

“Polimorfizmy genu *receptora witaminy D (VDR)*, a ryzyko zespołu metabolicznego u dzieci i młodzieży leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej”

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest najczęstszą chorobą nowotworową wieku dziecięcego. W ciągu ostatnich 60 lat wyniki leczenia dzieci z ALL uległy znacznej poprawie.

Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia po 5 latach wynosi od 80-97%, zależnie od grupy ryzyka, natomiast w latach 60-tych wskaźnik przeżycia wynosił tylko około 10%.

Podstawową metodą leczenia ALL jest chemioterapia, w tym stosowanie hormonów sterydowych, które mają znaczący wpływ na powstawanie licznych zaburzeń metabolicznych określanych jako wczesne i późne następstwa leczenia onkologicznego. Dzieci w większym stopniu niż populacja dorosła są narażone na skutki uboczne działania glikokortykosteroidów. Należą do nich zaburzenia tolerancji glukozy, dyslipidemia, nadciśnienie tętnicze, nieprawidłowa masa ciała - nadwaga i otyłość.

Leczenie ALL z zastosowaniem wysokodawkowej terapii glikokortykosteroidami oraz L-asparginazy prowadzi do zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Wielu chorych, którzy przebyli leczenie onkologiczne boryka się również problem nadmiernej masy ciała. Młodzi pacjenci leczeni z powodu ALL narażeni są na długie pobyty w szpitalu i małą aktywność ruchową. Utrzymująca się po leczeniu ALL nadmierna masa ciała może być również efektem zastosowanej radioterapii i napromieniania OUN.

Aktualne kierunki badań leczenia ALL skupiają się m. in wokół poszukiwania nowych markerów prognostycznych, farmakogenomiki, terapii celowanej oraz immunoterapii. Zindywidualizowana terapia mogłaby zwiększyć efektywność leczenia przeciwbiałaczkowego, i prawdopodobnie zmniejszyć ryzyko wystąpienia wznowy choroby.

W nurt tych badań wpisuje się dysertacja doktorantki. Zakłada ona, iż jednym z czynników predykcyjnych do rozwoju zespołu metabolicznego u pacjentów leczonych z powodu ALL może być polimorfizm genu *receptora witaminy D (VDR)*. Autorka zauważa, że witamina D i polimorfizmy genu *receptora witaminy D (VDR)* [TaqI (rs731236), BsmI (rs1544410), FokI (rs2228510), ApaI (rs7075232)], ze względu na plejotropowe działanie, mogą uczestniczyć w rozwoju licznych powikłań metabolicznych w tym otyłości, cukrzycy, zaburzeń lipidowych i wydzielania insuliny.

Doktorantka nakreśliła zadania badawcze, które obejmowały:

- 1) ocenę wpływu polimorfizmów genu *receptora witaminy D (VDR)* [TaqI (rs731236), BsmI (rs1544410), FokI (rs2228570), ApaI (rs7975232)] na występowanie zaburzeń metabolicznych u pacjentów będących po zakończonym leczeniu ALL w odniesieniu do parametrów gospodarki węglowodanowej, lipidowej i pomiarów antropometrycznych

- 2) identyfikację różnic genetycznych genu *receptora witaminy D (VDR)*, która może w przyszłości przyczynić się do stosowania spersonalizowanej terapii onkologicznej

Przedstawiona mi do recenzji praca posiada klasyczny układ. Obejmuje 130 stron wydruku elektronicznego, podzielonych na rozdziały i podrozdziały, w tym 12 rycin i 39 tabel.

Pracę poprzedza dokładnie przedstawiony spis treści. Odszukanie poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów nie stanowi zatem większego problemu.

Zapoznanie się z pracą ułatwia również zamieszczony, w części końcowej pracy, wykaz tabel i rycin. Pracę poprzedza wykaz skrótów użytych w pracy. Syntetycznie przedstawione streszczenia, w języku polskim oraz angielskim, umożliwiają zapoznanie się z zasadniczymi elementami dysertacji. Piśmiennictwo obejmuje 122, w większości najnowszych, w zdecydowanej większości anglojęzycznych, w sposób odpowiedni cytowanych, pozycji.

