

**lek. Bartosz Chyżyński**

**Rola polimorfizmu genu receptora TLR4 w występowaniu  
zakażeń bakteryjnych u pacjentów z ostrą białaczką  
limfoblastyczną  
w trakcie intensywnej chemioterapii**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor Prof. dr hab. n.med. Michał Matysiak

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii

Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020

*B. Chyżyński*

*Michał Matysiak*

### **3. STRESZCZENIE**

**Wstęp** Ostre białaczki są najczęstszymi chorobami nowotworowymi wieku dziecięcego. Obserwowany w ostatnich latach wzrost przeżycia w tej grupie chorób wynika nie tylko z rozwoju chemioterapii, ale przede wszystkim z poprawy leczenia wspomagającego. Jednym z najważniejszych elementów terapii wspomagającej jest zapobieganie powikłaniom infekcyjnym. Chemioterapia pociąga za sobą wysokie ryzyko powikłań infekcyjnych, które stanowią główną przyczynę wysokiego odsetka wczesnych zgonów w trakcie intensywnego leczenia nowotworu. Najczęstszą postacią zakażenia u pacjentów oddziałów hematologicznych są zakażenia krwiopochodne. W ostatnim czasie zwrócono uwagę na możliwość genetycznych predyspozycji do rozwoju powikłań infekcyjnych, a zwłaszcza na mutację genów kodujących receptory Toll-podobne. Receptory Toll-podobne należą do rodziny receptorów, które są częścią wrodzonego układu odpornościowego. Najlepiej scharakteryzowanym członkiem rodziny TLR jest receptor dla bakteryjnego lipopolisacharydu, TLR4.

**Cel pracy** Próba odpowiedzi na pytanie czy obecność mutacji genu receptora TLR4 w postaci SNP Asp299Gly i SNP Thr399Ile jest czynnikiem przyczyniającym się do infekcji bakteryjnych u dzieci z ALL podczas intensywnej chemioterapii?

**Materiał i metody** Do badania włączono ogółem 111 pacjentów, w tym 44 dziewczęta oraz 67 chłopców. Dzieci te leczone były z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej w Katedrze i Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2016-2019, zgodnie z obowiązującym protokołem ALL IC BFM 2009. Średni wiek pacjentów wynosił 5,3 lat, a średni czas obserwacji 249 dni. Po uzyskaniu świadomej zgody od każdego pacjenta i jego opiekuna prawnego, pobierano od dziecka 4 ml krwi żyłnej. Następnie wyizolowywano DNA z krwi za pomocą zestawu Quick Blood Purification Kit. Genotyp TLR4, określano za pomocą Real Time PCR. Wyniki genotypowania potwierdzano za pomocą metody sekwencjonowania Sangera. Każdego pacjenta monitorowano pod kątem zakażenia krwiopochodnego przez cały okres intensywnego leczenia. Zakażenie zostało potwierdzone dodatnim posiewem krwi obwodowej i krwi z cewnika centralnego.

Realizując cel pracy porównywano częstość występowania zakażeń u dzieci bez mutacji genu receptora TLR4 oraz z mutacją w zakresie SNP Asp299Gly i SNP Thr399Ile.

Częstotliwość i liczbę zakażeń bakteryjnych w badanych grupach analizowano za pomocą testu U-Manna-Whitneya i testu  $\chi^2$ . Poziom istotności statycznej ustalono na  $p < 0,05$ .

**Wyniki** Spośród wszystkich 111 badanych zidentyfikowano 95 pacjentów z genem TLR4 typu dzikiego (wilde type, WT) i 16 z mutacją (mutant type, MT) w polimorfizmie SNP Asp299Gly. W SNP Thr399Ile 84 pacjentów miało typ WT, a 17 pacjentów typ MT.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w występowaniu zakażeń bakteryjnych między grupami Asp299Gly WT i MT oraz SNP Thr399Ile WT i MT.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami SNP Asp299Gly WT i MT oraz SNP Thr399Ile WT i MT przy podziale na płeć oraz grupę ryzyka wznowy białaczki limfoblastycznej

### **Wnioski**

1. Wystąpienie mutacji genu receptora TLR4 zarówno SNP Asp299Gly jak i SNP Thr399Ile nie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zakażeń bakteryjnych u dzieci z leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.
2. Płeć dziecka ani przynależność do grupy ryzyka wznowy ostrej białaczki limfoblastycznej nie mają wpływu na częstość zakażeń bakteriami Gram ujemnymi lub bakteriami Gram dodatnimi w trakcie intensywnej chemioterapii, u dzieci z mutacjami SNP Asp299Gly jak i SNP Thr399Ile genu receptora TLR4.