

Karolina Galant

**Polimorfizm genu *IKZF*
oraz czynnik transkrypcyjny IKAROS
a ryzyko wystąpienia zaburzeń metabolicznych
u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotorzy:

dr hab. n. med. Ewa Barg prof. UMW

prof. dr hab. Bernarda Kazanowska

STRESZCZENIE

Wstęp

W populacji dziecięcej w Polsce co roku stwierdza się ok. 1100–1200 nowych przypadków rozpoznania choroby nowotworowej. Współczynnik zachorowalności wynosi obecnie ok. 140–145 nowych rozpoznania na 1 mln dzieci i młodzieży do 17 r.ż. Najczęściej występującymi w wieku dziecięcym w Polsce są nowotwory układu krwiotwórczego, przede wszystkim białaczki. 80% wszystkich białaczek stanowi ostra białaczka limfoblastyczna (ALL). Nowsze i bardziej skuteczne protokoły lecznicze ALL powodują, że wzrasta liczba pacjentów, którzy w przeszłości byli leczeni z powodu tego nowotworu, przyczyniają się również do pojawienia się u ozdowieńców nowych problemów, które wcześniej nie były obserwowane. Należy do nich m.in. zespół metaboliczny. Występowanie odległych następstw uwarunkowane jest różnymi czynnikami, w tym także predyspozycją genetyczną. Powoduje to konieczność poszukiwania czynników ryzyka wystąpienia tych zaburzeń, tak by działania profilaktyczne mogły zostać podjęte w optymalnym czasie.

Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu występowania polimorfizmu genu *IKZF* oraz czynnika transkrypcyjnego IKAROS na ryzyko wystąpienia późnych następstw w postaci zaburzeń metabolicznych u dzieci chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną.

Material i metody

Badania przeprowadzono u 95 pacjentów w wieku 5–30 lat (mediana 12,9 lat) którzy zakończyli leczenie ALL co najmniej rok przed przeprowadzeniem badań. Grupę kontrolną stanowiło 86 zdrowych osób w wieku 4,6–29,8 lat (mediana 15,1). W grupie badanej oraz w grupie kontrolnej oceniono występowanie polimorfizmu genu *IKZF* i czynnika transkrypcyjnego IKAROS, stężenie glukozy, insuliny na czczo, parametry gospodarki

lipidowej (cholesterolu, LDL, HDL, trójglicerydy), wyliczono wskaźniki insuliioporności i podatności na miażdżycę oraz dokonano pomiarów parametrów antropometrycznych (wysokości i masy ciała oraz BMI, obwód pasa). Wyniki uzyskanych badań poddano opracowaniu statystycznemu wykorzystując komputerowe pakiety programów statystycznych EPIINFO Ver. 7.2.3.1. oraz Statistica Ver. 13.3. Normalność rozkładu sprawdzano testem Shapiro-Wilka, a jednorodność wariancji testem Levene'a. Weryfikację hipotezy o równości średnich parametrów w grupach niezależnych o jednorodnej wariancji przeprowadzono metodą analizy wariancji ANOVA lub dla grup o niejednorodnej wariancji testem nieparametrycznym U Mann-Whitney'a. Badanie uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (Nr KB-98/2019).

