Streszczenie pracy doktorskiej lek. Barbary Hull

Temat pracy doktorskiej: *„Assessment of adrenal function and morphology after oncological treatment"*
***(„Ocena funkcji i morfologii nadnerczy po leczeniu onkologicznym")* – cykl publikacji**
Promotor: dr hab. Anna Wędrychowicz, prof. UJ

Wstęp:

Praca 1:

Dzięki opracowaniu skutecznych terapii onkologicznych przeżywalność pacjentów onkologii dziecięcej jest większa niż kiedykolwiek wcześniej. Całkowity 5-letni wskaźnik przeżycia wszystkich nowotworów u dzieci w wieku 0-14 lat wzrósł z 62% dla dzieci zdiagnozowanych w latach 1975-1979 do 83% dla dzieci zdiagnozowanych w latach 2002 - 2006. Chemioterapia i radioterapia, szeroko stosowane jako leczenie pierwszego i drugiego rzutu różnych chorób onkologicznych, zabijają niekontrolowane rosnące komórki, ale mają również negatywny wpływ na zdrowe komórki, co może prowadzić do wielu skutków ubocznych, w tym zaburzeń endokrynologicznych. Chemioterapia, a także radioterapia okolicy głowy, szyi i brzucha może czasowo lub trwale zaburzać prawidłowe funkcjonowanie HPAA. Chociaż niezbyt często, niewydolność nadnerczy może być zagrażającym życiu powikłaniem leczenia nowotworów.

Biorąc pod uwagę powyżej wymienione ryzyko niewydolności nadnerczy, uznaliśmy za zasadne przedstawienie w pracy aktualnej wiedzy na temat wpływu często stosowanych form terapeutycznych, wybranych środków farmakoterapeutycznych, a także radioterapii na funkcjonowanie HPAA.

Nierozpoznanie AI jest stanem zagrożenia życia, a obniżona rezerwa nadnerczowa lub nieprawidłowo funkcjonujące nadnercza są bezpośrednią przyczyną AI i obniżenia jakości życia, dlatego w pracy ujęte zostały wytyczne diagnostyczne dotyczące oceny funkcji osi nadnerczowej w rożnych sytuacjach klinicznych oraz przedstawione zostały dostępne protokoły postępowania w przypadku jej zaburzeń.

Praca 2

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) w wieku dziecięcym od 0 do 14 lat występuje z częstością od 3,7 do 4,9 na 100 000 [7]. W Polsce co roku rozpoznaje się od 250 do 350 ALL u młodych pacjentów [8]. Na szczęście 5-letni wskaźnik przeżycia ALL znacznie wzrósł w związku z postępami w leczeniu obejmującym chemioterapię wieloskładnikową, radioterapię i HSCT. Wskaźnik 5-letnich przeżyć wzrósł z 10% w latach 60. do 77% w latach 1985-1994 [9], do 93,5% obecnie [10].

Leczeniem pierwszego i drugiego rzutu dla ALL jest chemioterapia, u wybranych pacjentów dodatkowo radioterapia ośrodkowego układu nerwowego (CNS). Zniszczenie komórek rakowych przez chemioterapię i radioterapię prowadzi konsekwentnie do uszkodzenia

zdrowych komórek, powodując dysfunkcję endokrynną. Kortykosteroidy są kluczowym elementem leczenia ALL i są stosowane w pierwszym etapie w celu wywołania remisji. Glikokortykosteroid jest środkiem cytotoksycznym, który hamuje wzrost i indukuje apoptozę limfocytów, przez co podobnie jak chemioterapia i radioterapia może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie układu hormonalnego. Brakuje badań dotyczących skutków leczenia przeciwnowotworowego na oś nadnerczy, które mogłyby powodować zagrożenie życia. Niewydolność nadnerczy (AI) to przewlekły i subkliniczny stan, który może zamanifestować się nagle bez objawów poprzedzających dopiero w sytuacjach stresowych i prowadzić do stanu realnego zagrożenia życia pod postacią przełomu nadnerczy.

Protokoły leczenia onkologicznego, które obejmują kortykosteroidy, chemioterapię, radioterapię, mogą wpływać na czynność i morfologię nadnerczy. W świetle tych informacji, kluczowym jest zapobieganie następstwom dysfunkcji nadnerczy u pacjentów po leczeniu onkologicznym oraz dobranie odpowiednich parametrów biochemicznych i hormonalnych w celu oceny rezerwy nadnerczowej i stanu metabolicznego, a także oceny obrazowej nadnerczy i przeciwciał przeciwko korze nadnerczy (AAA) u tych pacjentów.

Praca 3

Na świecie, każdego roku u około 400 000 dzieci i młodzieży w wieku 0-19 lat diagnozuje się raka [11]. Wcześnie zdiagnozowane nowotwory złośliwe mogą być skutecznie leczone. Osoby, które przeżyły leczenie onkologiczne w dzieciństwie, mają przed sobą całe życie i ważne jest, aby zapewnić im bezpieczne i dobrej jakości życie. Spośród nowotworów, ALL występuje najczęściej w populacji pediatrycznej. Neuroblastoma (NBL) jest jednym z najczęstszych nowotworów litych wieku dziecięcego i występuje u 1:7000 dzieci [12]. U niemowląt jest to najczęstszy nowotwór. W naszym kraju około 60–70 dzieci ma podstawioną nową diagnozę NBL corocznie [13]. W przypadku dzieci z rozpoznaniem NBL 5-letnie przeżycie wynosi około 64% [14]. Guzy mózgu u dzieci są drugą po białaczce przyczyną nowotworów złośliwych wieku dziecięcego i są najczęstszym typem litego raka dziecięcego. Częstość występowania guzów mózgu u dzieci waha się od 1,15 do 5,14 przypadków na 100 000 dzieci, w zależności od kraju. Częstość występowania wrodzonych guzów mózgu waha się od około 0,3 do 2,9 przypadków na 100 000 żywych urodzeń w różnych częściach świata. [15] Przeżycie pięcioletnie z powodu guzów mózgu u dzieci jest wyższe niż u dorosłych, jednak globalnie różni się w zależności od kraju (od 45% w Tajlandii do 80% w Szwecji i Danii). [16]

Czynnikami ryzyka wystąpienia choroby nadnerczy jest chemioterapia oraz najczęściej stosowane leki oddziałujące na HPAA – glikokortykosteroidy (GCS), a także radioterapia okolicy głowy, szyi i brzucha. Może czasowo lub trwale zakłócać prawidłowe funkcjonowanie nadnerczy. Badania wykazują, że terapia GCS przez ponad 7 dni w dawce równoważnej hydrokotyzonu powyżej 10 mg/m2 dziennie powoduje zahamowanie czynności osi nadnerczy

[17]. Wtórna niewydolność nadnerczy może rozwinąć się po nagłym odstawieniu GCS i po radioterapii okolicy głowy, zwłaszcza w dawce powyżej 30 Gy. Zaburzenia osi nadnerczy wynikające z leczenia raka nie zostały dokładnie zbadane, chociaż mogą odgrywać kluczową rolę m.in. w regulacji metabolizmu, układu odpornościowego, ciśnienia krwi, reakcji na stres.

Wobec powyższego konieczna jest ocena funkcji nadnerczy u osób z przebytą chorobą nowotworową. W tej pracy skupiliśmy się na badaniach przesiewowych i wczesnym wykrywaniu AI przed wystąpieniem objawów tej choroby, co minimalizuje ryzyko wystąpienia przełomu nadnerczowego i poprawia jakość życia tych pacjentów.

