Bernadeta Drymel

Tytuł rozprawy doktorskiej: Analiza mikrobiomu jelitowego chorych na zaawansowanego czerniaka poddanych immunoterapii

Streszczenie

Rosnąca liczba doniesień literaturowych wskazuje związek pomiędzy mikrobiotą jelitową a odpowiedzią na immunoterapię z wykorzystaniem inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych u chorych na nowotwory. Istnieją jednak pewne rozbieżności pomiędzy wynikami badań prowadzonych na różnych populacjach, co podkreśla złożony charakter tej zależności oraz potrzebę dalszego zgłębiania tego tematu. Głównym celem naszej pracy była analiza związku pomiędzy składem mikrobioty jelitowej oraz stanem bariery jelitowej a skutecznością immunoterapii anty-PD-1 u chorych na zaawansowanego czerniaka. Realizacja zadań badawczych zaowocowała cyklem czterech publikacji stanowiących rozprawę doktorską.

W pierwszej pracy z cyklu przedstawiono wyniki analizy danych ankietowych oraz skład mikrobioty jelitowej badanej populacji chorych przed rozpoczęciem leczenia (n = 64) oraz osób zdrowych (C, n = 10). Wykazano różnice ($p \leq 0,05$) pod względem: głównego typu spożywanych tłuszczy, codziennej konsumpcji warzyw i owoców oraz mleka i przetworów mlecznych, a także częstotliwości oddawania stolca i posiadanej grupy krwi pomiędzy grupami o odmiennych efektach immunoterapii (odpowiadający – R vs. nieodpowiadający – NR oraz pacjenci, którzy uzyskali korzyść kliniczną – CB vs. ci, którzy jej nie uzyskali – NB). Ponadto skład mikrobioty jelitowej różnił się pomiędzy grupami (C, R i NR, p = 0,0089). W grupie R obserwowano wyższy względny udział bakterii z typu *Bacteroidota* oraz niższe bogactwo gatunkowe niż w grupie NR ($p \leq 0,05$). Mikrobiota jelitowa grupy R była wzbogacona w bakterie z gatunków *Prevotella copri* oraz *Bacteroides uniformis*, natomiast w grupie NR zauważono wyższy względny udział bakterii z gatunków *Faecalibacterium prausnitzii* i *Desulfovibrio intestinalis* oraz innych gatunków należących do typu *Bacillota* ($p \leq 0,05$).

Druga praca z cyklu stanowi przegląd literatury dotyczącej budowy, syntezy i jej regulacji, właściwości oraz funkcji wydzielniczych immunoglobulin A (SIgA) w jelitach. W pracy podkreślono znaczenie tych przeciwciał w obronie błony śluzowej jelit przed patogenami i toksynami oraz kształtowaniu składu mikrobioty jelitowej i utrzymaniu homeostatycznej relacji pomiędzy mikroorganizmami jelitowymi a gospodarzem.