Wyniki

Analiza polimorfizmu genu *IKZF-1* dotyczyła związku tego genu z występowaniem zespołu metabolicznego w badanej grupie pacjentów. W trakcie analizy genetycznej pacjentów grupy badanej nie stwierdzono występowania polimorfizmu genu *IKZF-1* i czynnika transkrypcyjnego IKAROS. Wykazano polimorfizmy genów *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*, *PAX7*, *PAX8*, *PAX5*. U pacjentki nr 583 z grupy badanej nie obserwowano żadnej z cech MetS. U pacjentów z grupy kontrolnej (próbki nr 574, 799, 966) nie obserwowano żadnej z cech MetS, a u 1 z pacjentów (próbka 698) stwierdzono obniżone stężenie (HDL-cholesterolu) z jednoczesną heterozygotyczną duplikacją *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*. *IL3RA (CD123)*. W grupie badanej zaburzenia metaboliczne, w tym cechy zespołu metabolicznego odnotowałam u 40 z 68 osób z grupy badanej oraz 18 z 43 osób grupy kontrolnej. Trzy do pięciu cech, będącymi kryterium rozpoznania zespołu metabolicznego obserwowalam u 5 z 68 osób grupy badanej oraz 2 z 43 osób z grupy kontrolnej. Stwierdziłam istotną różnicę pomiędzy wartościami ciśnienia rozkurczowego u mężczyzn w grupie badanej i grupie kontrolnej, wartości te były wyższe w grupie badanej. Analizując grupę badaną z uwzględnieniem protokołu wg którego byli leczeni pacjenci zaobserwowałam cechy zespołu metabolicznego u 23 z 48 pacjentów leczonych protokołem ALL-IC 2002 oraz u 5 z 28 osób z grupy leczonej protokołem ALL-IC 2009. Zespół metaboliczny rozpoznano u 4 z 48 osób pacjentów leczonych ALL IC-BFM 2002, natomiast u żadnego pacjenta leczonego protokołem ALL-IC 2009. Nieprawidłowe wartości LDL-cholesterolu i HDL-cholesterolu, trójglicerydów, glikemii i insulinemii na czczo występowały częściej u leczonych protokołem ALL IC 2002 w porównaniu do leczonych protokołem 2009. W protokole z 2002 pacjenci otrzymywali znacznie wyższe dawki glikokortykoidów. W związku z brakiem dostępnych wyników badań omawiających wpływ stwierdzonych innych polimorfizmów genetycznych na ryzyko wystąpienia zaburzeń metabolicznych u pacjentów po zakończonym

leczeniu ALL w okresie dzieciństwa i młodzieńczym wyniki mojej analizy mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań w większej grupie.

Wnioski

1. Wydaje się, że polimorfizm genu *IKZF1* i czynnik transkrypcyjny IKAROS nie mają wpływu na występowanie zaburzeń metabolicznych, składowych zespołu metabolicznego, w badanej grupie pacjentów. W analizowanej grupie nie stwierdziłam obecności polimorfizmu genu *IKZF-1* oraz czynnika transkrypcyjnego IKAROS u żadnego pacjenta, natomiast stwierdzono obecność polimorfizmów innych genów *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*, *PAX7*, *PAX8*, *PAX5*.
2. Pacjenci leczeni w dzieciństwie z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) charakteryzują się zwiększonym ryzykiem rozwoju zaburzeń metabolicznych, w tym zespołu metabolicznego po zakończeniu leczenia, dotyczy to szczególnie płci męskiej, u której dodatkowo częściej stwierdzano podwyższone ciśnienie tętnicze.
3. Modyfikacja nowszych wersji protokołów leczniczych przyczynia się do zmniejszenia liczby niepożądanych następstw terapii. Pacjenci leczeni zgodnie z protokołem ALL-IC 2002 charakteryzowali się zwiększonym występowaniem a zaburzeń gospodarki lipidowej oraz wyższymi wartościami glikemii na czczo w porównaniu z pacjentami leczonymi wg protokołu ALL-IC 2009.
4. Wskazane jest prowadzenie dalszych badań genetycznych, w większej grupie pacjentów, określających wpływ polimorfizmów genów *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*, *PAX7*, *PAX8*, *PAX5* na ryzyko wystąpienia zaburzeń metabolicznych u ozdrowieńców

ABSTRACT

In the children's population in Poland, each year approx. 1,100–1,200 new cases of cancer diagnoses. The incidence rate is currently approximately 140–145 new cases diagnosed per 1 million children and adolescents up to 17 years of age. Most often systemic cancers occurring in childhood in Poland hematopoietic diseases, especially leukemia. 80% of all leukemias are acute lymphoblastic leukemia (ALL). Newer and more effective ALL treatment protocols result in an increasing number of patients who have been treated for this cancer in the past, they also contribute to the emergence of new problems in recovered patients that have not been observed before. These include, among others: metabolic syndrome. Various factors, including predisposition genetic determine the occurrence of long-term consequences. This makes it necessary to look for risk factors occurrence of these disorders so that preventive measures can be taken at the optimal time.

The aim of the study

The study aimed to assess the impact of the occurrence of polymorphism the *IKZF1* gene and the IKAROS transcription factor at risk occurrence of late consequences in the form of metabolic disorders in children suffering from acute lymphoblastic leukemia.