We wstępie, obejmującym 22 strony, podzielonym na podrozdziały, autorka przedstawia dane dotyczące ogromnego postępu, jaki dokonał się w ostatnich dekadach w terapii ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. Wiele uwagi poświęca powikłaniom choroby i jej leczenia, w tym, szczególnie występowaniu zespołu metabolicznego i jego składowych. Autorka słusznie zwraca uwagę na możliwe dodatkowe czynniki ryzyka wystąpienia zespołu metabolicznego u chorych po przechorowaniu ALL, takie jak: obciążenie rodzinne nadwagą, otyłością, hiperlipidemią, cukrzycą i nadciśnieniem oraz niedobór witaminy D i występowanie niekorzystnych polimorfizmów genu *receptora witaminy D (VDR)*.

Rozdział ten, wsparty nowoczesnym, odpowiednio dobranym, piśmiennictwem stanowi bardzo dobre wprowadzenie w tematykę podjętych badań.

Doktorantka we wstępie czyni założenie, iż odpowiednio przeprowadzona wczesna identyfikacja osób z predysponującym do zaburzeń metabolicznych polimorfizmem genu *VDR*, ułatwi podjęcie działań profilaktycznych, co może mieć znaczący wpływ na zmniejszenie ryzyka powikłań terapii onkologicznych w przyszłości. Założone w pracy cele są sformułowane w sposób precyzyjny i przejrzysty.

Badanie miało charakter przekrojowy i objęło populację osób, które chorowały na ALL w latach 2003-2016. Doktorantka przebadła 92 pacjentów w wieku od 5 do 30 lat. Co bardzo istotne badania przeprowadzono również u osób z grupy kontrolnej, którą stanowiło 89 zdrowych osób w tym samym przedziale wiekowym, nie chorujących na ALL. Projekt badania uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

W rozdziale metody, autorka syntetycznie opisała sposób oceny aktualnego stanu zdrowia uczestników badania oraz przeprowadzenia pomiarów antropometrycznych. W tym rozdziale opisano również, sposób przeprowadzenia podstawowych pomiarów parametrów metabolicznych, w tym stężenia glukozy i insuliny na czczo, stężenia triglicerydów, cholesterolu całkowitego, frakcji HDL, LDL, apolipoproteiny A (ApoA1), apolipoproteiny B (ApoB1), witaminy D.

U wszystkich badanych Doktorantka oceniła występowanie polimorfizmów genu *receptora witaminy D (VDR)*: BsmI (rs1544410), FokI (rs2228570), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236).

Wartość pracy w sposób znaczący podnoszą także nowoczesne, odpowiednio dobrane, metody analiz statystycznych, w tym wykorzystanie analizy regresji logistycznej.

Populacja podzielona została na dwie podgrupy: grupę chorych leczonych protokołem ALL IC-BFM 2002 i grupę chorych leczonych protokołem ALL IC-BFM 2009. Zwraca uwagę stosunkowo duża liczebność podgrup pozwalająca na uzyskanie wyników o dobrej sile statystycznej.

W rozdziale wyniki, autorka szczególnie miejsce poświęciła udokumentowaniu istotnych statystycznie różnic w występowaniu zespołu metabolicznego w grupie badanej vs kontrolnej (15,15% vs 4,05%). Zdecydowanie częściej występuje on u mężczyzn. Doktorantka ujawniła również, że chorzy po zakończonym ALL w porównaniu do osób grupy kontrolnej wykazują wyższe parametry wskaźnika HOMA-IR (4,51 vs 3,30), stężenia insuliny na czczo (19,9 vs 14,9 [μ IU/ml]) i witaminy D u osób poniżej 18 lat (27,5 vs 25,3 [ng/ml]) oraz niższe stężenie ApoA1 (141,5 vs 152,3 [mg/dl]). Myślę, że warto zwrócić uwagę i szerzej skomentować fakt wysokiej wartości średniej wskaźnika HOMA-IR w grupie kontrolnej. Wartość 3,3 jest nieprawidłowa i wskazuje na narastającą insulinooporność w populacji, będącej następstwem nadmiernej masy ciała. Fakt ten może utrudniać interpretację niektórych wyników badań.

U pacjentów grupy badanej z rozpoznaniem ZM w porównaniu do pacjentów niewykazujących ZM odnotowano także istotnie niższe stężenie witaminy D ($p=0,023$).