Praca 4

Zespół Cushinga (CS) spowodowany nadmierną produkcją hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) przez guza przysadki jest określany jako choroba Cushinga (CD) i jest rzadkim zaburzeniem u dzieci w wieku przedpokwitaniowym. Co więcej, CD występująca cyklicznie jest znacznie rzadsza, z nieznaną częstością występowania w dzieciństwie. Według najnowszych danych, po 5 roku życia CS zależne od ACTH występuje częściej niż CS niezależne od ACTH. W większości przypadków ACTH jest wytwarzany przez mikrogruczolaka przysadki (18). Nadprodukcja ACTH zachodzi w sposób półautonomiczny i zachowuje pewne właściwości autoregulacyjne osi podwzgórze-przysadka-nadnercza w cyklu ujemnego sprzężenia zwrotnego (19). U dzieci nadprodukcja ACTH powoduje hiperkortyzolemię prowadzącą do otyłości (BMI $\geq$ 1,5 SD) z jednoczesnym zahamowaniem wzrostu (prędkość wzrostu $\leq$ 0 SD), zmianami behawioralnymi i hiperandrogenizacją (hirsutyzm, przedwczesne dojrzewanie płciowe bez regresji z powodu zahamowania osi gonad przez androgeny nadnercza). Nie ma objawów nadmiaru aldosteronu (20). Cykliczny CS charakteryzuje się powtarzającymi się epizodami nadmiaru kortyzolu (nawrotami) przeplatanymi okresami normalnego wydzielania kortyzolu (remisje). Tak zwane cykle hiperkortyzolemii mogą występować regularnie lub nieregularnie z fazami międzycyklicznymi trwającymi od dni do lat. Opisywano cykle o długości od 12 godzin do 85 dni (21). Cykliczne CS wywodzi się w 54% z gruczolaka kortykotropowego przysadki, w 26% z guza ektopowo wytwarzającego ACTH i w około 11% z guza nadnerczy, reszta pozostaje niesklasyfikowana (22). Aby formalnie zdiagnozować cykliczne CS, należy wykazać trzy szczyty i dwie redukcje produkcji kortyzolu (kliniczne i/lub biochemiczne), oddzielone w czasie fazami międzycyklicznymi. Większość pacjentów z cyklicznym CS ma kliniczne objawy CS, które mogą być zmienne lub trwałe. U niewielkiej liczby pacjentów objawy kliniczne CS są nieobecne. Zmienny obraz kliniczny i rozbieżne wyniki badań biochemicznych sprawiają, że cykliczny CS jest niezwykle trudny do zdiagnozowania. Dlatego ścisła obserwacja i powtarzane pomiary kortyzolu w moczu są niezawodnym i wygodnym narzędziem przesiewowym w przypadku podejrzenia cyklicznego CS (23).

Wobec powyższego, zasadne jest przedstawienie trudności diagnostycznych guza przedniego płata przysadki i oceny osi nadnerczowej na podstawie przypadku 7,8-letniej dziewczynki, której objawy CS pojawiły się w okresie przedpokwitaniowym i były cykliczne.

Cele pracy:

Wspólnym celem cyklu prac była ocena wpływu leczenia onkologicznego na morfologię i czynność nadnerczy u dzieci i młodzieży. Drugim celem było wczesne wykrycie niewydolności nadnerczy, wprowadzenie monitorowania i leczenia, które pozwolą zapobiec zagrażającemu życiu przełomowi nadnerczy oraz poprawy jakości życia dzieci onkologicznych.

Praca 1:

Celem szczegółowym ***pracy 1*** była, oparta na przeglądzie literatury, analiza chemio- i radio-terapeutyków stosowanych w onkologii dziecięcej i ich wpływu na czynność nadnerczy i rozwój AI. Ponadto zamierzeniem autorów było usystematyzowanie wytycznych diagnostycznych dotyczących oceny funkcji osi nadnerczowej w rożnych sytuacjach klinicznych oraz przedstawienie dostępnych protokołów postępowania w przypadku jej zaburzeń.

Praca 2:

Celem szczegółowym **pracy 2** była zidentyfikowanie pacjentów z ALL z zaburzeniami osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej oraz wyodrębnienie użytecznych klinicznie metod wczesnej oceny nadnerczy u tych pacjentów.

Praca 3

Celem szczegółowym ***pracy 3*** była ocena funkcji i morfologii nadnerczy u pacjentów chorych na nowotwory. Podjęto próbę wczesnego wykrywania AI i wprowadzenia leczenia, zanim pojawią się objawy. Dzięki temu możliwe było zminimalizowanie ryzyka przełomu nadnerczowego oraz poprawa jakości życia ozdrowieńców.

Praca 4:

Na podstawie prezentacji przypadku pacjentki w okresie przedpokwitaniowym z guzem płata przedniego przysadki cyklicznie wydzielającego ACTH celem pracy była przedstawienie trudności diagnostycznych i terapeutycznych, a także komplikacji, w tym przemijającej AI po leczeniu cyklicznej choroby Cushinga. Praca stanowi dopełnienie cyklu prac poświęconych niewydolności nadnerczy po leczeniu onkologicznym.

Materiał i metody:

Praca 1:

Przegląd piśmiennictwa oparty jest na publikacjach umieszczonych w bazie PubMed. Podstawowym kryterium wyszukiwania prac do analizy, była zawarta w nich ocena wpływu terapii z zastosowaniem leków oraz radioterapii wpływających na nadnercza (w tym

glikokortykosteroidy, mitotan, metyrapon, ketokonazol i in.), stosowanych w chorobach nowotworowych, na czynność nadnerczy i rozwój AI.

W pracy opisano również możliwości diagnostyczne osi nadnerczowej u pacjentów leczonych już steroidami oraz w ostrych stanach.

Zawarte prace opublikowano w latach 1983 – 2021. Wyniki przeglądu piśmiennictwa zostały przedstawione opisowo.

Praca 2:

Do badania włączono 43 pacjentów zrekrutowanych przez Klinikę Onkologii i Hematologii Dziecięcej w Krakowie w wieku 1,17-14,83 lat leczonych z powodu ALL i będących w całkowitej remisji (średnia 8,51±3,55 roku). Były to wszystkie kolejne osoby, ozdrowieńcy po leczeniu ALL, zgłaszający się Poradni Kliniki w latach 2019-2020. Spośród pacjentów diagnozowanych w Klinice Endokrynologii Dzieci i Młodzieży z powodu niedoboru wzrostu wybrano grupę kontrolną 45 zdrowych pacjentów dobranych pod względem wieku i płci (w wieku 3,6-14 lat, średnia wieku 8,78±3,12 lat). Badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej (nr 1072.6120.74.2019 z dnia 29.04.2019). Świadomą zgodę podpisali wszyscy rodzice uczestników naszego badania oraz pacjenci, którzy ukończyli 16 lat.

Wszyscy pacjenci zostali skierowani na ocenę czynności nadnerczy w Klinice Endokrynologii Dziecięcej i Młodzieżowej. Pacjenci w grupie badanej ukończyli leczenie ALL w średnim wieku 7,35±2,85 lat (zakres 1,62 – 13,8 lat). Średni czas od zakończenia leczenia onkologicznego wyniósł 2,4±1,9 lat (zakres 0,25-7,17 lat). W grupie badanej 9 pacjentów (21%) zostało zdiagnozowanych jako ALL wysokiego ryzyka (ang. *high risk*, HR), 27 pacjentów (61%) jako ALL średniego ryzyka (ang. *intermediate risk*, IR), a 7 pacjentów (16%) jako ALL o standardowym ryzyku (ang. *standard risk*, SR), zgodnie z protokołem stratyfikacji ALL. U 40 pacjentów rozpoznano ALL wywodzącą się z prekursorów limfocytów linii B, u 3 pacjentów ALL wywodzącą się z prekursorów limfocytów linii T. Wszyscy pacjenci z grupy badawczej byli poddawani chemioterapii według protokołów BFM: ALL IC BFM-2002 (6 pacjentów), ALLIC BFM 2009 (37 pacjentów). Dodatkowo 9 chorych zostało poddanych profilaktycznej radioterapii CNS w dawce 12 Gy w 8 frakcjach. Jeden pacjent z grupy HR został zakwalifikowany do allogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych.

Wszystkim uczestnikom badania pobrano próbki krwi na czczo, po poście nocnym, po pionizacji między 7.00 a 8.00 w celu zbadania stężeń: kortyzolu, aldosteronu, aktywności reninowej osocza (PRA), siarczanu dehydroepiandrostendionu (DHEA-S), hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), przeciwciał przeciwnadnerczowych (AAA), glukozy, sodu i potasu. Dodatkowo w celu oceny rezerwy nadnerczowej w grupie badanej wykonano test z syntetycznym ACTH w małej dawce (1 µg lub 0,5 µg/m2 BSA). Po pobraniu krwi do oznaczenia podstawowego, porannego stężenia kortyzolu, podawano dożylnie syntetyczny

ACTH. Następnie 20, 30 i 60 minut po wstrzyknięciu ACTH pobierano kolejne próbki krwi do oceny stężeń kortyzolu. Do badania stężeń glukozy, sodu i potasu we krwi na czczo zastosowano standardowe metody biochemiczne. Metody radioimmunologiczne stosowano do oznaczeń stężeń hormonów ACTH, kortyzolu, DHEA-S, PRA i aldosteronu. Stężenie AAA analizowano za pomocą testu immunoenzymatycznego (ELISA). Morfologię nadnerczy zbadano za pomocą ultrasonografii lub rezonansu magnetycznego (MRI).

