

Streszczenie

Wstęp: Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest to jeden z najczęściej rozpoznawanych nowotworów wieku dziecięcego. Leczenie onkologiczne ALL jest bardzo skuteczne, a wyleczalność sięga ponad 80%. U pacjentów leczonych z powodu ALL obserwujemy liczne niekorzystne następstwa terapii onkologicznej zarówno wczesne jak i późne. Wynikają one z toksyczności leczenia cytostatycznego oraz długotrwałych zmian metabolizmu w wyniku terapii ALL. U pacjentów leczonych z powodu ALL często występują zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Polimorfizmy genu *SIRT1* i białko sirtuina1 biorą udział w regulacji glikemii i lipidogramu w organizmie.

Cel pracy: Celem pracy była ocena wpływu polimorfizmów genu *SIRT1* i białka sirtuiny1 na zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ALL w okresie dzieciństwa i młodzieńczym.

Materiały i metody: Zbadano 89 osób, przynajmniej rok po zakończeniu leczenia ALL i 49 osób kontrolnych dobranych losowo w podobnym wieku. Badanie przebiegało dwuetapowo: obejmowało badanie lekarskie (podmiotowe i przedmiotowe) z pomiarem parametrów antropometrycznych (wysokość ciała wyrażoną w centymetrach, masę ciała wyrażoną w kilogramach, BMI, ciśnienie tętnicze wyrażone w mmHg). Wykonano badania biochemiczne: doustny test tolerancji glukozy (OGTT) z insuliną, stężenia białka sirtuiny1, stężenia hemoglobiny glikowanej, stężenia c-peptydu, lipidogramu (cholesterol całkowity, LDL, HDL, trójglicerydy), stężenia apolipoproteiny A, stężenia apolipoproteiny B, morfologii z rozmazem, stężenia białka C-reaktywnego. Wyliczono wskaźniki HOMA i QUICKI. Wykonano badania genetyczne 6 polimorfizmów genu *SIRT1*: rs 2273773, rs 12778366, rs 10509291, rs 7895833, rs 1082313 oraz rs 932658.

Uzyskane wyniki z przeprowadzonych badań poddano analizie statystycznej.

Wyniki: W grupie badanej stwierdzono istotnie wyższe stężenie białka sirtuiny1 w surowicy krwi żyłnej w porównaniu do grupy kontrolnej (30,9 ng/ml vs 18,0 ng/ml). Istotnie wyższe stężenie glukozy w 120 min OGTT, stężenie cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów, istotnie niższe stężeniem cholesterolu HDL wykazano u osób badanych aniżeli kontrolnych. W grupie badanej istotnie statystycznie dodatnie korelacje stwierdzono pomiędzy stężeniem stężeniem trójglicerydów(%) a glukozy na czczo, stężeniem glukozy w 120 min OGTT, stężeniem insuliny na czczo, stężeniem insuliny w 120 min OGTT we krwi, ujemne istotnie statystycznie korelacje wykazano pomiędzy stężeniem cholesterolu HDL(%) a glukozą w 60 min OGTT , glukozą 120 min OGTT, insuliną na czczo, insuliną 60 min OGTT, insuliną 120 min OGTT oraz wskaźnikiem HOMA IR. Istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 występowało u osób z grupy badanej z prawidłowymi wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego aniżeli u osób grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem skurczowym (33,0 vs 18,0 ng/ml). Stwierdzono istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 wśród osób grupy badanej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym w porównaniu do osób grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym (28,9 vs 17,3 ng/ml). Dla polimorfizmu genu rs2273773, określono występowanie dwóch genotypów TT i TC w grupie badanej i kontrolnej. W grupie badanej z genotypem TT w porównaniu do grupy kontrolnej z genotypem TT stwierdzono istotnie wyższe stężenie białka sirtuiny1 (38,8 vs 17,3 ng/ml) oraz wyższe stężenie trójglicerydów (%) (131,4 vs 91,2).

Dla polimorfizmu genu *SIRT1* rs12778366, określono występowanie dwóch genotypów TT i TC w grupie badanej i kontrolnej. Stężenie sirtuiny1 było istotnie wyższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej w obu genotypach TT(43,2 vs 19,4 ng/ml) i TC (32,9 vs 12,5 ng/ml). Wśród osób z genotypem TC wykazano wyższe stężenie trójglicerydów (%) w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej (145,2 vs 84,6 %). Dla polimorfizmu genu rs10509291, określono występowanie dwóch genotypów TT i TA w grupie badanej i kontrolnej. W grupie badanej z genotypem TT w porównaniu do grupy kontrolnej z genotypem TT istotnie wyższe było stężenie sirtuiny1 było (37,7 vs 17,2 ng/ml), wyższe stężenie trójglicerydów (%) (130,5 vs 89,7 %), procentowe stężenie cholesterolu LDL(%) (127,2 vs 109%).

