



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Kamil Mateusz Łuczykowski

**Nowe możliwości diagnostyczne
w monitorowaniu funkcji wątroby od pobrania narządu do
przeszczepienia**

**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

Transplantacja wątroby stanowi obecnie jedną z najskuteczniejszych metod leczenia schyłkowej niewydolności tego narządu. Ogromny postęp w zakresie technik chirurgicznych, immunosupresji oraz opieki nad pacjentem przekłada się na stale rosnącą liczbę biorców kwalifikowanych do zabiegu. Niestety, liczba dostępnych narządów nie jest w stanie sprostać zwiększającemu się zapotrzebowaniu, co skutkuje wysoką śmiertelnością pacjentów oczekujących na transplantację. W odpowiedzi na istniejącą dysproporcję, centra transplantacyjne zwiększają pulę dostępnych narządów sięgając po narządy pochodzące od dawców o rozszerzonych kryteriach. Niestety, organy takie obarczone są większym ryzykiem powikłań pooperacyjnych, a brak jednoznacznych i wiarygodnych metod utrudnia ocenę ich jakości przed przeszczepieniem. W związku z tym, największym wyzwaniem współczesnej transplantologii jest opracowywanie i udoskonalenie metod konserwacji narządów oraz nowych rozwiązań analitycznych prowadzących do znalezienia parametrów lub związków, które pozwoliłyby na skuteczniejszą ocenę stanu przeszczepianych narządów.

Celem rozprawy była ocena wpływu różnych metod prezerwacji wątroby oraz stopnia niedokrwienia organu na zmiany profilu metabolomicznego żółci z wykorzystaniem wieprzowego modelu zwierzęcego, co pozwoliłoby na wytypowanie potencjalnych biomarkerów zmian zachodzących w konserwowanych narządach w okresie okołotransplantacyjnym. Do przygotowania próbek żółci wykorzystano technikę mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME, ang. solid-phase microextraction), a analizy metabolomiczne przeprowadzono za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS, ang. liquid chromatography- mass spectrometry).

Uzyskane wyniki wykazały, że zarówno stosowana metoda konserwacji, jak i czas niedokrwienia narządu wpływają na metabolom żółci. W przeciwieństwie do normotermicznej perfuzji maszynowej, próbki żółci produkowanej przez wątroby poddane uprzednio hipotermii prostej wykazywały wyższe poziomy poszczególnych kwasów żółciowych, m.in. chenodeksychołowego, tauroursodeksychołowego czy glikohyocholowego, a także licznych lipidów należących do grupy lizofosfatydylocholin i lizofosfatydyloetanolamin. Wymienione metabolity były już opisywane w literaturze w kontekście chorób wątroby i pierwotnego stwardniającego zapalenia dróg żółciowych. Ponadto, normotermiczna perfuzja maszynowa ograniczała negatywny wpływ niedokrwienia na funkcje narządu, co potwierdza

korzyści z jej zastosowania w przypadku organów pochodzących od dawców o rozszerzonych kryteriach. Biorąc pod uwagę fakt, że wpływ niedokrwienia objawia się zmianą w poziomach, m.in. kwasów żółciowych będących głównym składnikiem żółci, dalsze eksperymenty obejmowały opracowanie celowanych metod oznaczania metabolitów z tej grupy. Analizy przeprowadzone w pełni zwalidowaną metodą LC-MS wykazały, że niedokrwienie narządu spowodowało istotnie różnice w poziomach kwasu taurocholowego, glikocholowego oraz glikochenodeoksycholowego w próbkach pobranych już w czasie perfuzji. Ponadto, wyniki te korelowały z wynikami oznaczania izomerów kwasów żółciowych otrzymanymi nowo opracowaną metodą wykorzystującą bezpośrednie sprzężenie SPME ze spektrometrem masowym za pośrednictwem otwartego interfejsu mikroprzepływowego (MOI, ang. microfluidic open interface).

Podsumowując, w niniejszej rozprawie doktorskiej udało się zaproponować protokoły analizy próbek o wysokiej przepustowości oparte na SPME i z powodzeniem zastosować je do przygotowania próbek żółci. Badanie zidentyfikowało metabolity warte rozważenia jako potencjalne markery zmian zachodzących w konserwowanych przeszczepach w przyszłych analizach przeprowadzonych na ludzkich graftach wątroby. Zaproponowana metoda SPME-MOI-MS pozwala na uzyskiwanie wyników w czasie niemal rzeczywistym, oferując obiecujące narzędzie do oceny funkcji narządów i wczesnej predykcji ewentualnych powikłań po przeszczepie.

Słowa kluczowe: transplantacja wątroby, perfuzja maszynowa, żółć, mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME), metabolomika.