Material and Methods

The research was conducted on 95 patients aged 5–30 years (median 12.9 years) who had completed ALL treatment at least 1 year before conducting research. The control group consisted of 86 healthy people aged 4.6–29.8 years (median 15.1). It was assessed in the study group and the control group occurrence of polymorphism of the *IKZF1* gene and transcription factor IKAROS, fasting glucose, and insulin levels, economic parameters lipid (cholesterol, LDL, HDL, triglycerides), indicators were calculated insulin resistance and susceptibility to atherosclerosis, and measurements were made anthropometric parameters (height, weight and BMI, waist). The results of the obtained research were analyzed statistics using computer program packages statistical EPIINFO Ver. 7.2.3.1. and Statistica Ver. 13.3.

The normality of distribution was checked using the Shapiro-Wilk test, a homogeneity of variances using Levene's test. Verification of the hypothesis of equality of mean parameters in independent and homogeneous groups variance was performed by ANOVA or for groups with heterogeneous variance using the non-parametric U-Mann test Whitney. The study received a positive opinion from the Bioethics Committee Wroclaw Medical University (No. KB-98/2019).

Results

The analysis of the *IKZF-1* gene polymorphism concerned the association of this gene with the occurrence of metabolic syndrome in the studied group of patients. During the genetic analysis of patients of the study group, no polymorphism of the *IKZF-1* gene and factor was found IKAROS transcription. *CRLF2* gene polymorphisms have been demonstrated, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*, *PAX 7*, *PAX8*, *PAX5*. In patient no. 583 from the group None of the features of MetS were observed in the subject. In patients, none were observed from the control group (samples no. 574, 799, 966). of the features of MetS, and in 1 patient (sample 698) it was found to be decreased concentration (HDL-cholesterol) with simultaneous heterozygous duplication of *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*. *IL3RA* (CD123). Metabolic disorders, including features, were observed in the study group I noticed metabolic syndrome in 40 out of 68 people from the study group and 18 of 43 control subjects. Three to five characteristics that are I observed the criterion for diagnosing metabolic syndrome in 5 out of 68 patients from the study group and 2 out of 43 people from the control group. I said significant difference between the values of diastolic pressure u men in the study group and the control group, which were higher in the study group. By analyzing the study group, taking into account I observed the following features of the protocol according to which the patients had metabolic syndrome in 23 of 48 patients treated with the protocol ALL-IC 2002 and in 5 of 28 people from the group treated with the ALL-IC protocol 2009. Metabolic syndrome was diagnosed in 4 out of 48 patients treated ALL IC-BFM 2002, while in no patient treated ALL-IC 2009 protocol. Abnormal LDL-cholesterol values and HDL-cholesterol, triglycerides, fasting blood glucose, and insulin occurred more frequently in those treated with the ALL IC 2002 protocol compared to those treated with the 2009 protocol. In the 2002 protocol patients received significantly higher doses of glucocorticoids. Due to the lack of available test results discussing the impact of other polymorphisms found genetic factors on the risk of metabolic disorders in patients after completing ALL treatment during childhood i youthful, the results of my analysis can be a starting point for further research in a larger group.

Conclusions

1. *IKZF1* gene polymorphism and transcription factor appear to be involved IKAROS does not affect the occurrence of disorders metabolic, components of the metabolic syndrome, in the study group of patients. I didn't find any in the analyzed group the presence of polymorphism of the *IKZF-1* gene and the factor IKAROS transcription in no patient, but polymorphisms of other CRLF2 genes were found, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*, *PAX 7*, *PAX8*, *PAX5*.
2. Patients treated for acute leukemia in childhood lymphoblastic disease (ALL) is characterized by an increased risk development of metabolic disorders, including metabolic syndrome after completion of treatment, this applies especially to men, u additionally, increased blood pressure was more frequently observed arterial.
3. Modification of newer versions of treatment protocols contributes to reduce the number of undesirable consequences of therapy. Patients treated according to the ALL-IC 2002 protocol were characterized by: increased occurrence of lipid metabolism disorders and higher fasting glycemia values compared to patients treated according to the ALL-IC 2009 protocol.
4. It is advisable to conduct further genetic tests, including a larger group of patients, determining the impact of polymorphisms *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*, *PAX 7*, *PAX8*, *PAX5* genes at risk occurrence of metabolic disorders in recovered patients