

1. Streszczenie w wersji polskiej

WSTĘP

Wraz z coraz częstszym występowaniem schorzeń z kręgu chorób cywilizacyjnych, w tym przewlekłej choroby nerek (PChN), istotne staje się poszukiwanie nowych celów terapeutycznych mogących pomóc w opanowaniu powikłań wielonarządowych tej patologii. Obecne metody terapeutyczne są nie w pełni skuteczne w opóźnianiu progresji PChN. Hamowanie rozwoju PChN ma szczególne znaczenie w populacji pediatrycznej, gdyż destabilizacja toczących się fizjologicznie procesów skutkuje nieodwracalnymi zmianami w organizmie dziecka.

Od ponad dekady przewlekły stan zapalny postulowany jest jako jeden z istotnych czynników przyspieszający postęp PChN. Do puli naturalnych modulatorów komórkowych szlaków metabolicznych należą sirtuiny, z których sirtuina 1 postrzegana jest obecnie jako istotny czynnik odpowiedzialny za aktywację i regulację procesu zapalnego w komórce. Dlatego też enzym ten może być potencjalnym celem terapeutycznym.

CEL PRACY

Celem pracy było zbadanie zależności pomiędzy stopniem zaawansowania PChN a stężeniem i aktywnością SIRT1 w limfocytach krwi obwodowej.

Założono, że identyfikacja potencjalnych powiązań pomiędzy nasileniem stanu zapalnego a aktywnością SIRT1 w PChN może być podstawą do opracowania nowych strategii terapeutycznych lub markerów prognostycznych w populacji pacjentów z tym schorzeniem.

W szczególności postanowiono uzyskać odpowiedzi na pytania:

1. Jakie jest stężenie i aktywność sirtuiny 1 w limfocytach krwi obwodowej u dzieci w zależności od stopnia zaawansowania PChN?
2. Czy istnieją zależności pomiędzy wybranymi markerami stanu zapalnego a zaawansowaniem PChN i stężeniem oraz aktywnością SIRT1?
3. Czy sirtuina 1 może być pomocna w opracowaniu strategii terapeutycznych dla przewlekłej choroby nerek?

MATERIAŁY I METODY

Badanie przeprowadzono wśród pediatrycznych pacjentów hospitalizowanych w Klinice Nefrologii Pediatrycznej i Stacji Dializ w USK im. Jana Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu. Grupę badaną stanowiło 40 chorych w wieku od 3 do 17 lat, z PChN (średnia wieku $11,2 \pm 5,34$ lat). Populacja ta została podzielona, w zależności od stadium PChN według KDIGO 2012, na 3 grupy: grupa I - wczesne stadia PChN (G1 i G2), grupa 2 - zaawansowane stadia PChN (G3 i G4) oraz grupa 3 - schyłkowa – pacjenci dializowani. Grupę kontrolną stanowiło 35 dzieci w wieku od 3 do 16 lat, z prawidłową funkcją nerek.

Badanym materiałem była krew obwodowa pobrana przy okazji rutynowych badań laboratoryjnych. W ramach rutynowej diagnostyki szpitalnej wykonano oznaczenia podstawowych parametrów stanu zapalnego (CRP, WBC i limfocyty w krwi obwodowej), oraz wykładników biochemicznych (stężenie kreatyniny, eGFR, stężenia sodu, potasu i mocznika). Dodatkowo, z pobranego materiału wyizolowano limfocyty które następnie poddano lizie, a w otrzymanych lizatach oznaczono stężenie i aktywność SIRT1.

WYNIKI

We wczesnych i zaawansowanych stadiach PChN wykazano wzrost aktywności SIRT1 w odniesieniu do grupy kontrolnej, ale bez cech istotności statystycznej. U dzieci dializowanych stwierdzono natomiast wyraźny spadek aktywności sirtuiny 1, także bez cech istotności statystycznej. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniu i aktywności SIRT1 w limfocytach krwi obwodowej pomiędzy grupą badaną a kontrolną oraz pomiędzy poszczególnymi grupami PChN, jednak obserwowano stopniowy wzrost średniej liczby WBC i limfocytów wraz z progresją PChN u dzieci.

Istotnie statystycznie różnice pomiędzy grupami wystąpiły jedynie dla stężenia kreatyniny i eGFR, co wynika z definicji PChN. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach CRP i liczbie WBC lub limfocytów pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną.