W celu analizy wpływu czasu trwania remisji na uzyskane wyniki pacjentów podzielono na następujące grupy: 1) czas remisji do 2 lat (22 pacjentów (51,2%)), 2) 16 pacjentów (37,2%) w okresie 2-5 lat w remisji i 3) 5 pacjentów (11,6%) powyżej ≥5 lat od uzyskania remisji.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu Stat Soft Statistica 12 z użyciem testu T-Student i ANOVA z testem post-hoc Turkey oraz regresją liniową i wielowymiarową, dla istotności statystycznej zastosowano $p < 0,005$.

Praca 3:

Do badania zakwalifikowano 60 pacjentów z rozpoznanymi nowotworami złośliwymi, w wieku 1,2-14,9 roku (średnia wieku 8,3±3,5 roku), leczonych w Klinice Onkologii i Hematologii Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w latach 2019-2020. Grupa kontrolna liczyła 45 osób zdrowych dzieci (3,6-14 lat ze średnią wieku 8,7±3,12 lat). Pięćdziesięciu ośmiu pacjentów skierowano do Kliniki Endokrynologii Dziecięcej i Młodzieży w celu oceny czynności nadnerczy w stanie całkowitej remisji choroby nowotworowej. Dwóch pacjentów objętych protokołem terapeutycznym wykazało niedoczynność nadnerczy i zostało włączonych do badania. Średni wiek pacjentów, którzy ukończyli leczenie onkologiczne wynosił 6,76±3,34 SD lat (1,23-15,07 lat). W grupie tej u 44 pacjentów rozpoznano ALL (73,34%), 2 pacjentów z AML (3,33%), 2 pacjentów z chłoniakiem z komórek B (3,33%), 1 pacjent z chłoniakiem Hodgkina (1,67%), 4 pacjentów z neuroblastoma (6,67%), 4 pacjentów z nephroblastoma (6,67%), 1 z retinoblastoma (1,67%), 1 z rhabdomyosarcoma (1,66%) i 1 z guzem zarodkowym (1,66%). Charakterystykę kliniczną pacjentów włączonych do badania oraz szczegóły ich terapii przedstawiono w tabeli 1 [tab. 1]. Pacjenci byli oceniani raz po leczeniu onkologicznym. Czas od zakończenia leczenia onkologicznego do oceny był następujący: u 25 pacjentów (41,7%) do 1,5 roku, u 12 pacjentów (20%) 1,5-3 lata, a u 23 pacjentów (38,3%) powyżej 3 lat. Badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej (nr 1072.6120.74.2019 z dnia 29.04.2019). Świadomą zgodę podpisali wszyscy rodzice uczestników naszego badania oraz pacjenci, którzy ukończyli 16 lat.

Praca 4:

Praca oparta na badaniach diagnostycznych dziewczynki w wieku przedpokwitaniowym 7.8 lat. Wykonano pomiar masy ciała, BMI, dobową zbiórkę moczu na kortyzol (UFC), kortyzol, ACTH, 17-OHP, test z dexamethasonem, test z CRH, MRI przysadki. W pracy przytoczono również literaturę opisującą cykliczną postać zespołu Cushinga.

Podsumowanie wyników:

Praca 1:

The function of adrenal glands in children and adolescents during and after oncological treatment

Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism – praca przyjęta do publikacji (PEDM-00180-2022-01)

Istnieje coraz większa lista leków stosowanych w terapii onkologicznej, które mają udowodniony negatywny wpływ na funkcję HPAA. Ten efekt może być przejściowy lub trwały. Również radioterapia stosowana w terapii nowotworów w populacji dziecięcej może znacząco wpływać na HPAA. Najczęstszymi nowotworami wieku dziecięcego, których terapia może być powikłana dysfunkcją osi HPAA są guzy mózgu i białaczki. Niewydolność nadnerczy może być w tej populacji subkliniczna i nierozpoznana. W sytuacji stresowej może doprowadzić do zagrażającego życiu przełomu nadnerczowego. Wiedza ta jest kluczowa w diagnostyce, leczeniu i opiece długoterminowej nad chorymi na nowotwory dziecięce. Na podstawie analizy literatury przedstawiono aktualne zalecenia diagnostyczne w różnych sytuacjach klinicznych w czasie i po zakończeniu terapii onkologicznej, również u chorych już leczonych hormonami nadnerczowymi, jak i tych, którzy diagnozowani są w stanach ciężkich. Zaprezentowano tez zasady terapii w zależności od rozpoznania i sytuacji klinicznej pacjenta z AI.

Podsumowując, wnioski tej pracy stały się wstępem do prowadzonych badań i kolejnych publikacji, wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej, na temat wpływu terapii onkologicznej na czynność i morfologię nadnerczy u dzieci i młodzieży z nowotworami.

Praca 2:

The assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis after oncological treatment in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia

(Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology. 2022;2)

Badanie wykazało istotnie niższy poziom porannej aktywności reninowej osocza po staniu w pozycji pionowej ($p = 0,029$) oraz istotnie wyższy poziom glukozy we krwi na czczo (FBG) ($p = 0,018$) w grupie badanej ALL w porównaniu z grupą kontrolną. Pozostałe parametry hormonalne i biochemiczne nie różniły się między grupami.

W grupie badanej ALL obserwowano istotne dodatnie korelacje między UFC a wieczornym (20.00) poziomem kortyzolu ($p = 0,016$, $r = 0,26$), nocnym poziomem kortyzolu ($p = 0,002$, $r = 0,33$) oraz DHEA-S ($p = 0,004$, $r = 0,32$). Ponadto UFC korelowało również dodatnio ze skurczowym ciśnieniem krwi (SBP) ($p = 0,033$, $r = 0,23$) i rozkurczowym ciśnieniem krwi (DBP) ($p = 0,005$, $r = 0,31$). Biorąc pod uwagę wiek, korelacje między UFC a nocnym poziomem kortyzolu ($p = 0,003$) oraz między UFC a DHEA-S ($p = 0,008$) były

istotne statystycznie. Dodatkowo korelacja między UFC a DBP pozostała statystycznie istotna po uwzględnieniu wieku (p=0,008). Ponadto zaobserwowano dodatnią korelację między poziomem glukozy we krwi na czczo (FBG) a skurczowym ciśnieniem krwi (p = 0,035, r = 0,23) w grupie ALL. Wszystkie analizowane parametry nie różniły się między grupami pacjentów pod względem czasu remisji. W grupie kontrolnej co ciekawe, wystąpiła dodatnia korelacja między DHEA-S a SBP (p = 0,002, r = 0,57), która po uwzględnieniu wieku pozostała istotna (p = 0,0001).

Test ACTH potwierdził upośledzenie funkcji nadnerczy u czworga dzieci. Pierwszą pacjentką z AI była dziewczynka w wieku 7 lat z ALL typu common z AML/Tel+, stratyfikowana do grupy SR i leczona zgodnie z protokołem ALLIC 2009. Czas remisji ALL trwał 2 lata i 3 miesiące przed wykonaniem oceny nadnerczy. Na podstawie naszych badań zdiagnozowano u niej przewlekły AI, ponieważ maksymalny poziom kortyzolu w teście ACTH wynosił 170,1 ng/ml, w związku z czym rozpoczęto leczenie hydrokortyzonem. Drugim pacjentem był chłopiec w wieku 8 lat i 7 miesięcy ze zdiagnozowaną ALL common, stratyfikowany do grupy IR, leczony protokołem ALLIC 2009. Czas remisji przed badaniem nadnerczy wynosił 3 lata i 10 miesięcy. Pomimo braku objawów AI przed naszymi badaniami, zdiagnozowano u niego również przewlekły AI z maksymalnym poziomem kortyzolu w teście ACTH 176 ng/ml i rozpoczęto leczenie hydrokortyzonem. Równolegle z wynikami testu ACTH potwierdzającymi AI, obaj pacjenci mieli niski poziom UFC (12.7 i 12.8 µg/dzień), poziom kortyzolu o północy (6 i 5 ng/ml) oraz DHEA-S (8 i 28 µg/ml) w porównaniu ze wszystkimi innymi osobami, które przeżyły ALL i kontrolami (odpowiednio, średnie UFC 17,9 i 14,9 µg/dzień, średnie poziomy kortyzolu o północy 16,3 i 19,5 ng/ml, średnie DHEAS 79,4 i 65 µg/ml).