W kolejnej pracy z cyklu scharakteryzowano stan bariery jelitowej oraz skład frakcji mikrobioty jelitowej związanej z immunoglobulinami (Ig-frakcja) w badanej populacji chorych (n = 64) przed (T_0) i w trakcie immunoterapii (po 3 – T_1 i 12 miesiącach – T_n). Stężenie SIgA w kale w punkcie T_0 było wyższe ($p \leq 0,05$) w grupach R i CB w porównaniu odpowiednio do grup NR i NB. Dodatkowo stężenie zonuliny w kale >303,4 ng/mL w punkcie T_0 było związane z dłuższym czasem przeżycia całkowitego (OS), stężenie SIgA w kale >819,5 µg/mL było związane z dłuższym czasem wolnym od progresji (PFS), a >5477,0 µg/mL z dłuższym OS, natomiast stężenie kalprotektyny w kale >211,9 µg/mL było związane z krótszym PFS i OS ($p \leq 0,05$). Badane biomarkery wzajemnie ze sobą korelowały ($p \leq 0,05$), a zależności te były różne w grupach o odmiennych efektach immunoterapii. W pracy wykazano również, że Ig-frakcja mikrobioty jelitowej była zdominowana przez bakterie z typu *Bacillota* we wszystkich grupach (R i NR oraz CB i NB) przed i w trakcie leczenia (T_0, T_1 i T_n). Jej skład różnił się od składu mikrobioty jelitowej ($p \leq 0,05$). Jednakże korelacja pomiędzy medianą wartości względnego udziału bakterii w mikrobiocie jelitowej i jej Ig-frakcji była pozytywna u wszystkich chorych, a także w grupach R i CB oraz NR i NB w punktach T_0 i T_1 ($p \leq 0,05$). Wartość tej korelacji wzrosła jednak w trakcie leczenia w grupach R i CB, a zmalała w grupach NR i NB. Zaobserwowano także liczne korelacje pomiędzy względnym udziałem poszczególnych bakterii w mikrobiocie jelitowej i jej Ig-frakcji w grupach R i NR w punkcie T_0. Zależności te różniły się między badanymi grupami, a część z nich była przeciwstawna ($p \leq 0,05$). Wykazano także różnice we względnym udziale bakterii w Ig-frakcji mikrobioty jelitowej na poziomie typu i rodzaju pomiędzy grupami R i NR oraz CB i NB, a także zmiany w składzie mikrobioty w trakcie leczenia ($p < 0,1$).

W ostatniej pracy z cyklu określono skład krążącego pozakomórkowego bakteryjnego DNA (cfmDNA) oraz stężenie rozpuszczalnego CD14 (sCD14) w osoczu krwi badanej populacji chorych (n = 66) przed i w trakcie leczenia. We wszystkich grupach (R i NR oraz CB i NB) i punktach czasowych (T_0, T_1 i T_n) najwyższy względny udział w krążącym cfmDNA miał DNA pochodzący z typu *Pseudomonadota*. Zauważono jednak różnice w jego składzie (na poziomie typu i rodzaju, $p < 0,1$) pomiędzy grupami o odmiennych efektach immunoterapii oraz jego zmiany w trakcie leczenia. Wykazano także związek pomiędzy względnym udziałem DNA pochodzącego z poszczególnych rodzajów bakterii w krążącym cfmDNA w punkcie T_0 a PFS i OS ($p < 0,1$). Dodatkowo w pracy zaobserwowano różnice w stężeniu sCD14 w osoczu krwi pomiędzy grupami o odmiennych efektach leczenia oraz jego spadek w punkcie T_n we wszystkich grupach ($p \leq 0,05$). Wykazano również, że wysokie stężenie tego biomarkera w punkcie T_0 oraz jego wzrost lub stabilizacja w punkcie T_1 były związane z krótszym PFS i OS ($p \leq 0,05$).

Badania dostarczyły kilku istotnych wniosków. Zademonstrowano, że odpowiedź na immunoterapię anty-PD-1 u chorych na zaawansowanego czerniaka jest związana ze składem ich mikrobioty jelitowej i jej Ig-frakcji, składem krążącego cfmDNA, a także nawykami żywieniowymi, częstotliwością oddawania stolca, grupą krwi oraz stężeniami SIgA w kale i sCD14 w osoczu krwi. Co więcej, PFS i OS chorych na zaawansowanego czerniaka poddanych immunoterapii anty-PD-1 są związane ze stężeniami zonuliny, kalprotektyny i SIgA w kale, względnym udziałem DNA poszczególnych rodzajów bakterii w krążącym cfmDNA oraz stężeniem sCD14 w osoczu krwi przed rozpoczęciem leczenia, a także ze wzrostem poziomu tego biomarkera w trakcie leczenia. Ponadto skład mikrobioty jelitowej, jej Ig-frakcji i krążącego cfmDNA oraz stężenie sCD14 w osoczu krwi zmieniają się w trakcie immunoterapii anty-PD-1 u chorych na zaawansowanego czerniaka.

Bernadeta Drymel