Streszczenie

Wstęp: Najczęściej diagnozowanym nowotworem i typem białaczki wśród dzieci jest ostra białaczka limfoblastyczna (ALL), odpowiadająca za niemal jedną trzecią wszystkich przypadków nowotworów wśród dzieci. Szczyt zachorowań w tej grupie pacjentów obserwuje się między 1 i 4 rokiem życia, przy czym nieznacznie częściej diagnozuje się ALL wśród chłopców. Osiągniecie współczynników przeżywalności sięgających 90% to efekt wieloośrodkowych badań i wypracowania schematów terapeutycznych opartych o ocenę czynników rokowniczych, szczególnie kluczowych dla zwiększenia efektywności leczenia problematycznej postaci opornej i nawrotowej ALL jak i minimalizacji odległych skutków ubocznych chemioterapii. Istotne dla osiągnięcia odpowiednich efektów leczenia jest jak najszybsze rozpoznanie ALL i wdrożenie odpowiedniej formy chemioterapii dostosowanej do profilu molekularnego zmienionych nowotworowo komórek prekursorów limfoidalnych. Zarówno ocena cytologiczna szpiku kostnego, badanie immunofenotypu i zmian genetycznych wymagają dużego nakładu czasu, środków i doświadczenia osób wykonujących badanie, a sama biopsja jako zabieg inwazyjny, przeprowadzany w stanie głębokiej sedacji lub znieczulenia ogólnego niesie za sobą ryzyko powikłań. Techniki spektroskopii wibracyjnej – spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (FT-IR) i spektroskopia Ramana (RS) pozwalają na pozyskanie informacji o strukturze i kompozycji biochemicznej analizowanego materiału, którym mogą być zarówno komórki, tkanki jak i płyny biologiczne, badając oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z budującymi je cząstkami i atomami. Ich szybki i nieinwazyjny charakter sprawia, iż zyskują coraz większą uwagę jako nowe potencjalne narzędzia w medycynie, które śledząc zmiany zachodzących między innymi w przebiegu chorób metabolicznych, neurodegeneracyjnych, jak również chorób nowotworowych, będą mogły zostać wykorzystane do ich rozpoznawania jak i monitorowania skuteczności terapii.

Cel pracy: Wykorzystano spektroskopię w podczerwieni z transformatą Fouriera oraz spektroskopię Ramana dla analizy spektralnej surowicy krwi obwodowej i lizatu komórkowego szpiku kostnego w celu śledzenia zmian molekularnych w przebiegu ALL u dzieci, które potencjalnie mogą zostać wykorzystane w diagnostyce medycznej jako markery diagnostyce i prognostyczne. Zbadano występowanie różnic w widmach FT-IR i widmach Ramana surowicy i lizatu komórkowego szpiku kostnego pomiędzy pacjentami pediatrycznymi z ALL, pacjentami zdrowymi bądź z zaburzeniami hematologicznymi innymi

niż choroba nowotworowa. Uzyskane dane spektralne analizowano zestawiono także z danymi klinicznymi którymi dysponowano dla pacjentów z ALL powiązanymi z przynależnością do danej grupy ryzyka, profilem molekularnym i wynikiem minimalnej choroby resztkowej, a także wystąpieniem wznowy bądź zgonu pacjenta.

Wyniki: Pod względem wykazywania i położenia pasm oraz pików nie zaobserwowano istotnych różnic dla widm FT-IR i widm RS surowicy oraz lizatu komórkowego szpiku kostnego dla pacjentów z ALL i pacjentów z pozostałych grup, podobnie jak gdy porównano widma pacjentów z grupy wysokiego ryzyka oraz pacjentów z grup ryzyka standardowego i pośredniego. Wykazano natomiast istotne statystycznie różnice w wartości absorpcji dla pików oryginalnych widm FT-IR, procentowego udziału poszczególnych struktur drugorzędowych dokonując integracji w zakresie amidu I drugiej pochodnej widma FT-IR oraz wartości intensywności pików widm RS, ale czułość i specyficzność odróżnienia pacjentów z ALL od pozostałych grup jak również pacjentów z grupy HR i non-HR w większości nie była zadawalająca, co potwierdziły analizy PCA i HCA.

Wnioski: Spektroskopia FTIR i Ramana wykazały ograniczoną przydatność w identyfikacji specyficznych zmian molekularnych w przebiegu ALL u dzieci, jednak ujawniły istotne różnice między grupą kontrolną a pacjentami z zaburzeniami hematologicznymi, włącznie z ALL Zaobserwowano m.in. różnice w udziale struktur α-helisy i beta-kartki białek, które mogą posłużyć jako potencjalne markery diagnostyczne, zwłaszcza w różnicowaniu ALL jako przyczyny anemii i pancytopenii krwi obwodowej u dzieci oraz do wstępnej stratyfikacji do grupy ryzyka. Spektroskopia Ramana umożliwiła także odróżnienie pancytopenii w przebiegu ALL od innych przyczyn na podstawie badania surowicy krwi, co sugeruje potencjalną możliwość opracowania nieinwazyjnych testów przesiewowych. Wyniki wymagają walidacji na większych grupach pacjentów z uwagi na ograniczoną liczebność próby.