Dwóch dodatkowych pacjentów miało prawidłowe wyniki ACTH, ale w dolnej granicy i nie wykazywało objawów AI. Maksymalne poziomy kortyzolu w teście wynosiły odpowiednio 185 ng/ml i 187,6 ng/ml. Pierwszym pacjentem był chłopiec w wieku 10 lat i 9 miesięcy, z common ALL, IR, leczony protokołem ALLIC 2009. Czas remisji przed badaniem nadnerczy wynosił 3 lata i 4 miesiące. Drugą pacjentką była 13,5-letnia dziewczynka z common ALL, HR, leczona protokołem ALLIC 2009. Jej czas w remisji przed badaniem nadnerczy wynosił 1,5 roku. Obu pacjentom zalecono przyjmowanie hydrokortyzonu w sytuacjach stresowych. Podsumowując, wydaje się, że czas od zakończenia leczenia raczej nie mógł wpłynąć na rozwój AI.

U żadnego z pacjentów nie wykryto przeciwciał przeciwko korze nadnerczy. USG jamy brzusznej u wszystkich pacjentów wykazało prawidłową morfologię nadnerczy.

Praca 3:

Assessment of adrenal function in pediatric cancer survivors

(Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism. 2022;28)

Praca 3 stanowi kontynuację pracy 2 i jest próbą oceny funkcji i morfologii nadnerczy u pacjentów chorych na nowotwory. Podjęto próbę wczesnego wykrywania AI i wprowadzenia leczenia, zanim pojawią się objawy. Dzięki temu możliwe było zminimalizowanie ryzyka przełomu nadnerczowego oraz poprawa jakości życia ozdrowieńców.

Wszyscy uczestnicy badania mieli biochemiczną i kliniczną eutyreozę, co pozwoliło na odpowiednią interpretację dalszych parametrów biochemicznych. Stężenia porannego kortyzolu były istotnie niższe u chorych onkologicznych niż w grupie kontrolnej (p=0,006). Podobnie stężenia sodu były w tej grupie istotnie niższe niż u zdrowych (p=0,043). Ponadto obserwowano istotnie statystycznie wyższe stężenia glikemii na czczo w grupie badanej w porównaniu do kontrolnej (p = 0,008). Pozostałe oceniane parametry nie różniły się między obiema grupami.

Podstawowe wyniki badań laboratoryjnych pozwoliły na rozpoznanie AI u jednego pacjenta z neuroblastoma w wieku 1,6 roku, u którego stwierdzono podwyższone stężenie ACTH 144 pg/ml (w normie 10-40 pg/ml) i niskie stężenia kortyzolu w profilu dobowym o godzinie 8.00: 84,4 ng/ml (zakres normalny 55-230 ng/ml] i 20:00: 15,7 ng/ml. Na podstawie tych wyników wykluczono go z testu ACTH i rozpoczęto leczenie hydrokortyzonem. Po 3 miesiącach od rozpoczęcia leczenia hydrokortyzonem wystąpiło u pacjenta zakażenie (gorączka, biegunka i CRP 128,9 mg/l), wówczas wystąpił u niego napad drgawkowy, obserwowano hiponatremię (128 mmol/l) i hipoglikemię (1,4 mmol/l), które ustąpiły po zwiększeniu dawki hydokortyzonu. Przebieg zakażenia potwierdził AI. U pozostałych pacjentów z neuroblastoma, włączając pacjenta po jednostronnej adrenelektomii wykluczyliśmy AI na podstawie wyników testów ACTH.

Wyniki testu z ACTH potwierdziły upośledzenie funkcji nadnerczy u 3 dzieci z ALL. Maksymalne uwalnianie kortyzolu wynosiło: 170,1 ng/ml, 83,6 ng/ml i 176 ng/ml. Pierwsza pacjentka, dziewczynka w wieku 7 lat, typ ALL wspólny z AML/Tel+ została zakwalifikowana do grupy SR i leczona była zgodnie z protokołem ALLIC 2009. Leczenie zakończono 2 lata i 3 miesiące przed badaniem. Drugi pacjent, chłopiec w wieku 8,5 lat, z common ALL, HR, leczony był zgodnie z protokołem AIEOP 2017 deksametazonem. Po odstawieniu deksametazonu rozwinęła się przejściowa niewydolność nadnerczy i był leczony hydrokortyzonem (5-2,5-2,5 mg dziennie). Nadal jest leczony zgodnie z protokołem onkologicznym. Trzeci pacjent, chłopiec w wieku 8,5 lat ze zdiagnozowaną common ALL, grupa IR, był leczony protokołem ALLIC 2009. Protokół leczenia zakończono 3 lata i 10 miesięcy przed badaniem. Poza drugim pacjentem z przemijającym AI pacjenci nie wykazywali żadnych objawów AI, która została zdiagnozowana tylko dlatego, że zostali włączeni do naszego badania. Przejściowa AI została zdiagnozowana w momencie infekcji. Co warte podkreślenia, wszystkie trzy osoby miały niski poziom UFC (24-hour urine free

cortisol excretion) (12,7, <5,0 i 12,8 µg/dzień), kortyzolu o północy (6, <3,1 i 5 ng/ml) oraz DHEA-S (8, 8,7 i 28 µg/ml) w porównaniu do kontroli (średnie poziomy UFC 17,9 µg/dzień, kortyzol o północy 19,5 ng/ml i DHEA-S 65 µg/ml).

Dwóch pacjentów z ALL miało wyniki testu z syntetycznym ACTH w normie, ale na dolnej granicy: 185 ng/ml i 187,6 ng/ml. Pierwszym był chłopiec w wieku 10,8 lat z common ALL, IR, leczony protokołem ALLIC 2009. Terapię zakończono 3,3 roku przed badaniem. Druga to dziewczynka w wieku 13,6 lat z common ALL, HR, leczona protokołem ALLIC 2009. Ukończyła leczenie 1,5 roku przed badaniem. Oboje nie prezentowali objawów AI, ale pierwszy chłopiec miał niższy poziom UFC (<5,0 µg/dzień) i kortyzolu o północy (5,4 ng/ml) w porównaniu do zdrowych osób kontrolnych, chociaż stężenie DHEA-S (78,8 µg/ml)) było porównywalne do zdrowych dzieci z grupy kontrolnej. Dziewczynka miała jedynie stężenie kortyzolu o północy niższe od dzieci zdrowych (UFC 16,0 µg/dzień, o północy kortyzolu 5,4 ng/ml, a DHEA-S 34,8 µg/ml).

Jedna z pacjentek, dziewczynka z AML w wieku 12,4 lat, po zakończeniu terapii przeciwnowotworowej przed ośmiu laty, miała nieprawidłowe stężenia podstawowe ACTH 75,6 pg/ml [zakres normalny 10-60 pg/ml], kortyzol rano 55 ng/ml [zakres normalny 55-230 ng/ml]. Jednak test z 1 ug ACTH wykluczył AI, z maksymalnym uwalnianiem kortyzolu 223,4 ng/ml. Żaden z ocenianych parametrów nie korelował z czasem od zakończenia terapii onkologicznej. U wszystkich uczestników badania przeciwciała przeciwko korze nadnerczy były ujemne.

W USG jamy brzusznej u wszystkich chorych na raka morfologia nadnerczy była prawidłowa, z wyjątkiem chorego z neuroblastoma (4,8 roku), u którego wycięto jeden nadnercze.

Praca 4

Cyclic Cushing's Disease in the Prepubertal Period—A Case Report and Review of Literature.

(Frontiers in Endocrinology. 2019;10;701)

Ze względu na podejrzenie CD w okresie kolejnego nawrotu objawów klinicznych tj. przyboru masy ciała z zahamowaniem tempa wzrastania oraz depresyjnych zachowań pacjentki, diagnostykę przeprowadzono w oparciu o dostępne badania hormonalne: podwyższony poziom UFC w trzech dobowych zbiórkach moczu, zaburzenia rytmu dobowego kortyzolu, podwyższony lub nieobniżony poziom ACTH w osoczu o godzinie 8.00 wraz ze zwiększonym stężeniem kortyzolu w surowicy oraz brak supresji poziomu kortyzolu w surowicy do <1,8 µg/dl podczas nocnego testu hamowania deksametazonem (1 mg deksametazonu podano o godzinie 23:00). Przysadkową etiologię CS potwierdzono na podstawie supresji kortyzolu w surowicy w teście supresji deksametazonem wysokodawkowym (2 mg przez 48 h), dodatnim wynikiem testu stymulacji hormonu

uwalniającego kortykotropinę (CRH) (1 µg/kg, maksymalnie 100 µg i.v.) i dodatni wynik rezonansu magnetycznego przysadki.