W polimorfizmie genu *SIRT1* rs1082313, określono 3 genotypy: AA, AG i GG, nie stwierdzono istotnych różnic parametrów biochemicznych. W polimorfizmie genu *SIRT1* rs932658, określono 3 genotypy: AA, CA i CC, nie stwierdzono istotnych różnic parametrów biochemicznych. W polimorfizmie genu *SIRT1* rs7895833, określono 2 genotypy: AA i AG. U wszystkich osób grupy badanej (genotyp AA oraz AG) stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie białka sirtuiny1 w stosunku do osób grupy kontrolnej prezentujących genotyp AA (34,9 oraz 49,3 vs 14,9 ng/ml).

W grupie badanej o genotypie AA w porównaniu z grupą kontrolną (genotyp AA oraz AG) wykazano istotnie wyższe stężenie cholesterolu LDL (%) (128,4 vs 112,3 oraz 106%) .

W grupie badanej u osób o genotypie AG w porównaniu z grupą kontrolną (genotyp AA oraz AG) wykazano istotnie wyższe stężenie trójglicerydów(%) (168,4 vs 87 oraz 97,3 %).

Wnioski:

1. U pacjentów grupy badanej w stosunku do grupy kontrolnej odnotowano wyższe stężenie sirtuiny1 we krwi, co może być wynikiem odpowiedzi organizmu na stres oksydacyjny związany z terapią onkologiczną osób leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.
2. Wysokie stężenia białka sirtuiny1 nie wykazuje właściwości ochronnych i normalizujących gospodarkę węglowodanową i lipidową u pacjentów leczonych z powodu ALL, co przemawia za istnieniem dodatkowych mechanizmów modyfikujących działanie sirtuiny1.
3. Pacjenci grupy badanej wykazują zwiększone ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego w porównaniu do osób grupy kontrolnej. Sugerują to stwierdzane nieprawidłowości gospodarki węglowodanowej, lipidowej oraz wartości badanych parametrów antropometrycznych.
4. Stosowanie nowocześniejszych protokołów leczniczych w terapii ALL (użycie schematu ALL IC 2009 w porównaniu do schematu ALL IC 2002) prowadzi do zmniejszenia ryzyka wystąpienia zaburzeń metabolicznych, co potwierdziły wyniki przeprowadzonych badań.
5. Wskazane jest wykonywanie badań wybranych polimorfizmów genu *SIRT1* celem zmniejszeniem ryzyka występowania zaburzeń metabolicznych u pacjentów leczonych z powodu ALL. Należą do nich polimorfizmy rs 10509291, rs 2273773, rs 12778366, rs 10509291 oraz rs 7895833. Stwierdzenie ich obecności i możliwość wdrożenia profilaktyki rozwoju zaburzeń metabolicznych może poprawić jakość życia jak i jego długość u pacjentów leczonych z powodu ALL w okresie dzieciństwa i młodości.

6. Wskazane byłoby kontynuowanie prowadzenia badań w większej grupie pacjentów leczonych z powodu ALL, a także ich rozszerzenie w grupie pacjentów leczonych w wieku dorosłym z powodu ALL.

IX. Summary

Background: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is one of the most frequently diagnosed childhood cancers. Treatment of ALL is very effective, and the curability reaches 80%. In patients treated for ALL, we observe numerous unfavorable consequences of oncological therapy, both early and late. They result from the toxicity of cytostatic therapy and long-term changes in metabolism as a result of ALL therapy. Disturbances in carbohydrate and lipid metabolism are common in patients treated for ALL. The polymorphisms of the *SIRT1* gene and the sirtuin 1 protein are involved in the regulation of glycaemia and lipid profile in the body.

Aim of the study: The aim of the study was to evaluate the effect of *SIRT1* gene and sirtuin 1 protein polymorphisms on carbohydrate and lipid metabolism disorders in patients treated for ALL in childhood and adolescence.

Materials and methods: 89 subjects at least one year after the end of ALL treatment and 49 randomly matched controls of similar age were examined. The study was carried out in two stages: it included a medical examination (personal and physical) with the measurement of anthropometric parameters (body height expressed in centimeters, body weight expressed in kilograms, BMI, blood pressure expressed in mmHg). Followed by biochemical tests were performed: oral glucose tolerance test (OGTT) with insulin, sirtuin1 protein, glycated hemoglobin (HbA1c), c-peptide, lipidogram (total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides), apolipoprotein A, apolipoprotein B, blood morphology, C-reactive protein HOMA IR and QUICKI indices were calculated. Genetic tests were performed on 6 polymorphisms of the *SIRT1* gene: rs 2273773, rs 12778366, rs 10509291, rs 7895833, rs 1082313 and rs 932658. The obtained results from the conducted research were statistically analyzed.

