niedokrwienia na jakość narządu bazując na dwóch typach dawców oraz porównania różnych metod konserwacji narządu i określenia ich oddziaływania na profil lipidomiczny nerki. Następnie zastosowano SPME w warunkach klinicznych w celu predykcji ryzyka wystąpienia powikłań oraz wyodrębnienia panelu metabolitów i lipidów o potencjalnym znaczeniu diagnostycznym.

Dzięki zastosowaniu SPME, które nie wymaga fizycznego pobrania fragmentu tkanki oraz zapewnia małe rozmiary sondy ekstrakcyjnej (średnica ~200 μm), możliwe było

wielokrotne pobieranie próbek z tego samego narządu bez jego uszkodzenia. Pozwoliło to na monitorowanie zmian zachodzących w narządzie podczas całej procedury przeszczepienia - od pobrania narządu, przez jego przechowywanie, aż po reperfuzję oraz identyfikację licznych związków o zróżnicowanej polarności. Ponadto, porównanie różnych metod konserwacji narządu, wykazało, że temperatura przechowywania narządu ma większy wpływ na profil lipidomiczny nerki niż mechaniczny charakter metody konserwacji. Dodatkowo zastosowanie perfuzji normotermicznej powodowało mniejszą kumulację lipidów związanych z uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym, dysfunkcją mitochondrialną, działaniem prozapalnym i stresem oksydacyjnym, co wskazuje, że jej zastosowanie może korzystnie wpływać na funkcję narządu.

W kolejnym etapie zastosowano SPME w warunkach klinicznych przeprowadzając analizy metabolomiczne i lipidomiczne w wielu punktach czasowych, obejmujących zarówno tkankę nerkową od dawców, jak i osocze biorców, w celu wykrycia zmian związanych z opóźnioną funkcją przeszczepu. Zidentyfikowane związki o potencjalnej wartości predykcyjnej obejmowały głównie aminokwasy i ich pochodne, nukleotydy, kwasy organiczne, peptydy oraz lipidy, w szczególności fosfolipidy i trójglicerydy. Uzyskane wyniki wskazują na znaczący potencjał translacyjny biopsji chemicznej oraz analizy metabolitów osoczowych w ocenie ryzyka i nieinwazyjnym monitorowaniu wystąpienia powikłań. Zidentyfikowane metabolity stanowiąc będą podstawę do opracowania kompleksowej metody oceny i monitorowania opóźnionej funkcji przeszczepu oraz zarządzania pacjentami z wysokim ryzykiem. Zastosowanie biopsji chemicznej w warunkach klinicznych nie wydłuża czasu zimnego niedokrwienia ani nie zaburza przebiegu procedury przeszczepienia, co znacząco zwiększa jej potencjał translacyjny oraz może ułatwić wdrożenie do rutynowej diagnostyki.

Słowa kluczowe: mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME); transplantacja nerki; lipidomika; ocena jakości narządu; opóźniona funkcja przeszczepu (DGF)