Powyższa diagnostyka wykazała hiperkortyzolemię. UFC przekraczało 10-krotnie prawidłowy zakres (odpowiednio 219, 284 i 283 µg/24 h, norma (N) <27 µg/24 h). Profil kortyzolemii był odwrócony i bez spadku w nocy (8:00-9,5 µg/dl, 20:00 -18,5 µg/dl, północ - 25,4 µg/dl). Stężenie ACTH w tym samym czasie wynosiło 37,9 pg/ml (N 10–60 pg/ml), wskazywało na CS zależny od ACTH (brak supresji (>20 pg/ml) z hiperkortyzolemią). Aktywność reninowa osocza (1,57 ng/ml/h, N 1,5-5,7), stężenia aldosteronu (85,4 pg/ml, N 35 -310) i DHEA-S (36,5 µg/ml N <150) mieściły się w granicach normy. Po teście nocnym hamowania dexametazonu poranne stężenie kortyzolu obniżyło się (z 9,5 do 1,02 µg/dl), podczas gdy stężenie ACTH było stabilne (34,2 pg/ml).

Wynik testu stymulacji CRH potwierdził CD ze wzrostem ACTH o 46% (>35%) i kortyzolu o 45% (>20%). Badanie MR przysadki, wykonane 6 miesięcy po poprzednim, które było prawidłowe, wykazało obszar o obniżonym sygnale o wymiarach 3 × 4 mm zlokalizowany w prawej części przedniego płata przysadki. Po usunięciu gruczolaka przysadki, który w badaniu histo-patologicznym miała charakterystykę guza wydzielającego ACTH, pacjentka prezentowała objawy AI, które zostały potwierdzone niskimi stężeniami kortyzoli w profilu dobowym. Przez okres czterech miesięcy po zabiegu neurochirurgicznym wymagała pełnej suplementacvjnej dawki hydrokortyzonu. W ciągu kolejnych miesięcy obserwacji w sytuacjach stresowych takich jak infekcja z gorączką, wzmożony, wysiłek fizyczny wymagała wprowadzenia na krótki czas stresowych dawek hydrokortyzonu, co potwierdza przetrwałą dysfunkcję osi HPAA. Z uwagi na cykliczny przebieg choroby i ryzyko jej nawrotu również o charakterze cyklicznym dziewczynka podlega stałej, systematycznej kontroli w naszej Klinice.

Wnioski końcowe:

1. Leki stosowane w terapii onkologicznej mogą zaburzać funkcję HPAA w sposób przejściowy lub trwały. Niewydolność nadnerczy może być w tej populacji chroniczna, subkliniczna i nierozpoznana, co w sytuacji stresowej może doprowadzić do zagrażającego życiu przełomu nadnerczowego.
2. Nasze badanie potwierdza wpływ protokołów leczenia ALL na nadnercza, powodując przejściową lub trwałą niewydolność nadnerczy. Regularna ocena nadnerczy i metabolizmu powinny być połączone w celu zapobiegania zdarzeniom niepożądanym spowodowanym przewlekłą, subkliniczną niewydolnością nadnerczy i bezobjawowymi zaburzeniami metabolicznymi, promując w ten sposób skuteczność terapii przeciwnowotworowej i poprawiając jakość życia.
3. Przewlekła AI może zostać pominięta i pojawić się kilka lat po remisji. Na podstawie naszych danych wydaje się, że ważne jest sprawdzenie funkcji nadnerczy u dzieci, które

przeżyły ALL i neuroblastoma, podczas gdy w przypadku innych nowotworów problem jest mniej prawdopodobny. Na podstawie wyników naszych badań nie możemy wnioskować na temat pacjentów po terapii guzów mózgu, którzy wg literatury są grupą szczególnie obciążoną zaburzeniami funkcjonowania HPAA, u których istnieją też jednoznaczne zalecenia co do oceny tej osi, szczególnie w przypadku zastosowania radioterapii powyżej 30 Gy. Konieczne jest monitorowanie osób, które przeżyły ALL, ze szczególnym uwzględnieniem wykrywania zespołu metabolicznego po zaprzestaniu leczenia ALL.

4. Test ACTH w małej dawce jest wiarygodny i dość czuły, aby wykluczyć przewlekłą, subkliniczną niedoczynność nadnerczy przed wystąpieniem objawów. Nasze dane wskazują, że DHEA-S, nocny poziom kortyzolu i UFC mogą być dobrymi wskaźnikami oceny nadnerczy po leczeniu onkologicznym. Jednak najbardziej przydatnym z nich jest DHEAS, ponieważ wymaga jednorazowej oceny niezależnej od przyjmowania pokarmu i pory dnia. Badanie czynności nadnerczy oraz ocena metaboliczna powinny być częścią kontroli poonkologicznej.
5. Cykliczny przebieg kliniczny oraz nietypowe oznaki i objawy CD w okresie przedpokwitaniowym mogą odpowiadać za trudności w diagnozie i monitorowaniu po leczeniu neurochirurgicznym.

Summary

Introduction:

Childhood malignant neoplasms are rare. In Poland, 1,160 new cases are reported annually [1], while in Europe there are approximately 15,000 new cancer patients aged 0 to 14 years [2]. The most common cancers in children are: leukemias (26.6%), brain tumors (19.4%), and lymphomas (13.1%). The frequency distribution remains constant over the years.

Although cancer is one of the leading causes of death, advances in the treatment of cancer patients are increasing the survival rate of convalescents. Along with increasing effectiveness of the treatment, the number of patients with complications after aggravating therapy (chemo- / radiotherapy and hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) increases. Side effects may occur immediately or delayed. About 50% of survivors will experience at least one hormonal disorder in their lifetime [3]. The literature presents detailed data on disorders of the processes of growth and maturation, thyroid dysfunction, and recently more and more metabolic disorders [3]. Little information is available on adrenal axis disorders which, although they do not appear to be as common as previously mentioned, may be a direct threat to life. Adrenal insufficiency may appear already during oncological treatment, immediately after the end of treatment, as well as a long-term consequence of therapy. It may be primary and result from damage to the adrenal glands themselves, or their secondary blockade during long-term steroid therapy (the most common cause of adrenal insufficiency) as part of oncological therapy. It may also be secondary in the case of damage to the hypothalamic-pituitary axis regulating the work of the adrenal glands. Irradiation of the hypothalamic-pituitary area causes ACTH deficiency and secondary adrenal insufficiency in up to 43% of treated patients [4]. It may be in the first 2 years after radiotherapy and later. Mixed central-peripheral damage to the entire adrenal axis following oncological treatment is also possible. Hematopoietic cell transplantation is one of the most aggravating form of therapies for endocrine function. It can cause dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPAA) in about 40-50% of patients [5] and persist for years.

In the light of the above data, the evaluation of the adrenal axis, by performing adrenal reserve tests, it can significantly help in the early detection of adrenal insufficiency and prevent the development of a full-blown disease.

Summary of the works constituting the subject of the doctoral dissertation:

Introduction:

Work 1:

Thanks to the development of effective oncological therapies, the survival rate of pediatric oncological patients is greater than ever before. The overall 5-year survival rate for all cancers in children 0-14 years old increased from 62% for children diagnosed between 1975-1979 to 83% for children diagnosed between 2002-2006. Widely used as first-line and second-line treatments for various oncological diseases, chemotherapy and radiation therapy kill out-of-control growing cells, but also have negative effects on healthy cells, which can lead to many side effects, including endocrine disorders. Chemotherapy, as well as radiotherapy of the head, neck and abdomen area may temporarily or permanently disturb the proper functioning of the HPAA. Although uncommon, adrenal insufficiency can be a life-threatening complication of cancer treatment.

Taking into account the above-mentioned risk of adrenal insufficiency, we considered it valid to present the current knowledge on the impact of frequently used therapeutic forms, selected pharmacotherapeutic agents, and radiotherapy on the functioning of HPAA. Failure to recognize AI is a life-threatening condition, and decreased adrenal reserve or improperly functioning adrenal glands are the direct cause of AI and decreased quality of life, therefore the paper includes diagnostic guidelines for assessing the function of the adrenal axis in various clinical situations and presents available protocols for managing its disorders.

Work 2

Childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) from 0 to 14 years of age has an incidence of 3.7 to 4.9 per 100,000 [7]. In Poland, ALL is diagnosed in between 250 and 350 of young patients each year [8]. Fortunately, the 5-year ALL survival rate has increased significantly due to advances in treatments that include multicomponent chemotherapy, radiation therapy, and HSCT. The 5-year survival rate increased from 10% in the 1960s to 77% in 1985-1994 [9], to 93.5% now [10].

The first and second-line treatment for ALL is chemotherapy, and in selected-patients additional central nervous system (CNS) radiotherapy. The destruction of cancer cells by chemotherapy and radiation therapy consequently damages healthy cells, causing endocrine dysfunction. Corticosteroids are a key part of the ALL treatment and are used in the first step to induce remission. Glicocorticosteroid is a cytotoxic agent that inhibits the growth and induces apoptosis of lymphocytes, which, like chemotherapy and radiotherapy, may disrupt the proper functioning of the endocrine system.