Stwierdzono następujące korelacje o cechach istotności statystycznej w grupie dzieci z PChN:

a). ujemną, pomiędzy:

- GFR a stężeniem SIRT1
- WBC i limfocytami a eGFR

b). dodatnią, pomiędzy:

- stężeniem CRP a aktywnością SIRT1
- aktywnością SIRT1 a wiekiem pacjenta

WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. W populacji pediatrycznej z PChN, wraz z nasileniem stanu zapalnego (wyrażonego przez wzrost stężenia CRP w surowicy), dochodzi do wzrostu aktywności SIRT1 w limfocytach krwi obwodowej.
2. W przebiegu progresji PChN u dzieci dochodzi do nadekspresji SIRT1 w limfocytach krwi obwodowej.
3. Wraz z wiekiem, w populacji pediatrycznej obserwujemy wzrost aktywności SIRT1 w limfocytach krwi obwodowej.
4. Wydaje się, że SIRT 1 może być rozpatrywana jako cel terapeutyczny w hamowaniu progresji przewlekłej choroby nerek. Wymaga to jednak potwierdzenia na większej liczbie chorych.

2. Streszczenie w wersji angielskiej

INTRODUCTION

With the increasing prevalence of so-called diseases of affluence, including chronic kidney disease (CKD), it is becoming important to seek new therapeutic goals that can help in managing the varied complications of this pathology. Current therapeutic methods are not fully effective in inhibiting CKD progression. The inhibition of CKD development is of a particular importance in the pediatric population, as destabilization of physiological processes in young age results in irreversible changes.

For over a decade chronic inflammation has been proposed as one of the important factors accelerating progression of CKD. The pool of natural modulators of cellular metabolic pathways includes sirtuins, of which sirtuin 1 is currently seen as an important factor responsible for activation and regulation of the cellular inflammatory pathways. Therefore, this enzyme can be a potential therapeutic target in CKD.

RESEARCH GOALS

The aim of the study was to investigate the relationship between CKD severity and the concentration and activity of SIRT1 in peripheral blood lymphocytes. It was assumed that identification of potential links between the severity of inflammation and SIRT1 activity in CKD may be the basis for developing new therapeutic strategies or prognostic markers in the population of patients with this disease.

In particular, we have searched for the answers to following questions:

1. What is the concentration and activity of sirtuin 1 in peripheral blood lymphocytes in children depending on the severity of CKD?

2. Are there any links between selected inflammatory markers and severity of CKD and the concentration and activity of SIRT1?

3. Can sirtuin 1 be useful in developing new therapeutic strategies for CKD?

MATERIALS AND METHODES

The study was carried out among pediatric patients hospitalized in the Department of Pediatric Nephrology and Dialysis Station in USK in Wrocław. The study group consisted of 40 patients aged from 0 to 17 years, with CKD (mean age $11,2 \pm 5.34$ years). This population was divided, depending on the stage of CKD according to KDIGO 2012, into 3 groups: group I - early stages of CKD (G1 and G2), group 2 - advanced stages of CKD (G3 and G4) and group 3 - late stage - dialysis patients. The control group consisted of 35 children aged from 3 to 16 years with normal kidney function.

The material tested was peripheral blood collected during routine laboratory tests. As part of routine hospital diagnostics, basic inflammatory parameters (CRP, WBC and lymphocytes in peripheral blood) and biochemical parameters (creatinine concentration, eGFR, sodium, potassium and urea concentration) were determined. Additionally, lymphocytes were isolated from the collected material and then lysed. In the obtained lysates the concentration and activity of SIRT1 were determined.

RESULTS

The early and advanced stages of CKD showed an increase in SIRT1 activity in relation to the control group, but without statistical significance. On the other hand, in dialyzed children the activity of sirtuin 1 decreased significantly, also without statistical significance. There were no statistically significant differences in SIRT1 concentration and

activity in peripheral blood lymphocytes between the tested and control groups and between individual CKD groups, however, a gradual increase in mean WBC and lymphocyte count was observed along with CKD progression in children.

Statistically significant differences between the groups occurred only for creatinine and eGFR concentration, which results from CKD definition. No statistically significant differences in CRP, WBC or lymphocyte count were observed between the study and control groups.

The following correlations of statistical significance were found in children with CKD:

a). negative, between:

- GFR and SIRT1 concentration
- WBC and lymphocytes and eGFR

b). positive, between:

- CRP concentration and SIRT1 activity
- SIRT1 activity and age

CONCLUSIONS

The results obtained allowed the following conclusions to be drawn:

1. In the pediatric population with CKD, as the intensity of inflammation increases (expressed as an increase in serum CRP concentration), SIRT1 activity in peripheral blood lymphocytes increases.
2. In children with CKD, as the disease progresses, an increase in SIRT1 concentration in peripheral blood lymphocytes was observed.

3. With age, an increase in SIRT1 activity in peripheral blood lymphocytes is observed in the pediatric population.
4. It is possible, that SIRT1 may be considered as a therapeutic target for managing the progression of CKD. However, further studies on more numerous test group are necessary.