Results: The study group showed a significantly higher concentration of the sirtuin 1 protein in venous blood serum compared to the control group (30.9 ng / ml vs 18.0 ng / ml). Significantly higher levels: glucose in OGTT 120 minutes, total cholesterol, LDL and triglycerides, and significantly lower level of HDL cholesterol were demonstrated in the subjects compared to the controls. In the study group, statistically significant positive correlations were found between the concentration of triglycerides (%) and fasting glucose, the concentration of glucose in 120 min OGTT, the concentration of fasting insulin, the concentration of insulin in 120 min OGTT in the blood, negative statistically significant correlations were found between the concentration of HDL cholesterol (%) and glucose 60 min OGTT, glucose 120 min OGTT, fasting insulin, 60 min OGTT insulin, 120 min OGTT insulin and HOMA IR indicator. A significantly higher concentration of sirtuin 1 was found in the study group with normal systolic blood pressure than in the control group with normal systolic blood pressure (33.0 vs 18.0 ng / ml). There was a significantly higher level of sirtuin

1 in the study group with normal diastolic pressure compared to the control group with normal diastolic pressure (28.9 vs 17.3 ng / ml). For the polymorphism of the rs2273773 gene, the presence of two genotypes TT and TC was determined in the study and control group.

Compared to the control group with the TT genotype, higher levels of the sirtuin 1 protein (38.8 vs 17.3 ng / ml) and triglyceride (%) (131.4 vs 91.2) were found in the study group.

For the polymorphism of the *SIRT1* rs12778366 gene, the presence of two genotypes TT and TC was determined in the study and control group. Sirtuin 1 concentration was significantly higher in the study group than in the control group in both TT (43.2 vs 19.4 ng / ml) and TC (32.9 vs 12.5 ng / ml) genotypes.

Among people with the TC genotype, a higher level of triglycerides (%) was found in the study group than in the control group (145.2 vs 84.6%). For the polymorphism of the rs10509291 gene, the presences of two genotypes TT and TA in the study and control group were determined. In the study group with the TT genotype compared to the control group with the TT genotype, the concentration of sirtuin 1 was significantly higher (37.7 vs. 17.2 ng / ml), the concentration of triglycerides was higher (%) (130.5 vs. 89.7%) , percent LDL cholesterol (%) (127.2 vs 109%).

In the polymorphism of the *SIRT1* rs1082313 gene, 3 genotypes were identified: AA, AG and GG, no significant differences in biochemical parameters were found. In the polymorphism of the *SIRT1* rs932658 gene, 3 genotypes were identified: AA, CA and CC, no significant differences in biochemical parameters were found. In the polymorphism of the *SIRT1* rs7895833 gene, 2 genotypes were defined: AA and AG. In all subjects of the study group (AA and AG genotype) statistically significantly higher level of sirtuin 1 protein was found compared to the control group presenting the AA genotype (34.9 and 49.3 vs 14.9 ng / ml). In the study group with the AA genotype compared to the control group (AA and AG genotype), a significantly higher concentration of LDL cholesterol (%) was demonstrated (128.4 vs 112.3 and 106%).

In the study group, people with the AG genotype compared to the control group (AA and AG genotype) showed a significantly higher concentration of triglycerides (%) (168.4 vs 87 and 97.3%).

Conclusions:

1. Patients in the study group compared to the control group had a higher concentration of sirtuin1 in the blood, which may be the result of the body's response to oxidative stress associated with oncological therapy in patients treated for acute lymphoblastic leukemia.
2. High concentrations of sirtuin1 protein do not show protective and normalizing properties of carbohydrate and lipid metabolism in patients treated for ALL, which suggests the existence of additional mechanisms modifying the action of sirtuin1.
3. Patients in the test group show an increased risk of developing metabolic syndrome compared to the control group. This is suggested by the observed abnormalities of carbohydrate and lipid metabolism and the values of the examined anthropometric parameters.

4. The use of more modern treatment protocols in the treatment of ALL (the use of the ALL IC 2009 regimen compared to the ALL IC 2002 regimen) leads to a reduction in the risk of metabolic disorders, which was confirmed by the results of the conducted studies.
5. It is advisable to test selected SIRT1 gene polymorphisms in order to reduce the risk of metabolic disorders in patients treated for ALL. These include the rs 10509291, rs 2273773, rs 12778366, rs 10509291 and rs 7895833 polymorphisms. Their presence and the possibility of prophylaxis of the development of metabolic disorders may improve the quality of life and its length in patients treated for ALL in childhood and adolescence.
6. It would be advisable to continue the studies in a larger group of patients treated for ALL, and also to extend them to the group of patients treated in adulthood for ALL.