The data of potentially life-threatening effects of anti-cancer treatment on the adrenal axis is missing. Adrenal insufficiency (AI) is a chronic and subclinical condition that can manifest itself suddenly without preceding symptoms in stressful situations and lead to a real life threatening condition in the form of adrenal crisis. Oncology treatment protocols that include corticosteroids, chemotherapy, and radiation therapy can affect adrenal function and morphology. In light of this information, it is crucial to prevent the consequences of adrenal dysfunction in patients after oncological treatment and to select appropriate biochemical and hormonal parameters to assess adrenal reserve and metabolic status, as well as to assess the adrenal glands and AAA in these patients.

Work 3

Worldwide, approximately 400,000 children and adolescents aged 0-19 are diagnosed with cancer each year [11]. Early diagnosed malignant neoplasms can be successfully treated. Childhood cancer survivors have a lifetime ahead of them and it is important to provide them with a safe and good-quality life. Among cancers, acute lymphoblastic leukemia (ALL) is most common in the pediatric population. Neuroblastoma (NBL) is one of the most common solid tumors in childhood and occurs in 1: 7,000 children [12]. It is the most common cancer in infants. In our country, 60–70 new cases are diagnosed with NBL every year [13]. In children diagnosed with neuroblastoma, the 5-year survival is approximately 64% [14]. Brain tumors in children are the second most common cause of childhood malignancies after leukemia and are the most common type of solid childhood cancer. The incidence of brain tumors in children varies from 1.15 to 5.14 per 100,000 children, depending on the country. The incidence of congenital brain tumors ranges from approximately 0.3 to 2.9 cases per 100,000 live births in various parts of the world. [15] The five-year survival rate of brain tumors in children is higher than that of adults, however, it varies from country to country globally (ranging from 45% in Thailand to 80% in Sweden and Denmark) [16].

The risk factors for adrenal disease include chemotherapy and the most commonly used drugs affecting the HPAA - glucocorticosteroids (GCS), as well as radiotherapy of the head, neck and abdomen. It can temporarily or permanently interfere with the proper functioning of the adrenal glands. Studies show that GCS therapy for more than 7 days at a dose of hydrocotisone equivalent to over 10 mg / m2 daily causes suppression of the adrenal axis [17]. Secondary adrenal insufficiency may develop after abrupt discontinuation of GCS and after radiotherapy of the head area, especially at a dose above 30 Gy.

Adrenal axis dysfunction resulting from cancer treatment has not been thoroughly investigated, although it may play a key role, inter alia, in in the regulation of metabolism, the immune system, blood pressure, and the stress response. Therefore, it is necessary to evaluate the adrenal function in people with a history of cancer. In this work, we focused on screening

and early detection of the AI before the onset of symptoms of this disease, which minimizes the risk of adrenal crisis and improves the quality of life of these patients.

Work 4

Cushing's syndrome (CS), caused by the excess production of adrenocorticotropic hormone (ACTH) by a pituitary tumor, is known as Cushing's disease (CD) and is a rare disorder in pre-pubertal children. Moreover, cyclic CD is much less frequent, with an unknown frequency in childhood. According to the latest data, after the age of 5, ACTH-dependent CS is more common than ACTH-independent CS. In most cases, ACTH is produced by a pituitary microadenoma (18). ACTH overproduction occurs in a semi-autonomous manner and maintains certain autoregulatory properties of the HPAA in the negative feedback cycle (19). In children, ACTH overproduction causes hypercortisolemia leading to obesity (BMI ≥ 1.5 SD) with growth inhibition (growth velocity ≤ 0 SD), behavioral changes and hyperandrogenization (hirsutism, premature sexual maturation without regression due to inhibition of the gonadal axis by adrenal androgens). There are no symptoms of excess aldosterone (20).

Cyclic CS is characterized by repeated episodes of excess cortisol (relapses) interspersed with periods of normal cortisol secretion (remissions). So-called cycles of hypercortisolemia can occur regularly or irregularly with intercyclical phases lasting from days to years. Cycles ranging in length from 12 hours to 85 days have been reported (21). Cyclic CS is derived from pituitary corticotroph adenoma in 54%, ectopic ACTH-producing tumor in 26%, and adrenal tumor in approximately 11%, the rest remain unclassified (22). To formally diagnose cyclic CS, three peaks and two reductions of cortisol production (clinical and / or biochemical) must be demonstrated, separated over time by intercyclical phases. Most patients with cyclic CS have clinical signs of CS which may be variable or persistent. In a small number of patients, the clinical signs of CS are absent. The variable clinical picture and divergent biochemical results make cyclic CS extremely difficult to diagnose.

Therefore, close observation and repeated measurements of urinary cortisol are a reliable and convenient screening tool for suspected cyclic CS (23). In view of the above, it is reasonable to present the diagnostic difficulties of the anterior pituitary tumor and the assessment of the adrenal axis based on the case of a 7.8-year-old girl, whose symptoms of CS appeared in the prepubertal period and were cyclical.

Aims of the work:

The common goal of the series of works was to assess the impact of oncological treatment on the morphology and function of adrenal glands in children and adolescents. The second goal was the early detection of adrenal insufficiency, the implementation of monitoring and treatment to prevent life-threatening adrenal crisis, and to improve the quality of life of oncology children.

Work 1:

The specific aim of work 1 was, based on a literature review, to analyze the chemo- and radio-therapeutics used in pediatric oncology and their impact on adrenal function and AI development.

Moreover, the authors' intention was to systematize the diagnostic guidelines for the assessment of the adrenal axis function in various clinical situations and to present the available protocols for the management of its disorders.

Work 2:

The specific aim of study 2 was to identify patients with ALL with disturbances of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and to identify clinically useful methods of early adrenal evaluation in these patients.

Work 3

The specific aim of study 3 was to evaluate the function and morphology of adrenal glands in cancer patients. An attempt has been made to detect AI early and implement treatment before symptoms develop. Thanks to this, it was possible to minimize the risk of adrenal crisis and to improve the quality of life of survivors.

Work 4:

Based on the presentation of a case of a patient in the prepubertal period with a tumor of the anterior pituitary gland secreting cyclically ACTH, the aim of the study was to present diagnostic and therapeutic difficulties, as well as complications, including transient AI after treatment of cyclic Cushing's disease. The work completes the series of works devoted to adrenal insufficiency after oncological treatment.

Material and methods:

Work 1:

The literature review is based on publications included in the PubMed database. The basic criterion for searching for studies for analysis was the assessment of the impact of drug therapy and radiotherapy affecting the adrenal glands (including glucocorticosteroids, mitotane, metyrapone, ketoconazole, etc.) used in neoplastic diseases, on adrenal function and AI development. The paper also describes the possibilities of the adrenal axis in patients already treated with steroids and in acute conditions. The works were published in the years 1983-2021. The results of the literature review were presented descriptively.

Work 2:

The study included 43 patients recruited by the Department of Pediatric Oncology and Hematology in Krakow, aged 1.17-14.83 years, treated for ALL and in complete remission (mean 8.51 ± 3.55 years). These were all subsequent people, recovering from ALL treatment, admitted to the oncology clinic in 2019-2020. From among the patients diagnosed at the Department of Endocrinology of Children and Adolescents due to shortage of growth, a control

group of 45 healthy patients matched for age and sex (aged 3.6-14 years, mean age 8.78 ± 3.12 years) was selected. The study was approved by the Bioethics Committee (No. 1072.6120.74.2019 of 04/29/2019). Informed consent was signed by all parents of our study participants and patients over the age of 16.