Jako recenzent, chciałbym przedyskutować z Doktorantką wyniki dotyczące porównania oceny badań metabolicznych u chorych w podgrupach leczonych protokołem ALL IC-BFM 2002 i protokołem ALL IC-BFM 2009. Grupy te różnią się między sobą istotnie medianą wieku (tabela 8) 13,7 vs 9,2 lat w chwili przeprowadzania badań biochemicznych służących ocenie wskaźnika insulinooporności HOMA-IR oraz składowych zespołu metabolicznego. Dzieci leczone protokołem ALL IC-BFM 2002 są w okresie pokwitania, który fizjologicznie cechuje mniejszą insulinooporność. Niewątpliwie ma to wpływ na uzyskane przez doktorantkę wyniki, takie jak: istotnie wyższe stężenie glukozy (90,00 vs 88,00 [mg/dl]), insuliny na czczo (21,4 vs 17,4 [μ IU/ml]), wartość wskaźnika HOMA-IR (4,75 vs 3,81) i obwodu pasa u osób poniżej 18 roku życia (76,20 vs 66,00 [cm]). Wyniki te posłużyły do sformułowania wniosku nr 3, dotyczącego większego ryzyka wystąpienia zespołu metabolicznego w porównaniu do pacjentów leczonych protokołem ALL IC-BFM 2009. Jakkolwiek jest on słuszny, myślę, że ze względu na różnice wieku badanych przytoczone przez mnie powyżej mogłyby być wyrażony ostrożniej.

Wyniki badań dotyczące różnic w stężeniu Wit D3 w badanych podgrupach również mogłyby być częściowo zależne od suplementacji, która może być prowadzona z mniejszą regularnością u nastolatków, niż u dzieci młodszych.

Niezwykle cenną częścią pracy Autorki była analiza genetyczna. Wyniki wskazują, że zespół metaboliczny istotnie częściej występuje w grupie badanej osób z genotypem: TT polimorfizmu TaqI ($p=0,033$), GG polimorfizmu BsmI ($p=0,020$), GG polimorfizmu ApaI ($p=0,047$) w porównaniu z grupą kontrolną. Niższe stężenie HDL (nieprawidłowe) stwierdzono istotnie częściej w grupie badanej osób z genotypem GG w porównaniu do grupy kontrolnej z genotypem GG ($p=0,042$).

Uzyskane wyniki Autorka konfrontuje ze spostrzeżeniami innych badaczy. Porównanie to jednoznacznie wskazuje, iż Doktorantka nie tylko posiada znakomitą znajomość piśmiennictwa przedmiotu, ale potrafi także krytycznie odnieść się do wyników własnych badań.

W dyskusji Autorka konkluduje, że nie potwierdziła związku pomiędzy genotypami badanych polimorfizmów, a cechami składowymi zespołu metabolicznego zarówno w grupie pacjentów leczonych w powodu ALL jak i populacji kontrolnej z wyjątkiem polimorfizmu BsmI. Wniosek ten ma duże znaczenie praktyczne.

Najistotniejszy wniosek końcowy został jasno sformułowany i zawiera się on w stwierdzeniu, iż chorzy, którzy przebyli leczenie ALL mają podwyższone ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego. Grupą szczególnego ryzyka są mężczyźni. Autorka potwierdziła także konieczność regularnego monitorowania stężenia witaminy D oraz jej odpowiedniej suplementacji.

Kolejnym ważnym wnioskiem jest konieczność modyfikowania protokołów leczenia onkologicznego, tak by redukować niekorzystne następstwa i poprawić efektywność terapii aby zwiększyć komfort dalszego życia pacjentów.

Doktorantka wykazała się dużą wiedzą, w obszernym, nowocześnie ujętym i przejrzystym przedstawionym opracowaniu.

Praca zwraca uwagę starannością opracowania i bardzo dobrą szatą graficzną. Jest napisana poprawną polszczyzną. Całość pracy oceniam bardzo pozytywnie. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa odpowiada wszelkim wymogom ustawowym jako podstawa do ubiegania się o stopień naukowy doktora. Upoważnia mnie to do wystąpienia do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie mgr. Anny Wysoczańskiej- Kłaczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponieważ liczba badań wiążących polimorfizmy genu *VDR* z odległymi następstwami leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej jest niewielka, praca Doktorantki jest nowatorska.

Wnoszę jednocześnie o wyróżnienie rozprawy z chwilą spełnienia przez nią kryteriów uchwały podjętej przez Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

dr hab. n. med. Elżbieta Petriczko