All patients were referred for adrenal function assessment at the Department of Pediatric and Adolescent Endocrinology. Patients in the study group completed ALL treatment with a mean age of 7.35 ± 2.85 years (range 1.62 - 13.8 years). The mean time from end of oncological treatment was 2.4 ± 1.9 years (range 0.25-7.17 years). In the study group, 9 patients (21%) were diagnosed as high-risk ALL (HR), 27 patients (61%) as intermediate-risk ALL (IR), and 7 patients (16%) were diagnosed as standard-risk ALL (SR) according to the ALL stratification protocol. 40 patients were diagnosed with ALL derived from B-line lymphocytes precursors, 3 patients were diagnosed with ALL derived from T-line precursors. All patients in the study group were treated according to BFM protocols: ALL IC BFM-2002 (6 patients), ALLIC BFM 2009 (37 patients). Additionally, 9 patients underwent prophylactic CNS radiotherapy in dosage of 12 Gy in 8 fractions. One patient from the HR group was qualified for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Blood samples were taken from all fasting participants, after an overnight fast, after standing between 7.00 and 8.00 a.m. in order to test concentrations of: cortisol, aldosterone, plasma renin activity (PRA), dehydroepiandrostenedione sulfate (DHEA-S), adrenocorticotropic hormone (ACTH), anti-adrenal antibodies (AAA), glucose, sodium and potassium. Additionally, in order to assess the adrenal reserve in the study group, a low-dose synthetic ACTH test (1 µg or 0.5 µg / m2 BSA) was performed. After blood sampling for basal morning cortisol levels, synthetic ACTH was administered intravenously. Subsequent blood samples were then taken at 20, 30 and 60 minutes after the ACTH injection to assess cortisol concentrations. Standard biochemical methods were used to test fasting blood glucose, sodium and potassium. Radioimmunological methods were used to determine the concentrations of the hormones ACTH, cortisol, DHEA-S, PRA and aldosterone. AAA concentration was analyzed by enzyme immunoassay (ELISA). The morphology of the adrenal glands was examined by ultrasound or magnetic resonance imaging (MRI).

In order to analyze the effect of remission duration on the results obtained, patients were divided into the following groups: 1) remission duration up to 2 years [22 patients (51.2%)], 2) 16 patients (37.2%) over 2-5 years in remission and 3) 5 patients (11.6%)> 5 years from remission.

Statistical analysis was performed using the Stat Soft Statistica 12 package using the T-Student test and ANOVA with the post-hoc Turkey test and linear and multivariate regression, $p < 0.005$ was used for statistical significance.

Work 3:

The study included 60 patients with diagnosed malignant neoplasms, aged 1.2-14.9 years (mean age 8.3 ± 3.5 years), treated at the Department of Oncology and Hematology of the University Children's Hospital in 2019-2020. The control group consisted of 45 healthy children (3.6-14 years old with an average age of 8.7 ± 3.12 years). Fifty-eight patients were referred to the Department of Pediatric and Adolescent Endocrinology for the assessment of adrenal function in complete remission of the neoplastic disease. Two patients included in the treatment protocol had adrenal insufficiency and were included in the study. The mean age of patients who completed oncological treatment was 6.76 ± 3.34 SD years (1.23-15.07 years). In this group, 44 patients were diagnosed with ALL (73.34%), 2 patients with AML (3.33%), 2 patients with B-cell lymphoma (3.33%), 1 patient with Hodgkin's lymphoma (1.67%), 4 patients with neuroblastoma (6.67%), 4 patients with nephroblastoma (6.67%), 1 with retinoblastoma (1.67%), 1 with rhabdomyosarcoma (1.66%) and 1 with germ cell tumor (1 , 66%). The clinical characteristics of the patients included in the study and the details of their therapies are presented in Table 1 [tab. 1]

Patients were assessed once after oncology treatment. The time from completion of oncological treatment to evaluation was as follows: in 25 patients (41.7%) up to 1.5 years, in 12 patients (20%) 1.5-3 years, and in 23 patients (38.3%) over 3 years. The study was approved by the Bioethical Committee (No. 1072.6120.74.2019 of 04/29/2019). Informed consent was signed by all parents of our study participants and patients over the age of 16.

Work 4:

Work based on diagnostic tests of a girl of 7.8 years of prepubertal age. We measured body weight, BMI, daily urine collection for cortisol (UFC), cortisol, ACTH, 17-OHP, dexamethasone test, CRH test, pituitary MRI. The paper also presents the literature describing the cyclic form of Cushing's syndrome.

Results:

Work 1:

The function of adrenal glands in children and adolescents during and after oncological treatment.

(Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism – article accepted for publication)

There is a growing list of drugs used in cancer therapy that have a proven negative impact on HPAA function. This effect may be temporary or permanent. Also, radiation therapy can affect HPAA. Adrenal insufficiency may be subclinical and undiagnosed in this population. In a stressful situation, it can lead to a life-threatening adrenal crisis. This knowledge is crucial in the diagnosis, treatment and long-term care of patients with childhood cancer.

Based on the analysis of the literature, the current diagnostic recommendations in various clinical situations during and after the completion of oncological therapy were

presented, also in patients already treated with adrenal hormones and in those who are diagnosed in severe conditions. The principles of therapy depending on the diagnosis and clinical situation of a patient with AI are also presented.

Summing up, the conclusions of this work became an introduction to the research and another publications, which is part of this doctoral dissertation, on the impact of oncological therapy on the function and morphology of adrenal glands in children and adolescents with cancer.

Work 2:

The assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis after oncological treatment in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia

(Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology. 2022;2)

The study showed a significantly lower level of morning plasma renin activity after standing upright (p = 0.029) and a significantly higher level of fasting blood glucose (FBG) (p = 0.018) in the ALL group compared to the control group. The remaining hormonal and biochemical parameters did not differ between the groups. In the ALL study group, significant positive correlations between the UFC and the evening (08.00 pm) cortisol levels (p = 0.016, r = 0.26), night cortisol levels (p = 0.002, r = 0.33) and DHEA-S (p = 0.004, r = 0.32) were observed. Moreover, the UFC also positively correlated with systolic blood pressure (SBP) (p = 0.033, r = 0.23) and diastolic blood pressure (DBP) (p = 0.005, r = 0.31). Taking into account age, the correlations between the UFC and night time cortisol levels (p = 0.003) and between the UFC and DHEA-S (p = 0.008) were statistically significant. Additionally, the correlation between the UFC and DBP remained statistically significant after adjusting for age (p = 0.008). Moreover, a positive correlation was observed between fasting blood glucose (FBG) and systolic blood pressure (p = 0.035, r = 0.23) in the ALL group. All analyzed parameters did not differ between the groups of patients in terms of remission time.

Interestingly, in the control group, there was a positive correlation between DHEA-S and SBP (p = 0.002, r = 0.57), which after adjusting for age remained significant (p = 0.0001).

The ACTH test confirmed the impairment of adrenal function in four children. The first patient with AI was a 7-year old girl with ALL type common with AML / Tel +, stratified into the SR group and treated according to the ALLIC 2009 protocol. The duration of ALL remission was 2 years and 3 months prior to adrenal evaluation. Based on our research, she was diagnosed with chronic AI because the maximum cortisol level in the ACTH test was 170.1 ng / ml, and therefore hydrocortisone treatment was started. The second patient was an 8 years and 7 months old boy diagnosed with ALL type common, stratified to IR group, treated with the ALLIC 2009 protocol. Remission time before adrenal examination was 3 years and 10 months. Despite the absence of symptoms of AI prior to our study, he was also diagnosed with chronic AI with a maximal ACTH level of 176 ng/ml in the ACTH test, and treatment with

hydrocortisone was initiated. In parallel with the ACTH test results confirming the AI, both patients had low UFC levels (12.7 and 12.8 µg / day), midnight cortisol (6 and 5 ng / ml), and DHEA-S (8 and 28 µg / ml) in comparison with all other ALL survivors and controls (mean UFC 17.9 and 14.9 µg / day, mean midnight cortisol levels 16.3 and 19.5 ng / ml, mean DHEAS 79.4 and 65 µg / ml). Two additional patients had normal ACTH scores but at the lower range and showed no symptoms of AI. The maximum cortisol levels in test were 185 ng / ml and 187.6 ng / ml, respectively. The first patient was a 10 years and 9 months old boy with common ALL, IR, treated with the ALLIC 2009 protocol. Remission time before adrenal examination was 3 years and 4 months. The second patient was a 13.5-year-old girl with common ALL, HR, treated with the ALLIC 2009 protocol. Her time in remission before adrenal examination was 1.5 years. Both patients were instructed to take hydrocortisone in stressful situations. Overall, it seems that the time since treatment was completed was not likely to have influenced the development of AI.

None of the patients had antibodies to the adrenal cortex. Abdominal ultrasound in all patients showed normal morphology of the adrenal glands.

Work 3:

Assessment of adrenal function in pediatric cancer survivors

(Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism. 2022;28)

Work 3 is a continuation of work 2 and is an attempt to assess the function and morphology of adrenal glands in cancer patients. An attempt has been made to detect AI early and implement treatment before symptoms develop. Thanks to this, it was possible to minimize the risk of adrenal crisis and to improve the quality of life of survivors.

All participants of the study had biochemical and clinical euthyreosis, which allowed for appropriate interpretation of further biochemical parameters. The concentration of morning cortisol was significantly lower in cancer patients than in the control group ($p = 0.006$). Similarly, the sodium concentration was significantly lower in this group than in the healthy group ($p = 0.043$). Moreover, statistically significantly higher fasting blood glucose levels were observed in the study group compared to the control group ($p = 0.008$). The other assessed parameters did not differ between the two groups. The basic results of laboratory tests allowed the diagnosis of AI in one patient with neuroblastoma at the age of 1.6 years, who had an elevated ACTH concentration of 144 pg / ml (normally 10-40 pg / ml) and low cortisol concentrations in the daily profile at 8.00 : 84.4 ng / ml (normal range 55-230 ng / ml] and 08:00 pm: 15.7 ng / ml. Based on these results, he was excluded from the ACTH test and treatment with hydrocortisone was initiated. Three months after starting treatment with hydrocortisone, the patient developed an infection (fever, diarrhea and CRP 128.9 mg / l), developed a seizure, hyponatraemia (128 mmol / l) and hypoglycaemia (1.4 mmol / l) that resolved after increasing the dose of hydocortisone. The course of the infection was confirmed

by the AI. In the other patients with neuroblastoma, including the patient after unilateral adrenelectomy, we excluded AI based on the results of the ACTH tests. Results of the ACTH test confirmed adrenal function impairment in 3 children with ALL. The maximum release of cortisol was: 170.1 ng / ml, 83.6 ng / ml and 176 ng / ml. The first patient, a 7-year-old girl, ALL type common with AML / Tel +, was enrolled in the SR group and was treated according to the ALLIC 2009 protocol. The treatment was completed 2 years and 3 months before the study. Second patient, 8.5 years old boy, with common ALL, HR, was treated according to the AIEOP 2017 protocol with dexamethasone. After discontinuation of dexamethasone, he developed transient adrenal insufficiency and was treated with hydrocortisone (5-2.5-2.5 mg daily). He is still being treated according to the oncology protocol. The third patient, 8.5 years old boy diagnosed with common ALL, IR group, was treated with the 2009 ALLIC protocol. The treatment protocol was completed 3 years and 10 months prior to the study. Apart from a second patient with transient AI, the patients showed no symptoms of AI, which was only diagnosed because they were included to our study. Transient AI was diagnosed at the time of infection. Importantly, all three people had low levels of UFC (24-hour urine free cortisol excretion) (12.7, <5.0 and 12.8 µg / day), midnight cortisol (6, <3.1 and 5 ng / ml) and DHEA-S (8, 8.7 and 28 µg / ml) compared to the control (mean levels of UFC 17.9 µg / day, midnight cortisol 19.5 ng / ml and DHEA-S 65 µg / ml). Two ALL patients had normal synthetic ACTH test results, but at the lower limit: 185 ng / ml and 187.6 ng / ml. The first was a 10.8-year-old boy with a common ALL, IR group who was treated with the ALLIC 2009 protocol. The therapy was completed 3.3 years before the study. The second is a 13.6-year-old girl with a common ALL, HR group, treated with the ALLIC 2009 protocol. She completed her treatment 1.5 years before the study. They both showed no AI symptoms, but the first boy had lower levels of UFC (<5.0 µg / day) and midnight cortisol (5.4 ng / ml) compared to healthy controls, although the concentration of DHEA-S (78.8 µg / ml)) was comparable to healthy children in the control group. The girl had only midnight cortisol concentration lower than in healthy children (UFC 16.0 µg / day, midnight cortisol 5.4 ng / ml, and DHEA-S 34.8 µg / ml). One of the patients, a 12.4-year-old girl with AML, had abnormal basal levels of ACTH 75.6 pg / ml [normal range 10-60 pg / ml], morning cortisol 55 ng / ml after the completion of anticancer therapy eight years ago. [normal range 55-230 ng / ml]. However, a test with 1 µg ACTH excluded the AI, with a maximum cortisol release of 223.4 ng / ml. None of the assessed parameters correlated with time since the end of oncological therapy. All participants in the study had negative antibodies to the adrenal cortex. In abdominal ultrasound, morphology of the adrenal glands was normal in all cancer patients, with the exception of 1 patient with neuroblastoma (4.8 years), in whom one adrenal gland was excised.

Work 4

Cyclic Cushing's Disease in the Prepubertal Period — A Case Report and Review of Literature.

Frontiers in Endocrinology. 2019;10 (701).

Due to the suspicion of CD in the period of the next relapse of clinical symptoms, i.e. weight gain with inhibition of growth rate and depressive behavior of the patient, the diagnosis was based on the available hormonal tests: elevated UFC levels in three daily urine collections, disturbances in circadian rhythm of cortisol, elevated or not decreased plasma ACTH levels at 8.00 am along with increased serum cortisol levels and no suppression of serum cortisol levels to <1.8 μg / dL during the overnight dexamethasone inhibition test (1 mg of dexamethasone was administered at 11:00 pm.). The pituitary etiology of CS was confirmed by suppression of serum cortisol in a high-dose dexamethasone suppression test (2 mg for 48 h), a positive corticotropin-releasing hormone (CRH) stimulation test (1 μg / kg, maximum 100 μg IV) and a positive pituitary magnetic resonance.

The above diagnostics showed hypercortisolemia. The UFC collection exceeded the normal range 10 times [219, 284 and 283 μg / 24 h, respectively, normal range <27 μg / 24 h]. The cortisolemia profile was inverted and did not decrease during the night (8:00 - 9.5 μg / dL, 08:00 pm - 18.5 μg / dL, Midnight -25.4 μg / dL). The ACTH concentration at the same time was 37.9 pg / ml (normal range 10–60 pg / ml), indicating an ACTH-dependent CS (no suppression > 20 pg / ml with hypercortisolemia). Plasma renin activity (1.57 ng / ml / h, normal range 1.5-5.7), concentration of aldosterone (85.4 pg / ml, normal range 35-310) and DHEA-S (36.5 μg / ml normal range < 150) were within the normal values. After the overnight dexamethasone inhibition test, the morning cortisol concentration decreased (from 9.5 to 1.02 μg / dl), while the ACTH concentration was stable (34.2 μg / ml). The result of the CRH stimulation test confirmed CD with an increase in ACTH by 46% (> 35%) and cortisol by 45% (> 20%). MRI of the pituitary gland, performed 6 months after the previous one, which had been normal, showed a reduced signal area of 3 × 4 mm located in the right part of the anterior pituitary gland. After removal of the pituitary adenoma, which in the histopathological examination had the characteristics of an ACTH-secreting tumor, the patient presented symptoms of AI, which were confirmed by low cortisol concentrations in the daily profile. For a period of four months after neurosurgery, she required a full supplementation of hydrocortisone. During the following months of observation, in stressful situations such as infection with fever, increased physical effort, it was necessary to implement stress doses of hydrocortisone for a short time, which confirms the persistent dysfunction of the HPAA axis. Due to the cyclical course of the disease and the risk of its recurrence, also of a cyclical nature, the girl is subject to constant, systematic monitoring in our Clinic.

Final conclusions:

1. Drugs used in cancer therapy may interfere with HPAA function, either transiently or permanently. Adrenal insufficiency may be chronic, subclinical and undiagnosed in this population, which in a stressful situation may lead to a life-threatening adrenal crisis.

2. Our study confirms the effect of ALL treatment protocols on the adrenal glands, resulting in transient or permanent adrenal insufficiency. Regular evaluation of the adrenal gland and metabolism should be combined to prevent adverse events due to chronic subclinical adrenal insufficiency and asymptomatic metabolic disorders, thus promoting the effectiveness of anti-cancer therapy and improving quality of life.

3. Chronic AI may be omitted and appear several years after remission. Based on our data, it seems important to check adrenal function in children who are ALL and neuroblastoma survivors, while for other cancers the problem is less likely. Based on the results of our research, we cannot conclude about patients after brain tumor therapy, who, according to the literature, are a group particularly burdened with HPAA dysfunction, and for whom there are also unambiguous recommendations regarding the assessment of this axis, especially in the case of radiotherapy above 30 Gy. ALL survivors need to be monitored, with particular emphasis on detecting metabolic syndrome after discontinuance of ALL treatment.

4. The low-dose ACTH test is reliable and sensitive enough to rule out chronic, subclinical adrenal insufficiency before symptoms develop. Our data indicate that DHEA-S, nocturnal cortisol and UFC levels may be good indicators of adrenal gland evaluation following cancer treatment. However, the most useful of these is DHEAS as it requires a one-time assessment independent of food intake and time of day. Adrenal function testing and metabolic evaluation should be part of post-oncological monitoring.

5. The cyclical clinical course and atypical signs and symptoms of CD in the pre-pubertal period may account for the difficulties in diagnosis and monitoring following neurosurgical treatment.